FÁBIO LEYSER GONÇALVES

**EFEITOS DA FLUOXETINA SOBRE A EFICÁCIA DE
REFORÇADORES CONDICIONADOS**

*Dissertação apresentada ao
Instituto de Psicologia da
Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos
para obtenção do título de
Mestre em Psicologia*

**SÃO PAULO
2000**

FÁBIO LEYSER GONÇALVES

**EFEITOS DA FLUOXETINA SOBRE A EFICÁCIA DE
REFORÇADORES CONDICIONADOS**

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

Área de Concentração: Neurociências e Comportamento

Orientador: Prof. Dr. Maria Teresa Araújo Silva

**SÃO PAULO
2000**

**EFEITOS DA FLUOXETINA SOBRE A EFICÁCIA DE
REFORÇADORES CONDICIONADOS**

FÁBIO LEYSER GONÇALVES

BANCA EXAMINADORA

(Nome e Assinatura)

(Nome e Assinatura)

(Nome e Assinatura)

Dissertação defendida e aprovada em: __/__/__.

A meu Pai (*in memoriam*),
por tudo o que foi.

A Jú, por tudo que ainda
está por vir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a FAPESP pelo financiamento desse trabalho, especialmente por sua política de bolsas com reserva técnica e avaliação por pares que propiciam as condições necessárias para o desenvolvimento de um trabalho de qualidade, condições que com certeza não se encerram em um auxílio financeiro mensal.

Agradeço ao CNPq pelo financiamento de parte do trabalho, ainda como bolsista de Iniciação Científica

Agradeço a Teresa por ter me adotado e cuidado de mim me incluindo nessa grande família chamada de Laboratório de Psicofarmacologia.

Um agradecimento muito especial a Jú (Mozinho) por ter sido, além de namorada, uma colaboradora incansável nos infinitos fins de semana passados no Laboratório. “*Que rato? Quanto de droga? Direita ou esquerda?*”

Agradeço a minha Mãe Renata, meus Irmãos Ricardo e Fernando e minha Tia Rachel pelo suporte e incentivo que sempre me deram. Sem vocês esse trabalho jamais teria deixado de ser um simples sonho.

Agradeço encarecidamente ao Romualdo (Romuca) por sua grande disposição em me ajudar além de sua enorme paciência ao me ajudar a lidar com os meus (agora) queridos ratinhos. “*Romuca, segura bem que eu injeto... num solta o bicho...*”

Agradeço também ao Anderson Silva, Elmar Wolnei e André pela valiosa ajuda com os programas utilizados para o controle da caixa experimental.

Agradeço a Zilda G. Kawall por ter me apresentado a essa arte-ciência que é a Psicologia.

Acredito que nosso comportamento se modifica a cada palavra que trocamos com alguém. Sei que nos agradecimentos estou sendo injusto com centenas de pessoas com quem conversei e que com certeza modificaram meu comportamento, mas seria impossível agradecer a todas elas nominalmente. Algumas tiveram, no entanto, uma influência acima da média e não seria justo deixar de agradecer especialmente a Profa. Maria Amélia Matos, Profa. Emma Otta, Profa. Érica Santarém, Prof. Roberto DeLucia, Miriam Garcia Mijares, Luís Guilherme G. C. Guerra, Cilene R. R. Alves, Angélica Capelari e Marcus Bentes de Carvalho Neto.

Agradeço a Ana Laura, Pedro, Jacó, Idalina, ao pessoal da Secretaria de Pós e a todos aqueles que não aparecem, mas no dia-a-dia tornam possível o trabalho acadêmico.

Agradeço a todos os meus “pupilos”, que me fazem acreditar que o nosso trabalho dará vários frutos.

Finalmente gostaria de fazer um agradecimento muito especial a todos aqueles que eu esqueci ou não pude agradecer. Agradeço pela colaboração e pelo perdão antecipado por tamanho esquecimento.

POEMA

Cazuza

Eu hoje tive um pesadelo e levantei atento a tempo
Eu acordei com medo e procurei no escuro
Alguém com seu carinho e lembrei de um tempo
Porque o passado me traz uma lembrança
Do tempo que eu era criança
E o medo era motivo de choro
Desculpa pra um abraço ou um consolo
Hoje eu acordei com medo, mas não chorei
Nem reclamei abrigo
Do escuro, eu via um infinito sem presente
Passado ou futuro
Senti um abraço forte, já não era medo,
era uma coisa sua que ficou em mim,
que não tem fim
De repente a gente vê que perdeu
Ou está perdendo alguma coisa
Morna e ingênua
Que vai ficando no caminho
Que é escuro e frio, mas também bonito
Porque é iluminado
Pela beleza do que aconteceu
Há minutos atrás

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	III
LISTA DE TABELAS	IV
RESUMO	V
ABSTRACT.....	VI
INTRODUÇÃO	1
O REFORÇO COMO FENÔMENO BIOCOMPORTAMENTAL	2
O ESTUDO COMPORTAMENTAL DE REFORÇADORES	4
PSICOFARMACOLOGIA DO REFORÇO CONDICIONADO	8
RELAÇÃO ENTRE ANTIDEPRESSIVOS E EFICÁCIA DE REFORÇADORES	11
EXPERIMENTO 1 – REPLICAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MODELO DE REFORÇO	
CONDICIONADO.....	15
MÉTODO	15
<i>SUJEITOS</i>	15
<i>EQUIPAMENTO</i>	16
<i>PROCEDIMENTO</i>	17
<i>ANÁLISE DE DADOS</i>	17
A) GRUPO 1 - PILOTO ($N=3$).....	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
B) GRUPO 2 ($N= 8$).....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
C) GRUPO 3 ($N=8$).....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
D) GRUPO 4 ($N=7$)	23
RESULTADOS E DISCUSSÃO	25

E) GRUPO 5 (N=4).....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
F) GRUPO 6 (N=8).....	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
CONCLUSÃO	30
EXPERIMENTO 2 – EFEITO DA FLUOXETINA SOBRE A EFICÁCIA DE	
REFORÇADORES CONDICIONADOS	31
MÉTODO	31
<i>SUJEITOS</i>	31
<i>EQUIPAMENTO</i>	32
<i>PROCEDIMENTO</i>	32
<i>ANÁLISE DE DADOS</i>	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
CONCLUSÃO	47
CONCLUSÃO GERAL.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1</i> – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos do Grupo 5	27
<i>Figura 2</i> - Distribuição da manipulação farmacológica, comportamental e da privação ao longo dos 31 dias de experimento.	34
<i>Figura 3</i> – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-2,5 e VEI-2,5.....	37
<i>Figura 4</i> – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-2,5 e VEI-2,5.....	38
<i>Figura 5</i> – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-1,25P17 e VEI-1,25P17	38
<i>Figura 6</i> – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-1,25P17 e VEI-1,25P17 ...	39
<i>Figura 7</i> – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-5P17 e VEI-5P17	40
<i>Figura 8</i> – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-5P17 e VEI-5P17	41
<i>Figura 9</i> – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-2,5P17 e VEI-2,5P17	42
<i>Figura 10</i> – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-2,5P17 e VEI-2,5P17	43
<i>Figura 11</i> – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-1,25P24 e VEI-1,25P2444	
<i>Figura 12</i> – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-1,25P24 e VEI-1,25P24	45
<i>Figura 13</i> – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-5P24 e VEI-5P24	45
<i>Figura 14</i> – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-5P24 e VEI-5P24	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - <i>Efeito de drogas sobre a eficácia de reforçadores condicionados segundo sua classe, via de administração e seletividade de ação quanto aos tipos de receptores de DA, a partir de Sutton & Beninger (1999).....</i>	10
Tabela 2 - <i>Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para o Grupo 1</i>	20
Tabela 3 - <i>Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para os Grupos 2A e 2B.....</i>	21
Tabela 4 - <i>Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para o Grupo 3</i>	23
Tabela 5 - <i>Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para o Grupo 4</i>	25
Tabela 6 - <i>Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para o Grupo 5</i>	27
Tabela 7 - <i>Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para os Grupos Controle 6 e Experimental 6</i>	29
Tabela 8 - <i>Divisão dos grupos de acordo com o tratamento e a duração da privação.....</i>	33
Tabela 9 - <i>Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para os grupos FLX-2,5 e VEI-2,5 e para os Grupos P17.....</i>	36

RESUMO

GONÇALVES, Fábio Leyser. *Efeitos da fluoxetina sobre a eficácia de reforçadores condicionados*. São Paulo, 2000. 60p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo.

A depressão, tal como compreendida pela Análise Experimental do Comportamento têm sido relacionada a taxa de reforço, operações estabelecedoras e sensibilidade a reforçadores positivos. O modelo biocomportamental de reforço tem implicado o envolvimento do sistema dopaminérgico (DA) no processo de reforço. Têm-se demonstrado, também, a influência de agentes DA sobre a eficácia de reforçadores condicionados. Por fim uma série de pesquisas sugerem a importância desse sistema na depressão e no mecanismo de ação de antidepressivos, embora sua ação primária seja sobre o sistema serotoninérgico. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do antidepressivo fluoxetina (FLX), um inibidor seletivo de recaptação de serotonina, sobre a eficácia de reforçadores condicionados em ratos. No Experimento 1 validou-se o procedimento de Reforço Condicionado (RC) chegando-se ao procedimento final: 1) Pré-exposição - eram medidas respostas de pressão a duas barras uma que produzia o estímulo LA (luzes de estímulo apagadas) e outra o estímulo TOM (campainha); 2) Condicionamento –o estímulo LA era pareado com alimento; e 3) Teste – igual à Pré-exposição. No Experimento 2 investigou-se o efeito do tratamento crônico com FLX (1,25, 2,50 e 5,00 mg/kg) e da exposição prolongada à privação de alimentos sobre o modelo de RC. Os resultados sugerem que a FLX não influencia diretamente a eficácia de reforçadores. Tampouco a privação de alimentos parece interagir com o tratamento. Sugere-se, no entanto, que a exposição a estressores crônicos poderia influenciar a eficácia de reforçadores condicionados, interagindo com o tratamento.

ABSTRACT

GONÇALVES, Fábio Leyser. *Effects of fluoxetine on the effectiveness of conditioned reinforcers*. São Paulo, 2000. 60p. Master Thesis. Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo.

Depression, as seen by the Experimental Analysis of Behavior, has been related to reinforcement rate, establishing operations and decreased sensitivity to positive reinforcers. The biobehavioral approach to reinforcement has implicated the dopaminergic system (DA), in the neural basis of reinforcement. Also DA agents have been demonstrated to change the effectiveness of conditioned reinforcers. Finally, it has been suggested that the DA system plays an important role on depression and on antidepressant drugs action. The present study was aimed at investigating the effects of the antidepressant drug fluoxetine (FLX), a selective serotonin reuptake inhibitor, on the effectiveness of conditioned reinforcers. Experiment 1 validated the Conditioned Reinforcement (CR) procedure. The final procedure was: 1) Pre-exposure - 5 sessions in which presses on two levers were registered, each lever led to presentation of one out of two neutral stimuli (LO and TONE); 2) Conditioning - 4 sessions in which LO was paired with food pellets; e 3) Test - 2 sessions in which the procedure was the same as Pre-exposure. Experiment 2 investigated the effects of chronic fluoxetine and prolonged food deprivation on the effectiveness of CR. Results indicate that FLX does not directly influence CR effectiveness. Nor does prolonged deprivation appear to interact with treatment. It is suggested, however, that chronic exposure to mild stressors might alter the effectiveness of CR, interacting with antidepressant treatment.

INTRODUÇÃO

Dentro da Análise Experimental do Comportamento muitas das teorias relacionadas à depressão passam pela questão dos estímulos reforçadores. Ferster (1973) coloca que haveria uma diminuição de frequência de comportamentos positivamente reforçados desempenhados pelo paciente deprimido, devida ou à diminuição na densidade de reforço (extinção ou reforço intermitente), ou à falta de estímulos antecedentes que acabaria por levar a uma diminuição na emissão de respostas normalmente reforçadas e, portanto, a uma diminuição da densidade de reforço. De maneira semelhante, Lewinsohn (1973) centra sua teoria de etiologia da depressão na baixa taxa de reforços contingentes. Cavalcante, em uma revisão recente (Cavalcante, 1997), ressalta o papel de operações estabelecedoras, ou seja, operações que alteram a eficácia de reforçadores, nas teorias “analítico-comportamentais” da depressão. Ainda no mesmo sentido, Costello (1972) contrapõe às teorias de Ferster e Lewinsohn, de diminuição na densidade de estímulos reforçadores, a idéia de que esses estímulos ainda se encontrariam no ambiente do paciente, mas com uma perda significativa de sua função reforçadora. A partir desses pontos de vista, o tratamento da depressão necessariamente tem como foco a questão do reforço. De um lado as estratégias comportamentais por certo procurarão resolver as questões relacionadas à taxa de reforço, estímulos antecedentes e operações estabelecedoras. Por outro lado as estratégias farmacológicas devem se preocupar com a sensibilidade do organismo ao reforço.

O reforço como fenômeno biocomportamental

Desde alguns anos a Análise Experimental do Comportamento vem demonstrando a importância do ambiente no controle do comportamento, quer em animais, quer em seres humanos. Dentro dessa perspectiva teórica a idéia de estímulo reforçador, ou seu efeito, reforço, exerce um papel fundamental nos mecanismos de controle do comportamento. Esse estímulo é definido como um evento ambiental que aumenta a frequência do comportamento ao qual se segue (Ferster, Culbertson, & Boren, 1977). Assim, o estímulo reforçador acaba por selecionar os comportamentos mais adaptados ao ambiente. Em outras palavras, o que é selecionado são relações entre eventos ambientais e respostas do organismo (Donahoe, Burgos, & Palmer, 1993; Donahoe & Palmer, 1994). O reforço pode ser positivo (quando, após determinado comportamento, o estímulo é apresentado) ou negativo (quando, após determinado comportamento, um estímulo é retirado). Além disso, o estímulo reforçador pode ser primário ou secundário (também chamado de condicionado). Reforçadores primários são aqueles eventos ambientais que adquiriram essa função através da história filogenética de determinada espécie e, portanto, são comuns à maioria dos indivíduos dessa espécie (por exemplo, comida ou água). Já o reforçador condicionado faz parte da história ontogenética do organismo: é adquirido através do pareamento entre um estímulo previamente neutro e um estímulo reforçador primário. Portanto, pode variar de um indivíduo para o outro (o procedimento pelo qual um estímulo pode se tornar um reforçador condicionado será abordado mais à frente, quando nos referirmos ao modelo de Reforço Condicionado).

A partir da década de 50, com a descoberta do reforço por estimulação intracraniana por (Olds, 1956), muitos experimentos têm sido feitos a fim de esclarecer o mecanismo fisiológico que permite que a apresentação de um estímulo reforçador aumente a frequência de determinados comportamentos. Esses estudos têm utilizado principalmente técnicas fisiológicas de estimulação elétrica e de medida de atividade elétrica no sistema nervoso central, mas também métodos psicofarmacológicos e bioquímicos. A partir desses dados um grupo de autores (Donahoe et al., 1993; Donahoe & Palmer, 1994) propõe um modelo biocomportamental de seleção do comportamento por estímulos reforçadores, que integra tanto os dados obtidos por pesquisas comportamentais quanto os obtidos por pesquisas neurofisiológicas. Esse modelo integra as estruturas anatômicas, neurotransmissores e receptores envolvidos, bem como as relações entre o ambiente e o organismo. De uma maneira bastante simplificada¹ poderíamos dizer que estímulos reforçadores primários são capazes de ativar neurônios de uma estrutura do sistema nervoso central (SNC) chamada de área do tegumento ventral (VTA). A propriedade de estímulos reforçadores primários ativarem essa área é uma propriedade filogeneticamente adquirida e, portanto, inata. A VTA manda projeções para algumas outras regiões como os gânglios da base, hipocampo e córtex frontal, em particular para as áreas associativas motoras. É justamente nessas áreas associativas que ocorreria a seleção do comportamento, através da modulação da eficácia de sinapses entre axônios de neurônios provenientes do sistema sensorial e dendritos de neurônios

¹ Para um detalhamento maior dos circuitos envolvidos, bem como dos mecanismos específicos ver Bozarth

que se projetam para o sistema motor. A modulação se daria através da liberação de dopamina pelos neurônios da VTA, pois esse neurotransmissor aumentaria a eficácia de sinapses sensório-motoras recém ativadas (Donahoe & Palmer, 1994). Portanto a seleção se daria através do fortalecimento da relação (sinapses) entre eventos ambientais (ativação do sistema sensorial) e respostas do organismo (ativação do sistema motor). De maneira similar estímulos reforçadores condicionados também são capazes de ativar neurônios da VTA. No entanto o processo pelo qual esses estímulos adquirem a propriedade de ativar esses neurônios depende de um processo ontogenético de seleção, que seria mediado por um feixe de fibras que se projetam do córtex associativo motor para a VTA. Assim, através do pareamento com reforçadores primários, estímulos inicialmente sem função como reforçador tornam-se capazes de ativar neurônios da VTA, passando a apresentar a função de estímulo reforçador (Donahoe & Palmer, 1994).

O estudo comportamental de reforçadores

A primeira questão que se apresenta no estudo comportamental de reforçadores é o quanto determinado estímulo, de fato, reforça. Essa medida é chamada de valor reforçador, medido principalmente através da força das respostas que o estímulo controla. Nesse sentido, torna-se necessário distinguir estímulos que controlam respostas mais fortes, e portanto que têm um maior valor reforçador, de estímulos que controlam o comportamento de maneira mais frágil. Alguns métodos experimentais foram desenvolvidos para responder a essa questão.

(1991); Moisan & Rompré (1998); Wise & Rompré (1989), por exemplo.

A primeira solução que surgiu na área para resolver o problema de medir o valor reforçador foi simplesmente utilizar como variável dependente a taxa de uma determinada resposta, por exemplo, pressionar uma barra, e como variável independente as dimensões de um estímulo reforçador, por exemplo, quantidade de pelotas de alimento. Pode-se, então, medir a taxa com que um rato pressiona uma barra quando recebe uma, duas ou três pelotas de comida, por exemplo. No entanto, esse método apresenta alguns problemas. Outras variáveis poderiam estar influenciando a taxa de respostas, como por exemplo uma possível estimulação ou prejuízo motor, quando testamos o efeito de determinadas drogas sobre o valor reforçador. A fim de diferenciar o efeito motor do efeito sobre o valor reforçador outras soluções experimentais foram adotadas.

Dentre essas soluções são de especial importância aquelas que se valem de duas respostas similares, porém, concorrentes. Nesses modelos temos duas respostas de topografia semelhante, isto é, os movimentos exigidos são praticamente os mesmos, porém as duas classes de respostas não podem ser efetuadas ao mesmo tempo (normalmente o local onde essas respostas são emitidas é diferente, por exemplo duas barras em lados opostos da caixa experimental). Cada uma das respostas leva à apresentação de estímulos reforçadores diferentes, em qualidade e/ou quantidade. Assim poderíamos ter um experimento em que ao pressionar uma barra no lado direito da caixa experimental um rato recebesse imediatamente uma pelota de alimento enquanto que ao pressionar a barra do lado esquerdo recebesse três pelotas de alimento (diferença quantitativa) ou então uma gota de solução de sacarose (diferença qualitativa). Assim, através da comparação entre as taxas de resposta nas duas barras, teríamos como analisar as diferenças entre o valor reforçador dos dois

estímulos².

A importância de existirem duas respostas diz respeito ao controle do nível de estimulação motora, uma vez que a simples estimulação motora deverá afetar igualmente as duas classes de respostas, sendo o estímulo reforçador a única diferença entre elas. Esse método tem sido empregado em uma série de procedimentos experimentais.

Outra solução importante diz respeito ao uso de reforçadores condicionados. Um estímulo neutro quando apresentado logo antes de um reforçador primário passa a ter a propriedade de reforçar o comportamento, passando a ser chamado de estímulo reforçador condicionado ou secundário (Millenson & Leslie, 1979). No estudo dos mecanismos fisiológicos do reforço a utilização de reforçadores condicionados é de extrema utilidade uma vez que permite eliminar variáveis como sabor e saciação. Além disso, em um ambiente natural, os reforçadores condicionados desempenham um papel fundamental na manutenção do comportamento, permitindo que o organismo se comporte mesmo na ausência de reforçadores primários. No entanto, faz-se necessário notar que a função do reforçador condicionado é efêmera quando se quebra a estabilidade da relação entre o reforçador condicionado e o reforçador primário, o que impõe certas limitações aos procedimentos que utilizam esses reforçadores.

²Note-se que o conceito de valor reforçador é um conceito relativo: podemos dizer, é claro, se um estímulo é reforçador ou não sem necessidade de comparação, mas só podemos dizer o quanto um estímulo é reforçador quando o comparamos a um ou mais estímulos. Esta relatividade do conceito acrescenta um caráter interessante à sua aplicação prática. Quando temos um organismo em uma situação onde apenas um estímulo reforçador está presente, esse será o estímulo que controlará seu comportamento, por outro lado, se outro reforçador, de maior valor, for acrescentado ao ambiente, muito provavelmente o estímulo inicial terá sua função diminuída.

Psicofarmacologia do reforço condicionado

O procedimento de Reforço Condicionado de Beninger (RC) tem sido utilizado para o estudo da influência de drogas sobre o valor de reforçadores condicionados em ratos (Sutton & Beninger, 1999). O procedimento constitui-se de três fases: Pré-exposição; Condicionamento; e Teste. Na Pré-exposição os sujeitos são colocados em uma caixa experimental com duas barras, uma luz ambiente, uma campainha e duas luzes de estímulo. Tanto a luz ambiente quanto as luzes de estímulo permanecem ligadas. Nesse ambiente a pressão em uma das barras resulta na apresentação de um estímulo sonoro (TOM) de 3 s de duração, a pressão na outra barra leva à apresentação de um estímulo constituído de 3 s onde as luzes de estímulo se apagam (LA, luz apagada), e mede-se então a frequência de pressão a cada uma das barras. Na fase seguinte, Condicionamento, as barras são retiradas e é feito um pareamento entre o estímulo LA e um reforçador primário (uma pelota de comida), ou seja, o estímulo LA é apresentado a cada certo período de tempo, seguido pela apresentação de uma pelota de comida. Inicialmente todas as apresentações de LA são seguidas de uma pelota; em um segundo momento, no entanto, a proporção é alterada e passa-se a um pareamento intermitente onde a pelota só é apresentada a cada três apresentações de LA, o que garante uma maior resistência à função reforçadora. Na fase de Teste volta-se à situação de Pré-exposição. O valor reforçador é dado pela proporção entre a frequência de respostas dadas no Teste e na Pré-exposição, na barra que tem como consequência a apresentação do estímulo LA. A outra barra funciona como controle dos efeitos motores das substâncias, uma vez que se houver um efeito que apenas aumenta a atividade motora do sujeito tem-se um

aumento nas respostas das duas barras, enquanto que se o efeito for seletivo sobre o valor reforçador tem-se um aumento seletivo na barra de LA.

Muitos agentes farmacológicos já foram testados nesse modelo. Em artigo recente, Sutton e Beninger (1999) fizeram uma ampla revisão dos dados disponíveis na literatura. A Tabela 1 nos dá os principais agentes já testados (Sutton & Beninger, 1999). De uma maneira geral, percebe-se que os agentes dopaminérgicos de ação indireta tendem a aumentar seletivamente as respostas na barra de reforço condicionado (RC), com exceção da nomifensina, que diminui o número de respostas nas duas barras, e da cocaína, quando administrada sistemicamente, que ocasiona um aumento global de respostas. Já os agonistas de dopamina apresentam um padrão mais complexo de ação.

Administrados sistemicamente os agonistas seletivos dos receptores do tipo D1 tendem a diminuir a eficácia do RC, enquanto os agonistas dos receptores tipo D2 tendem a ocasionar um aumento seletivo das respostas por RC. Quando administrados diretamente no Núcleo *Accumbens* (NAc), tanto agonistas D1 quanto D2 aumentam as respostas por RC. Por outro lado, os antagonistas de dopamina diminuem as respostas por RC, de maneira independente da seletividade quanto aos receptores. Esses resultados parecem indicar a necessidade dos dois tipos de receptores para que o RC seja eficaz, embora por mecanismos diferentes. Além disso, a aplicação localizada no NAc da toxina colérica (um agente que aumenta o nível de cAMP) e do Rp-cAMPS (um inibidor da proteína cinase dependente de cAMP) se somam aos dados obtidos com os agonistas dos receptores D1, uma vez que esses receptores têm como principal característica a estimulação da adenilil ciclase, e portanto, um aumento do nível de cAMP.

Tabela 1

Efeito de drogas sobre a eficácia de reforçadores condicionados segundo sua classe, via de administração e seletividade de ação quanto aos tipos de receptores de DA, a partir de Sutton & Beninger (1999)

Classe	Administração	Droga	Receptor		Efeito	
			D1	D2	RC	NRC
Agentes Dopaminérgicos de Ação Indireta	Sistêmica	Pipradol			+	0
		Anfetamina			+	0
		Metilfenidato			+	0
		Cocaína			+	+
		Nomifensina			-	-
		WIN 35,428			+	0
		WIN 35,065-2			+	0
	Intra-NAc	Pipradol			+	0
		Anfetamina			+	0
		Cocaína			+	0
Agonistas de Dopamina	Sistêmica	Apomorfina (doses baixas)	*	*	-	-
		Apomorfina (doses altas)	*	*	+	+
		SKF38393	*		-	
		SKF81297	*		-	
		SKF77434	*		-	
		SKF82958	*		-	
		CY 208-243	*		-	
		Bromocriptina		*	+	0
		Quimpirol		*	+	0
		7-OH-DPAT		*	0	0
	Intra-NAc	Dopamina	*	*	+	0
		CY 208-243	*		0	0
		Quimpirol		*	+	0
		SKF38393	*		+	0
		CY 208-243 + Quimpirol	*	*	+	0
Antagonistas de Dopamina	Sistêmica	α -flupentixol	*	*	-	
		α -flupentixol (condicionamento)	*	*	-	
		α -flupentixol + Anfetamina (NAc)	*	*	-	
		α -flupentixol + DA(NAc)	*	*	-	
		Metoclopramida + Anfetamina		*	-	
		Pimozida (condicionamento)		*	-	
		Pimozida + Anfetamina		*	-	
		Racloprida + Pipradol (NAc)		*	-	
		SCH23390	*		-	
		SCH23390 + Pipradol (NAc)	*		-	
Agentes 5-HT	Sistêmica	Fenfluramina (agente 5-HT)			-	-
		Metergolina (antagonista 5-HT)			0	0
		Ondansetron (antagonista 5-HT ₃ , durante o condicionamento)			0	0
		Ondansetron (durante o teste)			0	0
Outros	Sistêmica	Morfina			-	-
		Clordiazepóxido (doses baixas)			+	+
		Clordiazepóxido (doses altas)			-	-
		Midazolam			0	0
	Intra-NAc	Toxina Colérica ($\uparrow$ cAMP)			+	
		Rp-cAMPS (inibidor da proteína cinase dependente de cAMP) + Anfetamina (NAc)			-	

* = seletividade de ação + = aumento das respostas - = diminuição das respostas 0 = sem efeito

Além dos agentes dopaminérgicos outras drogas têm sido testadas nesse modelo. Entre os agentes serotoninérgicos, a fenfluramina diminuiu a eficácia do RC, bem como a atividade motora (diminuição na barra controle, NRC). De maneira similar a morfina e o clordiazepóxido (quando em doses altas) também diminuíram a atividade geral, mas em doses baixas o clordiazepóxido aumentou o número de respostas nas duas barras. É importante ressaltar que todos os resultados são relativos à administração aguda das drogas mencionadas.

Relação entre antidepressivos e eficácia de reforçadores

Como mencionado acima, o reforço é fundamental para o entendimento comportamental da depressão. Entre os modelos animais de depressão, a anedonia induzida por estresse moderado crônico (CMS, do inglês *chronic mild stress*) é de especial relevância por nos permitir estudar a relação entre o efeito de drogas antidepressivas e a eficácia de reforçadores. Nesse modelo ratos são expostos a estressores moderados, como por exemplo mudanças no ciclo luz/escuro, luz estroboscópica, gaiola molhada e outros, por um período prolongado de tempo (seis a doze semanas) e de maneira imprevisível (Willner, 1991; Willner, Muscat, & Papp, 1992a; Willner, Muscat, & Papp, 1992b). Ao longo desse período os animais são submetidos a um teste onde se mede a quantidade de uma solução de sacarose (1%) ingerida em um período de uma hora. Essa medida é tomada como uma estimativa do número de lambidas (resposta) reforçadas (reforço contínuo) pela solução de sacarose, de forma que temos portanto, em última análise, uma medida simples de taxa de respostas em função do reforço.

Os resultados geralmente encontrados utilizando esse modelo indicam uma diminuição progressiva do consumo de sacarose, na medida em que o animal é submetido ao regime de estresse. Esse dado pode ser tomado como uma diminuição da sensibilidade do animal ao reforço pela sacarose. De fato, quando ratos submetidos ao regime de estresse são expostos ao procedimento de preferência condicionada de lugar, há uma diminuição da preferência tanto induzida por comida ou sacarose (Papp, Muscat, & Willner, 1993), quanto induzida por drogas como o quimpirol (um agonista seletivo dos receptores D2). Também no procedimento de estimulação intracraniana, ratos expostos ao CMS apresentam um aumento de cerca de 50% no limiar de reforço (Willner et al., 1992b). Assim, o CMS se apresenta como um exemplo em que eventos ambientais afetam a sensibilidade do organismo ao reforço.

A reversão do efeito do CMS é conseguida através da administração crônica (cerca de quatro semanas) de antidepressivos como a fluoxetina, imipramina e amitriptilina, entre outros (Willner et al., 1992b; Willner, Towell, & Sophokleous, 1987). Um dado interessante é que o efeito dos antidepressivos é bloqueado por antagonistas dopaminérgicos (Sampson, Willner, & Muscat, 1991), enquanto o mecanismo de ação de algumas dessas drogas, como por exemplo a fluoxetina, é predominantemente sobre outro neurotransmissor, a serotonina, indicando que o efeito de antidepressivos pode se dar de maneira indireta. A hipótese mais provável do mecanismo de ação do CMS é a de que os estressores estariam levando a um aumento da estimulação em vias dopaminérgicas que teria como efeito, através de um mecanismo de adaptação de longo prazo, a diminuição da sensibilidade de receptores D2 (Willner et al., 1992b). Os antidepressivos, portanto, de maneira

indireta estariam atuando em sentido contrário ao do CMS, ou seja, aumentando a sensibilidade desses receptores, em particular dos localizados no núcleo *accumbens* (Willner, 1995).

No mesmo sentido o grupo dos pesquisadores Serra e Collu têm apresentado resultados que indicam, como característica do tratamento crônico com antidepressivos, a potencialização dos efeitos mediados pelo receptor D2 (Collu, Poggiu, Devoto, & Serra, 1997; Serra, Collu, D'Aquila, & Gessa, 1992). Nesses estudos os autores demonstram que há um aumento dos efeitos estimulantes de agonistas D2 após tratamento crônico com antidepressivos, inclusive os chamados inibidores seletivos de recaptação de serotonina. Uma das conclusões que surge a partir desses resultados parecem indicar a existência de interação entre os sistemas serotoninérgico e dopaminérgico. De fato, estudos utilizando a técnica de microdiálise têm demonstrado um aumento nos níveis de dopamina extracelular do córtex pré-frontal após o tratamento agudo com antidepressivos (Tanda, Bassareo, & Di Chiara, 1996a; Tanda, Carboni, Frau, & Di Chiara, 1994; Tanda, Frau, & Di Chiara, 1996b). No entanto Tanda (1996b) observa que “a fluoxetina crônica induz tolerância aos mecanismos pelos quais os níveis extracelulares de serotonina controlam a liberação de dopamina no córtex pré-frontal” (p.86), indicando a ocorrência de um processo de adaptação de longo prazo nesse sistema. Adaptações de longo prazo também ocorrem na sensibilidade e/ou expressão dos receptores do tipo D2, tal como estudados através dos métodos de hibridação *in situ* e de rádio-ligantes. De uma maneira geral, observa-se um aumento na expressão dos receptores D2 no núcleo *accumbens*, após tratamento prolongado com fluoxetina e outros antidepressivos (Ainsworth et al., 1998; Dziedzicka-Wasylewska, Rogoz, Klimek, & Maj, 1997; por exemplo). No

mesmo sentido, o tratamento com fluoxetina tem sido correlacionado com um aumento na ligação (*binding*) desses mesmos receptores (Ainsworth et al., 1998; Maj, Dziedzicka-Wasylewska, Rogoz, & Skuza, 1996). É importante notar que, embora os efeitos agudos de antidepressivos sejam importantes para a compreensão de seus mecanismos de ação, são os efeitos da administração crônica que caracterizam essas drogas em seu uso terapêutico.

Considerando esses dados, o presente trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da administração crônica de fluoxetina, um antidepressivo inibidor seletivo de recaptação de serotonina, sobre a eficácia de reforçadores condicionados. Para tanto duas etapas foram necessárias: a replicação e validação do modelo de reforço condicionado (Experimento 1) e o teste propriamente dito do efeito da fluoxetina (Experimento 2).

EXPERIMENTO 1 – REPLICAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MODELO DE REFORÇO CONDICIONADO

A fim de replicar e validar o modelo de Reforço Condicionado (RC), bem como de adaptar o procedimento aos equipamentos e condições disponíveis, foram realizados seis pequenos experimentos manipulando-se variáveis como: natureza do estímulo a ser condicionado (como nos Grupos 1, 2, 3 e 4); reforçador primário utilizado (Grupos 2, 3 e 5); modificação do procedimento com a inclusão de uma fase de modelagem (Grupo 4) e procedimento de administração de drogas (Grupo 6).

MÉTODO

SUJEITOS

Foram utilizados 38 ratos albinos, machos, Wistar, provenientes da Fundação Parque Zoológico de São Paulo, com idade aproximada de 3 meses. Após aclimatados às condições de biotério, foram alojados individualmente com água sempre disponível e a uma temperatura constante de 22 +/- 1°C. Antes do início da manipulação comportamental, foram privados de alimento (Grupos 1, 2B, 5 e 6) ou água (Grupos 2A, 3 e 4) até atingirem 80-85% de seu peso *ad lib* e então passaram a receber diariamente quantidades limitadas de comida (Grupos 1, 2B, 5 e 6) ou de água (Grupos 2A, 3 e 4).

EQUIPAMENTO

Para os Grupos 1, 5 e 6 foram utilizadas três a oito caixas experimentais fabricadas por *Med Associates Inc.*, de dimensões 32x25x21 cm, equipadas com uma lâmpada (2W) no centro da parede lateral esquerda, a 18 cm do chão da caixa. Na lateral direita a caixa possuía um receptáculo para pelotas de alimento (*Noyes Pellets* de 45 mg) centralizado a 2 cm de altura, duas barras colocadas uma de cada lado do receptáculo a 8 cm de altura e duas luzes de estímulo colocadas acima das barras a uma altura de 15 cm. Possuíam ainda uma campainha de tom contínuo localizada fora da caixa.

Para os grupos 2, 3 e 4 foram utilizadas oito caixas experimentais, fabricadas por *Med Associates Inc.*, de dimensões 30x23x20cm, equipadas com uma lâmpada (2W) no centro da lateral esquerda, a 17 cm do chão da caixa. Na lateral direita a caixa possuía um bebedouro centralizado a 2 cm de altura, duas barras colocadas uma de cada lado do bebedouro a 9 cm de altura e duas luzes de estímulo colocadas acima das barras a uma altura de 14 cm. Possuíam ainda uma campainha de tom contínuo e um relê que possuía som característico ("clique"), ambos localizados do lado de fora da caixa.

As caixas foram controladas, bem como os dados registrados, por um computador PC 386, através do programa Med-PC (*Med Associates Inc.*).

PROCEDIMENTO

O procedimento procurou seguir o modelo desenvolvido por Beninger e colaboradores (Ranaldi & Beninger, 1995; Sutton & Beninger, 1999). Como descrito acima, o procedimento básico se constitui de três fases: Pré-exposição, Condicionamento e Teste. Na primeira eram medidas respostas de pressão a duas barras; a pressão em cada uma tinha como consequência a apresentação de um dentre dois estímulos neutros. No Condicionamento as barras eram retiradas e um desses estímulos era pareado com um estímulo reforçador primário. Na fase de Teste retornava-se à mesma situação da fase de Pré-exposição. No entanto, várias alterações se mostraram necessárias a fim de adaptar o procedimento à realidade de nosso laboratório; essas modificações serão relatadas especificamente para cada grupo, sob o título de manipulação comportamental.

ANÁLISE DE DADOS

Os dados obtidos foram transformados em um índice de comparação entre Teste e Pré-exposição, denominado Índice de Eficácia. Esse índice corresponde à raiz quadrada da proporção entre a média dos resultados obtidos nos 30 minutos finais das sessões de Teste e a média dos resultados obtidos nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição, adicionando-se 1,0 ao numerador e ao denominador (a fim de minimizar a influência de números muito pequenos). A transformação (extração da raiz quadrada) desse índice tem por objetivo normalizar a distribuição para propósitos de análise (Ranaldi & Beninger, 1993). Índices com valor igual a 1,0

indicam que não houve alteração da eficácia do estímulo enquanto reforçador comparando-se o Teste com a Pré-exposição, valores abaixo de 1,0 indicam diminuição da eficácia enquanto reforçador, e valores acima de 1,0 indicam aumento da eficácia do estímulo enquanto reforçador. Os índices obtidos em cada uma das duas barras foram comparados através do Teste de Wilcoxon. No caso do Grupo 5 a diferença entre os dois tratamentos foi analisada através do Teste de Mann-Whitney realizado separadamente para cada uma das barras.

A) Grupo 1 - Piloto (N=3)

Manipulação comportamental: O procedimento para o grupo 1 se constituiu de três fases: 1. Pré-exposição (5 sessões), 2. Condicionamento (4 sessões) e 3. Teste (2 sessões). Na primeira fase, em cada uma das cinco sessões, os sujeitos eram colocados nas caixas, com a luz da caixa acesa. Cada resposta de pressão a uma das barras tinha como consequência 3 s de escuro (ESCURO), cada resposta na outra barra era consequenciada com um som de duração 3 s (TOM). A duração das sessões foi de 40 minutos. Na segunda fase as barras foram retiradas. Na primeira sessão, o estímulo a ser condicionado (ESCURO) era apresentado em intervalos randômicos de média 45 s, sempre seguidos pela apresentação de um pelota de alimento (estímulo reforçador primário). Nas três sessões seguintes esse estímulo a ser condicionado continuava a ser apresentado em intervalos randômicos, mas apenas em uma de cada três apresentações o estímulo reforçador primário era apresentado, também de forma aleatória. Nas duas sessões de Teste o procedimento foi igual ao das sessões de Pré-exposição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 pode-se observar os resultados obtidos pelos três sujeitos do Grupo 1 para as duas barras. Com relação à frequência de respostas percebe-se que as médias de frequência de respostas para a barra correspondente ao estímulo ESCURO é maior do que para a barra para o estímulo TOM, tanto na fase de Pré-exposição quanto na de Teste. Observa-se, também, que para a barra ESCURO houve uma diminuição da frequência de respostas no Teste, quando comparado com a Pré-exposição. Para o Índice de Eficácia não houve diferença significativa entre os dois grupos ($z=-1,63$, *ns*), indicando que o condicionamento do estímulo foi ineficaz.

Esses resultados apontam claramente para dois aspectos: o primeiro é a preferência que os sujeitos apresentaram pela barra correspondente ao estímulo escuro, já na fase de Pré-exposição, o que significa dizer que este não era inicialmente um estímulo neutro, mas sim um estímulo reforçador primário. O segundo aspecto é a diminuição do número de respostas na fase de Teste em relação à fase de Pré-exposição para a barra do estímulo condicionado, que se reflete no Índice de Eficácia com valor abaixo de 1,0 para esse estímulo. Verifica-se, assim, que não foi obtido o condicionamento do ESCURO como reforçador condicionado. Ao mesmo tempo, parece ter havido, também, uma perda na eficácia do estímulo ESCURO como reforçador. A fim de tornar o procedimento mais eficaz algumas modificações foram feitas para o Grupo 2.

Tabela 2

Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para o Grupo 1. ESCURO corresponde à barra de reforço condicionado e TOM à barra do estímulo neutro.

		RESPOSTAS NA PRÉ-EXPOSIÇÃO		RESPOSTAS NO TESTE		ÍNDICE DE EFICÁCIA	
		ESCURO	TOM	ESCURO	TOM	ESCURO	TOM
GRUPO 1 (N=3)	<i>Média</i>	32,7	6,7	20,1	6,8	0,9	1,1
	<i>EP</i>	13,9	2,3	5,0	0,2	0,2	0,2

B) Grupo 2 (N = 8)

Manipulação comportamental: O procedimento permaneceu basicamente o mesmo do Grupo 1, com duas únicas diferenças: a mudança no estímulo a ser condicionado, que deixa de ser 3 s de escuro para ser duas luzes de estímulo que apagam durante 3 s (luz apagada, LA), e a mudança do reforço primário de pelotas de alimento para água (Grupo 2A) ou leite (Grupo 2B). A primeira alteração visou sanar o problema do valor reforçador do estímulo utilizado anteriormente (escuro). A segunda alteração visou sanar uma dificuldade com o equipamento, na medida que outros experimentos do Laboratório de Psicofarmacologia tornavam inviável a utilização dos dispensadores de pelotas de alimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para os Grupos 2A e 2B estão apresentados na Tabela 3. Para o Grupo 2A percebe-se uma frequência maior de respostas na barra correspondente ao estímulo LA, durante a Pré-exposição. Essa diferença acentua-se

na fase de Teste. No entanto, a análise do Índice de Eficácia não revelou diferenças significativas entre as duas barras ($z=-0,73$, *ns*).

Para o Grupo 2B (Tabela 3), não houve diferenças nas frequências de respostas entre as duas barras, nem durante a fase de Pré-exposição, nem durante a fase de Teste. A análise do Índice de Eficácia não revelou diferenças significativas entre as duas barras ($z=0,00$, *ns*).

A análise dos resultados do Grupo 2A, portanto, indica uma pequena preferência pelo estímulo LA já na fase de Pré-exposição. Essa preferência se acentua na fase de Teste, como seria esperado. Esse aumento, no entanto, não foi forte o suficiente para que se pudesse afirmar que o condicionamento foi eficaz. Os resultados do Grupo 2B por outro lado, não apontam para qualquer efeito do condicionamento sobre a eficácia do estímulo LA como reforçador.

A partir desses resultados, e também levando-se em conta a literatura da área (Cador, Taylor, & Robbins, 1991; Taylor & Robbins, 1984), optou-se pela utilização de água como reforçador primário. A fim de verificar se mais alguma modificação seria necessária, optou-se por utilizar mais alguns sujeitos (grupo 3), uma vez que o número de sujeitos do grupo 2A foi bastante reduzido ($N = 4$).

Tabela 3

Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para os Grupos 2A e 2B. LA corresponde à barra de reforço condicionado e TOM à barra do estímulo neutro.

		RESPOSTAS NA PRÉ-EXPOSIÇÃO		RESPOSTAS NO TESTE		ÍNDICE DE EFICÁCIA	
		LA	TOM	LA	TOM	LA	TOM
GRUPO 2A (N=4)	<i>Média</i>	11,0	5,4	14,6	4,1	1,2	1,0
	<i>EP</i>	4,3	1,9	5,0	1,3	0,1	0,2
GRUPO 2B (N=4)	<i>Média</i>	5,7	5,7	4,4	5,9	0,9	1,0
	<i>EP</i>	1,4	1,5	1,4	2,2	0,1	0,2

C) Grupo 3 (N=8)

Manipulação comportamental: O procedimento para o grupo 3 permaneceu igual ao do grupo 2A, apenas o número de sujeitos foi aumentado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 4 mostra os resultados do Grupo 3. De início percebe-se que as frequências de respostas para as duas barras, durante a fase de Pré-exposição, são bastante baixas quando comparadas com as do Grupo 2A, cujo procedimento estava sendo replicado. Na fase de Teste percebe-se um aumento na frequência de respostas, tanto para a barra correspondente ao estímulo LA, quanto para a barra correspondente ao estímulo TOM. A análise do Índice de Eficácia revela que o Índice para o estímulo condicionado (LA) foi superior ao da barra do estímulo neutro (TOM). No entanto, essa diferença não se mostrou significativa ($z=-1,54$, *ns*).

O fato de o número de respostas dadas durante a fase de Pré-exposição ter sido bastante inferior, não apenas ao encontrado no Grupo 2A, mas também ao encontrado na literatura (Ranaldi, Pantalony, & Beninger, 1995), levou a algumas mudanças no procedimento. Essas mudanças foram baseadas na observação do comportamento de um sujeito, submetido a partes de todas as fases do procedimento, bem como em modelos encontrados na literatura da área.

Tabela 4

Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para o Grupo 3. LA corresponde à barra de reforço condicionado e TOM à barra do estímulo neutro.

		RESPOSTAS NA PRÉ-EXPOSIÇÃO		RESPOSTAS NO TESTE		ÍNDICE DE EFICÁCIA	
		LA	TOM	LA	TOM	LA	TOM
GRUPO 3 (N=8)	<i>Média</i>	0,6	1,5	3,6	3,2	1,7	1,3
	<i>EP</i>	0,1	0,5	0,9	1,0	0,2	0,2

D) Grupo 4 (N=7)

Manipulação comportamental: Na observação do comportamento de um sujeito percebeu-se a dificuldade que o modelo utilizado apresentava pela falta de qualquer tipo de modelagem. Inicialmente o sujeito passava por 5 sessões de extinção (partindo-se do pressuposto de que os estímulos utilizados eram neutros), depois passava por 4 sessões de condicionamento do estímulo, retornando então à situação inicial. Levando-se em conta o controle por estímulos contextuais, pareceria pouco provável a emergência de respostas anteriormente extintas. A fim de contornar esse problema procuramos juntar ao modelo utilizado a adaptação do que Ettenberg chamou de restauração de resposta (Ettenberg & Horvitz, 1990; Horvitz & Ettenberg, 1988).

Para tanto foram introduzidas duas novas fases. A primeira é uma modelagem da resposta de pressão a qualquer das duas barras. Em seguida, foram introduzidas duas sessões de CRF (reforço contínuo), cujo critério de encerramento foi de 80 respostas (soma das duas barras). Em seguida foi feita a Pré-exposição/Extinção, seguindo o modelo anterior, sendo o estímulo a ser condicionado relacionado à barra em que o sujeito menos respondeu durante a fase de CRF, procurando assim eliminar

a influência direta do CRF nos resultados da fase de Teste. Foram feitas tantas sessões quantas necessárias até que o número de respostas às duas barras não ultrapassasse dez respostas. Cabe ressaltar que o estímulo a ser condicionado também foi mudado, uma vez que foi observado que, durante a fase de Condicionamento, o comportamento de “permanecer com a cabeça no bebedouro” tinha frequência bastante alta, impossibilitando a percepção do estímulo LA (visual). Como novo estímulo condicionado foi utilizado o ruído (estímulo auditivo) feito por um relê (CLIQUE), cuja percepção não depende da posição do sujeito.

Também a partir da observação do comportamento, e de acordo com Ranaldi (comunicação pessoal), foi mudada a fase de Condicionamento, uma vez que no procedimento anterior havia três sessões em que o pareamento estímulo-reforço ocorria apenas em 33% das apresentações do estímulo, permitindo a discriminação entre duas contingências diferentes:

1) LA + barulho do bebedouro → S^r

2) LA → não S^r ,

sendo que no Teste havia apenas a apresentação de LA³. A nova fase de Condicionamento foi composta de duas sessões de pareamento 100% e duas de pareamento 33%, procurando minimizar o efeito da discriminação.

Na fase de Teste não houve qualquer modificação.

³ É importante salientar que esse problema existe principalmente quando se utiliza o dispensador de água, que possui um ruído característico, muitas vezes utilizado como estímulo reforçador condicionado em procedimentos operantes, uma vez que o pareamento é inevitável.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 5 apresenta os resultados para o Grupo 4, onde se pode observar um número maior de respostas, para ambas as barras, na fase de Pré-exposição, se comparado ao Grupo 3. O Índice de Eficácia também aumentou em relação ao Grupo 3; no entanto, o aumento aconteceu tanto para o estímulo neutro (TOM), quanto para o estímulo condicionado (CLIQUE). A comparação entre os Índices de Eficácia das duas barras não apresentou diferença significativa ($z=-0,49$, *ns*).

Esses resultados indicam que a introdução de uma fase inicial de modelagem foi eficaz no que se refere à frequência de respostas na Pré-exposição. Por outro lado, essa fase parece ter interferido com a especificidade da fase de Condicionamento, fazendo com que a frequência de respostas aumentasse na fase de Teste independentemente do estímulo associado a ela.

Tabela 5

Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para o Grupo 4. CLIQUE corresponde à barra de reforço condicionado e TOM à barra do estímulo neutro.

		RESPOSTAS NA PRÉ-EXPOSIÇÃO		RESPOSTAS NO TESTE		ÍNDICE DE EFICÁCIA	
		CLIQUE	TOM	CLIQUE	TOM	CLIQUE	TOM
GRUPO 4 (N=7)	<i>Média</i>	3,1	4,2	18,7	12,3	2,3	1,8
	<i>EP</i>	0,8	1,5	3,7	2,5	0,2	0,3

E) Grupo 5 (N=4)

Uma vez que o procedimento do Grupo 4 não apresentou os resultados desejados, e com a chegada de novos equipamentos ao Laboratório de Psicofarmacologia do IPUSP, foi possível voltar ao procedimento original de Ranaldi e Beninger (1993).

Manipulação comportamental: Para todos os experimentos o procedimento de reforço condicionado constituiu-se de três fases: (1) *Pré-exposição* (5 sessões), (2) *Condicionamento* (4 sessões) e (3) *Teste* (2 sessões). Na *Pré-exposição* cada sujeito foi colocado na caixa, com a luz da caixa acesa, bem como as duas luzes de estímulo. As respostas em uma das barras tiveram como consequência um período de 3 s durante o qual as luzes de estímulo foram apagadas (LA), e respostas na outra barra foram consequenciadas com um som de duração 3 s (TOM). A duração das sessões foi de 40 minutos. Na fase de *Condicionamento* as barras foram retiradas. Na primeira sessão, o estímulo a ser condicionado (3 s de LA) foi apresentado de acordo com intervalos randômicos de média 45 s, e foi sempre seguido pela apresentação de uma pelota de alimento (estímulo reforçador primário). Nas três sessões seguintes o estímulo a ser condicionado continuou a ser apresentado de acordo com intervalos randômicos, mas apenas em uma de cada três apresentações o estímulo reforçador primário foi apresentado. Na fase de *Teste* houve duas sessões de Teste, cujo procedimento foi igual ao das sessões de *Pré-exposição*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 6 apresenta os dados do Grupo 5. Observa-se um aumento na frequência de respostas na barra LA na fase de Teste, quando comparada à frequência obtida na fase de *Pré-exposição*. Esse aumento se reflete no Índice de Eficácia, mas a diferença entre LA e TOM apresentou apenas uma tendência à significância ($z=-1,83$, $p<0,07$).

Tabela 6

Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para o Grupo 5. LA corresponde à barra de reforço condicionado e TOM à barra do estímulo neutro.

		RESPOSTAS NA PRÉ-EXPOSIÇÃO		RESPOSTAS NO TESTE		ÍNDICE DE EFICÁCIA	
		LA	TOM	LA	TOM	LA	TOM
GRUPO 5 (N=4)	<i>Média</i>	0,8	1,7	7,4	1,6	2,2*	1,0
	<i>EP</i>	0,2	0,6	0,2	1,1	0,2	0,2

* $p < 0,07$, comparado à barra controle (TOM)

No entanto, analisando os dados individuais apresentados na Figura 1, observa-se que todos os sujeitos apresentaram índices acima de 1,0 para a barra de LA, e apenas o sujeito 179 apresentou índices próximos para as duas barras. Portanto o resultado foi considerado satisfatório, de forma que se optou por manter esse procedimento para os grupos seguintes.

Figura 1 – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos do Grupo 5. TOM corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado.

F) Grupo 6 (N=8)

O procedimento utilizado com este grupo teve como objetivo específico avaliar a adequação do esquema de administração crônica da droga, uma vez que tradicionalmente o modelo tem sido utilizado para testar o efeito de administração aguda de drogas.

Manipulação farmacológica: A fluoxetina (FLX) HCl (Lilly) foi dissolvida em salina e *Tween 80* e aplicada intraperitonealmente na proporção de 1 ml/kg, durante 30 dias, em horário fixo. Após 20 dias de tratamento dos animais deu-se início à manipulação comportamental. Durante o procedimento de Reforço Condicionado as injeções foram aplicadas entre 1 e 3 horas após a sessão. Os animais foram separados em dois grupos Experimental 6 (FLX 5,00 mg/kg; $N=4$) e Controle 6 (Veículo; $N=4$).

Manipulação comportamental: Não houve qualquer modificação na manipulação comportamental em relação ao Grupo 5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 7 apresenta os dados do Grupo 6. A análise do Índice de Eficácia, quando considerados os dados dos dois grupos ($N=8$), revela uma diferença significativa entre LA e TOM ($z=-2,52$, $p<0,05$). A diferença entre os dois grupos, para os Índices de Eficácia, não se mostrou significativa nem para a barra LA ($U=6,00$, ns), nem para a barra TOM ($U=4,00$; ns).

Os resultados obtidos foram considerados satisfatórios, uma vez que o condicionamento foi eficaz e específico para a barra LA. O procedimento de administração crônica também se mostrou adequado, não se considerando necessárias modificações nem na manipulação farmacológica, nem na manipulação comportamental

Tabela 7

Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para os Grupos Controle 6 e Experimental 6. LA corresponde à barra de reforço condicionado e TOM à barra do estímulo neutro.

		RESPOSTAS NA PRÉ-EXPOSIÇÃO		RESPOSTAS NO TESTE		ÍNDICE DE EFICÁCIA	
		LA	TOM	LA	TOM	LA	TOM
Controle 6 (N=4)	<i>Média</i>	0,2	0,1	9,0	0,4	2,7*	1,1
	<i>EP</i>	0,1	0,1	4,2	0,4	0,6	0,1
Experimental 6 (N=4)	<i>Média</i>	0,4	0,1	12,1	1,6	2,9*	1,5
	<i>EP</i>	0,4	0,1	4,9	1,0	0,7	0,3

* $p < 0.05$, comparado à barra correspondente ao estímulo TOM

CONCLUSÃO

A partir dos dados apresentados pode-se concluir que o estímulo LA (3 s de luzes de estímulo apagadas) se mostrou o mais adequado para ser usado como reforçador condicionado, pois, de uma maneira geral, apresentou pouca ou nenhuma eficácia como reforçador primário, ao mesmo tempo que se mostrou passível de ser transformado em um estímulo reforçador condicionado.

Quanto aos reforçadores primários utilizados, as pelotas de alimento se mostraram mais eficazes na fase de Condicionamento. A água (Grupo 2A e 3) apresenta uma eficácia menor do que as pelotas, porém superior ao leite, que se demonstrou ineficaz nesse procedimento (Grupo 2B).

Quanto às mudanças propostas para o procedimento, estas se demonstraram ineficazes e desnecessárias, tendo sido o procedimento original proposto por Ranaldi e Beninger (1993) considerado o mais adequado. A manipulação farmacológica, no que diz respeito ao esquema de administração propriamente dito, se mostrou adequada para o prosseguimento dos experimentos.

EXPERIMENTO 2 – EFEITO DA FLUOXETINA SOBRE A EFICÁCIA DE REFORÇADORES CONDICIONADOS

Uma vez replicado e validado o modelo de RC (vide Experimento 1), passou-se ao estudo do efeito do tratamento crônico com fluoxetina sobre a eficácia de reforçadores condicionados. A partir dos primeiros resultados obtidos com o tratamento crônico com fluoxetina (Grupos FLX2,5 e VEI2,5; Experimento 2), pôde-se perceber que a duração da privação de alimento poderia interferir com o efeito da fluoxetina, já que a privação é considerada como um estressor (Willner et al., 1992b). A partir desses resultados passou-se a manipular, não apenas a dose de fluoxetina administrada, mas também a duração total da privação de alimento.

MÉTODO

SUJEITOS

Foram utilizados 105 ratos albinos, machos, Wistar, com idade aproximada de 3 meses, provenientes de criação do biotério do Instituto de Psicologia da USP. Foram alojados individualmente a uma temperatura constante de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, com água e ração Purina para roedores disponíveis. Após um período de manuseio de aproximadamente uma semana iniciou-se o tratamento com fluoxetina (grupos FLX) ou com o veículo da droga (grupos VEI). Após 7 dias de tratamento (24 dias de privação no total) para os grupos P24 (ver Figura 2), e após 14 dias, para os grupos

P17 (17 dias de privação no total), os sujeitos foram privados de alimento até atingirem 80-85% de seu peso *ad lib* e depois mantidos com aproximadamente 14 g de ração por dia.

EQUIPAMENTO

Foram utilizadas de seis a dez caixas experimentais, fabricadas por *Med Associates Inc.* Cada uma delas tem a dimensão de 32 x 25 x 21 cm, e é equipada com uma lâmpada (2W) localizada no centro da parede lateral esquerda, a 18 cm do chão da caixa. Na lateral direita cada caixa possui um receptáculo para pelotas (*Noyes Pellets* de 45 mg) centralizado a 2 cm de altura, duas barras colocadas uma de cada lado do receptáculo a 8 cm de altura e duas luzes de estímulo colocadas acima das barras a uma altura de 15 cm. Fora de cada caixa há ainda uma campainha *Sonalert* de tom contínuo. As caixas são controladas e os dados registrados por um computador PC 386, através de programa específico desenvolvido para a linguagem Med-PC.

PROCEDIMENTO

Manipulação farmacológica: A fluoxetina HCl (Lilly) foi dissolvida em salina e *Tween 80* e aplicada intraperitonealmente na proporção de 1ml/kg, durante 30 dias, em horário fixo. Durante o procedimento de Reforço Condicionado as injeções foram aplicadas entre 1 e 3 horas após a sessão. A divisão dos grupos está esquematizada na Tabela 8. Os sujeitos foram divididos em doze grupos de peso médio equivalente de

acordo com a dose e o esquema de privação: FLX-1,25P17 ($N=9$), VEI-1,25P17 ($N=9$), FLX-2,5 e FLX-2,5P17 ($N=9$ para os dois grupos), VEI-2,5 e VEI-2,5P17 ($N=7$ para o grupo 2,5 e $N=10$ para o grupo 2,5P17), FLX-5P17 ($N=9$), VEI-5P17 ($N=8$), FLX-1,25P24 ($N=9$), VEI-1,25P24 ($N=9$), FLX-5P24 ($N=9$) e VEI-5P24 ($N=8$). Após 20 dias de tratamento farmacológico dos animais deu-se início à manipulação comportamental em que os diferentes grupos e seus controles foram sucessivamente submetidos ao procedimento (Figura 2).

Tabela 8

Divisão dos grupos de acordo com o tratamento e a duração da privação

Tratamento	FLX	VEÍ	FLX	VEÍ	FLX	VEÍ
Dose	1,25 mg	-	2,50 mg	-	5,00 mg	-
			FLX2,5 ⁴	VEI2,5		
24 dias de privação	FLX1,25P24	VEI1,25P24	FLX2,5P24	VEI2,5P24	FLX5P24	VEI5P24
17 dias de privação	FLX1,25P17	VEI1,25P17			FLX5P17	VEI5P17

Manipulação comportamental: Em todos os experimentos o procedimento de reforço condicionado consistiu em três fases: (1) *Pré-exposição* (5 sessões), (2) *Condicionamento* (4 sessões) e (3) *Teste* (2 sessões). Na *Pré-exposição* cada sujeito foi colocado na caixa, com a luz da caixa e as duas luzes de estímulo acesas. As respostas de pressão em uma das barras tiveram como consequência 3 s em que as luzes de estímulo foram apagadas (LA), e respostas na outra barra foram consequenciadas com um som de duração 3 s (TOM). A duração de cada sessão foi de 40 minutos. Na fase de *Condicionamento* as barras foram retiradas. Na primeira sessão, o estímulo a ser condicionado (3 s de LA) foi apresentado de em intervalos

⁴ Para os Grupos FLX-2,5 e VEI-2,5 não existiu o controle da duração total da privação

randômicos de média 45 s, e foi sempre seguido pela apresentação de uma pelota de alimento (estímulo reforçador primário). Nas três sessões seguintes o estímulo a ser condicionado continuou a ser apresentado em intervalos randômicos, mas apenas em uma de cada três apresentações o estímulo reforçador primário foi apresentado, também de maneira randômica. Na fase de Teste houve duas sessões de teste, cujo procedimento foi igual ao das sessões de Pré-exposição.

Figura 2 - Distribuição da manipulação farmacológica, comportamental e da privação ao longo dos 31 dias de experimento.

ANÁLISE DE DADOS

Os dados obtidos foram transformados em um índice de comparação entre Teste e Pré-exposição, que denominamos Índice de Eficácia. Esse índice corresponde à raiz quadrada da proporção entre a média dos resultados obtidos nos 30 minutos finais das sessões de Teste e a média dos resultados obtidos nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição, adicionando-se 1,0 ao numerador e ao denominador (a fim de minimizar a influência de números muito pequenos). A transformação (extração da raiz quadrada) nesse índice tem por objetivo normalizar a distribuição para

propósitos de análise (Ranaldi & Beninger, 1993). Índices com valor igual a 1,0 indicam que não houve alteração da eficácia do estímulo enquanto reforçador comparando-se o Teste com a Pré-exposição, valores abaixo de 1,0 indicam diminuição da eficácia do estímulo enquanto reforçador e valores acima de 1,0 indicam aumento da eficácia do estímulo enquanto reforçador. O índice obtidos pelos sujeitos de cada grupo experimental foram comparados com os obtidos por seu respectivo grupo controle através de uma análise de variância de medidas repetidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados foram organizados por sua ordem cronológica procurando tornar mais clara a racional subjacente à realização dos experimentos. A Tabela 9 apresenta a média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia (ver sessão Análise de Dados, acima) para todos os grupos. De uma maneira geral percebe-se que a variação nas médias de respostas durante as fases de Pré-exposição e de Teste se reflete nas médias do Índice de Eficácia, podendo este ser considerado como uma medida confiável da alteração comportamental ocorrida de uma fase para a outra.

Tabela 9

Média e erro padrão das respostas dadas nos 30 minutos finais das sessões de Pré-exposição e Teste, e do Índice de Eficácia para os grupos FLX-2,5 e VEI-2,5 e para os Grupos P17. LA corresponde à barra do reforço condicionado e Tom corresponde à barra do estímulo neutro.

GRUPO		RESPOSTAS NA PRÉ-EXPOSIÇÃO		RESPOSTAS NO TESTE		ÍNDICE DE EFICÁCIA	
		LA	TOM	LA	TOM	LA	TOM
FLX-2,5 (N=9)	<i>Média</i>	1,8	1,7	14,9	2,9	2,5	1,2
	<i>EP</i>	0,2	0,2	0,9	0,3	0,3	0,1
VEI-2,5 (N=7)	<i>Média</i>	1,2	1,3	7,3	0,9	1,6	0,9
	<i>EP</i>	0,4	0,3	3,3	0,3	0,3	0,1
FLX-1,25P17 (N=9)	<i>Média</i>	1,2	1,7	14,0	2,4	2,5	1,1
	<i>EP</i>	0,3	0,6	3,8	0,8	0,4	0,1
VEI-1,25P17 (N=9)	<i>Média</i>	0,8	1,0	13,9	3,1	2,7	1,4
	<i>EP</i>	0,3	0,3	4,4	1,2	0,4	0,2
FLX-5P17 (N=9)	<i>Média</i>	1,0	1,0	12,4	3,8	2,7	1,5
	<i>EP</i>	0,5	0,4	4,3	1,5	0,6	0,2
VEI-5P17 (N=8)	<i>Média</i>	1,3	1,2	20,4	3,2	2,9	1,4
	<i>EP</i>	0,3	0,4	5,7	0,8	0,4	0,1
FLX-2,5P17 (N=9)	<i>Média</i>	1,5	2,0	13,0	3,8	2,2	1,3
	<i>EP</i>	0,4	0,4	4,9	1,0	0,4	0,1
VEI-2,5P17 (N=10)	<i>Média</i>	2,2	1,7	18,0	2,8	2,4	1,2
	<i>EP</i>	0,6	0,5	4,3	0,6	0,3	0,1
FLX-1,25P24 (N=9)	<i>Média</i>	1,6	1,1	15,9	2,9	2,4	1,4
	<i>EP</i>	0,4	0,4	3,6	0,9	0,2	0,1
VEI-1,25P24 (N=9)	<i>Média</i>	1,0	1,0	20,1	3,0	3,0	1,5
	<i>EP</i>	0,5	0,5	5,6	1,0	0,4	0,2
FLX-5P24 (N=9)	<i>Média</i>	2,0	1,2	20,8	2,6	2,7	1,3
	<i>EP</i>	0,5	0,4	4,1	0,4	0,4	0,1
VEI-5P24 (N=8)	<i>Média</i>	0,9	1,1	14,1	0,8	2,7	1,0
	<i>EP</i>	0,3	0,4	3,4	0,3	0,5	0,1

A Figura 3 apresenta a média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-2,5 e VEI-2,5. Observa-se um efeito principal de Barra [$F(1,16) = 19,50$, $p < 0,01$] e um efeito principal de Tratamento [$F(1,16) = 5,65$, $p < 0,05$]. Porém, não houve interação entre os dois fatores [$F(1,16) = 0,60$, ns], indicando que houve uma diferença entre os dois grupos, mas não um aumento seletivo do índice relativo ao estímulo LA.

Este aumento inespecífico do índice de eficácia poderia estar indicando uma atividade motora maior no grupo FLX-2,5 quando comparado ao seu respectivo controle, uma vez que representa um aumento na frequência de respostas nas duas barras.

Figura 3 – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-2,5 e VEI-2,5. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado. * $p < 0,01$ comparado à barra Tom; ✱ $p < 0,05$ comparado ao grupo VEI-2,5

A análise dos dados individuais dos 16 sujeitos é apresentada na Figura 4. Como se vê, no grupo FLX-2,5 apenas um sujeito (164) não apresentou preferência pela barra associada ao estímulo LA, enquanto que, no grupo VEI-2,5, três sujeitos não apresentaram preferência pelo estímulo LA (168, 170 e 171).

Figura 4 – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-2,5 e VEI-2,5. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado.

Figura 5 – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-1,25P17 e VEI-1,25P17. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado.* $p < 0,01$ comparado à barra Tom

A Figura 5 mostra a comparação do Índice de Eficácia entre os grupos FLX-1,25P17 e VEI-1,25P17. Há um efeito principal do fator Barra [$F(1,18) = 30,85$, $p < 0,01$], mas não um efeito do Tratamento [$F(1,18) = 0,25$, ns], indicando que o estímulo LA foi mais eficaz do que o estímulo TOM. Porém, não houve diferença entre os grupos, indicando que na dose de 1,25 mg/kg a fluoxetina não alterou a

eficácia do estímulo LA enquanto reforçador. De fato, quando são analisados os dados individuais mostrados na Figura 6, percebe-se que apenas dois sujeitos, de um total de nove, do grupo FLX-1,25P17 (192 e 204) não apresentaram preferência pela barra associada ao estímulo LA. De modo similar, no grupo VEI 1,25P17, três sujeitos (201, 206 e 209), de um total de nove, não apresentaram preferência pela barra do estímulo LA.

Figura 6 – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-1,25P17 e VEI-1,25P17. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado.

Esses resultados indicam que o condicionamento foi eficaz, uma vez que a eficácia do estímulo LA como reforçador é maior do que a do estímulo TOM. Indicam também que a fluoxetina, na dose de 1,25 mg/kg, não alterou a eficácia do reforçador condicionado, uma vez que não houve diferença entre os dois tratamentos.

Figura 7 – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-5P17 e VEI-5P17. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado. * $p < 0,01$ comparado à barra Tom

A Figura 7 apresenta a média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-5P17 e seu respectivo controle VEI-5P17. A análise dos dados revelou a ocorrência de um efeito principal de Barra [$F(1,17) = 20,42, p < 0,01$], mas não do Tratamento [$F(1,17) = 0,02, ns$], indicando que houve uma preferência pela barra associada ao estímulo LA nos dois grupos. A análise dos dados individuais, apresentados na Figura 8, mostra que apenas dois sujeitos do grupo FLX-5P17 (184 e 193) não apresentaram preferência pelo estímulo LA. Já no grupo VEI todos os sujeitos apresentaram preferência pelo estímulo LA.

Esses dados indicam que o condicionamento foi eficaz, mas o tratamento com fluoxetina, nessa dose, não alterou a eficácia do estímulo LA como reforçador

Figura 8 – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-5P17 e VEI-5P17. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado.

Uma vez que as doses de 1,25 mg/kg e 5,00 mg/kg não afetaram a eficácia do estímulo LA enquanto reforçador, optou-se pela replicação da dose de 2,5 mg/kg, dessa vez com controle da duração da privação, levantada como uma possível variável estranha ao delineamento experimental, uma vez que para os grupos FLX-2,5 e VEI-2,5 não houve a preocupação com a duração da privação como um fator importante. Foi então realizado o experimento com os grupos FLX-2,5P17 e VEI-2,5P17.

Figura 9 – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-2,5P17 e VEI-2,5P17. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado. * $p < 0,01$ comparado à barra Tom

A Figura 9 apresenta a comparação entre os grupos FLX-2,5P17 e VEI-2,5P17. A análise dos dados revelou um efeito principal de Barra [$F(1,17) = 16,28$, $p < 0,01$], mas não um efeito principal de Tratamento [$F(1,17) = 0,16$, ns].

A análise dos dados individuais é apresentada na Figura 10. Mostra que os grupos se comportaram de maneira similar. Para o grupo FLX-2,5P17 três sujeitos não apresentaram preferência pelo estímulo LA (181, 185 e 189), e para o grupo VEI-2,5P17 apenas dois sujeitos não apresentaram preferência pelo reforço condicionado (186 e 199).

Esses dados indicam que o estímulo LA foi mais eficaz do que o estímulo TOM, ou seja, que o condicionamento foi eficaz, mas que o tratamento com fluoxetina não alterou a eficácia do reforço condicionado.

Figura 10 – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-2,5P17 e VEI-2,5P17. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado.

Esse resultado favorece a hipótese de que houve uma variável estranha ao delineamento experimental atuando sobre o grupo VEI-2,5. De fato, quando se examina a Tabela 9 pode-se observar que o Índice de Eficácia associado ao reforço condicionado, para o grupo VEI-2,5, está abaixo do Índice para os demais grupos, indicando uma diminuição na eficácia do estímulo LA enquanto reforçador.

Considerando-se que privação de comida é um fator de estresse para os animais, que a exposição prolongada ao estresse pode estar relacionada com a diminuição da eficácia de reforçadores e que os efeitos da exposição ao estresse prolongado são impedidos por antidepressivos (Willner et al., 1992a; Willner et al., 1992b), poderia ter ocorrido, não um efeito de tratamento, mas uma interação entre tratamento e regime de privação. A fim de testar essa hipótese, novo experimento foi realizado, dessa vez manipulando-se não apenas o tratamento, mas também a duração da privação, que foi então aumentada para 24 dias.

Figura 11 – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-1,25P24 e VEI-1,25P24. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado. * $p < 0,01$ comparado à barra Tom

Na Figura 11 é apresentada a análise dos dados dos grupos FLX-1,25P24 e seu respectivo controle VEI-1,25P24. Revela um efeito principal de Barra [$F(1,16) = 27,81$, $p < 0,01$], mas não qualquer efeito do Tratamento [$F(1,16) = 1,22$, ns], indicando que houve preferência pela barra associada ao estímulo LA nos dois grupos. A análise dos dados individuais apresentada na Figura 12 mostra que apenas um sujeito do grupo FLX-1,25P24 (194) não apresentou preferência pelo estímulo LA. Já no grupo VEI-1,25P24 dois sujeitos não apresentaram preferência pelo estímulo LA (192 e 207).

Os dados apresentados indicam que, embora o condicionamento tenha sido efetivo, o tratamento com fluoxetina, na dose de 1,25 mg/kg, em animais expostos a um regime de privação de duração total de 24 dias, não alterou a eficácia do estímulo LA enquanto reforçador condicionado.

Figura 12 – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-1,25P24 e VEI-1,25P24. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado.

Figura 13 – Média e erro padrão do Índice de Eficácia para os grupos FLX-5P24 e VEI-5P24. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado. * $p < 0,01$ comparado à barra Tom

Na Figura 13 é apresentada a comparação entre os grupos FLX-5P24 e VEI-5P24. Houve um efeito principal do fator Barra [$F(1,15) = 28,08$, $p < 0,01$], mas não um efeito do fator Tratamento [$F(1,15) = 0,44$, ns], indicando que ambos os grupos apresentaram preferência pela barra associada ao estímulo LA, mas não houve efeito do tratamento com fluoxetina. A análise dos dados individuais, mostrada na Figura 14, revela que apenas dois sujeitos do grupo VEI-5P24 (192 e 207) não apresentaram preferência pelo estímulo LA. De modo similar, apenas um sujeito do grupo FLX-5P24 não apresentou preferência pelo estímulo LA.

Os dados indicam que o condicionamento foi eficaz, mas que a fluoxetina (5,00 mg/kg), mesmo em conjunto com uma privação de 24 dias, não alterou a eficácia do estímulo LA enquanto reforçador.

Figura 14 – Índice de Eficácia para cada um dos sujeitos dos grupos FLX-5P24 e VEI-5P24. Tom corresponde à barra do estímulo neutro e LA à barra do reforço condicionado.

CONCLUSÃO

De uma maneira geral, pode-se concluir que a fluoxetina, nas doses testadas, não alterou a eficácia de reforçadores condicionados. O efeito do fator Tratamento obtido na comparação dos grupos FLX2,5 e VEI2,5, poderia ser interpretado como um efeito sobre a atividade motora em geral. Essa hipótese não é sustentada por nenhum dos outros dados obtidos. Uma hipótese alternativa é a de que a fluoxetina poderia estar interagindo com alguma variável estranha ao delineamento, sendo a diferença obtida produto dessa interação. Outro fator que depõe contra a hipótese de aumento na atividade motora é que durante a fase de Pré-exposição os sujeitos já haviam passado por 20 dias de tratamento com a droga e, portanto, deveriam ter manifestado esse aumento na atividade motora já nesta fase. Se tal tivesse ocorrido, não haveria diferenças entre o índices dos dois grupos, uma vez que o índice é uma maneira de representar a comparação entre a fase de Teste e a de Pré-exposição.

Levantou-se a hipótese de que a variável estranha ao delineamento poderia ser algum tipo de estresse. Dentre os estressores conhecidos, a privação de alimento foi o único fator que fez parte do procedimento experimental, embora, de início, não houvesse uma preocupação específica com sua duração, mas sim com a percentagem do peso a ser atingida (85%). Como descrito anteriormente os procedimentos de exposição crônica ao estresse parecem diminuir a sensibilidade a estímulos reforçadores primários e condicionados (Willner et al., 1992b). Assim, a hipótese seria a de que o estresse diminuiu a eficácia do reforço condicionado no grupo VEI2,5, e não a de que houve um aumento na eficácia do reforço condicionado para o grupo FLX2,5.

Procurou-se, então, testar a hipótese de que a duração da privação a que os sujeitos dos grupos VEI2,5 e FLX2,5 foram expostos influenciou os resultados. Para tanto replicou-se a dose de 2,50 mg/kg, com a duração de privação de 17 dias e foram feitos experimentos com as doses de 1,25 e 5,00 mg/kg com uma privação mais longa (24 dias).

Uma vez que a análise dos dados dos grupos expostos a privação de duração de 24 dias não revelou qualquer diferença entre os grupos tratados com fluoxetina e veículo, concluiu-se que a duração da privação não foi o fator determinante dos resultados apresentados pelos grupos FLX-2,5 e VEI-2,5.

No entanto, a hipótese de que algum fator de estresse possa ter atuado e interagido com o tratamento com fluoxetina não foi descartada. A fim de testar essa hipótese seria necessária a manipulação do estresse propriamente dito, como, por exemplo, utilizando-se o modelo de anedonia induzida por estresse moderado crônico (Willner et al., 1992b).

Cabe ressaltar que o resultado obtido com os grupos VEI2,5 e FLX2,5 indicam que o procedimento utilizado pode ser sensível aos efeitos de antidepressivos e da exposição a estressores crônicos. Caberia, portanto, tanto a investigação dos efeitos de outros antidepressivos (tricíclicos e iMAOs, por exemplo), quanto a investigação dos efeitos da exposição a estressores.

Outra sugestão para esclarecer o efeito de antidepressivos no sistema neural relacionado ao reforço seria investigar, através do modelo de reforço condicionado, se ocorre sensibilização dos receptores D2 após o tratamento crônico com antidepressivos. Tal teste poderia ser realizado, por exemplo, através da administração de agonistas D2 (bromocriptina ou quimpirol, por exemplo) antes da

fase de Teste em animais que passaram por tratamento crônico com antidepressivos, tendo como grupo controle animais tratados com veículo e que recebam a mesma dose do agonista D2 (Collu et al., 1997; Serra et al., 1992).

CONCLUSÃO GERAL

A partir do Experimento 1 pode-se concluir que o procedimento utilizado, com pelotas de alimento como reforçador primário e com o estímulo LA como reforço condicionado é válido. Conclui-se, também, que a manipulação comportamental proposta pode ser utilizada em conjunto com a administração crônica de drogas.

Os dados do Experimento 2, por sua vez, sugerem que a fluoxetina, nas doses de 1,25, 2,5 e 5 mg/kg, não altera diretamente a eficácia de reforçadores condicionados. Indicam, também, que a privação de 24 dias não foi um fator de interação com o tratamento. No entanto, a hipótese de que alguma variável não programada tenha sido fonte de algum tipo de estresse não fica afastada. Outros estudos se fazem necessários a fim de investigar a relação entre a eficácia de reforçadores condicionado e os efeitos de substâncias antidepressivas, incluindo o estudo de outros antidepressivos, do efeito da exposição a estressores e das alterações de longo prazo nos mecanismos neurais de reforço.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainsworth, K., Smith, S. E., Zetteström, T. S. C., Pei, Q., Franklin, M., & Sharp, T. (1998). Effect of antidepressant drugs on dopamine D1 and D2 receptor expression and dopamine release in the nucleus accumbens of the rat. *Psychopharmacology*, 140, 470-477.
- Bozarth, M. A. (1991). The Mesolimbic Dopamine System as a Model Reward System. In P. Willner & J. Scheel-Krüger (Eds.), *The Mesolimbic Dopamine System: From Motivation to Action* (pp. 301-330). London: John Wiley & Sons Ltd.
- Cador, M., Taylor, J. R., & Robbins, T. W. (1991). Potentiation of the effects of reward-related stimuli by dopaminergic-dependent mechanisms in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 104, 377-385.
- Cavalcante, S. N. (1997). Notas sobre o fenômeno depressão a partir de uma perspectiva analítico-comportamental. *Psicologia Ciência e Profissão*, 17(2), 2-12.
- Collu, M., Poggiu, A. S., Devoto, P., & Serra, G. (1997). Behavioural sensitization of mesolimbic dopamine D₂ receptors in chronic fluoxetine-treated rats. *European Journal of Pharmacology*, 322, 123-127.
- Costello, C. G. (1972). Depression: loss of reinforcers or loss of reinforcer effectiveness? *Behavior Therapy*, 3, 240-247.
- Donahoe, J. W., Burgos, J. E., & Palmer, D. C. (1993). Selectionist approach to reinforcement. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 60, 17-40.

- Donahoe, J. W., & Palmer, D. C. (1994). *Learning and complex behavior*. Boston: Allyn & Bacon.
- Dziedzicka-Wasylewska, M., Rogoz, R., Klimek, V., & Maj, J. (1997). Repeated administration of antidepressant drugs affects the levels of mRNA coding for D1 and D2 dopamine receptors in the rat brain. *Journal of Neural Transmission*, 104, 515-524.
- Ettenberg, A., & Horvitz, J. C. (1990). Pimozide prevents the response-reinstating effects of water reinforcement in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 37(3), 465-9.
- Ferster, C. B. (1973). A functional analysis of depression. *American Psychologist*, 28(10), 857-870.
- Ferster, C. B., Culbertson, S., & Boren, M. C. P. (1977). *Princípios do comportamento*. São Paulo: HUCITEC/EDUSP.
- Horvitz, J. C., & Ettenberg, A. (1988). Haloperidol blocks the response-reinstating effects of food reward: a methodology for separating neuroleptic effects on reinforcement and motor processes. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 31(4), 861-865.
- Lewinsohn, P. M. (1973). Clinical and Theoretical Aspects of Depression. In K. S. Calhoun, H. E. Adams, & K. M. Mitchell (Eds.), *Innovative treatment methods in psychotherapy*. New York.
- Maj, J., Dziedzicka-Wasylewska, M., Rogoz, R., & Skuza, G. (1996). Antidepressant drugs given repeatedly change the binding of the dopamine D₂ receptor agonist [³H]N-0437, to dopamine D₂ receptors in the rat brain. *European Journal of Pharmacology*, 304, 49-54.

- Millenson, J. R., & Leslie, J. C. (1979). Conditioned reinforcement and chaining, *Principles of Behavioral Analysis* (pp. 145-164).
- Moisan, J., & Rompré, P.-P. (1998). Electrophysiological evidence that a subset of midbrain dopamine neurons integrate the reward signal induced by electrical stimulation of the posterior mesencephalon. *Brain Research*, 786, 143-152.
- Olds, J. (1956). Pleasure centers in the brain. *Scientific American*, 195, 105-116.
- Papp, M., Muscat, R., & Willner, P. (1993). Subsensitivity to rewarding and locomotor stimulant effects of a dopamine agonist following chronic mild stress. *Psychopharmacology Berl*, 110(1-2), 152-8.
- Ranaldi, R., & Beninger, R. J. (1995). Bromocriptine enhancement of responding for conditioned reward depends on intact D1 receptor function. *Psychopharmacology*, 118(4), 437-43.
- Ranaldi, R., Pantalony, D., & Beninger, R. J. (1995). The D1 agonist SKF 38393 attenuates amphetamine-produced enhancement of responding for conditioned reward in rats. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*, 52(1), 131-7.
- Sampson, D., Willner, P., & Muscat, R. (1991). Reversal of antidepressant action by dopamine antagonists in an animal model of depression. *Psychopharmacology*, 104(4), 491-5.
- Serra, G., Collu, M., D'Aquila, P., & Gessa, G. L. (1992). Role of the mesolimbic dopamine system in the mechanism of action of antidepressants. *Pharmacology and Toxicology*, 71(Suppl. 1), 72-85.

- Sutton, M. A., & Beninger, R. J. (1999). Psychopharmacology of conditioned reward: evidence for a rewarding signal at D1-like dopamine receptors. *Psychopharmacology*, 144, 95-110.
- Tanda, G., Bassareo, V., & Di Chiara, G. (1996a). Mianserin markedly and selectively increases extracellular dopamine in the prefrontal cortex as compared to the nucleus accumbens of the rat. *Psychopharmacology*, 123, 127-130.
- Tanda, G., Carboni, E., Frau, R., & Di Chiara, G. (1994). Increase of extracellular dopamine in the prefrontal cortex: a trait of drugs with antidepressant potential? *Psychopharmacology*, 115, 285-288.
- Tanda, G., Frau, R., & Di Chiara, G. (1996b). Chronic deipramine and fluoxetine differentially affect extracellular dopamine in the rat prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, 127, 83-87.
- Taylor, J. R., & Robbins, T. W. (1984). Enhanced behavioural control by conditioned reinforcers following microinjections of d-amphetamine into the nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 84, 405-412.
- Willner, P. (1991). Animal models as simulations of depression. *Trends Pharmacol Science*, 12(4), 131-6.
- Willner, P. (1995). Sensitization of dopamine D2 or D3 type receptors as a final common pathway in antidepressant drug action. *Clinical Neuropharmacology*, 18(Suppl. 1), S49-S56.
- Willner, P., Muscat, R., & Papp, M. (1992a). An animal model of anhedonia. *Clin Neuropharmacol*, 15 Suppl 1 Pt A, 550a-551a.

- Willner, P., Muscat, R., & Papp, M. (1992b). Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*, 16(4), 525-34.
- Willner, P., Towell, A., & Sophokleous, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 93, 358-364.
- Wise, R. A., & Rompre, P. P. (1989). Brain dopamine and reward. *Ann. Rev. Psychol.*, 40, 191-225.