UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

EDUARDO DE FREITAS BERNARDES

**EFEITOS DA OMISSÃO DO REFORÇO SOBRE O REPERTÓRIO
COMPORTAMENTAL EM RATOS COM LESÃO DO NÚCLEO
ACCUMBENS.**

RIBEIRÃO PRETO - SP

2015

EDUARDO DE FREITAS BERNARDES

**EFEITOS DA OMISSÃO DO REFORÇO SOBRE O REPERTÓRIO
COMPORTAMENTAL EM RATOS COM LESÃO DO NÚCLEO
ACCUMBENS.**

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo como parte das
exigências para obtenção do título de Doutor em
Ciências.

Área de Concentração: Psicobiologia.

Orientador: Prof. Dr. José Lino Oliveira Bueno

Colaboradora: Dra. Danielle Marcilio Judice-Daher

Ribeirão Preto

2015

Autorizo a reprodução e/ou a divulgação total ou parcial da presente obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Bernardes, Eduardo de Freitas

Efeitos da omissão do reforço sobre o repertório comportamental em ratos com lesão do núcleo accumbens. Ribeirão Preto, 2015. 120 p.: il.; 30cm

Tese (Doutorado) - Departamento de Psicologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia. Área de concentração: Psicobiologia.

1. Omissão de reforço. 2. Repertório comportamental. 3. Núcleo accumbens.

Nome: Bernardes, E.F.

Título: Efeitos da omissão do reforço sobre o repertório comportamental em ratos com lesão do núcleo accumbens.

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.
Área de Concentração: Psicobiologia.

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 José (in memorian) e Cleonice, pelo carinho e apoio incondicionais.

AGRADECIMENTOS

À minha família, por ter compreendido minha distância e pelo apoio incondicional nessa jornada.

Ao Prof. Dr. José Lino Oliveira Bueno, pela confiança, paciência, orientação e também pela amizade.

Ao técnico João Luís Segala Borin, pelo dedicado (e indispensável) apoio em todos os momentos. E também pela amizade.

À Camila Faleiros, meu porto seguro, pelo apoio constante e necessário.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Processos Associativos, Controle Temporal e Memória pela ajuda em todos os momentos, o aprendizado constante e os vários momentos de descontração.

Aos amigos de Uberlândia que, mesmo de longe, deram o apoio necessário para que concluísse mais esta jornada.

Aos técnicos Eldereis de Paula, pelo apoio técnico e elaboração do programa de controle experimental e registro dos dados e Amauri Ramos Pinha, pelo auxílio durante o procedimento histológico.

Ao Prof. Dr. Wagner Ferreira dos Santos, por ceder o espaço de seu laboratório.

Aos órgãos federais Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

*“Sempre permaneça aventureiro.
Por nenhum momento se esqueça de que
a vida pertence aos que investigam.
Ela não pertence ao estático.
Ela pertence ao que flui.
Nunca se torne um reservatório,
sempre permaneça um rio.”*

Osho

Bernardes, E. F. (2015) *Efeitos da omissão do reforço sobre o repertório comportamental em ratos com lesão do núcleo accumbens*. Teste de Doutorado. Departamento de Psicologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Resumo:

O procedimento de omissão do reforço, em esquemas de reforçamento em intervalo-fixado, produz uma redução na pausa pós-reforço e, conseqüentemente, um aumento na frequência de respostas no próximo intervalo. Existem diferentes interpretações relacionadas ao efeito de omissão do reforço (EOR), baseadas em componentes atencionais / motivacionais. Estudos preliminares têm examinado o papel da ativação de alguns núcleos da amígdala na modulação destes componentes. Estudos recentes sugerem que as subestruturas da amígdala podem estar envolvidas em diferentes processos, e as conexões entre diferentes núcleos da amígdala e estruturas corticais / subcorticais também parecem estar envolvidas em processos relacionados a recompensas e expectativa. Outros estudos sugerem que a interação entre a amígdala e núcleo accumbens (NAC) é importante para a modulação de processos motivacionais. No entanto, não há estudos na literatura avaliando se lesões neurotóxicas em diferentes regiões corticais e subcorticais podem interferir nos EORs. Este estudo teve como objetivo analisar os EORs sobre o repertório comportamental em ratos com lesões do NAC, em procedimentos de condicionamento clássico e reforçamento não-contingente. Trinta ratos Wistar machos, divididos nos grupos accumbens e controle “sham”, foram submetidos a 28 sessões de treinamento com 8 práticas cada uma: 20 sessões pré-lesão, duas sessões de retreino e seis sessões pós-lesão (com omissão de reforço). Cada prática constituía de um sinal de 20 segundos (tom), seguindo-se a libertação de uma gota de água no 19º segundo. Em sessões com omissão, a água foi liberada em metade das práticas. Foram analisadas dez categorias comportamentais. A comparação entre taxas de duração durante as práticas de libertação e omissão do reforço mostrou que os grupos accumbens e controle “sham” apresentaram EORs. O grupo accumbens foi menos sensível aos EORs. Em relação às categorias comportamentais Farejar o bebedouro e Farejar a região do bebedouro, as taxas de duração do grupo controle “sham” durante a omissão foram maiores em relação às taxas do grupo accumbens. Já para as categorias Lamber o bebedouro, Farejar distante do bebedouro, Levantar, Locomoção e Limpeza, as taxas de duração do grupo controle “sham” foram menores do que o grupo accumbens. Os resultados

sugerem que o NAC pode fazer parte da circuitaria envolvida na modulação dos EORs e também indicam a necessidade de se considerar o envolvimento de uma rede neural mais complexa para avaliação dos EORs.

Palavras-chave: omissão do reforço, repertório comportamental, núcleo accumbens.

Bernardes, E. F. (2015). *Reinforcement omission effects on behavioral repertoire of rats with lesion in nucleus accumbens*. Thesis (Doctorate). Department of Psychology, Faculty of Philosophy, Sciences and Letters of Ribeirao Preto, University of Sao Paulo, Ribeirao Preto.

Abstract:

The reinforcement omission procedure, in fixed-interval schedules of reinforcement, produces a reduction in post-reinforcement pause and, consequently, an increase in frequency responses in the next interval. There are different interpretations related to reinforcement omission effect (ROE), based upon motivational and / or attentional components. Preliminary studies have examined the role of activation of some amygdala nuclei to modulate these components. Recent studies suggest that the substructures of the amygdala may be involved in different processes, and connections between different amygdala nuclei and cortical/subcortical structures seem to be involved in processes related to rewards and expectancy. Other studies suggest that the interaction between the amygdala and nucleus accumbens (NAC) is important for the modulation of motivational processes. However, there are no studies in the literature assessing whether neurotoxic lesions in different cortical and subcortical regions may interfere in ROEs. This study aimed to examine the ROEs on the behavioral repertoire of rats with lesions of the NAC, in classical conditioning procedures and non-contingent reinforcement. Thirty male Wistar rats, divided in NAC and SHAM groups, were submitted to 28 training sessions with 8 practices each one: 20 pre-lesion, two retraining sessions and six post-lesions sessions with omission of reinforcement. Each practice constituted of a 20 seconds signal (tone), followed by the release of a drop of water in the 19th second. In sessions with omission, the water was released in the half of practices. Ten categories of behaviors were analyzed. Comparison between duration rates during omission and reinforcement practices showed that NAC and SHAM groups showed the ROEs. NAC group was less sensitive to the ROEs. Regarding the behavioral categories Magazine sniffing and Near magazine sniffing, the duration rates of SHAM group during omission were higher in relation to rates of NAC group. For the categories Magazine licking, Far from magazine sniffing, Rearing, Locomotion and Grooming duration rates of SHAM group were lower than the NAC group. The results suggest that NAC can be part of circuitry involved in the modulation of ROEs and indicate the need to consider the involvement of more complex neural network for evaluating the ROEs.

Keywords: reinforcement omission, behavioral repertoire, nucleus accumbens.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado do circuito límbico-corticostriatal (linhas grossas) e as relações entre as regiões do córtex pré-frontal , amígdala e no ventral estriado. Fonte: Cardinal, Parkinson, Hall e Everitt (2002)	26
Figura 2. Anatomia regional do núcleo accumbens do rato. As estruturas estão representadas por diferentes cores. Fonte: Basar et al., 2010	28
Figura 3. Visão geral das principais aferências/eferências do núcleo accumbens e estruturas relacionadas. Fonte: Day & Carelli, 2007	29
Figura 4. Principais funcionalidades do complexo estriado. As quatro principais regiões são anatomicamente contínuas e, aproximadamente, correspondem as regiões conhecidas como núcleo accumbens (<i>core</i> e <i>shell</i>), estriado dorsolateral e estriado dorsomedial. Fonte: Penner & Mizumori 2012	35
Figura 5. Vista frontal da caixa de Skinner	56
Figura 6. Vista frontal do bebedouro	56
Figura 7. Esquema representativo das práticas envolvidas no procedimento comportamental durante a fase pós-lesão	60
Figura 8. Programa de monitoramento de eventos	60
Figura 9. Equipamento de registro dos comportamentos	61
Figura 10. Fotomicrografias de secções coronais da região do núcleo accumbens - NAC - (hemisfério esquerdo), tratadas pelo método de coloração por violeta de cresil (“coloração de Nissl”). A figura (A) representa a área do NAC de um animal do grupo controle “sham” e a figura (B) representa a área do NAC que foi lesionada	65
Figura 11. Média da duração da categoria comportamental <i>Farejar o bebedouro</i> nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N)	67

Figura 12. Média da duração da categoria comportamental *Parado próximo ao bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 68

Figura 13. Média da duração da categoria comportamental *Lamber o bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 69

Figura 14. Média da duração da categoria comportamental *Farejar a região do bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 70

Figura 15. Média da duração da categoria comportamental *Farejar distante do bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 71

Figura 16. Média da duração da categoria comportamental *Locomoção* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 72

Figura 17. Média da duração da categoria comportamental *Levantar* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 73

Figura 18. Média da duração da categoria comportamental *Limpeza* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 74

Figura 19. Média da duração da categoria comportamental *Parado* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 75

Figura 20. Média da duração da categoria comportamental *Outros* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N) 76

Figura 21. Percentual da duração das categorias comportamentais nos períodos Pré-sinal, Sinal, Pós-sinal 1 (R e N) e Pós-sinal 2 (R e N), referentes às 3 últimas sessões de treino 80

Figura 22. Vista dos equipamentos utilizados na tese de Bueno (1977) em a) e b), e no presente trabalho em c) e d) 89

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Coordenadas (em mm) utilizadas para as micro-injeções de Ácido Quinolínico (AQ), conforme Atlas de Paxinos e Watson (1996)	58

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 Lesão da Amígdala e Efeitos de Omissão	22
1.2 Amígdala e Núcleo Accumbens	25
1.3 Núcleo Accumbens.....	27
1.4 Núcleo Accumbens e Condicionamento Clássico	32
1.5 Núcleo Accumbens e Efeitos de Omissão	34
1.6 Repertório Comportamental	36
1.7 Repertório Comportamental e Omissão	47
2. OBJETIVO E JUSTIFICATIVAS.....	52
3. MATERIAIS E MÉTODO.....	55
3.1. Sujeitos.....	55
3.2 Equipamentos.....	55
3.3 Cirurgia.....	57
3.4 Lesão.....	57
3.5 Procedimento comportamental.....	58
3.6 Habituação e Treino ao bebedouro.....	59
3.7 Treino.....	59
3.8 Registro das categorias de comportamentos.....	60
3.9 Histologia.....	62
3.10 Análise dos Dados.....	63
4. RESULTADOS.....	65
4.1 Resultados histológicos.....	65
4.2 Resultados comportamentais.....	66
4.2.1 Efeitos da omissão: Pós-sinal R X Pós-sinal N	66
4.2.2 Efeito da lesão	77
4.2.3 Distribuição percentual das categorias	79
5. DISCUSSÃO.....	83
5.1 Núcleo Accumbens e Controle Temporal	84
5.2 Núcleo Accumbens e Omissão do Reforço	85
5.3 Comparativo com os dados de Bueno (1977)	88
5.4 Núcleo accumbens e Repertório Comportamental	91

5.4 Considerações finais	102
6. REFERÊNCIAS	105

1. INTRODUÇÃO

O estudo dos mecanismos biológicos do comportamento tem se tornado uma forte tendência, que pode contribuir eficazmente para algumas áreas do conhecimento como a Etologia e a Psicologia experimental; e torna-se um empreendimento eficaz, devido às possíveis interações com estas áreas. À medida que os estudos em neurociência se desenvolvem, a linha divisória entre Etologia e os estudos sobre comportamento pode se tornar cada vez mais tênue.

A habilidade de medir intervalos de tempo é um importante fator na adaptação de um organismo ao ambiente onde vive. Aprender sobre a periodicidade e a duração da ocorrência de um evento possibilita uma organização do repertório comportamental em função da antecipação de mudanças ambientais. Um pareamento sinal-reforço¹ ou intervalo temporal reforçador significa, de certa forma, a confirmação de uma regularidade preditiva. Uma das formas de estudar como o organismo se adapta a contingências temporais é submetê-lo a esquemas periódicos de reforçamento. Estes se caracterizam por períodos onde o reforço não está disponível, como por exemplo, os esquemas de Intervalo-Fixo (FI), Intervalo-Variável (VI), Tempo-Fixo (FT) e Tempo-Variável (VT). Assim, um reforçador pode ser programado em determinada situação experimental para ser liberado em intervalos fixos ou, pelo menos, regulares. Há, então, transformações no desempenho dos animais durante os intervalos inter-reforços e o estabelecimento de sequências de respostas de relativa estereotipia (Bueno, 1977).

Entretanto, para que a compreensão dos mecanismos comportamentais seja mais abrangente, cumpre também indagar acerca dos efeitos de uma não-confirmação, ou seja, de uma condição em que o sinal exteroceptivo ou esquema temporal aparecem sem que haja liberação do reforço e que não sejam contingentes à resposta. Assim, no estudo dos fatores que atuam sobre as mudanças na atividade no animal encontramos diversos autores que procuram avaliar os efeitos específicos do não-reforçamento, ou seja, da omissão do reforço. Os efeitos da omissão do reforço (EOR) são verificados através de comparações entre as taxas de determinada resposta frente ao reforçamento e ao não-reforçamento. O que acontece com um animal em uma situação em que um reforçador previsto é omitido? A omissão do reforço não esperada (*“unexpected nonreward”*) resulta em uma série de efeitos que são seguidos por uma

---

¹ Em Bueno (1977), reforçador e reforço, seguindo o uso comum em nosso meio, foram tomados como sinônimos, ambos a se referir ao estímulo; reforçamento foi usado para significar a operação de apresentar o estímulo ou o processo a que este estímulo dá origem. Contudo, achamos muito pertinente a observação de M. T. Araújo Silva - em Millenson (1975) - apontando para a impropriedade do termo reforçamento, e enfatizando o uso de reforço para dar o sentido do termo inglês ‘reinforcement’.

variedade de consequências fisiológicas, e resultam na indução, manutenção, facilitação e supressão de uma variedade de comportamentos (Anokhin, 1974; Bueno, 1977; Papini & Dudley, 1997). Um reforço não esperado pode gerar um estado interno no animal, capaz de produzir reações emocionais aversivas com consequências não apenas fisiológicas, mas também comportamentais. Sendo assim, a omissão do reforço pode se tornar, a princípio, um reforçador aversivo (Papini & Dudley, 1997).

Amsel e Roussel (1952) realizaram experimento com ratos, em pistas duplas, para explicar o efeito de omissão de reforço (EOR), denominado por estes autores como efeito de frustração (EF). Os autores treinaram ratos em duas pistas colocadas de tal forma que a caixa-alvo da primeira pista funcionava como ponto de partida para a segunda pista. Após várias sessões de treino onde os animais recebiam reforço em esquema contínuo, o reforço na primeira caixa era apresentado em esquema intermitente. Os resultados mostraram que a velocidade de corrida da segunda pista durante o esquema de reforçamento intermitente foi maior após a omissão do reforço na primeira caixa-alvo (prática N) do que após a liberação do reforço (prática R). A velocidade de corrida durante a omissão foi superior àquelas apresentadas durante o treino preliminar, onde os animais já apresentaram uma estabilidade na resposta de corrida. Eles foram os primeiros a relatar que ratos corriam mais rápido em uma pista imediatamente após uma prática não reforçada do que após uma reforçada, e rotularam esta diferença de desempenho entre as práticas como um efeito de frustração. Os autores sugerem que o aumento no vigor da resposta instrumental é causado por uma reação emocional frente à omissão do reforço não esperada. Tais efeitos, portanto, seriam um indicativo de que houve uma ativação do estado motivacional do organismo.

Para Staddon (1970) e Staddon e Innis (1969) este efeito, denominado originalmente como de frustração, pode não estar baseado em consequências emocionais. Os animais aprendem a não responder quando o reforço não está disponível e, assim, por um condicionamento temporal aprende a não responder no intervalo imediatamente posterior à liberação do reforço. O reforço adquire um efeito pós-inibitório, ou seja, um controle inibitório temporal. Os autores verificaram o aumento nas taxas de respostas seguidas de omissão em esquemas de intervalo-fixo. Quando ratos são submetidos a esquemas de FI o padrão comportamental apresentado é uma pausa pós-reforço, ou tempo de espera, seguida por um aumento na frequência de resposta até a próxima liberação do reforço. Este tempo de espera é determinado pelo intervalo de tempo entre o reforço, ou omissão deste, e a próxima resposta de pressão à barra. Nestes esquemas de FI, a omissão do reforço produziu uma redução no tempo

de espera e um aumento na frequência de respostas no intervalo seguinte. Quando o sujeito é submetido a uma omissão do reforço, o nível de desempenho seguinte aparece com taxas de resposta mais altas, se compararmos com os níveis de desempenho após o reforçamento. Não haveria um efeito energizador para as práticas com omissão, pois o animal continua a responder simplesmente como antes do reforçamento. Estas diferenças são vistas mais como decorrentes de efeitos inibitórios do reforço do que um efeito de frustração ou energizador das respostas do animal. Assim, o efeito de omissão do reforço, tem sido tradicionalmente interpretado em termos de um dentre dois fatores: (1) facilitação momentânea após práticas de omissão de reforço (N) induzida por frustração primária, ou seja, aumento na intensidade da resposta do animal após a prática não reforçada devido à violação de um evento esperado; (2) supressão momentânea após práticas com liberação de reforço (R) induzida pelo estado pós-consumatório, ou seja, diminuição na intensidade da resposta do animal após a prática reforçada devido à demotivação causada pelo consumo do reforço (Staddon, 1974; Stout, Boughner & Papini, 2003).

Bueno (1977) estudou os efeitos da sinalização e omissão do reforço sem os limites de procedimentos envolvendo pistas ou condições operantes, mostrando que estes dois fatores, atuando na mesma situação experimental e em esquemas de tempo variável, modificam o repertório comportamental de modo diferente um do outro. O autor utilizou um procedimento de liberação não contingente de reforço, registrando alterações em categorias do repertório comportamental de ratos após a omissão do reforço. Os resultados mostraram que, o efeito de um sinal ligado ao reforço, produziu um aumento na frequência de respostas dirigidas ao bebedouro e uma diminuição nas respostas de tipo exploratório. Consequentemente, o grupo inicialmente treinado com 100% das práticas reforçadas, passando a um esquema de reforçamento de 50%, no período Pós-sinal seguido de omissão (Pós-sinal N), apresentou níveis de atividade de tipo exploratório maiores que as apresentadas nos períodos Pós-sinal seguido de reforço (Pós-sinal R). Neste estudo, as comparações entre as durações dos comportamentos durante as condições de sinalização e omissão de reforço mostraram que tais condições afetam diferentemente a atividade dos animais. Se por um lado a sinalização do estímulo reforçador produz um aumento significativo nas respostas dirigidas ao bebedouro, a omissão do reforçador produz o aumento das respostas de tipo exploratório. Do ponto de vista da estrutura comportamental, tais eventos produzem efeitos diferentes. Estes efeitos, portanto, não podem ser apontados por um mesmo índice genérico do estado motivacional do animal, uma vez que podem estar se referindo a fenômenos motivacionais distintos, o que exigiria uma análise

específica destes fenômenos. De acordo com Bueno (1977), é necessário considerar tanto o envolvimento de componentes emocionais, como também de componentes atencionais, na modulação dos efeitos de omissão do reforço. Alterações nas relações de contexto, como a omissão de um reforço esperado, produzem mudanças comportamentais que dependem da plasticidade da organização comportamental para dar conta das condições em que a obtenção de reforço pode ser preservada. O desempenho do animal em um procedimento de omissão é resultado de uma organização do repertório comportamental em função de significações dos estímulos de contexto e suas relações temporais com eventos hedônicos. A descrição das respostas que acompanham os efeitos de sinalização e omissão do reforço, no presente estudo, permitiu uma melhor compreensão dos processos envolvidos (Bueno, 1994). Outra questão intrigante, e ainda não concluída, é sobre como a omissão de um estímulo condicionado pode influenciar a “inibição” de uma área cortical (Anokhin, 1974).

1.1 Lesão da Amígdala e Efeitos de Omissão

A amígdala, uma estrutura composta por treze núcleos, está imersa no lobo temporal e faz parte do sistema límbico. Está envolvida em uma série de eventos. Há fortes evidências que apoiam a hipótese de que a amígdala está envolvida na modulação do armazenamento da memória de longo prazo (McGaugh, Cahill & Roozendall, 1996). A amígdala também está associada a uma gama de funções cognitivas, inclusive emoção, aprendizagem, memória, atenção e percepção. A maioria das visões atuais das funções da amígdala enfatiza seu papel em emoções negativas, como medo, e unem essas emoções a outros aspectos de cognição, como aprendizagem e memória. Porém, há evidências recentes do papel da amígdala no processamento de emoções positivas, incluindo aprendizagem sobre o valor biológico benéfico de estímulos (Baxter & Murray, 2002), aspectos da aprendizagem associativa motivada por comida e funções frequentemente caracterizadas como atencionais (Holland & Gallagher, 1999). Cada uma dessas funções depende de subsistemas individuais da amígdala, assim como de suas conexões com outros sistemas cerebrais.

Vários estudos utilizaram procedimentos de condicionamento clássico para apontar o papel do núcleo central da amígdala (CN) em processos atencionais. (Holland, Han & Gallagher, 2000; Holland & Gallagher, 1999; Holland, 2006, 2007). O papel do CN na exibição de respostas de orientação em procedimentos de condicionamento pavloviano apetitivo foi

examinado por Holland e Gallagher (1999). O desencadeamento destas respostas se dá quando ocorrem eventos inesperados. Holland e Gallagher (1999) mostraram que ratos com lesão neurotóxica do núcleo central da amígdala falham em adquirir a resposta de orientação. Assim, estes autores sugerem que o núcleo central da amígdala está envolvido em pelo menos duas funções separáveis, comportamental e anatomicamente, que devem ser descritas como atencionais: (1) a modulação da resposta de orientação pela aprendizagem associativa e (2) o aumento da associabilidade de eventos particulares quando expectativas sobre eventos futuros são violadas.

O complexo basolateral (BLA), segundo Holland e Gallagher (1999), está envolvido na aquisição do valor de incentivo de um estímulo condicionado (CS), ou seja, na capacidade do estímulo condicionado ganhar o significado motivacional do estímulo incondicionado (US). Segundo Lindgren, Gallagher e Holland (2003), o complexo basolateral da amígdala é importante para modificação do significado motivacional de eventos ligados à aprendizagem associativa. Outros estudos têm ressaltado o envolvimento do BLA e do CN na formação e expressão de associações entre estímulos sensoriais e o reforço (Knapska et al., 2008; Tye & Janak, 2007).

Bueno, Judice-Daher e Tavares (2012) buscaram verificar se os mecanismos subjacentes aos EORs dependeriam das propriedades motivacionais e atencionais atribuídas à ativação do BLA e do CN, respectivamente. Assim, os autores examinaram os EORs em ratos com lesões seletivas do CN ou do BLA submetidos a um esquema de intervalo-fixo (FI 60 min) e a um esquema de intervalo-fixo com *limited-hold* sinalizado (FI 8s LH 2s). Os resultados do Experimento 1 mostraram que os ratos dos grupos com lesão do CN e com lesão do BLA, assim como os ratos do grupo controle-operados, apresentaram um aumento da taxa de resposta nos intervalos seguidos da omissão do reforço. Por outro lado, os resultados do Experimento 2 mostraram que embora os ratos dos grupos com lesão do CN e com lesão do BLA tenham apresentado um aumento da taxa de resposta nos períodos seguidos da omissão do reforço, este aumento foi menor do que aquele apresentado pelos ratos do grupo controle-operados. Os resultados de ambos os experimentos deste estudo não sugeriram uma dupla dissociação funcional entre as diferentes áreas da amígdala na modulação dos EORs. De acordo com os autores, a ausência de diferenças entre o desempenho dos ratos dos grupos com lesão do CN e do BLA após a omissão do reforço não permitiu identificar a associação dos componentes atencionais e motivacionais envolvidos nos EORs à ativação de núcleos específicos da amígdala.

Mais recentemente, Judice-Daher, Tavares e Bueno (2012) buscaram verificar se os mecanismos subjacentes aos EORs dependeriam das diferentes propriedades motivacionais atribuídas à ativação do BLA e do CN. Nestes estudos, as lesões do CN abrangeram uma área maior do que aquela abrangida no estudo de Bueno et al. (2012), no qual as lesões foram concebidas para atingir uma sub-região do CN relacionada à atenção (Holland & Gallagher, 2003). Judice-Daher et al. (2012) examinaram se lesões no BLA ou no CN podem interferir nos EORs quando diferentes magnitudes de reforços são utilizadas. Estes dados indicam que as lesões do CN e do BLA não eliminaram os EORs. Porém, a taxa de resposta dos ratos dos grupos com lesão do BLA e do CN foi mais alta após a omissão do reforço de menor magnitude do que aquela observada nos ratos de seus respectivos grupos controle-operados. Assim, as lesões do CN ou do BLA interferiram nos EORs quando o reforço de menor magnitude foi omitido. Os resultados também mostraram que os ratos de todos os grupos experimentais, exceto os ratos do grupo com lesão do BLA, apresentaram uma taxa de resposta mais alta após a omissão do reforço de maior que de menor magnitude.

Posteriormente, Tavares, Judice-Daher e Bueno (2014) verificaram se o comprometimento funcional ligado à ativação ampla ou seletiva da amígdala afeta os EORs, empregando um esquema de intervalo-fixo com *limited-hold* sinalizado (FI 6s LH 6s). Este estudo mostrou que lesões neurotóxicas amplas da amígdala, envolvendo tanto o CN como o BLA, eliminaram os EORs. Por outro lado, as lesões bilaterais do BLA parecem ter tornado os ratos mais sensíveis à omissão do reforço; as taxas de respostas dos ratos do grupo com lesão do BLA foram mais altas após a omissão do reforço do que aquelas observadas nos ratos do grupo controle-operado. Os resultados deste estudo também mostraram que lesões bilaterais do CN, assim como lesões ipsilaterais do CN e do BLA, não interferiram nos EORs. Assim, as lesões amplas podem ter abrangido maiores conexões intra e internúcleos da amígdala, mostrando assim que a amígdala deve participar de um circuito envolvido na modulação dos EORs.

Bueno, Bernardes e Judice-Daher (2012) verificaram os EORs sobre o repertório comportamental de ratos com lesões seletivas do CN ou do BLA num contexto de reforço não-contingente. Foi feita comparação intra-grupo de cada uma das 10 categorias comportamentais nos períodos após a omissão e após a liberação do reforço. Os resultados mostraram que, durante a sinalização, houve um aumento da duração das categorias de comportamentos dirigidos ao bebedouro, além de diminuições nas categorias Limpeza e Parado, para todos os grupos. Diferenças estatísticas entre grupos indicaram algumas alterações comportamentais, em

função das lesões. Os resultados também indicaram que os animais foram sensíveis à omissão do reforço, mostrado pelas diferenças estatisticamente significativas na comparação entre os períodos Pós-sinal R e Pós-sinal N.

Os resultados obtidos em nosso laboratório, em conjunto (Bueno et al., 2012; Judice-Daher et al., 2012; Bueno, Bernardes & Judice-Daher, 2012; Tavares et al., 2014) sugerem que a amígdala está envolvida, de alguma forma, na modulação dos efeitos de omissão do reforço. Entretanto, há necessidade de se considerar o envolvimento de uma rede neural mais complexa para avaliação dos efeitos da omissão do reforço, como o envolvimento de conexões entre o núcleo central e o complexo basolateral da amígdala com outras estruturas cerebrais. Tais estudos, conjuntamente, mostraram que a compreensão dos fatores que controlam a omissão comporta diversas possibilidades de explicação (Bueno, Judice-Daher & Tavares, 2013).

1.2 Amígdala e Núcleo Accumbens

O BLA tem projeções substanciais para o hipocampo, mas tem projeções maiores ainda para o córtex pré-frontal (PFC) núcleo accumbens (NAC) e tálamo (Sah, Faber, Armentia & Power, 2003).

A interação dinâmica entre a amígdala e o NAC parece ser fundamental para a regulação do comportamento guiado por processos afetivos e cognitivos (Jackson & Moghaddam, 2001). Como componentes do sistema límbico, estas estruturas estão envolvidas em modalidades funcionais interdependentes que coordenam o comportamento emocional e cognitivo. A amígdala parece mediar o processamento e expressão do comportamento emocional (Gallagher & Holland, 1994), e o NAC fornece uma interface pela qual os estímulos com valor afetivo e emocional acessam os sítios motores efetores (Pennartz, Groenewegen & Lopez da Silva, 1994).

A reciprocidade das projeções entre BLA e NAC têm papéis complementares em uma série de funções relacionadas à aprendizagem apetitiva. Por exemplo, as aferências do BLA para o NAC são consideradas uma das principais vias relacionadas à expressão do comportamento motor dirigido por estímulos motivacionalmente relevantes (Cador, Robbins & Everitt, 1989; Robbins, Cador, Taylor & Everitt, 1989). Assim, amígdala e o núcleo accumbens estão envolvidos numa ampla distribuição de redes neurais que são parcialmente sobrepostas e cumprem uma série de funções específicas envolvidas com aprendizagem associativa e processos de recompensa. (Knutson, Fong, Adams, Varner & Hommer, 2001). As interações

do NAC com o CN e o córtex anterior cingulado (ACC) servem de base para a aquisição e desempenho de animais em tarefas de condicionamento clássico. As interações entre os sistemas límbico e cortico-estriatal podem esclarecer os processos pelos quais as pistas podem exercer tanto a predição quanto o controle sobre as respostas (Day, Wheeler, Roitman & Carelli, 2006; Robbins & Everitt, 2002).

Zorrilla e Koob (2013) citaram o NAC como uma das principais projeções amígdalo-estriatais, ressaltando a sua função como uma interface entre os sistemas motor extrapiramidal (pelo qual está conectado) e límbico. Há uma forte relação entre o BLA e o NAC. A parte caudal do BLA envia informações para a porção medial do NAC. Já a parte rostral do BLA, seria responsável pela inervação da parte lateral do NAC. Apenas a parte medial do NAC recebe informações da parte medial do BLA (McDonald, 1991). Pesquisas envolvendo animais reúnem evidências para um processamento integrador da recompensa, baseado em uma série de estudos que mostraram um conjunto de estruturas bastante relevantes neste processo, localizado na amígdala, córtex orbito-frontal (OFC), NAC, área tegmentar ventral (VTA) e córtex pré-frontal (PFC), mostrando que tais estruturas podem também fazer a diferenciação dos vários tipos de recompensa (Sescousse, Caldú, Segura & Dreher, 2013).

Figura 1. Esquema simplificado do circuito límbico-corticostriatal (linhas grossas) e as relações entre as regiões do córtex pré-frontal, amígdala e no ventral estriado. Fonte: Cardinal, Parkinson, Hall e Everitt (2002)

Estudos que medem o nível de ativação de áreas cerebrais em humanos, através da Imagem de Ressonância Magnética Funcional, têm sugerido que as recompensas aumentam a atividade de regiões subcorticais (estriado ventral e amígdala) e corticais (córtex pré-frontal). Estudos em roedores investigaram as regiões cerebrais envolvidas na antecipação de recompensas, através do uso de pistas visuais. Os resultados mostraram que algumas estruturas como NAC e OFC são ativadas durante a antecipação de recompensas (Day, Jones & Carelli, 2011; Kesner & Gilbert, 2007).

1.3 Núcleo Accumbens

O núcleo accumbens (NAC) é uma estrutura localizada na região do estriado ventral e parece ser uma estrutura chave na integração das emoções com as ações motoras voluntárias (Lent, 2008). O NAC, por sua vez, recebe informações de um número considerável de estruturas límbicas, incluindo amígdala e hipocampo, e envia informações para estruturas envolvidas na expressão comportamental, como regiões do córtex pré-frontal que integram os sistemas motores extrapiramidal e piramidal.

O NAC é uma estrutura frequentemente envolvida no controle do comportamento motivado. Estudos também apontam que esta estrutura também está implicada em processos de aprendizagem e processamento de pistas (Ernst, Pine & Hardin, 2006; Galvan et al., 2006, Geier, Terwilliger, Teslovich, Velanova & Luna, 2010; Hart, Leung & Balleine, 2014; Kelley, 2004, McFarland & Kalivas, 2003; Robbins & Everitt, 1996; Simon & Moghaddam, 2015).

É, portanto, um local para integração das informações cognitivas, motoras e afetivas e pode influenciar os comportamentos dirigidos ao alvo (goal-directed), independente da modalidade da recompensa (Delgado, 2007; Lent, 2008; Haber & Knutson, 2010; McFarland & Kalivas, 2003). Estes autores mostraram que, evidências comportamentais conjuntamente com a conexão do NAC com estruturas límbicas e motoras, sugerem uma provável função da estrutura relacionada com comportamentos eliciados por estímulos biologicamente relevantes (McFarland & Kalivas, 2003). Assim, tem sido sugerido que o NAC representa uma interface do sistema límbico-motor.

Estudos mostraram que a inervação dopaminérgica deste núcleo, que se origina em grande parte na área tegmentar ventral, está intimamente envolvida em tarefas de

condicionamento, que envolvam recompensa. Por razões histoquímicas e anatômicas, o NAC é dividido em uma porção nuclear (NACc – accumbens core) e em uma porção mais externa (NACsh – accumbens shell). Enquanto o NACsh pode exercer alguma influência sobre o impacto motivacional dos reforçadores primários, o NACc contribui, em tarefas de condicionamento clássico, para o impacto motivacional e gerenciamento dos comportamentos em curso, além de impelir o organismo para a ação (Cardinal, Parkinson, Hall, Everitt, 2002; Floresco, 2015). Estas ações podem ocorrer devido a inervação dopaminérgica do núcleo, contribuindo também para a seleção de ações que lidam com o atraso de recompensa. O NAC tenta gerenciar os comportamentos em curso, e uma de suas funções é ajustar estes comportamentos em situações em que vários estímulos se apresentam no ambiente e é preciso selecionar aqueles que funcionam como recompensadores (Cardinal, Parkinson, Hall & Everitt, 2003).

Estes subnúcleos recebem uma importante projeção de dopamina (DA) do mesencéfalo (Cardinal et al., 2003; Blaiss & Janak, 2009). Os subnúcleos do NAC parecem estar envolvidos também em uma série de estudos envolvendo comportamentos apetitivos (Blaiss & Janak, 2009).

Figura 2. Anatomia regional do núcleo accumbens do rato. As estruturas estão representadas por diferentes cores. Fonte: Basar et al. (2010)

Estudos apontam a influência da dopamina no NAC em procedimentos de condicionamento clássico e também na avaliação de respostas instrumentais (Lex & Hauber, 2010). Animais com baixos níveis de DA nesta região mostraram-se sensíveis à desvalorização do reforço. As concentrações de DA nesta região parecem não ser importantes na codificação das associações entre resposta e consequência; por outro lado, animais com baixos níveis de DA no NAC tiveram prejuízo em tarefas de condicionamento clássico de avaliação de uma consequência específica. Isso pode ter ocorrido caso a diminuição de DA no NAC tenha prejudicado a formação de associações entre o estímulo e o reforço ou a habilidade do CS em ativar a memória do valor atual do resultado.

Para Cunha, Gomes e Blaha (2012), a seleção das respostas incondicionadas parece depender do NACsh e do tubérculo olfatório. Já a seleção das respostas condicionadas depende do NACc e do tubérculo olfatório lateral. A seleção dos comportamentos dirigidos ao alvo depende da porção medial do estriado dorsal e a seleção de comportamentos consequentes da associação resposta-consequência dependem do estriado dorsolateral, em roedores, e do putâmen, em primatas. Metereau e Dreher (2013) mostraram uma diferenciação entre as subáreas do NAC, afirmando que o NACc se diferencia do NACsh pela capacidade de mediar a recuperação e expressão das associações entre os estímulos condicionado e incondicionado.

Fig. 3. Visão geral das principais aferências/eferências do núcleo accumbens e estruturas relacionadas. Fonte: Day & Carelli (2007)

O NAC pode ser uma importante estrutura responsável pela quantidade de direcionamento de atenção a diferentes estímulos. Para Schultz, Dayan e Montague (1997), há evidências de que os mecanismos atencionais, para esta estrutura, possam operar ao nível dos neurônios dopaminérgicos. As respostas a novos estímulos diminuem, na medida em que estes mesmos estímulos são repetidamente apresentados, igualando-se aos estímulos apetitivos, via generalização. Neurônios que respondem em eventos onde há liberação o reforço e detectam recompensas podem ser encontradas em outras estruturas corticais, mas se encontram em maior número no corpo estriado (Schultz, 2000).

Entretanto, o autor aponta para a necessidade de mais estudos envolvendo os aspectos atencionais no sistema dopaminérgico (Schultz et al., 1997). Day e Carelli (2007) apontam que a habilidade de um animal na localização de recompensas tanto quanto sua obtenção, por exemplo, dependem de aspectos cognitivos e motivacionais, que são fortalecidos pela capacidade do animal em fazer associação entre as pistas ambientais e suas consequências. Tal habilidade pode ser aparentemente simples, mas traz um nível muito complexo em seu processamento. O NAC é também uma das estruturas responsáveis pelo controle temporal do comportamento, podendo modificar as repostas de ratos em função da duração do sinal entre as práticas. Entretanto, tal estrutura não é capaz de avaliar o valor de recompensa do estímulo condicionado (Meck, 2006).

A aprendizagem sobre um estímulo depende da estrutura deste mesmo estímulo (Chang & Holland, 2013) e, nesse sentido o NAC aparece como uma importante estrutura do sistema de recompensa (Nakahara & Hikosaka, 2012). Os níveis dopaminérgicos nesta estrutura codificam múltiplos sinais para aprendizagem, auxiliando assim os mecanismos de predição da recompensa. No caso dos EORs, há uma diminuição dos níveis dopaminérgicos durante a omissão do US. O papel da projeção dopaminérgica do corpo estriado de neurônios espinais é garantir a aprendizagem de sequências comportamentais sob o controle da recompensa. Assim que uma sequência comportamental for aprendida e memorizada através do circuito de gânglios da base, ela pode ser executada automaticamente sem que para isso haja um controle permanente do córtex (Yelnik, 2008).

Dalia, Uretsky e Wallace (1998) mostraram que a ativação dos receptores dopaminérgicos na região do NAC pode tanto levar a um incremento na atividade locomotora de ratos, quanto a ativação da transmissão glutamatérgica nesta estrutura. A administração de substâncias estimulantes também pode contribuir para o aumento da atividade locomotora

(Salamone 1994; Salamone & Correa, 2002, 2012). No entanto, o aumento de glutamato nesta região parece não afetar o comportamento motor.

Di Chiara (2002) mostrou que animais com lesão no NAC, através da neurotoxina 6-OHDA, podem apresentar prejuízos nos seus níveis de alerta. A liberação dopaminérgica no NAC, envolvendo tarefas de condicionamento clássico, pode levar a um aumento considerável das respostas instrumentais para a mesma recompensa pela qual o estímulo foi condicionado (Balleine & Killcross, 1994). Por este mecanismo, o estímulo pode afetar a seleção e o vigor da resposta instrumental, conforme as condições apresentadas. Nesse caso, em tarefas de escolha que envolvam respostas com diferentes níveis de dificuldade, ratos lesionados na região do NAC podem selecionar a resposta que demande menos esforços, mesmo que isso resulte em uma recompensa menor (Salamone, Cousins, & Snyder, 1997; Salamone, Aberman, Sokolowski & Cousins, 1999). Outra interpretação neste caso é a de que estas lesões podem prejudicar os comportamentos induzidos (Di Chiara, 2002; Robbins & Koob, 1980).

Liljeholm e O'Doherty, (2012) apontaram para diferenças regionais na região estriatal, especificamente em procedimentos de transferência instrumental pavloviana (PIT), para humanos e roedores. Em humanos, utilizando estudos com neuroimagem, neste tipo de tarefa, há uma influência da parte lateral do estriado ventral, fora do accumbens, que é uma estrutura adequada na mediação deste processo. Já para roedores, a região mais externa do NAC faz a mediação adequada em tarefas envolvendo PIT. Os autores ressaltaram que, o fato de ainda não terem sido bem explorados os estudos envolvendo os efeitos de lesões da parte lateral do estriado ventral de roedores, a possibilidade de que o NAC pode ser uma estrutura mediadora para este tipo de tarefa ainda permanece. Embora possa haver grandes semelhanças na circuitaria cortico-estriatal de ambas as espécies, e para que se possa estabelecer uma homologia mais precisa neste caso, outros trabalhos serão necessários. Os efeitos da PIT podem ser, em muitos casos, atribuído às propriedades de motivação de incentivo do CS, que podem exercer uma influência motivacional sobre a resposta instrumental (Holland & Gallagher, 2003).

O NAC pode estar envolvido na interação entre tempo e motivação, devido a sua capacidade em atribuir valor a uma recompensa (Galtress, Marshall & Kirkpatrick, 2012). Em tarefas de procedimento de pico ("peak procedure"), ratos com lesão do NAC não mostraram mudanças com aumento da magnitude do reforço, como ocorreu com os ratos controle (Galtress & Kirkpatrick, 2009). Os autores demonstraram que lesões do NAC não aumentam a impulsividade mesmo quando há um atraso no reforço. Além disso, não mostraram mudanças

no comportamento de escolha quando há um aumento na magnitude do reforço. Ainda assim, animais lesionados podem produzir alterações na escolha de comportamentos quando há diminuição no atraso do reforço. Em procedimentos de contraste da magnitude do reforço, os ratos lesionados não conseguiram modificar suas respostas frente às mudanças, tornando-se indiferentes às mudanças de magnitude. Entretanto, tal dificuldade pode ter ocorrido não pela incapacidade em perceber as mudanças da magnitude do reforço, mas em prejuízos, segundo os autores, nas mudanças motivacionais de incentivo em respostas ao aumento de magnitude.

Rinaldi, Oliverio e Mele (2012) ressaltaram que as pesquisas sobre a função do NAC, tradicionalmente, estão focadas em temas com atividade locomotora, adicção, motivação e recompensa. Entretanto, lesões nesta estrutura podem prejudicar o processamento da informação espacial e memória. Nestes casos, animais lesionados tem mais dificuldade de alcançar uma plataforma durante um treino. Mesmo após treinamento, os animais ainda têm dificuldade quanto à localização quando esta plataforma muda de posição.

1.4 Núcleo Accumbens e Condicionamento Clássico

Os procedimentos envolvendo condicionamento operante (Bezzina et al., 2008) e respondente (Day et al., 2006; Day & Carelli, 2007) podem ser mediados também pelo NAC. Esta estrutura pode não ser primordial para determinar o valor do incentivo de um reforço imediatamente avaliado, mas ela pode ser importante na manutenção do valor de reforços liberados com atraso. (Bezzina et al., 2008)

O NAC está envolvido em uma série de tarefas relacionadas à recompensa. Os procedimentos de condicionamento clássico podem estar envolvidos em tarefas onde há a busca pela recompensa. Quando um estímulo condicionado é emparelhado a um outro estímulo, incondicionado, o CS irá afetar o comportamento de várias formas. Consequentemente, o animal irá ter as suas ações moduladas pela incidência do estímulo (Holland, 1979a, 1980b; Cardinal et al., 2002; Day & Carelli, 2007).

A apresentação do CS associado a um US serve para instigar a aproximação à fonte de reforço ou ampliar a resposta instrumental (Salamone & Correa, 2012). O controle neural que regula a atividade motora parece operar para estabelecer a ordem dos controles utilizados para a aproximação ou evitação a um estímulo em particular (Salamone, 1994; Salamone & Correa, 2012).

Neste aspecto, o NAC exerce uma relevante função: a estrutura tanto pode impelir o organismo para a ação, como pode também manter o organismo agindo de acordo com a estimulação relevante vigente selecionando, portanto, a estimulação relevante para o alcance da recompensa, ignorando assim os estímulos irrelevantes (Floresco, 2015).

Algumas estruturas cerebrais também têm um papel relevante em procedimentos de condicionamento clássico, destacando-se pela habilidade em formar associações entre os eventos geradores de recompensas e seus preditores. Neste sentido, destaca-se o NAC, como um processador das recompensas naturais ou associadas à droga (Day & Carelli, 2007), bem como os comportamentos relacionados. Para um melhor entendimento das bases neurobiológicas do comportamento em procedimentos de condicionamento clássico, é preciso não apenas estudos que enfatizem aspectos farmacológicos ou análises a nível celular, mas também o desenvolvimento de técnicas comportamentais seguras que consigam medir a aquisição, bem como a manutenção da associação entre estímulos.

O NAC também é capaz de avaliar tanto a valência quanto a saliência de um determinado estímulo, seja ele condicionado ou incondicionado, fazendo com que tal estrutura seja necessária para a sensibilidade do animal onde há violações de expectativa da recompensa (Acheson et al., 2006; Bjork, Smith, & Hommer, 2008; Manella, Gurney & Baldassarre, 2013).

Segundo Manella et al. (2013) o NAC é responsável pelo vigor no desempenho de comportamentos selecionados assim como o desencadeamento de comportamentos auxiliares, como farejamento e orientação, predição e avaliação do valor de uma recompensa (Humphries & Prescott, 2010; Bornstein & Daw, 2011; Penner & Mizumori, 2011; Pennartz, Ito, Verschure, Battaglia & Robbins, 2011; Khamassi & Humphries, 2012). O NAC, conjuntamente com a amígdala, tem mostrado um papel importante também em processos pavlovianos, na atribuição de valor a um estímulo previamente neutro (Corbit, Muir, & Balleine, 2001; Cardinal et al., 2002; Day et al., 2006; Day & Carelli, 2007; Yin, Ostlund, & Balleine, 2008; Lex & Hauber, 2010; Manella, Mirolli & Baldassarre, 2010).

As lesões no NAC podem levar a prejuízos comportamentais relacionados ao valor da recompensa, omissão do reforço e controle temporal, o que torna o processo dependente da forma como esta estrutura avalia a recompensa (Meck, 2006; Galtress et al., 2012).

1.5 Núcleo Accumbens e Efeitos de Omissão

Estudos apontam a importância do NAC na avaliação dos efeitos da omissão de reforço. Por outro lado, a omissão de recompensas, ao contrário do que acontece com pesquisas envolvendo antecipação de recompensas, citado anteriormente, pode reduzir o nível da atividade desta mesma estrutura (além de outras, como a amígdala) a valores negativos. Entretanto, em alguns trabalhos, o decréscimo de atividade pode surgir com a apresentação de um estímulo incondicionado (Breiter, Aharon, Kahneman, Dale & Shizgal, 2001; Delgado, Nystrom, Fissell, Noll & Fiez, 2000; Knutson et al., 2001; O'Doherty, Kringelbach, Rolls, Hornak & Andrews, 2001). No contexto da omissão de recompensas monetárias, Abler, Walter e Erk (2005) mostraram que a omissão de um valor monetário esperado gerou um aumento da atividade de áreas previamente relacionadas à emoção: a ínsula anterior e córtex pré-frontal. Também neste contexto, Ernst et al. (2005) mostraram que a ativação do núcleo accumbens e da amígdala é maior quando há omissão de uma recompensa esperada do que quando há o recebimento desta. Os autores ressaltam também que estas ativações dependem da fase do desenvolvimento do sujeito a ser estudado: o envolvimento do NAC foi maior entre os adolescentes, e o da amígdala foi maior entre adultos. Tais resultados se tornam importantes na investigação de distúrbios emocionais e problemas motivacionais, já no início do desenvolvimento. Estudos com ressonância magnética também são utilizados para identificar áreas cerebrais envolvidas na antecipação de recompensas, entretanto estes estudos se aplicam apenas a humanos e primatas, ainda não se estendendo a roedores (Tsurugizawa, Uematsu, Uneyama & Torii, 2012). Os estudos de Judice-Daher e Bueno (2013) utilizando tarefas de condicionamento operante, submetido a esquemas de intervalo-fixo e limited-hold sinalizado (FI-12s LH-6s), mostraram que a lesão no NAC pode interferir nos EOR, tornando os animais lesionados menos sensíveis a tal efeito; e que este mesmo efeito não pode ser explicado apenas pelo efeito de frustração, apontado por Amsel. Estes resultados mostraram que os EORs podem ser gerenciados por múltiplos processos e que a estrutura envolvida está, de alguma forma, modulando tal efeito.

A atividade neuronal na região do mesencéfalo é aumentada na presença de um estímulo saliente e esta atividade pode influenciar algumas regiões do estriado (incluindo o NAC), embora ela possa apresentar efeitos diferentes no que se refere ao disparo neuronal em tarefas envolvendo apresentação de recompensa ou omissão de reforço (Apicella, Deffains, Ravel & Legallet, 2009; Coull, Cheng & Mack, 2011).

Bromberg-Martin, Matsumoto e Hikosaka (2010) ressaltaram que tal estrutura pode sofrer uma forte inibição com a omissão de recompensas ou pode até mesmo ocorrer uma excitação da estrutura caso haja a omissão de um evento aversivo. Quanto à codificação de estímulos salientes, os autores afirmaram que a atividade neuronal não responde a todos os tipos de predição: ela pode aumentar quando estímulos salientes são apresentados, mas pode ter pouca ou nenhuma resposta quando estes são omitidos.

Na visão de Zink, Pagnoni, Martin, Dhamala & Berns (2003) o corpo estriado (incluindo o NAC) é responsável pelo processamento de estímulos salientes, diferentemente das recompensas, mas a resposta não é homogênea ao longo do corpo estriado. A atividade nesta estrutura fornece um sinal para desvios atencionais ou utilização de recursos comportamentais, ou ambos, relativo a estímulos inesperados. Sendo assim, os autores afirmaram que o NAC é sensível aos desvios atencionais.

Anselme (2015) enfatizou que a violação de expectativa de determinado evento acarreta na redução dos níveis dopaminérgicos e, conseqüentemente, na tomada de decisão e engajamento de animais e humanos em atividades de risco, ocasionando futuras psicopatologias, como a adicção. A redução de dopamina também pode ser avaliada em tarefas de contraste negativo. Ao nível neural, há uma grande ativação do NAC (juntamente com OFC) em práticas onde há a liberação de recompensas, comparadas com aquelas em que há omissão da mesma. Entretanto, o NAC é mais sensível a violações de expectativa (Knutson et al., 2001; Spicer et al., 2007; Schultz, 2010).

Figura 4. Principais funcionalidades do complexo estriado. As quatro principais regiões são anatomicamente contínuas e, aproximadamente, correspondem as regiões conhecidas como núcleo accumbens (*core* e *shell*), estriado dorsolateral e estriado dorsomedial. Fonte: Penner e Mizumori (2012).

1.6 Repertório Comportamental

A noção de repertório comportamental pode ser entendida como um conjunto de descrições das características básicas do padrão de comportamento de uma espécie (Bindra, 1961; Hinde, 1970; Bueno, 1977; Henton & Iversen, 1978). Esta noção está associada, em alguns casos, à proposição segundo a qual o animal não deveria estar forçado, seja por aspectos do equipamento e/ou procedimento, a somente exibir uma ou outra categoria em particular. Situações (semi)naturalísticas são entendidas muitas vezes como ideais para a utilização de um método de observação do repertório comportamental. Entretanto Ades (1976) justificou a utilização de ambientes artificiais para o estudo do repertório. A observação (in)direta, longe de ser incompatível com os propósitos ou os controles típicos do experimento, pode desempenhar o papel importante de fornecer informações mais precisas e de possibilitar novas interpretações acerca dos fenômenos de comportamento. Nas palavras de Skinner: *“Justamente pela rigidez, os padrões fixos de ação não se distorceriam quando investigados no laboratório (Lorenz, 1958). A preeminência dada à situação natural ou “quase-natural” em detrimento do contexto de laboratório tem sido criticada por Skinner, para quem “um processo comportamental não deixa de ser real por ocorrer numa situação arbitrária”. (Skinner, 1969 - p. 191)”*.

Para alguns pesquisadores (como é o caso de Bindra) o fenômeno do reforçamento positivo pode ser inteiramente explicado por uma combinação de motivação e condicionamento clássico (Salamone & Correa, 2002). Segundo Bindra (1961) cada resposta, assim como são definidas e requeridas pelo experimentador, são constituídas de uma série de eventos motores que são organizados sequencialmente, ou simplesmente, “atos”. Alguns desses atos são principalmente manipulatórios, como caminhar, empurrar, sentar-se, limpeza e manipular objetos; outros são principalmente perceptuais, como giro da cabeça, movimentos oculares, e farejar. Atos seriam os eventos moleculares que compõem a resposta molar. Um ato que contribui para uma resposta necessária no sentido de que esta resposta não pode ser concluída até que o ato ocorra na sua devida sequência pode ser referido como um "ato relevante." Um ato irrelevante não contribui para esta resposta necessária, e a sua eliminação desta sequência apenas torna a resposta mais eficaz ou a sua emergência mais provável.

Dentro de um esquema de reforçamento, o primeiro efeito não seria o fortalecimento de uma resposta, mas sim, a criação de um estado motivacional que influenciaria os comportamentos subsequentes do animal (Bindra, 1974); sendo este princípio necessário para

explicar as mudanças comportamentais. Este estado motivacional pode ser definido como um conjunto de processos neurais que promovem ações em relação a determinados objetos/eventos em um ambiente (Sideroff & Bindra, 1976).

Mesmo trabalhando sob o conceito de atividade geral, os autores foram cuidadosos ao salientar as especificidades das categorias comportamentais diante da programação do experimentador. O estímulo de incentivo, juntamente com pistas situacionais, podem determinar a forma de atividade do animal (Bindra & Palfai, 1967). Bolles (1963) atribuiu as mudanças de atividade do animal não apenas ao esquema de condicionamento, mas também, ao nível de privação. Animais sedentos são mais ativos, entretanto, as mudanças comportamentais se dão mais pelo esquema de condicionamento do que pelas condições de privação. Em esquemas de reforçamento não-contingente, uma mudança na quantidade de reforçamento pode ser responsável também pelas mudanças de performance do animal (Bolles & Grossen, 1970). Esta mudança brusca pode ocorrer mais rápido que as respostas anteriormente adquiridas. Em outro estudo, Bolles e Woods (1964) buscaram avaliar o desenvolvimento do comportamento animal, mostrando que a variedade do comportamento é consequência das interações sociais, desde o nascimento até o convívio com animais de outras ninhadas/grupos. Alimentar-se ou comportamentos de limpeza se mostraram, ao longo do desenvolvimento, grandes estimuladores sociais.

Os animais podem aprender a discriminar o próprio comportamento (Beninger, Kendall & Vanderwolf, 1974). Em tarefas onde animais podiam pressionar uma entre quatro barras disponíveis, na medida em que um estímulo anunciava a chegada do reforçador, mostraram que os animais podiam gerenciar os próprios comportamentos, a depender da gradação dos estímulos luminosos associados a cada barra.

Davey e Cleland (1982) buscaram avaliar o tipo de topografia do animal, em função da modalidade de reforço apresentado. Em tarefas onde houve a apresentação de uma barra 10 segundos antes da entrada do reforço, que poderia ser água ou comida, os animais estabeleciam vários tipos de topografia a depender do estímulo que seria previamente apresentado. Para animais em que foi apresentado comida, houve uma forte tendência em pressionar ou morder a barra. Na apresentação de água, os animais tendiam a cheirar, pressionar ou lambear a barra.

Reid, Vasquez e Rico (1985) avaliaram como esquemas periódicos de liberação de água poderiam alterar a distribuição do repertório de animais em diferentes esquemas de tempo fixo. Em uma primeira fase, os animais foram submetidos a esquemas de intervalo-fixo com diferentes durações. Nove categorias comportamentais foram avaliadas. Já na segunda fase os

animais foram submetidos a esquemas de intervalo diferentes da primeira fase, que poderiam ter duração maior ou menor em relação ao esquema aprendido. Os autores mostraram que alguns fatores, como a distribuição temporal do reforçador, exercem um controle sobre a distribuição dos comportamentos do animal.

Gallo, Duchatelle, Elkhessaimi, Pape e Desportes (1995) também analisaram os comportamentos dos animais em uma caixa de Skinner, em esquemas de reforçamento contínuo. A alta frequência de pressão à barra, considerada uma resposta unitária é, segundo os autores, fruto do desenvolvimento de outras categorias associadas a este tipo de resposta. Os autores conseguiram identificar níveis hierárquicos de comportamento onde, por exemplo, respostas como cheirar, cheirar e pressionar a barra e explorar sob a barra eram as categorias mais predominantes antes da resposta de pressão à barra. No intervalo entre os reforços, outras categorias eram mais evidentes, como permanecer parado frente à barra ou esfregar-se na barra, por exemplo.

Entretanto, outros trabalhos nos ajudam a compreender o fenômeno do repertório comportamental de forma mais precisa. Ades e Bueno (1974) realizaram um primeiro estudo explorando a estrutura comportamental com poucas limitações de equipamento sobre os comportamentos, através do emprego de um sistema de categorias que abrangia as principais respostas exibidas pelo animal. Ratos foram observados em duas situações de treino: o grupo experimental foi submetido a apresentações pareadas de um tom de 15 segundos com água, em esquemas de Tempo Variável (TV); no grupo controle o tom era apresentado sempre 30 segundos depois da água. Os resultados mostraram que a introdução do sinal para o grupo experimental levou a aumentos na taxa de comportamentos que ocorriam próximos do bebedouro e decréscimos no comportamento de tipo exploratório, limpeza e parado; enquanto o grupo controle apresentou menos comportamentos orientados ao bebedouro durante o sinal que durante o período precedente, e tiveram aumentos em taxas de algumas categorias que ocorriam longe do bebedouro.

Uma avaliação mais minuciosa, através da descrição das categorias comportamentais mostrou que, o sinal associado ao reforço, somente levou a incrementos em respostas que os animais exibem em estreita proximidade com a fonte de reforço. Não houve, portanto, um efeito sobre um conjunto de respostas difusas, mas que influencia respostas específicas e espacialmente delimitadas. Portanto, a principal influência do estímulo condicionado é modular as respostas do organismo para estímulos associados ao reforço e também para o contexto da

obtenção do reforço (Ades & Bueno, 1984). Esta plasticidade do repertório comportamental é uma importante condição para a adaptação do animal frente às variações do ambiente: o animal responde a relações temporais, espaciais e preditivas do ambiente que o cerca.

Bueno e Moreira (1998) analisaram o papel de um CS apresentado sozinho na aquisição de um procedimento de discriminação condicional serial de característica positiva e negativa. Neste experimento, o grupo controle recebeu a mesma quantidade de apresentações de estímulo condicionado quanto o grupo experimental, entretanto, o estímulo incondicionado não lhe foi apresentado. Este controle é delineado para avaliar os efeitos da familiaridade com o estímulo condicionado e quaisquer mudanças no organismo devido exclusivamente a esta familiaridade (Rescorla, 1967). Os dados não demonstraram um papel essencial do CS quando apresentado sozinho neste tipo de tarefa, entretanto, os dados levantaram a discussão sobre a proporção entre as práticas com e sem a liberação de reforço.

O repertório também foi analisado em vários esquemas de tempo-fixo combinado com CS de várias durações (Bueno, 1984). Os animais apresentaram estruturas similares de comportamento quando sinais de diferentes durações ocuparam a mesma proporção do intervalo entre práticas (ITI). Em práticas de curta duração em que houve omissão, houve um decréscimo nas taxas de comportamentos dirigidos ao bebedouro no começo do intervalo, mas que aumentou gradualmente, comparado às práticas em que houve reforço. Já para as categorias exploratórias ocorreu o inverso. Em outro estudo (Bueno & Kandraviti, 1986) animais eram submetidos a esquemas de intervalo-fixo onde, após treino prolongado e com CS de diferentes durações, os efeitos de omissão não persistiram.

Bueno, Figueiredo e Melo (2001) mostraram, por exemplo, que diferentes tipos de roedores (Wistar e Hamster) possuem diferentes estratégias comportamentais quando submetidos a procedimentos de discriminação condicional. Os animais foram submetidos a treinos ao bebedouro e, em seguida, submetidos a um total de 20 sessões de treino em procedimento de discriminação condicional de característica positiva (DC+). Em tarefas de discriminação condicional serial, os ratos Wistar apresentaram maior frequência de comportamentos orientados para o bebedouro quando o estímulo sonoro era associado ao reforço ou não. Com o treino prolongado, houve uma diminuição da frequência destes comportamentos quando o estímulo era apresentado sozinho. Para a mesma tarefa, os ratos Hamster mostraram menor frequência de comportamentos orientados para o bebedouro quando o estímulo sonoro era associado ao reforço ou não e, após o treino prolongado, um aumento na

frequência deste comportamento quando o estímulo era seguido de reforço. Enquanto os ratos Hamster foram mais discretos e com um conjunto mais restrito de comportamentos, ratos Wistar tem categorias mais amplas e taxas de respostas mais altas. Os resultados mostraram também que as diferenças típicas de cada espécie devem ser consideradas na avaliação dos procedimentos em questão. Alerta também para o fato de que deve haver uma combinação de fatores como tempo e contexto, a serem considerados no que diz respeito às estratégias comportamentais de cada espécie, e questionam quais seriam outros fatores possivelmente envolvidos. As comparações feitas nestes experimentos mostraram que os animais possuem diferentes estratégias para a aquisição de uma discriminação condicional, além de enfatizar a importância de uma abordagem psicoetológica para o entendimento da aprendizagem complexa em animais.

Moreira e Bueno (2003) investigaram os efeitos da lesão hipocampal, via radiação, no repertório de animais submetidos a tarefas de discriminação condicional seriada. Os resultados não apontaram uma diferença significativa entre os grupos, sugerindo que o giro denteado não participa, diretamente, na modulação de aquisição em tarefas de aprendizagem complexa. Bueno, Wagatsuma e Martins (2007) também verificaram estimação de tempo dos animais, através das mudanças comportamentais em procedimentos de discriminação condicional de característica positiva e negativa. O intuito foi verificar se os animais respondiam de modo diferencial a estímulos condicionais com mesma característica física, mas com diferentes durações, Bueno et al. (2007) utilizaram um procedimento de discriminação condicional de característica positiva (DC+) ou negativa (DC-). Os autores buscaram também examinar se uma informação amodal relativa a atributos básicos de estímulos, como a duração, tem capacidade de adquirir propriedades condicionais em animais.

Os resultados deste trabalho, assim como os de Bueno et al. (2001) demonstraram, através de seus procedimentos, a natureza das associações. Segundo os autores, diferentes estímulos condicionados podem evocar respostas condicionadas diferentes. Sendo assim, elementos das associações podem estar relacionadas diretamente com determinada resposta específica, o que facilitaria a investigação sobre a hierarquia de estímulos num processo de discriminação condicional. Adicionalmente, CS de diferentes modalidades, visual e/ou auditiva (Holland, 1979b; Ross & Holland, 1981) podem determinar o tipo de resposta do animal. Sendo assim, o poder modulador pode ser determinado por características específicas das propriedades físicas do estímulo. Os animais aprenderam a discriminar os dois eventos, bem como as

diferentes durações dos estímulos associados aos eventos, sugerindo que a duração, em ratos, pode estar associada a propriedades condicionais.

Bueno, Bernardes e Judice-Daher (2012) buscaram avaliar os efeitos da omissão do reforço no repertório comportamental de ratos com lesões no núcleo central e complexo basolateral da amígdala, utilizando-se de esquemas de condicionamento clássico e reforçamento não-contingente. Cada prática constituía de um sinal sonoro de 20 segundos, sempre seguido da liberação de aproximadamente 1 cc de água filtrada no 19º segundo de apresentação do estímulo sonoro. Nas sessões que envolviam omissão, a água era liberada em metade das práticas. Durante a omissão, houve uma diminuição da duração das categorias dirigidas ao bebedouro, e um aumento da duração das categorias de tipo exploratório e Limpeza, se comparado ao período onde houve liberação do reforço, para todos os grupos. Não foram encontradas diferenças específicas entre o grupo controle-operado e os grupos lesionados, mas, analisando pormenorizadamente cada categoria, os dados mostraram que a taxa de duração do grupo central foi maior, em relação aos demais grupos nos comportamentos de Limpeza e Locomover-se, no período Pós-sinal R. E quanto ao período Pós-sinal N a taxa de duração do grupo central foi menor, em relação ao grupo controle no comportamento de Farejar o bebedouro. Já com relação ao grupo basolateral, houve diferença em relação ao grupo controle, no período Pós-sinal N, que apresentou maiores taxas de duração na categoria Levantar-se. Os dados mostraram maior sensibilidade dos grupos (lesados e controle-operado) à omissão e confirmaram os dados de Bueno (1977) quanto às categorias comportamentais dirigidas ao bebedouro, pois suas taxas foram maiores durante a omissão do reforço. Os autores descreveram as funções atribuídas ao núcleo central e complexo basolateral da amígdala, a partir de prejuízos no desempenho de ratos com lesão destes núcleos em procedimentos de condicionamento pavloviano. (Holland & Gallagher, 1993; Hatfield, Han, Conley, Gallagher & Holland, 1996; Holland, 2006). Porém, estes procedimentos envolveram não apenas a omissão de um evento que era esperado, mas também a desvalorização do reforço; sendo vistos como contextos semelhantes àqueles encontrados nos procedimentos de omissão do reforço. Nesse caso, se o efeito da omissão do reforço estiver relacionado a aspectos atencionais e também motivacionais, ele estaria sob o controle de núcleos específicos da amígdala, uma vez que há suporte na literatura sobre as funções de cada uma destas subestruturas. Porém, no procedimento pavloviano utilizado neste trabalho, onde a lesão ocorreu após a aquisição da tarefa, apesar dos ratos dos grupos basolateral e central terem apresentado os efeitos de omissão, foram encontradas algumas diferenças entre os grupos lesados e controle-operado, quanto às

taxas de duração de algumas categorias, durante os períodos Pós-N e Pós-R. Estes dados sugerem que, embora a integridade do complexo basolateral e o núcleo central da amígdala não seja necessária para que animais exibam os efeitos de omissão, estas estruturas podem fazer parte do circuito neural que modula o EOR.

Estes dados acompanham os resultados dos estudos que investigaram o envolvimento de subestruturas da amígdala nos efeitos de omissão sugerindo que a amígdala, em especial o BLA e o CN, pode ser parte de uma circuitaria cerebral mais complexa envolvida nos EORs (Bueno et al., 2013; Judice-Daher et al., 2012). Os dados mostraram a importância desta estrutura nos estudos sobre omissão, como também indicaram a necessidade de se avaliar melhor outras estruturas componentes da circuitaria que modula os EORs.

Dentro da análise do comportamento existe o recorte de algumas categorias comportamentais para delimitar o número de variáveis dependentes em uma pesquisa, e também para que se tenha melhor controle do experimento. No entanto, a avaliação de determinados comportamentos pode vir a ser prejudicada na medida em que não seja considerado o conjunto de comportamentos como um todo, e também o quanto um determinado comportamento pode influenciar a outros. Ades (1976) apontou que, de todas as respostas que o animal poderia exibir em uma determinada situação experimental, era escolhida uma que fosse representativa do processo que estava sendo estudado, e esta resposta passaria a ser considerada como relevante, ou seja, era um elemento comportamental que fazia parte da resposta expressamente escolhida para ser controlada experimentalmente. Sendo assim, o foco do estudo passou ser esta resposta escolhida, e o tempo que o animal dedicava a outras respostas consideradas irrelevantes (o restante das respostas exibidas pelo animal, cuja manipulação não era prevista no delineamento experimental, e que são incompatíveis com a resposta manipulada), aparecia como uma lacuna nos registros (pausa) e, na maioria das vezes, não chegava a ser considerado para avaliação. O registro destas atividades, ressaltou o autor, dispensava/substituía a atividade do observador. Vale ressaltar que, na visão de Bindra (1961), cada resposta definida pelo experimentador pode ser vista como um consistente conjunto de respostas motoras sequencialmente organizadas, chamada por ele de “atos”, que podem ser divididos entre manipulatórios (locomover, limpeza, exploração de objetos, etc.) e perceptuais (movimentos de olhos e cabeça, farejamento, etc.). Estes atos, conjuntamente, foram considerados como eventos moleculares que compõem a resposta molar. O autor distinguiu, dentro do conjunto de categorias do animal, atos relevantes (isto é, elementos comportamentais que fazem parte da resposta expressamente escolhida para ser controlada experimentalmente)

e atos irrelevantes (o restante das respostas do animal, cuja manipulação não é prevista no delineamento, e que são incompatíveis com a resposta manipulada). Contudo, este trabalho se mostrou pertinente para estudos em que se considera o efeito de uma variável independente sobre uma ou algumas poucas respostas, diferentemente do presente trabalho, onde todas as respostas exibidas pelo animal estão no mesmo nível de relevância, sem controle diferencial, ou seja, todas as categorias comportamentais foram tratadas como variável dependente.

No caso do presente trabalho, onde todo o conjunto de comportamentos exibidos pelo animal passou a ser avaliado, independentemente de sua relação com o contexto e/ou conexão com outras categorias, esta distinção não fez sentido.

As categorias comportamentais foram extraídas do fluxo comportamental dos animais, através de definições mais ou menos arbitrárias, dadas pelo experimentador. Os limites a partir dos quais uma categoria se transforma em outra, a extensão de cada categoria, os aspectos das respostas considerados critérios para classificação, etc. são características a respeito das quais o experimentador deve tomar decisões, em função do problema específico com o qual se lida no momento. O comportamento do animal a ser avaliado é composto de uma série de variações em torno dos padrões básicos de comportamento, sendo os etogramas elaborados a partir de situações relativamente simples, mas que podem ter uma extensão variável. O número de categorias comportamentais pode variar, em função das minúcias do responder do animal a serem percebidas e analisadas. O uso deste sistema pode levar a uma grande quantidade de dados que podem prejudicar a análise e interpretação dos mesmos, mas sem prejuízo da fidedignidade no levantamento.

Outro fator a ser considerado é que o repertório de comportamentos do animal, ao ser analisado, deve ser categorizado inclusive quanto à sua posição no espaço onde ocorre o experimento. Não basta saber que o animal exibiu determinado comportamento, mas é preciso que se saiba também o local onde o comportamento ocorreu, o que é uma informação relevante para que tenha uma compreensão maior dos processos desencadeados. Uma região de referência dentro da caixa experimental é o buraco do bebedouro, local este onde se organiza muitas das sequências comportamentais dos animais. Quando há liberação de reforço (água), os animais se locomovem em direção ao buraco do bebedouro exibindo, conseqüentemente, comportamentos de lambida e farejamento.

Tal categorização deve ser feita para que se tenha, de modo complementar, um detalhamento funcional das atividades exercidas, bem como avaliar o funcionamento da organização espacial destes animais, como e quando eles distribuem o comportamento no

espaço. O emprego de critérios espaciais parte da ideia que as variáveis experimentais afetam não apenas os movimentos e posturas topograficamente definidas do animal, como também a distância entre estes movimentos ou o próprio corpo e certas regiões referenciais do ambiente. A princípio, uma categoria comportamental deveria ser formada a partir de critérios topográficos ou formais, ou seja, relativos à posturas ou transformações sofridas pelo organismo. Bueno (1977) sugeriu que, dependendo do problema de pesquisa a ser avaliado, deve-se acrescentar ao verbo que expressa a ação do animal, alguns modificadores, que indiquem a relação entre esta ação e aspectos do ambiente (como “pressionar a barra” ou “bicar o outro pombo”). A partir disso, conforme Bueno (1977), alguns comportamentos puderam ser considerados para avaliação, tais como farejar, farejar distante do bebedouro, lambe, locomover-se, levantar-se, limpeza, parado, etc.

A ênfase, neste trabalho, em se tomar como variável dependente um conjunto de comportamentos que o animal pode apresentar em uma determinada situação, decorreu da consideração de que qualquer mudança de comportamento pode implicar na mudança de um conjunto de outros comportamentos.

Baum e Bindra (1968) foram um dos primeiros autores a estudar e ressaltar a importância do repertório comportamental como variável dependente e observável, em procedimentos de sinalização e reforçamento não-contingente. Os animais foram submetidos a apresentações pareadas de um tom de dois minutos que antecedia a liberação de 1 cc de água destilada ou açucarada. Os resultados mostraram que, ao longo das sessões, houve um aumento gradual das respostas dirigidas ao bebedouro (*magazine oriented behavior*), na qual eram incluídas outras categorias como farejar ou lambe a colher do bebedouro, durante a vigência do sinal. As respostas incluídas na categoria atividade geral (*general activity*) – como farejamento, levantar, etc. – diminuíram um pouco nas primeiras 4 ou 5 sessões e depois se mantiveram em um nível constante. Apesar de fornecer informações relevantes sobre a modificação comportamental, este primeiro experimento apresentou alguns problemas metodológicos: as categorias comportamentais eram muito abrangentes, não permitindo uma análise mais detalhada do repertório, além da falta de um grupo controle que servisse de parâmetro.

Um comportamento em particular, apesar de ser relevante em alguns estudos, pode estar sujeito a influências as quais não são levadas em consideração por limitações no aparelho ou a um evento em particular, por exemplo. Uma modificação comportamental não ocorre em isolado, e isso implica na mudança de outros comportamentos que podem ocorrer

conjuntamente, e que por questões como o contexto de laboratório e o equipamento utilizado no estudo, não foram levados em consideração, num primeiro momento. Para isso Bueno (1977), além de métodos experimentais (esquemas de reforçamento, por exemplo), utilizou a observação direta dos comportamentos, bem como a sua categorização espacial dentro do ambiente no qual o sujeito foi avaliado.

O ambiente no qual o animal foi avaliado não possuía qualquer elemento que pudesse “enriquecer” o ambiente e, conseqüentemente, causar um enviesamento nas respostas básicas exibidas pelo animal, que poderia ser mais variada em ambientes enriquecidos (van der Harst, Baars, Spruijt, 2003). O simples acréscimo de um objeto ao ambiente em que é observado o animal pode propiciar o aparecimento de respostas colativas ao objeto, complementando as respostas já existentes (e avaliadas) naquela situação. Sendo assim, Bueno (1977) enfatiza que o repertório do animal é relativo ao ambiente no qual o mesmo está inserido e que as inferências a partir dos resultados só serão válidas para animais estudados em situações semelhantes.

A observação direta das filmagens oferece uma ferramenta importante para os estudos de observação. No presente trabalho o registro das categorias foi realizado de modo contínuo. No entanto, mesmo com todo o cuidado nos procedimentos de observação, registro e análise, ainda estamos em contínuo desenvolvimento no que diz respeito à compreensão dos processos envolvidos e ainda não podemos fornecer respostas definitivas sobre todas as questões que possam ser levantadas a respeito da omissão de reforço em animais lesionados. Esta abordagem somente pode ser considerada como uma base para aplicação de procedimentos experimentais que visem uma compreensão integrada do sistema de comportamentos nesta situação, juntamente com os aspectos neurobiológicos envolvidos.

Staddon e Simmelhag (1971) utilizaram um procedimento de liberação não contingente de reforço a intervalos periódicos, sem sinalização exteroceptiva. Os autores mostraram como diferentes comportamentos são alocados dentro do intervalo entre reforços. Esta alocação de comportamentos, não necessariamente mantida por reforçamento contingente, é explicada como decorrente dos estados gerados no organismo pela relação temporal com o evento reforçador. Pombos foram submetidos a esquemas de FI-12 segundos (não contingente) e VI-8 segundos. Os resultados mostraram o aparecimento de duas classes de resposta. As respostas de íterim, que apareciam em momentos de baixa probabilidade de reforço, caracterizadas por bicadas no chão, bater asas, movimentação em torno da parede do comedouro e locomoção. E as respostas terminais, que ocorriam imediatamente antes do reforço e eram caracterizadas como orientação de cabeça e corpo para a região onde estava o comedouro. O autor incluiu

também as respostas facultativas, que são aquelas que ocorrem entre as de ínterim e as terminais, mas que não são induzidas pelo reforço.

Posteriormente, Staddon e Ayres (1975) também avaliaram a interação entre as atividades possíveis durante o intervalo além do reforço programado. Aos animais, era liberada uma pelota de alimento a cada 30 segundos, mas o equipamento permitia que o animal bebesse, corresse em uma roda de atividade, entre outros comportamentos. Os resultados mostraram a aquisição de um padrão típico de beber no início do intervalo entre reforços, locomoção no meio do intervalo e respostas dirigidas ao bebedouro no final do intervalo. Há segundo o autor, uma plasticidade do padrão comportamental: eliminada uma possibilidade do animal apresentar uma atividade, este apresentava um aumento na taxa de outras atividades.

Para Holland (1980a, 1980b), muitos comportamentos condicionados classicamente são determinados não somente pela natureza do estímulo incondicionado, mas também pelas características do estímulo condicionado. Estes estímulos condicionados, por sua vez, podem possuir particularidades capazes de eliciar as respostas condicionadas específicas (Holland, 1977). O autor buscou avaliar se dois estímulos diferentes (luz e tom) poderiam eliciar diferentes tipos de comportamentos, quando pareados com comida. Para um grupo, a apresentação de um estímulo visual (luz) era seguida de reforço (L+T) enquanto a apresentação de um estímulo sonoro (tom) não era seguida de reforço. Para outro grupo (L-T+), a apresentação de estímulos seguiu de modo inverso. Quando a luz era seguida de reforço, os principais comportamentos eliciados foram “rearing”, “magazine” e “head-jerk”. Já quando o tom era seguida de reforço, os principais comportamentos eliciados foram “magazine” e “head-jerk”. A modalidade do estímulo bem como a sua localização tiveram uma forte influência no tipo de resposta condicionada, o que levou à conclusão de que a relação entre estímulos podem produzir diferentes respostas, a depender do tipo de CS utilizado.

Este trabalho serviu de parâmetro para avaliar, por exemplo, como o animal responde à diferentes características um mesmo estímulo. Resultados semelhantes foram encontrado em estudo posterior, que buscou avaliar como o intervalo entre apresentação dos estímulos (CS e US) poderiam determinar a forma das respostas condicionadas (Holland 1980a, 1980b). Durante a apresentação de diferentes CSs em esquemas de intervalo variável (VI), os estímulos auditivos evocaram comportamentos do tipo “startle”, “head-jerk” e “magazine” e os estímulos visuais evocaram principalmente comportamentos do tipo “rearing”, “magazine” e “walk”.

Os ratos paralisam quando estes CSs sinalizam choque, e se aproximam e entram em contato com o bebedouro quando estes sinalizam a chegada de comida ou água, frequentemente

roendo ou lambendo o bebedouro, dependendo do US utilizado (Holland, 1979a; 1979b). Contudo, a escolha do CS é também importante para determinar a forma das respostas condicionadas. Por exemplo, pistas auditivas difusas pareadas com comida tipicamente eliciam um salto rápido (quick jump) ou susto (startle), seguido por constantes movimentos de cabeça (head-jerk), frequentemente direcionados à fonte de reforçamento. Por outro lado, pistas visuais (luz) pareadas com comida, frequentemente (primeiramente) se levantam e direcionam para a fonte de luz, seguido por um contato mais passivo com a fonte de reforçamento (Holland, 1977).

Timberlake (1994) mostrou que, em tarefas de contraste negativo, onde ratos recebiam soluções de sucrose a uma concentração de 32% que era consequentemente reduzida a 4%, houve um decréscimo nas respostas consumatórias, mas um aumento nas respostas de orientação. No entanto, no restabelecimento da administração de sucrose com maior concentração, as respostas de orientação diminuíram dando lugar, novamente, às respostas consumatórias. Silva e Timberlake (1998a, 1998b) também avaliaram o repertório comportamental a partir de diferentes intervalos entre práticas. Os autores verificaram padrões temporais de comportamentos a depender da proporção do intervalo. As respostas variavam de acordo com a estimulação externa apresentada: na última metade do intervalo, os animais permaneciam mais tempo farejando o comedouro. No primeiro terço do intervalo, predominavam as respostas de limpeza. O conjunto de respostas observadas permitiram aos autores concluir que a liberação de alimentos produzia uma sequência organizada de comportamentos, que podem ser expressos por uma variedade de respostas.

O acesso aos estímulos são controlados por vários fatores, e os sinais ambientais associados ao reforçador podem preparar o animal para explorar e consumir mais efetivamente. Pistas ambientais podem fornecer informações acerca dos estímulos presentes, o que preparam os animais sobre a eventualidade de surgimento do mesmo no futuro e se comportar apropriadamente objetivando a busca destes mesmos estímulos (Galarce & Holland, 2009).

1.7 Repertório Comportamental e Omissão

Bueno (1977) mostrou a relevância do emprego de análise de mudanças no repertório comportamental como uma estratégia adequada para a descrição dos efeitos de omissão. Em seu estudo, a comparação da duração e organização sequencial de categorias comportamentais

entre condições de sinalização e omissão de reforço mostrou que estas afetam de maneira diferente o repertório comportamental do rato. Neste experimento, quinze animais privados de água, divididos em 3 grupos, foram submetidos a 55 sessões de treino, com 3 práticas cada uma. Os grupos foram divididos em: Grupo 100 em que, para cada prática, um estímulo sonoro era apresentado sempre imediatamente antes do reforçador; Grupo 100-50 em que o esquema de reforçamento foi alternado de 100% para 50% a partir da 45ª sessão, e o Grupo 0, em que os animais eram expostos apenas ao sinal. Foi registrada a ocorrência de 10 categorias de resposta, em 4 períodos de 20 segundos: Pré-sinal, Sinal, Pós-sinal 1 e Pós-sinal 2 (sendo cada um destes dois últimos períodos subdivididos em: Pós-sinal R – onde havia a liberação do reforço – e Pós-sinal N – onde havia omissão do reforço); e a média dos intervalos entre as práticas variava entre 1 e 4 minutos. A análise dos períodos Sinal e Pós-sinal R mostrou que, durante estes períodos, os ratos dos Grupos 100 e 100-50 apresentaram um aumento da frequência de respostas dirigidas ao bebedouro e uma diminuição das respostas exploratórias. Por outro lado, análise do período Pós-sinal N mostrou que os ratos do Grupo 100-50 apresentaram níveis de atividade do tipo exploratório maiores que aqueles apresentados nos períodos Pós-sinal após o reforço (Pós-sinal R). Assim, enquanto a condição de sinalização do reforço produziu uma alta taxa de respostas dirigidas ao bebedouro, a condição de omissão do reforço produziu uma alta taxa de respostas do tipo exploratórias. Portanto, após N, os ratos não apresentaram um aumento de respostas dirigidas ao bebedouro, nem continuaram a responder como antes do reforçamento. Segundo Bueno (1977), estes efeitos não podem ser apontados por um mesmo índice genérico de estado motivacional, uma vez que podem estar se referindo a fenômenos motivacionais distintos, que exigem análise específica. Deste modo, parece que há necessidade de se considerar tanto as propriedades motivacionais e emocionais quanto o controle inibitório temporal para a compreensão dos EORs.

Posteriormente, Bueno, Bernardes e Judice-Daher (2012) verificaram os efeitos da sinalização exteroceptiva e dos EORs sobre o repertório comportamental de ratos com lesões seletivas do CN ou do BLA num contexto de reforço não-contingente. Foram utilizados 36 ratos Wistar machos distribuídos em três grupos, de acordo com a subestrutura lesionada: central (CN), basolateral (BLA) e controle (CTL). Estes foram submetidos a 28 sessões de treino com 8 práticas cada, sendo 20 sessões na fase pré-lesão e 2 sessões na fase de retreino (sem omissão do reforço) e 6 sessões na fase pós-lesão (com omissão do reforço). Cada prática foi constituída por quatro períodos diferentes, todos com a mesma duração (20 segundos): Pré-sinal, Sinal, Pós-sinal 1 e Pós-sinal 2, com as mesmas subdivisões do trabalho de Bueno (1977), já citadas

anteriormente. Cada prática consistia da apresentação de 20s de um estímulo sonoro e na liberação do reforço (1 cc de água filtrada) no 19º segundo de apresentação do estímulo, nas sessões de reforçamento contínuo. Já nas sessões que envolviam omissão, a água era liberada em apenas metade das práticas. Foram analisados 10 comportamentos agrupados da seguinte forma: Categoria de comportamentos dirigidos ao bebedouro (3), Categoria de comportamentos de tipo exploratório (4), Limpeza, Parado e Outros. Foi feita uma comparação intragrupo de cada um dos 10 comportamentos nos períodos após a sinalização, após a omissão e após a liberação do reforço. Os resultados mostraram que os animais foram sensíveis à sinalização, devido a diferenças significativas na comparação dos períodos Pré-sinal e Sinal. Durante o período Sinal, houve um aumento na duração das categorias dirigidas ao bebedouro, e uma diminuição da duração das categorias de tipo exploratório e Limpeza, para todos os grupos. Os resultados também mostraram que os animais foram sensíveis à omissão do reforço, devido às diferenças significativas na comparação dos períodos Pós-sinal R e Pós-sinal N. Durante a omissão, houve uma diminuição da duração das categorias dirigidas ao bebedouro, e um aumento da duração das categorias de tipo exploratório e Limpeza, se comparado ao período onde houve liberação do reforço, para todos os grupos. Houve, no entanto, um efeito mais pronunciado para a categoria Levantar-se, onde houve um aumento da duração, durante a omissão, para o grupo basolateral.

Não foram encontradas grandes diferenças entre o grupo controle e os grupos lesados, mas, analisando pormenorizadamente as categorias, os dados sugerem que a taxa de duração do grupo central foi maior, em relação aos demais grupos nos comportamentos de Limpeza e Locomover-se, no período Pós-sinal R. Quanto ao período Pós-sinal N, a taxa de duração do grupo central foi menor em relação ao grupo controle no comportamento de Farejar o bebedouro. Já com relação ao grupo basolateral, houve diferença em relação ao grupo controle, no período Pós-sinal N, no comportamento de Levantar-se, que apresentou maiores taxas de duração, já citado anteriormente.

Para um melhor detalhamento do processo de omissão, foi feita uma divisão dos períodos em blocos de cinco segundos, para uma comparação entre o último bloco do período sinal e o primeiro bloco do período Pós-sinal R e N, que são contíguos. Os resultados mostraram que, na comparação entre o último bloco do período Sinal e o primeiro bloco do período Pós-sinal R, houve uma diminuição da duração das categorias dirigidas ao bebedouro, para todos os grupos. Conjuntamente, na comparação entre o último bloco do período Sinal e o primeiro bloco do período Pós-sinal N, houve um aumento da duração para as categorias de tipo exploratório, onde o grupo controle apresentou diferenças entre tais blocos para a categoria Levantar-se. Este

último dado confirmou os dados de Bueno (1977), que apresentou as mesmas tendências em relação ao grupo 100-50.

Entretanto, o desempenho dos animais lesados foi semelhante ao desempenho dos animais do grupo controle, em todas as fases do experimento. Estes resultados apontaram a necessidade de se considerar o envolvimento de uma rede neural mais complexa para avaliação dos efeitos da omissão do reforço, como o envolvimento de conexões entre o núcleo central e o complexo basolateral da amígdala com outras estruturas cerebrais. O processo de avaliação do repertório comportamental evidencia uma quantidade maior de comportamentos a serem considerados em relação a um comportamento específico (correr numa pista ou pressão à barra, por exemplo). Os estudos com lesões podem mostrar a influência de uma determinada estrutura sobre todo o repertório comportamental (e não apenas em um comportamento em isolado), e principalmente, permitem verificar também o papel de uma estrutura num procedimento de omissão. Alterações na duração das categorias comportamentais classificadas por Bueno (1977) em atividades de tipo exploratório, consumatórias e de ínterim, permitirão uma discussão dos aspectos motivacionais e atencionais envolvidos no efeito de omissão e apontados como relacionados à ativação do núcleo accumbens. A caracterização de padrões específicos de comportamento formados nas diferentes condições pode fornecer esclarecimentos sobre a forma de atuação dos fatores estudados, e serve também como uma ferramenta para desvendar as relações temporais entre eventos.

Mais do que saber a resposta correta a partir da distribuição dos estímulos apresentados no ambiente, é preciso saber quando as ações devem ser executadas, para uma melhor eficiência na estratégia comportamental. O NAC aparece como uma estrutura que organiza temporalmente as ações do animal no sentido de avaliar a chegada de estímulos iminentes (Singh et al., 2011; Koppe et al., 2014). Esta relação entre NAC e controle temporal ainda apresenta dados divergentes. A depender do medicamento utilizado, este controle temporal pode não se estabelecer, principalmente na interação entre o NAC e estimulantes, como a anfetamina (Kurti & Mattel, 2011).

Outros autores afirmam, entretanto, que um prejuízo no NAC pode fazer com que o controle temporal do animal seja alterado em tarefas que envolvem escolha (Salamone, Correa, Farrar & Mingote, 2007). Animais lesionados têm suas respostas instrumentais alteradas, com atraso na resposta de aproximação ao comedouro, em relação ao grupo controle. Se a tarefa exigir uma resposta mais complexa, os animais lesionados se afastam do comedouro ou tentam emitir uma resposta que demande menos esforço.

Galtress e Kirkpatrick (2010) afirmaram que animais com lesão no NAC podem perder a motivação frente o estímulo de incentivo, mas continua a antecipar eventos. Segundo Koppe et al. (2014), apesar de não ser enfatizado em estudos sobre controle temporal, o NAC é uma estrutura importante para avaliar a (não) predição dos eventos, sendo assim incluída nos estudos sobre controle temporal.

Estudos citados anteriormente evidenciam o uso do repertório comportamental em procedimentos de discriminação simples e aprendizagem complexa (por exemplo, Ades & Bueno, 1974; Bueno & Holland, 2008; Bueno et al., 2007; Bueno & Moreira, 1998; Moreira & Bueno 2003). A importância da validade ecológica vem sendo amplamente aceita por psicólogos experimentais que investigam o processo de aprendizagem em animais. Consequentemente, o detalhamento da análise experimental de um processo de aprendizagem em situações de laboratório vem sendo visto positivamente pela Etologia (campo da Biologia que avalia como o animal se comporta em condições naturais), e com isso, essas duas abordagens têm tido benefício mútuo (Holland & Ball, 2003).

Animais submetidos a esquemas de reforçamento não contingente podem produzir vários tipos de comportamentos, como lambe o bebedouro, locomover-se ou correr em uma roda de atividade (Falk, 1971; Staddon & Simmelhag 1971; Killeen, 1975; Lopez-Crespo, Rodriguez, Pellon & Flores, 2004). Alguns estudos indicam que a regulação dopaminérgica está envolvida na execução dessas atividades, e uma lesão nesta estrutura comprometeria todo o repertório (Robbins & Koob, 1980; Wallace, Singer, Finlay & Gibson, 1983; Robbins, Roberts & Koob, 1983; Salamone, 1988; Mittleman, Jones, Whisha & Koch, 1990).

Neste contexto, a avaliação de um conjunto de categorias comportamentais fornece um diagnóstico mais apurado, capaz de evidenciar o efeito de uma variável sobre um conjunto de comportamentos que competem entre si, selecionando os comportamentos apropriados para determinado contexto, e preparando o organismo para a ação (Ades, 1976). Estes comportamentos, avaliados conjuntamente, podem nos dar pistas sobre várias questões sobre aprendizagem complexa. A tentativa de esclarecimento ganha agora novos recursos, que vão além das avaliações em contexto natural, por exemplo (Ades, 1976; Bueno, Bernardes & Judice-Daher, 2012; Holland & Ball, 2003; Staddon & Reid, 1987).

O estudo das categorias comportamentais, de forma mais detalhada e específica, é importante para a compreensão dos efeitos da omissão de reforço, bem como a compreensão dos fatores motivacionais e atencionais relacionados ao núcleo accumbens, além do controle

temporal, no caso deste trabalho. Já o efeito de omissão de reforço tem se mostrado um recurso bastante pertinente para avaliar os mecanismos de frustração e ansiedade envolvidos em processos de aprendizagem complexa. Estes estudos tentam sanar questionamentos quanto aos estímulos moduladores do repertório comportamental, a participação de determinadas estruturas (sub)corticais num processo de omissão, etc.

Conjuntamente, os estudos envolvendo estruturas corticais ou subcorticais nos permite avaliar se determinada estrutura pode, ou não, servir de indicativo para os processos atencionais e motivacionais dentro da análise do comportamento do animal. No presente trabalho buscou-se avaliar as mudanças no repertório comportamental de animais, lesionados ou não, em eventos que envolvem uma liberação não-contingente de reforço dentro de um esquema de condicionamento clássico, em procedimentos de omissão de reforço.

2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

Para Holland e Ball (2003), os estudos sobre a aprendizagem e plasticidade neural associados, devem ser uma tendência viável e são aceitos pela comunidade em geral. A compreensão dos fatores que controlam a omissão comporta diversas possibilidades de explicação. Em comportamento animal, a avaliação de uma classe de respostas e como uma determinada resposta pode influenciar outras, podem oferecer um direcionamento de como funcionam as estratégias comportamentais de cada espécie e como elas podem ter evoluído filogeneticamente.

Apesar dos estudos com humanos, empregando medidas de Imagem de Ressonância Magnética Funcional, terem sugerido o envolvimento do núcleo accumbens (e outros, como o córtex pré-frontal) na modulação dos processos envolvidos em omissões de recompensas esperadas, não há na literatura pesquisas que buscaram avaliar se lesões nestas áreas podem interferir nos EORs. No contexto dos estudos experimentais com animais, se for mostrado que o comprometimento funcional ligado à ativação do núcleo accumbens em animais lesados afeta os EORs, os processos subjacentes aos EORs poderiam ser mais bem compreendidos.

A literatura também não apresenta estudos que avaliem o repertório comportamental num procedimento de omissão de reforço em tarefas de condicionamento clássico, envolvendo também lesões no núcleo accumbens. Como tal estrutura é apontada como representante de uma interface do sistema límbico-motor (Cardinal et al., 2003), ela pode nos indicar de quais

maneiras o repertório comportamental pode ser analisado, sob diferentes processos, dentro do mesmo contexto experimental.

Sendo assim, este trabalho tem como objetivo analisar os efeitos da omissão do reforço num procedimento de liberação não-contingente de reforço, sobre o repertório comportamental de ratos com lesões no núcleo accumbens. Esta análise será feita tomando um conjunto de categorias comportamentais predefinidas como objeto de estudo, analisando assim as características relevantes dos comportamentos do animal no processo de omissão, bem como a verificação das estratégias utilizadas pelo animal e como a estrutura envolvida participa deste processo.

3. MATERIAIS E MÉTODO

3.1. Sujeitos

Foram utilizados 30 ratos albinos machos, linhagem Wistar, experimentalmente ingênuos, com aproximadamente 90 dias, provenientes do Biotério Central da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto – Campus de Ribeirão Preto. A partir da chegada dos ratos ao laboratório, todos receberam dieta *ad libitum* até atingirem o peso estável. Em seguida, os ratos passaram pela fase de cirurgia e, após a recuperação pós-cirúrgica, um regime de privação de água manteve os animais, até o fim do experimento, com cerca de 85% de seus pesos estáveis. O projeto seguiu as normas da Comissão de Ética da FFCLRP-USP. Todos os sujeitos passaram pelas seguintes fases: lesão (ou lesão fictícia); habituação e treino. Este último foi dividido em: condição 100% e condição 50%.

3.2 Equipamentos

O equipamento para treinamento comportamental consiste em 8 caixas experimentais (modelo Lafayette), medindo 20x20x23cm. Cada caixa possui paredes laterais e piso (em barras) de aço inoxidável, parede frontal, fundo revestido com tinta de cor preta (fosca), teto de acrílico e um bebedouro localizado no centro da parede lateral esquerda. Estas caixas estão inseridas em caixas de isolamento de madeira localizadas em estantes dentro de um cubículo revestido com Eucatex acústico para isolamento de ruídos externos. Uma iluminação ambiental (luz vermelha) foi colocada no teto das caixas experimentais e alto-falantes (20W) instalados dentro de cada caixa de isolamento que liberam um tom de 1000HZ e 30db. Foi instalada na parte frontal de cada caixa uma mini-câmera (modelo VT-786 CCD DN), que filma os comportamentos do animal no momento da sessão. A placa de vídeo e o programa de monitoramento foram responsáveis pelo registro e armazenamento dos dados. Uma lâmpada “led”, de cor vermelha, foi colocada na parte superior esquerda, na parte externa da caixa, para indicar ao experimentador o momento da vigência do sinal.

O controle experimental foi realizado por uma interface desenvolvida no Laboratório de Processos Associativos, Controle Temporal e Memória; e um computador aciona automaticamente os mecanismos de reforço e de estímulo de acordo com um programa que foi

preparado especialmente para este experimento. Os equipamentos utilizados para a neurocirurgia e histologia são um aparelho estereotáxico (modelo David Kopf), um sistema de perfusão e um micrótomo para cortes em parafina.

Figura 5. Vista frontal da caixa de Skinner.

Figura 6. Vista frontal do bebedouro.

3.3 Cirurgia

Inicialmente, os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de um preparado anestésico composto por 0,8mL de cloridrato de cetamina (0,028 mg/mL) e 0,7 mL de cloridrato de xilazina (3,33 mg/mL), na dose de 0,1 mL por 100g de animal. Para uma melhor recuperação dos ratos foi aplicado, após o anestésico, o Pentabiótico (0,2mL). Ao final da cirurgia, a pele foi suturada e o animal retirado do aparelho estereotático. Foi aplicada injeção subcutânea de Banamine (analgésico, antipirético e antiinflamatório) na dose de 0,1ml para cada 100g de peso corporal. Em seguida, o rato foi recolocado em sua gaiola e recebeu aplicação de Rifocina Spray no local da sutura. Todos os ratos foram submetidos à cirurgia durante fase experimental, inclusive os ratos do grupo controle “sham”, no entanto, não foi administrada nenhuma substância neurotóxica a este grupo.

Para a aplicação tópica de pequenas quantidades das substâncias neurotóxicas foram utilizadas microseringas conectadas a um microinjetor. Ambos ficaram acoplados ao aparelho estereotático. Na ponta da agulha da microseringa foi colada uma micropipeta de vidro estirado. A ponta da micropipeta de vidro foi a única porção que penetrou no encéfalo para a aplicação da neurotoxina. Foi utilizada uma broca odontológica para abrir um orifício no crânio sobre cada hemisfério de modo a permitir a passagem da micropipeta de vidro; todo cuidado foi tomado para não danificar a dura-máter. Após a abertura dos orifícios, o conjunto micropipeta e microseringa foi conduzido até a primeira coordenada ântero-posterior, médio-lateral e a micropipeta de vidro foi aproximada da dura-máter; o local onde a ponta de vidro encostou na superfície da meninge foi anotado como ponto “zero” para a coordenada dorso-ventral. A micropipeta foi então posicionada no ponto de infusão e a neurotoxina liberada lentamente com o auxílio do injetor manual. Esse procedimento foi repetido para cada um dos pontos.

3.4 Lesão

(1) Neurocirurgia: As lesões bilaterais do núcleo accumbens (NAC) foram realizadas por meio de microinjeções de 0,09 M de ácido quinolínico (AQ) dissolvidos em tampão fosfato-salina (pH 7,4), através da microseringa Hamilton de 5 μ L. Foram feitas aplicações de 0,5 μ L de AQ em cada uma coordenadas (em mm) (ver na tabela abaixo). O injetor foi mantido por aproximadamente 3 minutos no local da aplicação para a difusão da toxina. Os procedimentos

envolvidos nas lesões bilaterais fictícias do NAC foram os mesmos, exceto que nenhuma droga foi infundida.

As lesões envolveram a utilização de coordenadas estereotáticas baseadas no Atlas de Paxinos e Watson (1996), descritas na tabela 1 (abaixo). O bregma foi utilizado como ponto zero para as coordenadas ântero-posterior e meso-lateral. A superfície da dura-máter foi utilizada como ponto zero para as coordenadas dorso-ventrais.

- Lesão neurotóxica do núcleo accumbens (NAC):

Tabela 1: coordenadas (em mm) utilizadas para as micro-injeções de ácido quinolínico (AQ), conforme Atlas de Paxinos e Watson (1996).

Ântero-Posterior	Meso-Lateral	Dorso-Ventral
+1,7	+1,4	-6,2
+1,7	-1,4	-6,2
+1,9	+1,6	-6,0
+1,9	-1,6	-6,0

3.5 Procedimento comportamental

Os animais foram submetidos ao treino de manipulação diária que consiste em retirá-los da gaiola, conservá-los sobre o braço do experimentador durante um minuto, colocá-los na bandeja da balança por aproximadamente 15 segundos e finalmente introduzi-los na gaiola de moradia. Após a recuperação cirúrgica, foram adaptados ao regime de privação, no qual foram privados de água até atingirem, gradativamente, o peso correspondente a 85% do peso *ad lib*. Os 30 ratos utilizados foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: NAC (ratos com lesão

do núcleo accumbens – 18 animais) e controle “sham” (ratos com lesão fictícia do núcleo accumbens – 12 animais).

3.6 Habituação e Treino ao bebedouro

Na fase de habituação, houve uma única sessão de 30 minutos de adaptação durante a qual os ratos puderam explorar a caixa experimental. Houve também duas sessões de treino ao bebedouro com duração 20 minutos ou 30 práticas de liberação de água (o que ocorresse primeiro), durante o qual os animais receberiam água todas as vezes em que estivessem com o focinho voltado para o bebedouro, sendo que, para que pudessem receber água novamente, eles deveriam se afastar da região do bebedouro.

3.7 Treino

Nesta fase, foram realizadas sessões de treino diárias, de modo contínuo. Para cada sessão o rato - com aproximadamente 23 horas de privação de água - foi deixado na caixa de treinamento por um período de 30 minutos.

Quanto às práticas, eles foram distribuídos da seguinte forma:

Condição 100% (R) - a água foi liberada no final de cada apresentação do tom.

Condição 50% (R e N) - a água foi liberada no final de apenas metade das apresentações do tom.

Para todos os grupos, foram realizadas 20 sessões com 8 práticas. Cada prática constituiu na apresentação de um tom (CS) e liberação de aproximadamente 1cc de água filtrada no 19º segundo de apresentação do estímulo sonoro ao final de todas as práticas, apenas na condição 100%. Após a aquisição de um desempenho estável (aproximadamente 15 sessões), na condição 100%, a omissão do reforço foi introduzida (condição 50%). Na condição 50%, foram feitas 5 sessões onde a liberação de água aconteceu em metade das práticas. Os eventos de reforçamento (50%-R) e omissão (50%-N) foram distribuídos aleatoriamente durante as sessões, conforme a figura 7.

Figura 7. Esquema representativo das práticas envolvidas no procedimento comportamental empregado no presente experimento, durante a fase pós-lesão.

3.8 Registro das categorias de comportamentos

O programa desenvolvido pelo laboratório fez o monitoramento dos eventos que ocorreram em cada sessão. As imagens foram gravadas em arquivos de vídeo, no computador. As categorias comportamentais e o controle dos estímulos acionados em cada intervalo foram registrados por meio de uma interface. A transcrição e análise de categorias foram feitas através de um programa também desenvolvido no laboratório.

Figura 8. Programa de monitoramento de eventos.

Figura 9. Equipamento de registro dos comportamentos.

O sistema de categorias empregado para a descrição do repertório comportamental está de acordo com o catálogo empregado nos experimentos de Bueno (1977). As categorias foram agrupadas da seguinte forma:

- **Categoria de comportamentos dirigidos ao bebedouro:**
  - ✓ **Farejar o bebedouro (FAB)** – Permanecendo Parado, o animal apresenta movimentos de vibrissas e narinas, acompanhados ou não de movimentos de cabeça. O animal permanece com o focinho na região da caixa delimitada por uma distância de 3 cm a partir do bebedouro.
  - ✓ **Parado próximo ao bebedouro (PAB)** – O animal, estando Parado, permanece com o focinho numa região da caixa delimitada por uma distância de 3 cm a partir do bebedouro.
  - ✓ **Lamber o bebedouro (LAMB)** – O animal lambe o bebedouro, estando Parado.
- **Categoria de comportamentos de tipo exploratório:**
  - ✓ **Farejar na região do bebedouro (FABB)** – Quando o animal conserva as duas patas anteriores na metade do chão da caixa próxima à região do bebedouro;

porém, esta categoria não é registrada quando o animal apresenta o farejamento do próprio bebedouro (FAB).

- ✓ **Farejar distante do bebedouro (FAX)** – Quando o animal conserva as duas patas anteriores na metade do chão da caixa oposta à região do bebedouro.
- ✓ **Levantar (LE)** – O animal ergue a região anterior do corpo, afastando as patas anteriores do chão. Estes movimentos são acompanhados de movimentos de cabeça e movimento de narinas e vibrissas.
- ✓ **Locomoção (LO)** – Estando o tronco afastado do chão, o rato realiza movimentos das 4 patas (levanta e volta a apoiar em um outro ponto do chão) que de modo coordenado vão resultar num deslocamento do organismo sobre o chão da caixa.
- **Limpeza (LI)** – Estas atividades podem ser de 3 tipos: (a) o animal lambe ou mordisca uma superfície limitada do corpo; (b) o animal ergue uma pata do chão e esfrega-a numa região da superfície do próprio corpo (coçar-se); ou ainda (c) permanecendo com as patas anteriores afastadas do chão, aproxima-as da boca, lambe-as e em seguida estas são deslocadas para a região dorsal da cabeça e finalmente o animal esfrega-as sobre a região dorsal no sentido orelha-focinho.
- **Parado (PA)** – O animal conserva as 4 patas apoiadas no chão. Pode conservar as patas anteriores estendidas e a região ventral do tronco afastada do chão, ou as patas e a região ventral do tronco encostadas no chão.
- **Outros (O)** – Comportamentos não previstos nas categorias acima descritas. Por exemplo: bocejar.

3.9 Histologia

Ao término do procedimento comportamental, os ratos foram mortos por asfixia em gás carbônico. Em seguida, seus encéfalos foram retirados dos crânios e passaram por pós-fixação em formol (10%). Após um dia, os cérebros foram transferidos para sacarose (30%) onde permaneceram por aproximadamente 2 dias. Os cortes histológicos coronais, de 40 μ m, foram feitos ao criostato. Todas as fatias foram colocadas em lâmina histológica. Foi utilizada a coloração de violeta de cresil para visualização de corpúsculos de “Nissl” e, portanto, a ocorrência de perda celular nas estruturas lesadas.

3.10 Análise dos Dados

As imagens dos dados referentes às categorias de respostas foram arquivadas no computador em que foram executados os experimentos para posterior transcrição e análise, através do sistema de monitoramento do programa. Para garantir a fidedignidade dos dados coletados, dois observadores independentes registraram os dados comportamentais em cada experimento. Pelo menos um observador não sabia da história dos ratos condicionados. Os dados foram registrados usando as categorias comportamentais relatadas neste trabalho e os observadores deveriam concordar em, pelo menos, 90% das observações conjuntas. A partir desses dados, as categorias foram tabuladas de forma a permitir a descrição e análise das atividades desenvolvidas pelos animais nas diferentes situações experimentais. Com relação ao registro de observações dos comportamentos, bem com sua duração, foram avaliadas as categorias de respostas de todos os sujeitos nas diferentes fases. As mudanças comportamentais foram verificadas através das diferenças nas durações de cada categoria de resposta entre os grupos e entre os períodos. Os dados relativos a tais mudanças foram analisados de acordo com os seguintes critérios, para os dois grupos (controle “sham” - CTL - e accumbens - NAC):

- Comparação das taxas de duração das categorias comportamentais entre os grupos.
- Comparação entre as mudanças no repertório comportamental nas condições de reforçamento contínuo e omissão de reforço.

Para verificar os efeitos da omissão de reforço, no decorrer das sessões, os resultados foram submetidos ao teste de Wilcoxon, numa análise **intragrupo**, para comparação entre duas amostras dependentes. Foram comparadas as taxas de duração dos períodos Pós-sinal R X Pós-sinal N, para cada categoria comportamental. Este teste serviu para verificar se havia, ou não, diferenças estatisticamente significativas entre os períodos.

Em seguida, foi feita a análise **intergrupos**, utilizando o teste de Mann-Whitney, para comparação entre duas amostras independentes. Foram comparadas as taxas de duração dos períodos Pós-sinal R e Pós-sinal N, entre os grupos, para todas as categorias comportamentais. Este teste verificou se houve, ou não, diferenças estatisticamente significativas em cada período.

Um índice de significância de $p \leq 0,05$ foi utilizado para todas as análises.

4. RESULTADOS

4.1 Resultados histológicos

A Figura 2 mostra microfotografias de coloração de Nissl das secções coronais da região do núcleo accumbens dos cérebros de um animal controle (A) e um animal com lesão do núcleo accumbens (B).

Dos 12 ratos submetidos à cirurgia do grupo controle “sham”, dois morreram. Dos 18 ratos submetidos à cirurgia para a produção da lesão do núcleo accumbens, nenhum morreu durante a cirurgia. A maioria dos ratos lesados incluídos na análise apresentou lesão das porções anterior e medial do núcleo accumbens.

Não foram observados quaisquer danos nos encéfalos dos ratos do grupo controle, com exceção daqueles produzidos pela passagem da micropipeta no procedimento cirúrgico.

Figura 10. Fotomicrografias de secções coronais da região do núcleo accumbens - NAC - (hemisfério esquerdo), tratadas pelo método de coloração por violeta de cresil (“coloração de Nissl”). A figura (A) representa a área do NAC de um animal do grupo controle “sham” e a figura (B) representa a área do NAC que foi lesionada. As setas indicam a região do NAC, intacta (A) e lesada (B).

4.2 Resultados comportamentais

Devido ao rompimento de critérios que possibilitassem uma análise paramétrica dos dados, como citado, decidiu-se fazer uma análise do registro das categorias comportamentais substituindo a testagem paramétrica por uma testagem não paramétrica. Sendo assim, para a análise **intragrupo** foi utilizado, primeiramente, o teste de Wilcoxon, para comparação entre duas amostras dependentes. Este teste serviu para verificar se havia, ou não, diferença entre os períodos. Para a análise **intergrupos** foi utilizado o teste de Mann-Whitney, para comparação entre duas amostras independentes, que verificou se houve, ou não, diferenças significativas em cada período.

Para melhor visualização dos fenômenos ocorridos, alguns dos gráficos relativos ao registro das categorias comportamentais estão em escalas diferentes.

4.2.1 Efeitos da omissão: Pós-sinal R X Pós-sinal N

Para avaliarmos os efeitos da omissão do reforço no repertório comportamental dos animais, foi utilizado o teste de Wilcoxon, para comparação entre duas amostras dependentes (Pós-sinal R X Pós-sinal N), para cada grupo. O teste mostrou que os períodos diferem significativamente tanto para o grupo controle quanto para o grupo *accumbens*, para algumas categorias comportamentais: foram verificadas diferenças entre os desempenhos de animais nas categorias nos períodos Pós-sinal R (1 e 2) quando comparados com o período Pós-sinal N (1 e 2).

Serão descritos apenas os resultados de mudanças em categorias comportamentais que apresentaram significância estatística, ao nível de $p \leq 0,05$.

Categorias de comportamentos dirigidos ao bebedouro:

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em algumas categorias de comportamentos dirigidos ao bebedouro, na comparação entre os períodos Pós-sinal R e Pós-sinal N.

A categoria Farejar o bebedouro (para todos os grupos) apresentou taxas de *duração* no período Pós-sinal 1-R menores do que no período Pós-sinal 1-N [CTL: $p = 0,005$ / NAC: $p = 0,000$]. No período Pós-sinal 2, as taxas de *duração* no período Pós-sinal 2-R foram menores em relação ao período Pós-sinal 2-N, para o grupo controle “sham” [CTL: $p = 0,005$].

Figura 11. Média da duração da categoria comportamental *Farejar o bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

As durações na categoria Parado próximo ao bebedouro, por não apresentarem diferenças significativas na comparação entre as amostras, não foram descritas nesta seção.

Figura 12. Média da duração da categoria comportamental *Parado próximo ao bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

A categoria *Lamber o bebedouro* (para todos os grupos) apresentou taxas de *duração* no período Pós-sinal 1-R maiores do que no período Pós-sinal 1-N [CTL: $p = 0,005$ / NAC: $p = 0,000$]. No período Pós-sinal 2, as taxas de *duração* no período Pós-sinal 2-R foram maiores em relação ao período Pós-sinal 2-N, para ambos os grupos [CTL: $p = 0,028$ / NAC: $p = 0,025$].

Figura 13. Média da duração da categoria comportamental *Lamber o bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

Categorias de comportamentos de tipo exploratório:

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em algumas categorias de comportamentos de tipo exploratório, na comparação entre os períodos Pós-sinal R e Pós-sinal N.

A categoria Farejar a região do bebedouro (para todos os grupos) apresentou taxas de *duração* no período Pós-sinal 1-R menores do que no período Pós-sinal 1-N [CTL: $p = 0,005$ / NAC: $p = 0,000$]. No período Pós-sinal 2, as taxas de *duração* no período Pós-sinal 2-R foram menores em relação ao período Pós-sinal 2-N, para o grupo controle “sham” [CTL: $p = 0,005$].

Figura 14. Média da duração da categoria comportamental *Farejar a região do bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

A categoria Farejar distante do bebedouro apresentou taxas de *duração* no período Pós-sinal 1-R menores do que no período Pós-sinal 1-N para o grupo accumbens [**NAC**: $p = 0,000$]. No período Pós-sinal 2, as taxas de *duração* no período Pós-sinal 2-R foram maiores em relação ao período Pós-sinal 2-N, para o grupo controle “sham” [**CTL**: $p = 0,005$].

Figura 15. Média da duração da categoria comportamental *Farejar distante do bebedouro* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

A categoria Locomoção apresentou taxas de *duração* no período Pós-sinal 1-R menores do que no período Pós-sinal 1-N para o grupo accumbens [**NAC**: $p = 0,049$]. No período Pós-sinal 2, as taxas de *duração* no período Pós-sinal 2-R foram maiores em relação ao período Pós-sinal 2-N, para o grupo controle “sham” [**CTL**: $p = 0,005$].

Figura 16. Média da duração da categoria comportamental *Locomoção* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

A categoria *Levantar* apresentou, no período Pós-sinal 2, taxas de *duração* no período Pós-sinal 2-R maiores em relação ao período Pós-sinal 2-N, para o grupo controle “sham” [CTL: $p = 0,013$].

Figura 17. Média da duração da categoria comportamental *Levantar* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

Categoria Limpeza:

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para a categoria Limpeza, na comparação entre os períodos Pós-sinal R e Pós-sinal N.

A categoria Limpeza apresentou taxas de *duração* no período Pós-sinal 1-R menores do que no período Pós-sinal 1-N para o grupo accumbens [**NAC**: $p = 0,001$]. No período Pós-sinal 2, as taxas de *duração* no período Pós-sinal 2-R foram maiores em relação ao período Pós-sinal 2-N, para todos os grupos [**CTL**: $p = 0,005$ / e marginalmente significativo para **NAC**: $p = 0,058$].

Figura 18. Média da duração da categoria comportamental *Limpeza* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

Categoria Parado:

As durações na categoria Parado, por não apresentarem diferenças significativas na comparação entre as amostras, não foram descritas nesta seção.

Figura 19. Média da duração da categoria comportamental *Parado* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

Categoria Outros:

As durações na categoria Outros, por serem muito baixas e não apresentarem diferenças significativas na comparação entre as amostras, não foram descritas nesta seção.

Figura 20. Média da duração da categoria comportamental *Outros* nos períodos Pré-sinal (PRE), Sinal (SINAL), Pós-sinal 1 (POS1) e Pós-sinal 2 (POS2), referentes às 3 últimas sessões de treino. A linha contínua representa as práticas onde houve liberação de reforço (R) e a linha tracejada representa as práticas onde houve omissão do reforço (N).

Os resultados em conjunto mostram, portanto, que houve efeito da omissão do reforço para os animais de ambos os grupos, para a maioria das categorias comportamentais, constatado pela diferença entre as taxas de duração dos períodos Pós-sinal R e Pós-sinal N. Houve efeito da omissão, nas categorias de comportamento dirigidos ao bebedouro para o grupo controle “sham”, no período Pós-sinal 1. Com exceção da categoria Farejar a região do bebedouro, não houve efeito da omissão do reforço, durante o período Pós-sinal 1 para as demais categorias de tipo exploratório no grupo controle “sham”. Para o grupo accumbens, neste mesmo período, houve efeito da omissão do reforço na maioria das categorias comportamentais.

Durante o período Pós-sinal 2, para o grupo accumbens, houve efeito da omissão do reforço apenas para a categoria Limpeza e Lamber o bebedouro. Já para o grupo controle “sham”, houve efeito da omissão do reforço para a maioria das categorias comportamentais.

As taxas de duração do período Pós-sinal 1-R foram menores em relação ao período Pós-sinal 1-N para a maioria das categorias comportamentais do grupo accumbens. Já o inverso ocorreu para o grupo controle “sham” no período Pós-sinal 2-R, onde as taxas das *durações* foram maiores em relação ao período Pós-sinal 2-N. Para as categorias de tipo exploratório, nas práticas R, houve um aumento nas taxas de *duração* no período Pós-sinal 2. Durante este período, a mesma tendência também pôde ser observada para o grupo accumbens, nas práticas N. Sendo assim, os gráficos também mostram que, no período Pós-sinal 2, na maioria das categorias comportamentais (com exceção de Parado e Parado próximo ao bebedouro) o desempenho dos animais do grupo accumbens foi semelhante, independente da prática (R ou N), uma vez que não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os períodos avaliados.

4.2.2 Efeito da lesão

Para avaliarmos os efeitos da **lesão sobre a omissão** no repertório comportamental dos animais, foi utilizado o teste de Mann-Whitney, para comparação entre duas amostras independentes (Pós-sinal R e Pós-sinal N), entre os grupos. O teste mostrou que os períodos diferem significativamente, entre os grupos, para algumas categorias comportamentais: foram analisadas diferenças entre os grupos nos períodos Pós-sinal R (1 e 2) e Pós-sinal N (1 e 2).

Serão descritos apenas os resultados de mudanças em categorias comportamentais que apresentaram significância estatística, ao nível de $p \leq 0,05$.

Categorias de comportamentos dirigidos ao bebedouro:

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em algumas categorias de comportamentos dirigidos ao bebedouro, na comparação entre os grupos, no período Pós-sinal N.

Na categoria Farejar o bebedouro, as taxas de *duração* do grupo controle “sham” foram maiores que as taxas de duração do grupo accumbens, no período Pós-sinal 1-N [$p = 0,000$] e também no período Pós-sinal 2N [$p = 0,000$].

Na categoria Lamber o bebedouro, as taxas de *duração* do grupo controle “sham” foram menores que as taxas de duração do grupo accumbens, no período Pós-sinal 1-N [$p = 0,001$] e também no período Pós-sinal 2N [$p = 0,006$].

Categorias de comportamentos de tipo exploratório:

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em algumas categorias de comportamentos de tipo exploratório, na comparação entre os grupos, no período Pós-sinal N.

Na categoria Farejar a região do bebedouro, as taxas de *duração* do grupo controle “sham” foram maiores que as taxas de duração do grupo accumbens, no período Pós-sinal 1-N [$p = 0,003$] e também no período Pós-sinal 2N [$p = 0,000$].

Na categoria Farejar distante do bebedouro, as taxas de *duração* do grupo controle “sham” foram menores que as taxas de duração do grupo accumbens, no período Pós-sinal 1-N [$p = 0,012$] e também no período Pós-sinal 2N [$p = 0,000$].

Na categoria Locomoção, as taxas de *duração* do grupo controle “sham” foram menores que as taxas de duração do grupo accumbens, no período Pós-sinal 1-N [$p = 0,006$] e também no período Pós-sinal 2N [$p = 0,001$].

Na categoria Levantar, as taxas de *duração* do grupo controle “sham” foram menores que as taxas de duração do grupo accumbens, no período Pós-sinal 1-N [$p = 0,056$] e também no período Pós-sinal 2N [$p = 0,006$].

Categoria Limpeza:

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa na categoria Limpeza, na comparação entre os grupos, no período Pós-sinal N.

As taxas de *duração* do grupo controle “sham” foram menores que as taxas de duração do grupo accumbens, no período Pós-sinal 1-N [$p = 0,013$] e também no período Pós-sinal 2N [$p = 0,000$].

Os resultados em conjunto mostram que houve diferenças entre os grupos quanto aos efeitos da lesão sobre os EORs.

Nos períodos Pós-sinal 1-N e Pós-sinal 2-N para as categorias Farejar o bebedouro e Farejar a região do bebedouro, as taxas de duração do grupo controle “sham” foram maiores em relação ao grupo NAC.

Nos períodos Pós-sinal 1-N e Pós-sinal 2-N para as categorias Parado próximo ao bebedouro, Limpeza e demais categorias de tipo exploratório, as taxas de duração do grupo controle “sham” foram menores em relação ao grupo NAC.

4.2.3 Distribuição percentual das categorias

A figura abaixo, de forma ilustrativa, representa um gráfico com as porcentagens das durações das categorias, durante todos os períodos em que foram avaliados, fornecendo assim, uma visão generalizada da distribuição das durações das categorias comportamentais em determinado período.

Figura 21. Percentual da duração das categorias comportamentais nos períodos Pré-sinal, Sinal, Pós-sinal 1 (R e N) e Pós-sinal 2 (R e N), referentes às 3 últimas sessões de treino.

Para análise de todas as categorias comportamentais em um determinado período utilizaremos gráficos que permitem uma verificação visual. Os gráficos percentuais acima buscaram demonstrar, visualmente, a distribuição das categorias comportamentais durante os eventos em que houve liberação/omissão de reforço, mostrando quais categorias comportamentais tiveram maior porcentagem de duração durante os períodos.

As durações das categorias estão mais bem distribuídas durante o período Pré-sinal, sendo o comportamento de Limpeza o mais predominante (**CTL:** 24,61% e **NAC:** 29%), seguido de Farejar distante do bebedouro (**CTL:** 18,9% e **NAC:** 21,48%) e Farejar a região do bebedouro (**CTL:** 11,32% e **NAC:** 9,8%), para ambos os grupos.

Com o a chegada do sinal, os animais de ambos os grupos tiveram como categorias predominantes Farejar o bebedouro (**CTL:** 39,62% e **NAC:** 38,71%), Farejar a região do bebedouro (**CTL:** 36,38% e **NAC:** 34,46%), além da categoria Locomoção (**CTL:** 8,69% e **NAC:** 8,84%) e Farejar distante do bebedouro (**CTL:** 6,37% e **NAC:** 7,43%), para ambos os grupos.

Durante o período Pós-sinal 1R a categoria Lamber o bebedouro foi predominante em quase todo o período, para ambos os grupos, ocupando mais de 70% do tempo total do período (**CTL:** 78,68% e **NAC:** 77,67%). Entretanto, os grupos diferiram quanto aos comportamentos seguintes: enquanto no grupo controle predominaram as categorias Farejar a região do bebedouro (7,68%) e Limpeza (5,91%), para o grupo accumbens predominou as categorias Farejar o bebedouro (7,07%) e Farejar a região do bebedouro (6,82%).

Durante o período Pós-sinal 2R houve um predomínio das categorias Limpeza (**CTL:** 35,93% e **NAC:** 32,59%), Farejar distante do bebedouro (**CTL:** 19,1% e **NAC:** 18,44%) e Farejar a região do bebedouro (**CTL:** 13,59% e **NAC:** 13,34%) para ambos os grupos.

Durante o período Pós-sinal 1N as categorias Farejar o bebedouro e Farejar a região do bebedouro foram as mais predominantes, entretanto, no grupo controle elas ocuparam mais de 90% do tempo total de todo o período (49,77% e 42,24%, respectivamente), seguido da categoria de Limpeza (3,79%). No grupo accumbens, o somatório destas porcentagens foi de pouco mais de 60% (33,96% e 30,92, respectivamente), seguidos da categoria Lamber o bebedouro (12,23%).

Durante o período Pós-sinal 2N, para o grupo controle, as categorias Farejar o bebedouro e Farejar a região do bebedouro ocuparam mais de 80% do tempo total do período (42,4% e 38,1%, respectivamente), seguidos da categoria Limpeza (6,72%). O grupo

accumbens apresentou, em maiores porcentagens, as categorias Limpeza (24,81%), Farejar distante do bebedouro (20,52%) e Farejar a região do bebedouro (16,02%).

Estes resultados em conjunto mostram que os animais permaneceram na maior parte do tempo, durante o período **Pré-sinal** exibindo as categorias Farejar distante do bebedouro e Limpeza. Durante o período **Sinal** os animais de ambos os grupos permaneceram mais em FAB e FABB. Durante o período em que houve liberação de reforço, houve grande incidência da categoria Lamber o bebedouro, e os grupos se diferiram nas categorias que foram menos frequentes. No período subsequente, os animais apresentaram comportamentos mais distantes do bebedouro, predominando a categoria Limpeza.

Já no período em que houve omissão do reforço, os animais exibiram as mesmas categorias comportamentais como sendo as mais frequentes (Farejar o bebedouro e Farejar a região do bebedouro), entretanto, a porcentagem de duração das categorias do grupo controle “sham” foram um pouco maiores que as do grupo accumbens. No período subsequente, os animais do grupo controle “sham” ainda mantinham as categorias do período anterior como sendo as mais frequentes. No grupo accumbens, entretanto, houve uma dispersão na duração das categorias, além do predomínio de categorias não ligadas à região do bebedouro.

As diferenças nas taxas de *duração* entre os grupos durante o período Pós-sinal N, indicam que o desempenho dos animais do grupo accumbens foi menos sensível à lesão, em relação ao grupo controle “sham”, principalmente nas categorias comportamentais de tipo exploratório.

Com relação às categorias Farejar o bebedouro e Farejar a região do bebedouro, as taxas de *duração* do grupo controle “sham”, durante o período Pós-sinal N (1 e 2) foram maiores em relação ao grupo accumbens. Para as demais categorias (Lamber o bebedouro, Farejar distante do bebedouro, Levantar, Locomoção e Limpeza) as taxas de *duração* do grupo controle “sham” foram menores do que o grupo accumbens.

5. DISCUSSÃO

Os estudos sobre condicionamento pavloviano têm mostrado cada vez mais sua pertinência para além da Psicologia Experimental. O condicionamento pavloviano é considerado como um processo decisório no qual o sujeito decide se responde ou não com uma resposta condicionada na presença ou ausência do estímulo condicionado (Rescorla, 1967; Rescorla & Holland, 1982). Estudos que analisam, pormenorizadamente, alguns dos parâmetros do US (intensidade, duração, probabilidade), do CS (duração, intensidade, generalização), além da forma de interação destes estímulos, devem ser levados em consideração para um entendimento do processo (Henton & Iversen, 1978).

O estímulo reforçador ocorre numa relação temporal que é estabelecida com o advento do estímulo condicionado, independentemente da resposta exibida durante sua vigência, pelo sujeito. A sinalização adquire características de não-contingência e sua relação com o estímulo reforçador se torna semelhante à relação CS-US encontrada nos estudos de condicionamento clássico (Bueno, 1977; 1984). Já de acordo com as teorias evolutivas, é aceita a ideia de que este processo maximiza o conflito da escolha entre custos e benefícios, envolvendo assim aspectos adaptativos (Schmajuk, 1987). O condicionamento então é alcançado quando o estímulo condicionado (CS) é capaz de transmitir informações suficientes que o faça ser um preditor confiável do estímulo incondicionado (US), adquirindo assim características antecipatórias (Ades & Bueno, 1974; Bindra, 1968); onde também a probabilidade de se receber o US na presença do CS é maior que a probabilidade de receber o US na ausência do CS (Rescorla, 1988). Esta antecipação pode se manifestar através de uma hiperativação (medido pela frequência (duração e/ou transição entre as categorias comportamentais) do animal entre a apresentação de estímulos, independentemente do tipo de recompensa, em procedimentos de condicionamento apetitivo (Phillips, Setzu, Hitchcott, 2003; van den Bos et al., 2004; Day et al., 2006; Carter, MacIness, Huettel & Adcock, 2009). O que se transfere no condicionamento pavloviano não é simplesmente uma resposta, mas sim, uma informação, na forma de representação do US (Bueno, 1996). O tipo de representação formado pode se estabelecer em função dos parâmetros utilizados para cada experimento. E tais parâmetros podem fazer a diferença entre um procedimento e outro ou até mesmo dentro de estudos diferentes que tentam utilizar do mesmo procedimento (Henton & Iversen, 1978; Wheeler & Miller, 2008).

Durante os períodos Pré-sinal e Sinal, os animais mantiveram os mesmos padrões comportamentais. As durações das categorias foram distribuídas de forma mais esparsa, porém, com alta incidência de comportamentos como Limpeza e Farejar distante do bebedouro. Com

o advento do sinal, os animais exibiram comportamentos mais próximos ao bebedouro, com alternância entre os dois tipos de farejamento nesta região (Ades & Bueno, 1974; Bindra, 1968; Bueno, 1977; Peden, Browne & Hearst, 1977; Bueno, Bernardes & Judice-Daher, 2012).

Durante o período de sinalização, não houve diferenciação entre os grupos quanto às respostas durante a apresentação do CS, ou seja, todos os animais responderam ao estímulo sonoro, dirigindo-se ao bebedouro nos segundos iniciais de sua vigência. As categorias Farejar o bebedouro e Farejar a região do bebedouro foram as de maior duração durante este período, em ambos os grupos. Houve, portanto, um controle discriminativo do sinal que provocou uma diferença na distribuição das respostas durante o período, caracterizado pelo aumento nas taxas de respostas das categorias comportamentais voltadas para o bebedouro e outras categorias comportamentais não apresentaram a mesma tendência (Baum & Bindra, 1968; Ades & Bueno, 1974; Bueno, 1977; Staddon, 1977; Bernardes, Bueno & Judice-Daher, 2012). É também esperado que a antecipação gerada pelo sinal, em ratos, ocasione um aumento na transmissão dopaminérgica no sistema mesolímbico, principalmente na região do ventral estriado, uma vez que a literatura mostra que os altos níveis de dopamina nesta região podem levar a um aumento de atividade do animal (Pijnenburg, Honig, Heijden & Rossum, 1976; Phillips, Pfaus & Blaha, 1991). Os dados deste trabalho também confirmam a hipótese de que esta estrutura está ligada de alguma forma ao processamento temporal para obtenção de recompensas e também ao processo de aquisição, em tarefas de condicionamento clássico (Day et al., 2006; Day & Carelli, 2007).

5.1 Núcleo Accumbens e Controle Temporal

Os animais não tiveram prejuízo do controle temporal em relação ao sinal (Meck, 2006). Entretanto, os ratos lesionados tiveram um efeito menos pronunciado da omissão, com aumentos nas taxas de comportamentos exploratórios logo após a omissão de reforço. Esta informação ainda é confirmada em estudos recentes, podendo ser um indicativo de que os animais tiveram prejuízo na discriminação do valor de recompensa do sinal, mesmo que possuam a capacidade de antecipá-lo (Coull, Cheng, Meck, 2011).

Galtress, Marshall e Kirkpatrick (2012) e Meck, (2006) já propuseram que lesões no NAC levariam a prejuízo no controle temporal e omissão de reforço. Pode ser que os animais já se organizassem para a chegada do próximo reforço. Pode ser que eles tenham zerado o relógio temporal mesmo na ausência do reforço, fazendo com que o controle temporal fosse um “loop infinito” desde que o reforço viesse para zerá-lo.

No caso do presente trabalho, este prejuízo no controle temporal não se estendeu ao sinal. A literatura mostrou que, mesmo com a lesão, os animais não tiveram prejuízo na atribuição de valor a um estímulo previamente neutro, ou seja, a lesão não afetou a resposta de aproximação do animal à fonte de reforço (Corbit et al., 2001; Cardinal et al., 2002; Day et al., 2006; Day & Carelli, 2007; Yin et al., 2008; Lex & Hauber, 2010; Mannella et al., 2010). Sendo assim, o prejuízo no controle temporal pode ser considerado apenas com relação às práticas em que houve omissão, não se estendendo ao CS.

5.2 Núcleo Accumbens e Omissão de Reforço

Durante o processo de omissão, quando não sinalizado, as taxas de resposta do animal costumam ser mais altas em relação a eventos sinalizados. Os animais respondem com mais vigor por anteciparem a chegada do reforço, que não aparece. Desta forma, é de se esperar que um evento não sinalizado aumente as taxas de resposta de algumas categorias comportamentais durante o período de omissão do reforço (Mellon, Leak, Fairhurst, Gibbon, 1995).

Os resultados em conjunto mostraram que durante a omissão de reforço, foram registrados aumentos na duração das categorias dirigidas ao bebedouro, no período Pós-sinal, excetuando-se a categoria Parado na região do bebedouro. Houve durante o período Pós-sinal 1 N um aumento na duração da categoria Farejar o bebedouro, apenas para o grupo controle “sham”. Já para a categoria Lamber o bebedouro, o aumento ocorreu em ambos os grupos. Estes mesmos resultados mostraram que, na fase do experimento que envolveu a omissão do reforço, foram registrados aumentos na duração das categorias de tipo exploratório, no período Pós-sinal, apenas para a categoria Farejar a região do bebedouro. Nas categorias Farejar distante do bebedouro e Locomoção houve diminuição da duração no mesmo período. Houve durante o período Pós-sinal N um aumento na duração da categoria Farejar a região do bebedouro para ambos os grupos. Já para as categorias Farejar distante do bebedouro e Locomoção, a diferença ocorreu apenas para o grupo accumbens. Na categoria Limpeza, apenas o grupo accumbens apresentou os EORs no período Pós-sinal 1, com aumento da duração no período. Entre os grupos também foi mostrada uma diferença significativa no período.

Há bastante homogeneidade nas alterações de duração de categorias entre os grupos durante a sinalização, o que indica uma boa linha de base para o efeito da omissão e da lesão. A mesma homogeneidade nas alterações de duração de categorias entre os grupos pode ser encontrada durante a interrupção do sinal, sendo também válida a análise feita anteriormente,

ou seja, não houve contradições entre as tendências principais das categorias, mesmo que nem todas se repitam igualmente entre os grupos.

Os comportamentos do animal após o término do estímulo sonoro podem estar ligados, conforme os dados deste trabalho, a atividades em que há uma forte relação com este CS e, consequentemente, à liberação do reforço.

A omissão pode ter feito com que o animal, mesmo na presença do CS, não ativasse o marcador temporal de liberação do reforço, o que atrasou o tempo de resposta consumatória do animal, ao final do CS. As categorias mais proeminentes neste período permanecem ativas mesmo ao final do período, menos para o grupo lesionado que permanece menos tempo concentrado nestas atividades. O que faz com que haja algum tipo de alteração no controle temporal quando não há a presença de estímulos biologicamente relevantes, podendo causar um decréscimo no comportamento motivacional do animal.

Existem várias interpretações acerca dos EORs. A omissão pode ser interpretada como um agente ativo de modificação do comportamento, como apontavam Amsel & Roussel (1952) e Amsel (1958), ao afirmarem que a omissão (ou, como o próprio autores diziam: “efeito de frustração”) é capaz de criar um estado de impulso energizador, que pode incidir sobre as respostas instrumentais quando a consequência foi suspensa parcialmente, ou em outras respostas do repertório comportamental. A hipótese de facilitação comportamental induzida por uma reação emocional frente aos EORs não encontrou suporte neste trabalho, assim como em outros estudos mais recentes (Bueno et al., 2012; Judice-Daher et al., 2011, 2012, Tavares, Judice-Daher e Bueno, 2014), pois não houve facilitação da resposta de determinadas categorias comportamentais, pois as taxas do Pós-R e do Pós-N têm as mesmas características: um decréscimo no período Pós-sinal 1 e aumento no período subsequente.

Dados da literatura mostram que os EORs podem ser causados pela facilitação comportamental após a omissão do reforço, bem como pela supressão comportamental após a liberação do reforço, a depender de qual o parâmetro de treino a ser utilizado, o que contribuirá para a compreensão da extensão de cada processo (Stout, Boughner e Papini, 2003; Stout, Muzio, Boughner e Papini, 2002). Sendo assim, não se pode creditar a apenas um único processo os resultados dos EORs (Judice-Daher et al., 2011; Bueno, Judice-Daher, Tavares, 2013). Porém, cada abordagem tem sua parcela de contribuição e extensão dentro do processo de omissão, o que é determinado, dentre outros fatores, pelos parâmetros do treino. Assim, seria arriscado atribuir os resultados dos EORs a um único processo/interpretação (Judice-Daher et al., 2011).

O aspecto energizador, de que trata Amsel, foi identificado apenas em categorias de farejamento para os animais do grupo controle, não se estendendo para as demais categorias. Portanto, a hipótese de uma frustração primária (Stout; Boughner & Papini, 2003), ou seja, aumento na intensidade de resposta do animal em função da violação de um evento esperado, não pode ser aplicada, indiscriminadamente, a toda e qualquer categoria comportamental.

Outra interpretação sobre a omissão é a de que ela pode ser entendida apenas como uma condição em que não atuam os efeitos de contato com o reforçador. O trabalho de Staddon (1967) mostra que, quando ratos são submetidos a esquemas de reforço em FI, o padrão comportamental exibido é uma pausa pós-reforço seguido por aumentos na frequência de resposta até a próxima liberação do reforço. O animal pode também adquirir um controle inibitório temporal, onde, aprende a não responder no intervalo posterior à liberação de reforço, assim como aprende a responder quando há disponibilidade do reforço (Staddon & Innis, 1969). A queda de desempenho na resposta pode ocorrer por conta de um processo de demotivação, em consequência do consumo do reforçador, de uma inibição pós-reforço (pausa pós-reforço), ou da competição entre respostas ou respostas-critério (Staddon, 1970). Os autores descartam os aspectos motivacionais e passam a afirmar que os mecanismos envolvidos no processo de omissão possuem componentes atencionais.

Os resultados do presente trabalho corroboram com a ideia de que os EORs podem também ser compreendidos como resultado de uma supressão comportamental após o reforçamento (Seward, Pereboom, Butler, & Jones, 1957) e de que o reforço adquire controle inibitório temporal (Staddon, 1974; Staddon & Innis, 1969). Esta hipótese, apesar de parecer mais favorável para o entendimento dos dados deste trabalho, não contempla todas as categorias, uma vez que a supressão não foi verificada em todas elas.

As taxas de respostas após a omissão do reforço foram maiores comparadas às taxas após a liberação do reforço (seja em ratos lesionados ou não). Estas respostas, entretanto, não apresentaram diferenças em relação ao período imediatamente precedente. Sendo assim, não houve um aumento nas taxas (ou vigor) do desempenho após a omissão, pois estas se mantiveram no nível em que já estavam antes da omissão do reforço. As taxas de respostas após a liberação do reforço foram mais baixas ao serem comparadas com aquelas registradas em períodos precedentes tanto à omissão quanto à liberação do reforço. Estas mesmas tendências foram encontradas em outros estudos sobre omissão que envolviam diferentes magnitudes de reforço (Judice-Daher, Tavares & Bueno, 2011; Judice-Daher et al., 2012), lesões amplas da amígdala (Tavares et al., 2014), lesões em outras estruturas corticais (Judice et al., 2013) e mudanças no repertório comportamental dos animais (Bueno et al., 2012).

Embora existam algumas evidências que corroborem com ambas as interpretações sobre os EORs, nenhuma das abordagens mencionadas tem um caráter conclusivo. Segundo Stout, Boughner e Papini (2003) e Stout, Muzio, Boughner e Papini (2002), os EORs podem ser causados por ambos os fatores: seja pela supressão comportamental após a liberação do reforço ou pela facilitação comportamental após a omissão do reforço. Porém, cada vertente tem a sua contribuição e extensão dentro do processo de omissão, o que vai ser determinado, sobretudo, pelos parâmetros do treino. Assim, seria arriscado atribuir os resultados dos EORs a um único processo/interpretação (Judice-Daher et al., 2011; Bueno et al., 2013).

A hipótese de Bueno (1977) aparece como uma alternativa viável de interpretação, uma vez que a mudança ativa no repertório comportamental, em esquemas de liberação não-contingente de reforço também foi verificada neste trabalho. Entretanto, algumas diferenças precisam ser explicitadas pois, apesar das mudanças no repertório, verificadas em ambos os trabalhos, elas se manifestaram de forma diferente nos dois casos.

5.3 Comparativo com os dados de Bueno (1977)

Para uma melhor compreensão sobre os resultados deste trabalho, faz-se necessária uma comparação com a referência a qual se baseou. Nota-se, com relação aos dados obtidos em Bueno (1977) que houve uma diferença na duração e distribuição das respostas durante os períodos analisados.

Apesar da forte congruência entre os dois trabalhos, com relação às tendências comportamentais, a comparação mostrou que houve uma diferença no desempenho dos animais em momentos semelhantes do processo de omissão. Uma das diferenças mais notadas foi em relação à categoria Lamber o bebedouro onde o trabalho de Bueno (1977) mostra que as taxas de duração para esta categoria persistiram, após a sinalização, com taxas bem maiores, em relação às encontradas no presente trabalho.

Uma das justificativas pode ser dada pela disponibilidade da fonte de reforço. Para que houvesse a liberação do reforço, a tampa foi acionada por um período de 7 segundos (determinados pelo experimentador) e, ao girar deixava a descoberto, durante 4 segundos, uma colher situada abaixo dela. No intervalo inter-práticas podia-se encher de água a colher, baixando-a e mergulhando-a numa cuba de água; isto era feito através de uma chave manual conectada eletricamente à bobina do mecanismo de bebedouro e acionada pelo experimentador. Graças a este dispositivo, era possível evitar que a colher ficasse exposta, fora dos períodos de reforçamento, na tentativa de reduzir a alta taxa de resposta de Lamber o bebedouro, constatada

em caixas de Skinner comuns (Ades & Bueno, 1974). O aumento de respostas de tipo exploratório pode ter se dado por aprendizagem “via fuga”, uma vez que o contato com o bebedouro vazio poderia se tornar um evento aversivo. O mesmo pode ter acontecido, ao longo das sessões, com o comportamento de Lamber o bebedouro, uma vez que os animais não mantiveram tal comportamento ao longo das sessões, cuja taxa se mostrou bastante reduzida.

Figura 22. Vista dos equipamentos utilizados na tese de Bueno (1977) em **a)** e **b)**, e no presente trabalho em **c)** e **d)**.

No experimento do presente trabalho, as altas taxas de duração da categoria Lamber o bebedouro se mantiveram no período Pós-sinal 1R pelo fato do bebedouro estar sempre disponível. Na ausência do estímulo, o animal produzia outros comportamentos. Vale lembrar que estes valores se referem apenas à duração das categorias comportamentais. Neste caso em específico, trata-se de uma categoria que, apesar do alto valor da duração, apresentou uma frequência muito baixa, durante o período. Este fator impossibilitou a exibição de outras categorias, uma vez que o evento não proporcionou o aparecimento de outras categorias de

resposta. Houve também uma mudança de estratégia onde os animais de Bueno (1977) permaneceram mais tempo lambendo no período de omissão, enquanto os animais do grupo controle do presente trabalho mostraram mais comportamentos de farejamento em praticamente todo o período de omissão. Já para os animais lesionados, que foram menos sensíveis à omissão, houve uma melhor distribuição das categorias.

A possível situação aversiva momentânea, criada pela omissão, impediu que o comportamento fosse estabelecido logo no início da vigência do CS (que sinalizava o aparecimento do US). Isso fez com que o animal mantivesse a cadeia comportamental já estabelecida. O comportamento de *lamber* não se estabeleceu, dando lugar aos comportamentos de farejamento já presentes desde a sinalização. Mesmo assim, os dados mostram que o comportamento de *lamber* mostrou-se com taxas de respostas semelhantes ao encontrado em Bueno (1977), durante a liberação do reforçador. As taxas percentuais mostram que, mesmo com estas diferenças, os animais permaneceram boa parte do tempo na região do bebedouro, no período Pós-sinal 1R: neste período, para a categoria *Lamber* o bebedouro, o animal permanecendo 90,9% do tempo, para o grupo 100-50, no estudo de Bueno (1977) e 78,68% e 77,67% do tempo (grupo controle “sham” e *accumbens*, respectivamente) no caso do presente trabalho. Já no período Pós-sinal 1N, as diferenças são mais notadas: 48,31% do tempo, para o grupo 100-50, no estudo de Bueno (1977) e 2,07% e 12,23% do tempo (grupo controle “sham” e *accumbens*, respectivamente) no caso do presente trabalho. A disponibilidade física de acesso à fonte de reforço pode ser a responsável pela diferença entre as taxas e também a forma como são expressas as categorias. Não foram feitas análises estatísticas entre os dados destes trabalhos, e a percentagem foi feita sobre as taxas de duração das categorias (Bueno, 1977).

O local de acesso ao reforço pode de certa forma ter tido influência neste processo. O material adstringente que reveste o bebedouro também pode ter se tornado, ao longo do tempo, um inibidor do comportamento de *Lamber* o bebedouro, mas que não eliminou completamente sua incidência, dado o seu registro, mesmo após várias sessões, em todos os períodos analisados da fase pós-lesão. O material que reveste o bebedouro é uma variável importante pois, qualquer resquício de umidade neste local pode aumentar consideravelmente a incidência de *lamber*, o que inviabilizaria o aparecimento de outras categorias. Os resultados de ambos os experimentos mostram que os dados são coerentes do ponto de vista funcional. A diferença entre as topografias de algumas respostas, no entanto, torna ainda mais necessária a importância dos parâmetros (equipamentos inclusive) utilizados em estudos sobre omissão.

Apesar destas diferenças, existe uma forte correlação entre o trabalho de Bueno (1977) e o presente trabalho. Entretanto, vale ressaltar que houve uma forte influência do equipamento

sobre os resultados do experimento. As diferenças nos parâmetros experimentais podem provocar algumas divergências nos resultados, mas isso não impediu o aparecimento do efeito de omissão e nem descartou, no caso dos estudos mais recentes, o fato de que as subestruturas estudadas até então influenciaram no processo de omissão do reforço.

Os comportamentos de farejamento se mostraram mais frequentes, em contraposição ao comportamento de Lamber o bebedouro, que apresentou baixas taxas de duração, fora do período de liberação do reforço.

Vale ressaltar que em Bueno (1977), a categoria Levantar-se para o grupo 100-50, na condição N, apresentou um desempenho discrepante dos demais grupos/condições. O que indica que esta pode ser uma medida crítica pois, nesta condição, os animais foram significativamente mais ativos. No presente trabalho não foi encontrada a mesma tendência: as categorias comportamentais que apresentaram esta mesma medida crítica foram Farejar distante do bebedouro e Locomoção e Limpeza, onde apenas o grupo lesionado, na condição N, apresentou alguma discrepância com outro grupo/condição, no período Pós-sinal 1.

5.4 Núcleo Accumbens e Repertório Comportamental

Os trabalhos de Bueno (1977; 2002; Bueno et al., 2012), complementarmente, trataram a omissão do reforço para além das interpretações de facilitação e/ou supressão, sendo vista como um fator ativo da modificação do repertório comportamental. Nesse caso, houve um mecanismo compensatório que gerenciou a distribuição dos comportamentos do animal. Quando um animal mostra mudanças na frequência de um comportamento, esta mudança é acompanhada por mudanças nas frequências de outros comportamentos: a probabilidade de um determinado comportamento aumenta, enquanto a probabilidade de comportamentos incompatíveis diminui. Às vezes, a inibição de uma atividade é responsável pelo aumento na frequência de outra atividade. Esta plasticidade do repertório comportamental é uma importante condição para a adaptação do animal frente às variações do ambiente: o animal responde a relações temporais, espaciais e preditivas do ambiente que o cerca. Sendo assim, era de se esperar que uma lesão fosse capaz de modificar a expressão de algumas classes de resposta do animal, o que dependeria não apenas da área lesada, mas também dos parâmetros experimentais utilizados.

Assim como nos trabalhos de Bueno (1977), duas tendências também foram encontradas aqui: o controle que estímulos ambientais exercem sobre respostas ligadas ao bebedouro e o afastamento crescente em relação ao bebedouro, com ocorrência de respostas de tipo

exploratório. A análise dos efeitos da lesão sobre a omissão de reforço mostraram diferença entre os grupos, em praticamente todas as categorias comportamentais. Isso mostra que houve uma tendência na organização das categorias comportamentais que são semelhantes aos grupos, entretanto, o grupo NAC apresentou-a de forma menos pronunciada.

No trabalho de Bueno e Holland (2008) tanto a introdução da omissão de reforço quanto a apresentação de um estímulo novo aumentaram a frequência do comportamento de levantar-se (rearing), no início da fase de treino. Entretanto, o aumento na taxa das categorias comportamentais de tipo exploratório no presente trabalho só foram observado a partir do período Pós-sinal 2, e também após a liberação do reforço, o que mostra que pode ter ocorrido uma competição dos comportamentos de tipo exploratório com as respostas preparatórias e/ou consumatórias no início do intervalo entre práticas. O comportamento de Limpeza, assim como em outros trabalhos, surge como um dos comportamentos pós-consumatórios mais recorrentes após a apresentação de um CS seguido de US. (Silva & Timberlake, 2000; Holland & Ball, 2003).

Dada a variedade no repertório comportamental durante o processo de omissão, os dados do presente trabalho também corroboraram com os estudos de Bindra (1968; 1974), na medida em que o reforçamento teve como efeito não o fortalecimento de uma resposta específica, mas a reorganização de várias respostas que pudessem dar conta do processo em questão. A influência motivacional do estímulo não potencializa uma resposta pré-selecionada, mas leva à produção de uma resposta nova que possua forte relação com o estímulo ambiental mais potente.

A redução ou ausência do reforçador não implica numa redução das taxas de Lamber o bebedouro para animais lesionados (Leszczuk & Flaherty, 2000). A literatura mostra que uma possível redução na transmissão dopaminérgica em procedimentos de omissão de reforço pode ser capaz de promover mudanças no comportamento do animal e, conseqüentemente, afetando seu controle temporal (Schultz, 1998; Frank, 2005; Pan, Schmidt, Wickens, & Hyland, 2008; Porter-Stransky, Seiler, Day & Aragona, 2013). Outros autores afirmam que há um decréscimo no disparo neuronal tanto na liberação da recompensa quanto na omissão do reforço e que isto poderia afetar comportamentos consumatórios (Apicella, Deffains, Ravel & Legallet, 2009).

Há uma concordância parcial com os dados de Blaiss e Janak (2009) uma vez que não houve prejuízo quanto à aquisição dos animais, entretanto, os animais do grupo controle não foram capazes de inibir o comportamento de aproximação na ausência do reforço. Isso pode ser explicado pelo treinamento prévio à lesão. Os parâmetros utilizados no presente experimento

também puderam influenciar os EORs, uma vez que um pareamento simples entre estímulos não assegurou que houve condicionamento (Henton & Iversen, 1978; Rescorla, 1988). Desta maneira, outros aspectos devem ser observados, tais como a duração, intensidade, ordem de apresentação dos estímulos, e que devem ser considerados, assim como a sensibilidade aos estímulos em função das condições do animal (Van der Harst, Baars & Spruijt, 2003), e as características do estímulo condicionado e o intervalo estabelecido entre a apresentação dos estímulos, que influenciam diretamente no tipo de resposta apresentado pelo animal (Holland, 1977; 1980a; 1980b).

Animais com lesão do NACc são mais sensíveis ao atraso de recompensa, sem prejuízo da aprendizagem (Basar et al., 2010; Homberg, 2013), mas podem apresentar uma relativa persistência em tarefas de escolha impulsiva (Cardinal, Pennicott, Sugathapala, Robbins & Everitt, 2001). Podem também ser menos proativos em relação à aproximação ao bebedouro. Estes animais aprendem a se aproximar da fonte de reforço, mas aparentam ser menos proativos, em relação ao respectivo grupo controle (Parkinson, Willoughby, Robbins & Everitt, 2000).

Este trabalho mostrou também que, assim como em procedimentos de condicionamento operante, tal estrutura não é crucial para determinar o valor de incentivo de um reforço avaliado, mas é importante para manter o valor do atraso de recompensa (Bezzina et al., 2008).

Para as categorias comportamentais dirigidas ao bebedouro, os animais do grupo controle “sham” tiveram taxas de duração maiores que os do grupo accumbens para a categoria Farejar o bebedouro, e para a categoria Lamber o bebedouro, as taxas de duração do grupo controle “sham” foram menores que os do grupo accumbens. Para as categorias comportamentais de tipo exploratório, durante a omissão, os animais do grupo controle “sham” tiveram taxas de duração menores que os do grupo accumbens, com exceção da categoria Farejar a região do bebedouro, onde as taxas de duração do grupo controle “sham” foram maiores que os do grupo accumbens. Houve um progressivo aumento da atividade exploratória no momento da apresentação do sinal, que se estendeu para as práticas onde houve omissão do reforço. Porém, este efeito foi menos pronunciado nos ratos lesionados.

No trabalho de Bueno (1977), o grupo 100-50, no período pós-sinal, após a omissão do reforço (N), apresentou níveis de atividade de tipo exploratório maiores que as apresentadas nos períodos pós-sinal após a liberação do reforço, em comparação com os grupos 100% e 100-50% (R). Ratos (*Rattus norvegicus*) expostos a uma situação onde a omissão não era esperada exibem aumento nos níveis de atividade locomotora (Gallup & Altomari, 1969). Em Bueno e Holland (2008) tanto a introdução da omissão de reforço quanto a apresentação de um estímulo

novo aumentaram a frequência do comportamento de levantar-se (rearing), no início da fase de treino.

Estudos já comprovaram que o NAC também pode avaliar a valência e saliência do estímulo fazendo com que tal estrutura seja necessária para a sensibilidade do animal onde há violações de expectativa da recompensa (Acheson et al., 2006; Bjork, 2008; Manella, Gurney & Baldassarre, 2013). Entretanto, no caso do presente trabalho, a lesão não prejudicou a antecipação, devido a aprendizagem prévia. A lesão também não afetou a aproximação dos animais na presença do sinal (Vanderwolf, Kelly, Kraemer & Streather; 1988), mas pode ter afetado o poder de incentivo do reforço e, conseqüentemente, o estado motivacional do animal, uma vez que os animais lesionados não se mantiveram à frente do bebedouro, afastando-se pouco tempo depois da omissão. Neste caso, uma simples mudança no estado motivacional do animal pode fazer com que sejam afetadas suas respostas, tornando-os menos sensíveis seja ao atraso ou à ausência do reforçador (Acheson et al., 2006; Braver et al., 2014).

Assim como nos trabalhos de Meck (2006) e Galtress, Marshall & Kirkpatrick (2012) as lesões no NAC podem ter influenciado o processamento temporal e motivacional dos animais, levando a prejuízos comportamentais relacionados à omissão do reforço e atribuição de valores a eventos em que há um reforçador apetitivo ou a ausência deste.

Davey (1987) mostrou que os animais permanecem boa parte do tempo parados em frente a barra ou usando-as como suporte para outros comportamentos (como levantar e farejar, por exemplo) em procedimentos de condicionamento operante. Há também, neste caso, uma influência do equipamento que também exerce uma relação de contingência com o reforço. O autor enfatiza a influência de outras variáveis, como a temperatura, que podem contribuir para esta topografia específica. A relação entre o CS (luminoso ou auditivo) e o US podem determinar a forma das respostas do animal, seja em procedimentos de condicionamento clássico quanto de operante (Holland, 1979b; Ross & Holland, 1981; Davey, Phillips & Witty, 1989).

Podemos então considerar que, se o equipamento utilizado produzisse a liberação de comida e sob um estímulo luminoso, poderíamos supor que haveria um rearranjo das categorias de acordo com propriedades específicas dos estímulos (Holland, 1979b; Ross & Holland, 1981), bem como sua programação temporal. Porém, ao contrário de Cleland e Davey (1983) os dados deste trabalho mostram que, durante a vigência do CS, as categorias comportamentais exibidas tiveram uma relevante importância ecológica, ao fazer com que os animais se aproximassem da comida, produzindo assim, respostas adaptativas para a situação.

Diferentemente dos resultados encontrados neste trabalho, algumas referências mostram que os animais tem uma queda no desempenho de sua atividade motora quando o reforçador é

omitido (Flaherty, Blitzer & Collier, 1978; Papini & Dudley, 1997). No caso do presente trabalho, todos os grupos apresentaram, com exceção das categorias de farejamento para o grupo controle “sham”, diminuição da atividade motora de uma certa forma (considerando apenas a locomoção), mas o grupo lesionado apresentou taxas mais elevadas que os outros grupos quando o reforço foi omitido. Outros autores enfatizam que na ausência do objetivo apropriado, o organismo exibirá uma atividade geral ou difusa, mesmo quando, em certas circunstâncias esta reação não lhe é benéfica (Bolles, 1975). Esta atividade, entretanto, não exibe estereotipia. Pisula (1997) afirma que o comportamento exploratório do animal não é estereotipado, mas sim, que existe uma grande plasticidade neste tipo de comportamento. O comportamento que ocorre no intervalo entre práticas não parece supersticioso, mas possui uma função adaptativa.

A lesão do NACc alterou a atividade exploratória do animal, principalmente em comportamentos de tipo exploratório, com exceção da categoria Farejar a região do bebedouro, que possuía uma estreita ligação com a fonte de reforço. Para as demais categorias, as taxas de duração dos animais lesionados permaneceram maiores que as taxas do grupo controle, no período Pós-sinal 1N. A associação prévia de estímulos fez com que os ratos se aproximassem do bebedouro independente da exigência de uma resposta específica (Bussey, Everitt & Robbins, 1997; Olmstead, Robbins, & Everitt, 1998; Robbins & Everitt, 2002; Day & Carelli, 2007).

Blaiss e Janak (2009) também mostraram que a lesão no NAC (*core* e *shell*) não impediu o comportamento consumatório dos ratos que foram submetidos ao treino ao bebedouro, houve um aumento no número de acessos ao bebedouro na presença de uma pista. O NAC não foi necessário para a consolidação da aprendizagem no comportamentos direcionados ao alvo, mas foi necessário para a expressão deste comportamento. Os autores ainda ressaltaram que o NACc foi necessário para a expressão da associação entre estímulos e o NACsh, tendo como função inibir tal comportamento quando o reforço não está disponível.

O NACc também é responsável pela mediação dos comportamentos exploratórios (Cardinal et al., 2002), entretanto, estudos mais recentes apontam que a exploração pode ser afetada a depender do tipo de estímulo a ser utilizado no estudo (Saunders & Robinson, 2012; Floresco, 2015). No caso do presente trabalho, a exploração da fonte de reforço pelo animal não foi afetada com a chegada do estímulo. Confirmando os dados de Blaiss e Janak (2009), os dados do presente trabalho mostraram que a lesão foi capaz de inibir comportamentos que estavam em forte relação com o estímulo condicionado, no momento da omissão. Porém, a lesão afetou, inversamente, as categorias exploratórias (com exceção da categoria Farejar a

região do bebedouro), onde o grupo lesionado teve taxas de duração mais altas, em relação ao grupo controle, durante a omissão do reforço.

Pecoraro, Timberlake e Tinsley (1999) mostraram que os animais, em tarefas de contraste negativo, tiveram diminuição do comportamento consumatório e aumento nas taxas de locomoção e orientação. Para Vanderwolf et al. (1988) uma lesão do NAC não interferiu no comportamento de aproximação do bebedouro. O autor também estabeleceu que aspectos motivacionais e emocionais podem influenciar o comportamento motor. Acheson et al. (2006) mostraram que os animais lesionados no NAC são menos sensíveis a mudanças frequentes no atraso do reforço.

A lesão pode ter influenciado, de certa forma, o impacto motivacional dos reforçadores primários, uma vez que o grupo lesionado teve taxas de duração mais altas, comparadas às do grupo controle. O mesmo pode ter ocorrido para os comportamentos de tipo exploratório. A lesão, de certa forma, pode ter contribuído para a seleção de ações que lidam com o atraso de recompensa (Cardinal et al., 2003). Sendo assim, este trabalho confirmou os dados de Cardinal et al. (2003) pois o gerenciamento dos comportamentos em curso, durante a omissão, foi afetado pela lesão da estrutura, que também influenciou no impacto motivacional dos reforçadores primários.

Cardinal et al. (2003) também salientaram que a lesão poderia influenciar em tarefas simples de condicionamento, mediando o impacto motivacional de um estímulo condicionado. Esta segunda afirmação não encontrou suporte no presente trabalho pelo fato de que a lesão ocorreu após a aprendizagem prévia, o que fez com que os animais não apresentassem prejuízo no desempenho frente ao CS. As respostas do animal frente ao reforço (ou a ausência deste) não dependem do NAC, mas são afetados por sua manipulação (Ikemoto & Panksepp, 1999; Martin, 2001; Martin & Ono, 2000).

Lesões neurotóxicas do NACc, mas não do NACsh prejudicaram a aquisição em ratos, nas respostas de aproximação ao bebedouro. Consequentemente, lesões no NACc prejudicam as respostas motoras condicionadas, mesmo após o treinamento (Cardinal, Parkinson, Hall & Everitt, 2002). Nos procedimentos de aquisição, em que há dissociação da conexão entre NAC e o BLA, estas anulam a expressão comportamental dos animais em tarefas de locomoção condicionada.

Os animais lesionados no presente estudo não tiveram seu desempenho prejudicado, a não ser nas práticas que envolveram omissão de reforço. O grupo lesionado permaneceu lambendo o bebedouro por mais tempo que o grupo controle, além de permanecer menos tempo farejando o bebedouro. Para outras categorias, seu desempenho durante as práticas envolvendo

omissão se assemelharam às práticas onde houve liberação do reforço, especificamente no período Pós-sinal 2.

A liberação dopaminérgica no NAC pode fazer a mediação dos aspectos hedônicos de um estímulo reforçador. E, uma vez definido como hedônico, determinado estímulo pode mediar alguns comportamentos consumatórios e/ou exploratórios do animal. O bloqueio de receptores dopaminérgicos na região do NAC pode diminuir a velocidade com que o animal se aproxima do bebedouro, mas não o seu comportamento de ingestão. Este bloqueio é responsável também pela diminuição no comportamento exploratório (Fox & Davidson, 1984; Salamone, 1994; Ikemoto, & Panksepp, 1999; Day & Carelli, 2007). Em tarefas de contraste negativo, as respostas instrumentais de animais lesionados podem sofrer redução em suas taxas, porém, o comportamento consumatório não sofrerá alteração (Leszczuk & Flaherty, 2000).

Os dados de Olmstead et al. (1998) mostraram que o comportamento consumatório do animal não sofreu alteração com a lesão. Os dados do presente trabalho, entretanto, apontaram uma diferença entre os grupos durante a omissão, onde o grupo lesionado obteve taxas mais altas na categoria Lamber o bebedouro neste período. Entretanto, os níveis dopaminérgicos podem ser alterados em função da lesão fazendo com que não sejam alterados os níveis de consumo do animal e nem a capacidade de aproximação ao bebedouro, mas podem ser responsáveis por um déficit atencional que pode refletir, no caso do presente trabalho, na resposta locomotora do animal e demais categorias ligadas à exploração.

Em tarefas de condicionamento apetitivo, os comportamentos preparatórios são mais facilmente impedidos por substâncias neurotóxicas do que os comportamentos consumatórios (Blackburn, Phillips & Finger, 1987; Salamone, 1994). Neste trabalho, as respostas preparatórias que surgiram com o advento do sinal não foram alteradas. Houve, portanto, um componente ligado à aprendizagem que impediu que a antecipação dos eventos fosse prejudicada pela lesão (Manella et al., 2013).

Em Kelly, Seviour e Iversen (1975) experimentos envolvendo lesões bilaterais em todo o núcleo accumbens prejudicaram a regulação dopaminérgica da estrutura. Catorze dias após a cirurgia, pequenas doses de anfetamina não foram suficientes para restaurar as taxas de comportamento exploratório de ratos anteriores à cirurgia. Em tarefas de condicionamento apetitivo, os comportamentos motivados não são afetados por um decréscimo na ativação dopaminérgica em função de lesão. No caso do presente trabalho, apenas após a omissão foram encontradas mudanças no padrão comportamental dos animais lesionados. Alguns autores sugerem que os comportamentos preparatórios, são mais facilmente afetados do que os

comportamentos consumatórios. O fato da lesão ter acontecido após o treino favorece esta hipótese (Blackburn et al., 1987; Manella et al., 2013; Salamone, 1994).

Cardinal et al. (2002) afirmaram que o NAC influenciou a atividade locomotora do animal, devido ao impacto motivacional exercido nos comportamentos em curso ou ao reforçador primário. Os resultados do presente trabalho ampliaram as categorias analisadas e mostram que os comportamentos de tipo exploratório foram diretamente afetados no caso dos animais lesionados, porém, não foi verificado prejuízo quanto o impacto motivacional na presença do US.

Os efeitos de uma lesão sobre a atividade exploratória mostram que os animais não tiveram os níveis de locomoção alterados após a lesão (Everitt, Morris, O'Brien, & Robbins, 1991). Entretanto, alguns autores afirmaram que os ratos com lesão no NAC apresentaram maior movimentação (Kelley & Roberts, 1983; Staton & Solomon, 1984). A discrepância nos dados pode estar atribuída a uma série de fatores, como extensão da lesão, substância neurotóxica utilizada (Pennartz et al., 1994) e a interação com outras estruturas (Jackson & Moghaddam, 2001). Lee, Koob & Henriksen (1998) falavam da supressão do comportamento exploratório em função da lesão. A atividade neuronal do NAC permaneceu baixa quando o animal estava com o focinho voltado para o bebedouro/comedouro, ou seja, houve uma redução na atividade neuronal no NAC durante o comportamento consumatório. Sendo assim, aspectos motivacionais podem modular o funcionamento de tal estrutura. Neste trabalho, a supressão nas taxas de comportamento exploratório foi encontrada no período Pós-sinal 1R, para o grupo controle, mas menos pronunciado no NAC, com exceção da categoria Fareja a região do bebedouro, onde o grupo controle teve taxas mais elevadas. Já os comportamentos dirigidos ao bebedouro tiveram resultados diversos tanto durante a liberação de reforço quanto na omissão.

Nos trabalhos de Fox e Davidson (1984), o decréscimo dos níveis de DA no NAC causavam uma diminuição no comportamento exploratório em procedimentos utilizando campo aberto. Os autores não trataram o fenômeno em um nível mais detalhado, pois ainda tinham vinculado conceito de exploração apenas ao comportamento de locomoção.

Com exceção do grupo controle “sham”, durante a omissão, o comportamento de locomoção se restabelece durante o período Pós-sinal 2. Desta forma, não podemos atribuir a uma queda (que não seja transitória) da atividade exploratória em função de apenas uma categoria comportamental, até porque, o animal pode explorar o ambiente mesmo sob pequenas taxas de locomoção.

Os parâmetros experimentais utilizados neste trabalho nos auxiliam a discernir a incidência de um grupo de categorias comportamentos em cada momento do experimento. De certa forma, o desempenho dos comportamentos de tipo exploratório ficou bem evidente durante o período após a liberação/omissão do reforço, o que deveria afetar os comportamentos dirigidos ao bebedouro de certa forma. Nesse caso, os estímulos (ou a ausência deles) delimita a ação de cada agrupamento de categorias, o que nos permite dizer o quanto um prejuízo em determinado agrupamento poderia prejudicar, ou não, a performance em outro agrupamento.

A quantidade de categorias comportamentais analisadas nos obriga a ampliar o conceito sobre as funções do NAC (Pennartz et al., 1994), pois as referências analisadas não lidam com um grande número de categorias, como foi utilizado aqui, o que poderia gerar questionamentos sobre as distinções entre as funções comportamentais, e se são realmente distintas uma da outra em todas as partes do processo.

A regulação dopaminérgica nas regiões mesolímbica e mesocortical, (bem como suas projeções) são importantes para manutenção do comportamento exploratório do rato (Fink & Smith, 1980). Sendo assim, uma lesão nesta estrutura pode ter comprometido seu funcionamento, bem como a regulação de neurotransmissores. Apesar das eferências do NAC estarem relacionadas com áreas responsáveis pelo movimento (Carelli, 2002; Day & Carelli, 2007), a lesão não impediu que o animal continuasse explorando, como pode ser observado pelo aumento da duração nas categorias de tipo exploratório no período Pós-sinal 2. A diminuição das taxas de duração ocorreram em apenas alguns comportamentos exploratórios e foram observadas apenas no período Pós-sinal 1.

O trabalho de Spicer et al. (2007) examinou se o efeito de recompensas esperadas ou não era processado de forma diferente em estruturas da região frontal do estriado. Os resultados mostraram que o NAC, assim como córtex orbito-frontal possuem grande ativação na presença da recompensa, em relação a tarefas não recompensadas. O NAC, entretanto, parece ser mais sensível a violações de expectativa. Os autores também sugerem que a integridade do NAC é suficiente para a expressão dos EORs.

Para Bromberg-Martin et al. (2010), situações vistas como aversivas (ausência de recompensa, por exemplo) podem ocasionar a supressão de algumas ações que estão intimamente ligadas a eventos motivacionais. De certa forma, podemos afirmar que uma lesão na estrutura rompeu o processamento motivacional direcionado à fonte de reforço.

Pode-se dizer também que o evento não esperado causou um desvio atencional nos animais lesionados, que fizeram com que eles quase que prontamente produzissem outros comportamentos que não aqueles ligados à fonte de reforço, mesmo em sua ausência (Zink et

al., 2003; Schultz, 1998; Schultz, Tremblay & Hollerman, 2000). Os animais lesionados não conseguem processar a informação relativa à recompensa (Schultz et al., 2000) e suas propriedades.

Para uma melhor compreensão dos processos envolvidos, a primeira tarefa de um estudo sobre o comportamento deveria ser a observação e descrição completas do repertório comportamental das espécies em estudo. Em estudos envolvendo análise pormenorizada de categorias comportamentais, tais informações podem nos esclarecer quanto a programação temporal e a consequente estratégia adaptativa do animal em momentos em que a apresentação do reforço não é periódica. Mas além disso, os dados deste trabalho tentam uma aproximação entre os campos da Psicologia Experimental, Etologia e Neurociências, analisando a neurobiologia dos efeitos da omissão do reforço.

A noção de repertório comportamental se mostrou eficaz para o entendimento sobre os efeitos de omissão de reforço, uma vez que foram notadas mudanças substanciais no repertório comportamental com o advento não apenas da sinalização, mas também com a introdução da omissão do reforço, bem como as estratégias comportamentais utilizadas em cada momento. Também foi possível avaliar estas mesmas categorias sob a influência de uma lesão cerebral, atuando sobre o controle temporal e o comportamento. Sendo assim, faz-se necessário analisar as várias possibilidades de interpretação sobre a capacidade do animal em gerenciar o próprio comportamento, na ausência de um estímulo (Beninger et al., 1974; Bueno, 1977; Bueno, Bernardes & Judice-Daher, 2012).

Os trabalhos desenvolvidos pelo laboratório envolvendo repertório comportamental puderam avaliar vários aspectos da análise de um conjunto amplo de categorias comportamentais, e como as estratégias podem variar de acordo com as propriedades modulatórias de estímulos presentes ou não (Ades & Bueno, 1974; Bueno, 1977), procedimentos de discriminação condicional (Moreira & Bueno, 2003; Bueno et al., 2007) e “occasion-setting” (Bueno & Holland, 2008), além de ressaltarem as diferenças de características específicas entre espécies (Bueno et al., 2001). Estes trabalhos em conjunto, além de se mostrarem eficazes na verificação de fatores moduladores do comportamento, mostraram também a importância do repertório comportamental como indicador de processos atencionais e motivacionais.

Houve tentativas de aproximação com os conceitos de Etologia realizada por outros pesquisadores (David, 2011). Entretanto, parece ainda existir problemas quanto ao ajuste do conteúdo apresentado por ambas as abordagens. As noções de transbordamento e ansiedade, trazidas da etologia, ainda não encontram suporte completo através dos dados deste trabalho, carecendo ainda de uma análise conceitual mais aprofundada. Assim como as atividades deslocadas, conceito trazido da etologia, merecem uma atenção especial dentro deste contexto experimental. David (2011) ainda esclareceu que já houve tentativas de aproximação entre o conceito de atividades deslocadas e os comportamentos induzidos em Psicologia, por exemplo, mas ainda não é possível dizer que as duas áreas tratam do mesmo fenômeno. Antes do tratamento teórico, também importante, a análise funcional das categorias se mostra como uma saída viável para uma compreensão do processo de omissão.

Como lidar com comportamentos submetidos a um processo de reforçamento não-contingente é ainda um processo que está longe de ser concluído. Entretanto, esta análise pode servir como uma ponte para a compreensão dos aspectos neurobiológicos sobre o comportamento. A ênfase etológica é também relevante para a discussão dos efeitos da omissão de reforço e a compreensão de seus aspectos neurobiológicos sobre o comportamento, uma vez que os aspectos motivacionais/atencionais de algumas estruturas corticais possuem índices comportamentais.

O esquema temporal e as propriedades do reforço não são os únicos fatores a influenciar os comportamentos observados, há que se avaliar também o nível de motivação envolvido, a capacidade do animal em gerenciar o próprio comportamento, na ausência de uma pista, a experiência passada e as características da espécie do animal.

A análise do repertório comportamental vem sendo uma ferramenta útil em estudos dentro da psicologia. Entretanto, há a necessidade cada vez maior de aproximação com a etologia, que é apontada por pesquisadores como um caminho viável no estudo do comportamento (Ades, 1976; 1986; Staddon & Reid, 1987; Holland & Ball, 2003). Esta aproximação, entretanto, deve verificar a escolha das categorias comportamentais que serão o foco inicial da análise, o uso de uma situação de laboratório como um modelo de contexto natural, e que respeite as diferenças entre as espécies a serem estudadas, mesmo que estejam submetidas aos mesmos princípios de análise do comportamento.

Juntamente com os estudos sobre omissão de reforço estes dados fornecem informações sobre a estratégia comportamental do animal. Uma análise pormenorizada das categorias fornecem informações sobre o comportamento em um contexto experimental. Temos então mais subsídios para avaliar as estratégias comportamentais do animal, em situações de conflito,

num ambiente artificial. Este tipo de situação pode ser encontrado com frequência em situações naturais. Entretanto, cabe avaliar esta mesma situação sem a presença de variáveis que possam competir com os estímulos a serem estudados e, consequentemente, enviesar a análise.

Os estudos sobre repertório comportamental em laboratório podem ter proximidade com os estudos em etologia, uma vez que os padrões fixos de ação, até por sua rigidez, não se distorceriam quando estudados em condições laboratoriais. Sendo assim, um processo comportamental não deixa de ser real por ocorrer em uma situação arbitrária (Lorenz, 1958; Skinner, 1969). Estes estudos, entretanto, podem se generalizar no sentido de se compreender a relação adaptativa entre o comportamento do organismo e o seu habitat natural.

5.5 Considerações finais

O fenômeno dos EORs encontra suporte em vários trabalhos e está sujeito a várias interpretações: seja pela facilitação ou “energização” de respostas instrumentais, pela supressão comportamental após a liberação do reforço, tendo encontrando suporte em vários estudos recentes. Os dados do presente trabalho, entretanto, tendem a apoiar hipótese de supressão comportamental proposta por Staddon, não sendo encontradas evidências acerca da hipótese de facilitação comportamental através dos resultados já mencionados.

A mudança ativa no repertório comportamental, em esquemas de liberação não-contingente de reforço, aparece como mais uma interpretação sobre o fenômeno dos EORs que também encontra suporte neste e em outros trabalhos (Bueno, 1977; 1984; Bueno et al., 2012). Estes dados em conjunto mostram que as mudanças no repertório, que ocorrem durante o procedimento, podem fornecer indicativos sobre como processos atencionais e motivacionais podem gerenciar comportamentos. Assim como no presente trabalho, este fenômeno foi verificado através da significativa mudança nas estratégias comportamentais do animal, frente à liberação ou não do reforço.

A análise pormenorizada das categorias comportamentais de ratos lesionados em um esquema não-contingente de liberação de reforço, dentro do paradigma de condicionamento clássico, mostrou-se como uma tentativa eficaz para ampliação do entendimento acerca dos EORs. O registro de um conjunto amplo de categorias comportamentais de ratos lesionados nos permitiu avaliar o quanto o NAC pode estar envolvido em um processo de omissão do reforço. Neste sentido, os dados mostraram que uma possível lesão nesta estrutura foi capaz de atenuar os EORs em ratos com lesão no núcleo accumbens, o que pôde ser verificado através das comparações entre as taxas de duração de várias categorias comportamentais, a partir do

momento da entrada/retirada do reforço. Esta análise também mostrou o papel do NAC como uma estrutura moduladora dos EORs.

Outros dados também mostram, não apenas o poder de modulação do NAC (Day & Carelli, 2007; Judice-Daher & Bueno, 2013; Floresco, 2015), como também mostram as evidentes alterações comportamentais causadas por alterações no funcionamento desta estrutura. Isso mostra a sua importância como indicativa de processos motivacionais e atencionais. Estes dados vêm complementar àqueles que apontam a amígdala como indicativa de tais processos, mostrando haver uma forte influência de tais estruturas corticais nos processos avaliados (Bueno et al., 2012; 2013; Judice-Daher et al., 2012; Tavares et al., 2014).

Nos dados da literatura não constavam estudos envolvendo reforçamento não-contingente e omissão de reforço em procedimentos de condicionamento clássico, utilizando como medida a análise do repertório comportamental de ratos lesionados. Bueno et al. (2012), dentro deste contexto, avaliaram o repertório comportamental de animais com lesão em subestruturas da amígdala, mas ainda não havia na literatura estudos que envolvessem outras estruturas, como é o caso do NAC, estrutura importante para o controle temporal em tarefas de condicionamento clássico (Day & Carelli, 2007). A avaliação de um conjunto amplo de respostas, com os procedimentos acima mencionados, possibilitou uma ampliação da compreensão dos EORs, numa tentativa complementar de se avaliar a neurobiologia dos efeitos de omissão.

Aspectos relacionados à motivação (Amsel & Roussel, 1952; Henke, 1973; 1977; Henke & Maxwell, 1973; Stout, Boughner & Papini, 2003), aspectos atencionais e memória (Staddon & Innis, 1969; Staddon & Higa, 1999) além da reorganização do repertório comportamental (Bueno, 1977; 1984; 2002; Bueno & Holland, 2008; Bueno, Bernardes, Judice-Daher, 2012) auxiliam, de forma complementar, na compreensão e esclarecimento dos processos envolvidos na omissão de reforço.

Os resultados analisados neste trabalho, associados com os dados da literatura, apontam a necessidade de avaliar uma rede neural mais complexa envolvida nos processos atencionais/motivacionais, considerando o envolvimento de outras estruturas, como é o caso de alguns subnúcleos da amígdala (Bueno, Bernardes, Judice-Daher, 2012) juntamente com outros sistemas, pois estudos envolvendo lesões em uma única estrutura ainda não foram suficientes para verificar toda a complexidade neural envolvida nesta circuitaria da omissão. Alguns estudos indicam que outras estruturas também podem fornecer maiores esclarecimentos sobre o processo de omissão (Bueno et al., 2013).

Este conjunto de informações pode ajudar na avaliação de estruturas corticais e subcorticais atuantes no fenômeno da omissão e a possível circuitaria envolvida. Pode também ajudar na avaliação da melhor estratégia comportamental utilizada pelo animal para a resolução de situações de conflito e os aspectos adaptativos de cada estratégia utilizada, respeitando os padrões típicos de cada espécie e ampliando os conhecimentos sobre os padrões adaptativos em comportamento animal.

6. REFERÊNCIAS

- Abler, B., Walter, H., & Erk, S. (2005). Neural correlates of frustration. *NeuroReport*, 16(7), 669- 672.
- Acheson, A., Farrar, A.M., Patak, M., Hausknecht, K.A, Kieres, A.K., Choi, S., de Wit, H., & Richards, J.B. (2006). Nucleus accumbens lesions decrease sensitivity to rapid changes in the delay to reinforcement. *Behavioural Brain Research*, 173, 217–228.
- Ades, C. (1976). A observação do comportamento em situações experimentais. *Ciência e Cultura*, 28(1), 25-34.
- Ades, C. (1986). Uma perspectiva psicoetológica para o estudo do comportamento animal. *Boletim de Psicologia*, 36, 20-30.
- Ades, C., & Bueno, J. L. O. (1974). O efeito de um sinal sobre o repertório comportamental do rato. *Revista Interamericana de Psicologia*, 8, 173-183.
- Ades, C., & Bueno, J. L. O. (1984). Are conditioned stimuli determinants of oriented exploratory behavior in the rat? *Behavioral and Neural Biology*, 41, 63-70.
- Amsel, A. (1958). The role of frustrative nonreward in noncontinuous reward situations. *Psychological Bulletin*, 55(2), 102-120.
- Amsel, A., & Roussel, J. (1952). Motivational properties of frustration: I. Effect on a running response of the addition of frustration to the motivational complex. *Journal of Experimental Psychology*, 43, 363-368.
- Anokhin, P. K. (1974). *Biology and neurophysiology of the conditioned reflex and its role in adaptive behavior*. Oxford: Pergamon Press.
- Anselme, P. (2015). Does reward unpredictability reflect risk? *Behavioural Brain Research*, 280, 119-127.
- Apicella, P., Deffains, M., Ravel, S., & Legallet, E. (2009). Tonically active neurons in the striatum differentiate between delivery and omission of expected reward in a probabilistic task context. *European Journal of Neuroscience*, 30, 515-526.
- Balleine, B., & Killcross, S. (1994). Effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on instrumental action. *Behavioural Brain Research*, 65(2), 181-193.
- Basar, K., Sesia, T., Groenewegen, H., Steinbusch, H. W. M., Visser-Vandewalle, V., & Temel, Y. (2010). Nucleus accumbens and impulsivity. *Progress in Neurobiology* 92, 533-557.
- Baum, W., & Bindra, D. (1968). Conditioned incentive motivation, spontaneous behavior and inhibition of delay. *Canadian Journal of Psychology*, 22(5), 323-335.
- Baxter, M. G., & Murray, E. A. (2002). The amygdala and reward. *Nature reviews neuroscience*, 3(7), 563-573.

- Beninger, R. J., Kendall, S. B., & Vanderwolf, C. H. (1974). The ability of rats to discriminate their own behaviours. *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie*, 28(1), 79-91.
- Bezzina, G., Body, S., Cheung, T. H. C., Hampson, C. L., Deakin, J. F. W., Anderson, I. M., et al. (2008). Effect of quinolinic acid-induced lesions of the nucleus accumbens core on performance on a progressive ratio schedule of reinforcement: implications for inter-temporal choice. *Psychopharmacology*, 197(2), 339-350.
- Bindra, D. (1961). Components of general activity and the analysis of behavior. *Psychological Review*, 68, 205-215.
- Bindra, D. (1968). Neuropsychological interpretation of the effects of drive and incentive-motivation. *Psychological Review*, 75(1), 1-22.
- Bindra, D. (1974). A motivational view of learning, performance, and behavior modification. *Psychological Review*, 81, 199-213.
- Bindra, D., & Palfai, T. (1967). Nature of positive and negative incentive-motivational effects on general activity. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 63(2), 288-297.
- Bjork, J. M., Smith, A. R., & Hommer, D. W. (2008). Striatal sensitivity to reward deliveries and omissions in substance dependent patients. *NeuroImage*, 42(4), 1609-1621.
- Blackburn, J. R., Phillips, A. G., & Finger, H. C. (1987). Dopamine and preparatory behavior: I. Effects of pimozide. *Behavior & Neuroscience*, 101, 352-360.
- Blaiss, C. A., & Janak, P. H. (2009). The nucleus accumbens core and shell are critical for the expression, but not the consolidation, of Pavlovian conditioned approach. *Behavioural Brain Research*, 200, 22-32.
- Bolles R.C., & Grossen N.E. (1970). The non-contingent manipulation of incentive motivation. In: Reyneise J. H. (ed.) *Current issues in animal learning*. University of Nebraska Press, Lincoln.
- Bolles, R. C. (1963). Effect of food deprivation upon the rat's behavior in its home cage. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 56, 456-460.
- Bolles, R. C. (1975). *Theory of Motivation*. New York: Harper and Row.
- Bolles, R. C., & Woods, P. J. (1964). The ontogeny of behaviour in the albino rat. *Animal Behaviour*, 12(4), 427-441.
- Bornstein, A., & Daw, N. (2011). Multiplicity of control in the basal ganglia: computational roles of striatal subregions. *Current Opinion in Neurobiology*, 21, 374-380.

- Braver, T., Krug, M., Chiew, K., Kool, W., Westbrook, J. A., Clement, N., et al. (2014). Mechanisms of motivation–cognition interaction: challenges and opportunities. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 14(2), 443-472.
- Breiter, H. C., Aharon, I., Kahneman, D., Dale, A., & Shizgal, P. (2001). Functional imaging of neural responses to expectancy and experience of monetary gains and losses. *Neuron*, 30, 619-639.
- Bromberg-Martin, E. S., Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2010). Dopamine in Motivational Control: Rewarding, Aversive, and Alerting. *Neuron*, 68(5), 815-834.
- Bueno J. L. O., & Kandraviti, T. (1986). Analysis of Nonreinforcement Effect Persistence After Prolonged Training. [Resumo] *Bulletin of Psychonomic Society*, 24 (5, abstracts), 12.
- Bueno, J. L. O. (1977). *Efeitos da sinalização e do não reforçamento sobre o repertório comportamental do rato*. (Tese de Doutorado) Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Bueno, J. L. O. (1984). Non Contingent Reinforcement, Signalization, Frustration Effect and Behavioral Repertory. [Resumo]. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 22 (4, abstracts), 38.
- Bueno, J. L. O. (1994). *Plasticidade comportamental e efeitos de contexto*. (Tese de Livre-docência). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Bueno, J. L. O. (1996). Fatores temporais no condicionamento clássico. *Torre Babel, Londrina*, 3, 43-52.
- Bueno, J. L. O. (2002). Context effects on temporal control. In: J. A. da Silva, E. H. Mitsushima e N. P. Ribeiro Filho (Orgs.). *Fechner Day*. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1, 105-109.
- Bueno, J. L. O., & Holland, P. C. (2008). Occasion setting in Pavlovian ambiguous target discriminations. *Behavioural Processes*, 79(3), 132-147.
- Bueno, J. L. O., & Moreira, R. C. M. (1998). Conditional discrimination: the role of CS-alone trials. *Behavioural Processes*, 42(1), 33-45.
- Bueno, J. L. O., Bernardes, E. F. & Judice-Daher, D. M. (2012). The reinforcement omission effect on behavioral repertoire of rats with lesions in the basolateral complex and central nucleus of the amygdala. *Revista de Etologia (Ed. especial)*, 1, 11-22.
- Bueno, J. L. O., Figueiredo, T. H., & Melo, F. M. C. (2001). Comparison of pavlovian serial conditional discrimination in rats and hamsters in the same experimental situation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34(12), 1595-1602.
- Bueno, J. L. O., Judice-Daher, D. M. & Tavares, T. F. (2012). Role of the amygdala in the reinforcement omission effect. *Psychology & Neuroscience*, 5(2), 265-273.

- Bueno, J. L. O., Judice-Daher, D. M., & Tavares, T. F. (2013). Neurobiologia dos efeitos de expectativa e de omissão do reforço sobre o comportamento. *Avances en Psicología Latinoamericana*, 31, 181-191.
- Bueno, J. L. O., Wagatsuma, A., & Martins, M. R. (2007). Estimação de tempo em ratos submetidos a um procedimento de discriminação condicional. *Psicologia, Reflexão e Crítica*, 20(2), 238-245.
- Bussey, T. J., Everitt, B. J. & Robbins, T. W. (1997). Dissociable effects of cingulate and medial frontal cortex lesions on stimulus-reward learning using a novel Pavlovian autoshaping procedure for the rat: Implications for the neurobiology of emotion. *Behavioral Neuroscience*, 111, 908-919.
- Cador, M., Robbins, T. & Everitt, B. (1989). Involvement of the amygdala in stimulus-reward associations: interaction with the ventral striatum. *Neuroscience*, 30, 77-86.
- Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Hall, J., & Everitt, B. J. (2002). Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 26(3), 321-352.
- Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Lachenal, G., Halkerston, K. M., Rudarakanchana, N., Hall, J., et al. (2002). Effects of Selective Excitotoxic Lesions of the Nucleus Accumbens Core, Anterior Cingulate Cortex, and Central Nucleus of the Amygdala on Autoshaping Performance in Rats. *Behavioral Neuroscience*, 116(4), 553-567.
- Cardinal, R. N., Parkinson, J.A., Hall, J. & Everitt, B. J. (2003). The contribution of the amygdala, nucleus accumbens, and prefrontal cortex to emotion and motivated behaviour. *International Congress Series*, 1250, 347-370.
- Cardinal, R. N., Pennicott, D. R., Sugathapala, C. L., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (2001). Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science*, 292(5526), 2499-2501.
- Carelli, R. M. (2002). The Nucleus Accumbens and Reward: Neurophysiological Investigations in Behaving Animals. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, 1(4), 281-296.
- Carter, R. M., MacInnes, J. J., Huettel, S. A., & Adcock, R. A. (2009). Activation in the VTA and nucleus accumbens increases in anticipation of both gains and losses. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 3, 1-15.
- Chang, S. E., & Holland, P. C. (2013). Effects of nucleus accumbens core and shell lesions on autoshaped lever-pressing. *Behavioural Brain Research*, 256, 36-42.
- Cleland, G. G., & Davey, G. C. L. (1983). Autoshaping in the rat: the effects of localizable visual and auditory signals for food. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 40(1), 47-56.
- Corbit, L. H., Muir, J. L., & Balleine, B. W. (2001). The Role of the Nucleus Accumbens in Instrumental Conditioning: Evidence of a Functional Dissociation between Accumbens Core and Shell. *The Journal of Neuroscience*, 21(9), 3251-3260.

- Coull, J. T., Cheng, R.K., & Meck, W. H. (2011). Neuroanatomical and Neurochemical Substrates of Timing. *Neuropsychopharmacology Reviews*, 36, 3-25.
- Cunha, C., Gomez, A. & Blaha, C. D. (2012). The role of the basal ganglia in motivated behavior. *Reviews Neuroscience*, 23(5-6): 747-767.
- Dalia, A., Uretsky, N. J., & Wallace, L. J. (1998). Dopaminergic agonists administered into the nucleus accumbens: Effects on extracellular glutamate and on locomotor activity. *Brain Research*, 788, 111-117.
- Davey, G. C. L., & Cleland, G. G. (1982). Topography of signal-centered behavior in the rat: effects of deprivation state and reinforcer type. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 38(3), 291-304.
- Davey, G. C., Phillips, J. H., & Witty, S. (1989). Signal-directed behavior in the rat: Interactions between the nature of the CS and the nature of the US. *Animal Learning & Behavior*, 17(4), 447-456.
- Davey, G. L. (1987). Thermal reinforcement in the rat: The topography of operant lever pressing. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 25(3), 207-210.
- David, V. F. (2011). *A noção de comportamento induzido e a variabilidade comportamental: Um estudo teórico*. (Dissertação de Mestrado) Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- Day J. J., Jones J. L. & Carelli, R. M. (2011). Nucleus accumbens neurons encode predicted and ongoing reward costs in rats. *European Journal of Neuroscience*, 33(2), 308-321.
- Day, J. J. & Carelli, R. M. (2007). The Nucleus Accumbens and Pavlovian Reward Learning. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, 13(2), 148–159.
- Day, J. J., Wheeler, R. A., Roitman, M. F., & Carelli, R. M. (2006). Nucleus accumbens neurons encode Pavlovian approach behaviors: evidence from an autoshaping paradigm. *European Journal of Neuroscience*, 23, 1341–1351.
- Delgado, M. R. (2007). Reward-related responses in the human striatum. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1104, 70–88.
- Delgado, M. R., Nystrom, L. E., Fissell, C., Noll, D. C. & Fiez, J. A. (2000). Tracking the hemodynamic responses to reward and punishment in the striatum. *Journal of Neurophysiology*, 84, 3072-3077.
- Di Chiara, G. (2002). Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behavioural Brain Research*, 137, 75-114.
- Ernst, M., Nelson, E. E., Jazbec, S., McClure, E. B., Monk, C. S., Leibenluft, E., Blair, J. & Pine, D. S. (2005). Amygdala and nucleus accumbens in responses to receipt and omission of gains in adults and adolescents. *NeuroImage*, 25, 1279-1291.

- Ernst, M., Pine, D. S., & Hardin, M. (2006). Triadic model of the neurobiology of motivated behavior in adolescence. *Psychological Medicine*, 36, 299-312.
- Everitt, B. J., Morris, K. A., O'Brien, A. & Robbins, T. W. (1991). The basolateral amygdala-ventral striatal system and conditioned place preference: Further evidence of limbic-striatal interactions underlying reward-related processes. *Neuroscience* 42, 1-18.
- Falk, J. L. (1971). The nature and determinants of adjunctive behavior. *Physiology & Behavior*, 6(5), 577-588.
- Fink, J. S., & Smith, G. P. (1980). Mesolimbic and mesocortical dopaminergic neurons are necessary for normal exploratory behavior in rats. *Neuroscience Letters*, 17(1-2), 61-65.
- Flaherty, C. F., Blitzler, R., & Collier, G. H. (1978). Open-field behaviors elicited by reward reduction. *American Journal of Psychology*, 91, 429-443.
- Floresco, S. B. (2015). The Nucleus Accumbens: An Interface Between Cognition, Emotion, and Action. *Annual Review of Psychology*, 66, 25-52.
- Fox, N. A., & Davidson, R. J. (1984). Hemispheric substrates for affect: A developmental model. In N. A. Fox & R. J. Davidson (Eds.). *The psychobiology of affective development* (pp. 353-382). Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Frank, M. J. (2005). Dynamic dopamine modulation in the basal ganglia: a neurocomputational account of cognitive deficits in medicated and nonmedicated Parkinsonism. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 17, 51-72.
- Galarce, E. M., & Holland, P. C. (2009). Effects of cues associated with meal interruption on feeding behavior. *Appetite*, 52(3), 693-702.
- Gallagher, M. & Holland, P.C. (1994). The amygdala complex: multiple roles in associative learning and attention. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, 91, 11771-11776.
- Gallo, A., Duchatelle, E., Elkhessaimi, A., Pape, G. L., & Desportes, J. P. (1995). Topographic analysis of the rat's bar behaviour in the Skinner box. *Behavioural Processes*, 33, 319-328.
- Gallup, G. G., Jr., & Altomari, T. S. (1969). Activity as a post situation measure of frustrative nonreward. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 68(3), 382-384.
- Galtress, T. & Kirkpatrick, K. (2009). Reward value effects on timing in the peak procedure. *Learning and Motivation*, 40, 109-131.
- Galtress, T., & Kirkpatrick, K. (2010). The Role of the Nucleus Accumbens Core in Impulsive Choice, Timing, and Reward Processing. *Behavioral Neuroscience*, 124(1), 26-43.

- Galtress, T., Marshall, A. T., & Kirkpatrick, K. (2012). Motivation and timing: Clues for modeling the reward system. *Behavioural Processes*, 90, 142-153.
- Galvan, A., Hare, T. A., Parra, C. E., Penn, J., Voss, H., Glover, G., et al. (2006). Earlier development of the accumbens relative to orbitofrontal cortex might underlie risk-taking behavior in adolescents. *The Journal of Neuroscience*, 26, 6885-6892.
- Geier, C. F., Terwilliger, R., Teslovich, T., Velanova, K., & Luna, B. (2010). Immaturities in reward processing and its influence on inhibitory control in adolescence. *Cerebral Cortex*, 20, 1613-1629.
- Haber, S. N. & Knutson, B. (2010). The reward circuit: linking primate anatomy and human imaging. *Neuropsychopharmacology*, 35, 4-26.
- Hart, G., Leung, B. K., & Balleine, B. W. (2014). Dorsal and ventral streams: the distinct role of striatal subregions in the acquisition and performance of goal-directed actions. *Neurobiology of Learning and Memory*, 108, 104-118.
- Hatfield, T., Han, J., Conley, M., Gallagher, M., & Holland, P. C. (1996). Neurotoxic lesions of basolateral, but not central, amygdala interfere with pavlovian second-order conditioning and reinforcer devaluation effects. *The Journal of Neuroscience*, 16(16), 5256-5265.
- Henke, P. G. (1973). Effects of reinforcement omission on rats with lesion in the amygdala. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 84(1), 187-193.
- Henke, P. G. (1977). Dissociation of the frustration effect and the partial reinforcement extinction effect after limbic lesions in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 5(91), 1032-1038.
- Henke, P. G., & Maxwell, D. (1973). Lesions in the amygdala and the frustration effect. *Physiology and Behavior*, 10(4), 647-650.
- Henton, W. W., & Iversen, I. H. (1978). *Classical conditioning and operant conditioning: A response pattern analysis*. New York: Springer-Verlag.
- Hinde, R.A. (1970). *Animal Behavior, a synthesis of ethology and comparative psychology*. New York: McGraw-Hill.
- Holland, P. C. & Gallagher, M. (1993). Effects of amygdala central nucleus lesions on blocking and unblocking. *Behavioral Neuroscience*, 107(2), 235-245.
- Holland, P. C. & Gallagher, M. (1999). Amygdala circuitry in attentional and representational processes. *Trends in Cognitive Sciences*, 3 (2), 65-73.
- Holland, P. C. (1977). Conditioned stimulus as a determinant of the form of the pavlovian conditioned response. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 3(1), 77-104.

- Holland, P. C. (1979a). The effects of qualitative and quantitative variation in the US on individual components of Pavlovian appetitive conditioned behavior in rats. *Animal Learning & Behavior*, 7(4), 424-432.
- Holland, P. C. (1979b). Differential Effects of Omission Contingencies on Various Components of Pavlovian Appetitive Conditioned Responding in Rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 5(2), 178-193.
- Holland, P. C. (1980a). CS-US Interval as a Determinant of the Form of Pavlovian Appetitive Conditioned Responses. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 6(2), 155-174.
- Holland, P. C. (1980b). Influence of visual conditioned stimulus characteristics on the form of Pavlovian appetitive conditioned responding in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 1, 81-97.
- Holland, P. C. (2006). Enhanced conditioning produced by surprising increases in reinforcer value are unaffected by lesions of the amygdala central nucleus. *Neurobiology of Learning and Memory*, 85, 30-35.
- Holland, P. C. (2007). Disconnection of the amygdala central nucleus and substantia innominate / nucleus basalis magnocellular disrupt performance in a sustained attention task. *Behavioral Neuroscience*, 121(1), 80-89.
- Holland, P. C., & Ball, G. F. (2003). The Psychology and Ethology of Learning. In Irving B. Weiner, (editor-in-chief). *Handbook of psychology*. (pp. 457-497). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
- Holland, P. C., Han, J. S. & Gallagher, M. (2000). Lesion of the amygdala central nucleus alter performance on a selective attention task. *The Journal of Neuroscience*, 20 (17), 6701-6706.
- Holland, P.C., & Gallagher, M. (2003). Double dissociation of the effects of lesions of basolateral and central amygdala on conditioned stimulus-potentiated feeding and Pavlovian-instrumental transfer. *European Journal of Neuroscience*, 17, 1680-1694.
- Homberg, J. R. (2013). Measuring behaviour in rodents: Towards translational neuropsychiatric research. *Behavioral Brain Research*, 236, 295-306.
- Humphries, M. D., & Prescott, T. J. (2010). The ventral basal ganglia, a selection mechanism at the crossroads of space, strategy, and reward. *Progress in Neurobiology*, 90, 385-417.
- Ikemoto, S., & Panksepp, J. (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews*, 31, 6-41.
- Jackson, M. E., & Moghaddam, B. (2001). Amygdala regulation of nucleus accumbens dopamine output is governed by the prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 21(2), 676-681.

- Judice-Daher, D. M., & Bueno, J. L. O. (2013). Lesions of the nucleus accumbens disrupt reinforcement omission effects in rats. *Behavioural Brain Research*, 252, 439-443.
- Judice-Daher, D. M., Tavares, T. F., & Bueno, J. L. O. (2011). Influence of the reinforcement magnitude on omission effects. *Behavioural Processes* 88, 60-62.
- Judice-Daher, D. M., Tavares, T. F., & Bueno, J. L. O. (2012). Involvement of the basolateral complex and central nucleus of amygdala in the omission effects of different magnitudes of reinforcement. *Behavioural Brain Research*, 233, 149-156.
- Kelley, P. H., & Roberts D. C. (1983). Effects of amphetamine and apomorphine on locomotor activity after 6-OHDA and electrolytic lesions of the nucleus accumbens septi. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 19,137-143.
- Kelley, A. E. (2004). Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27, 765-776.
- Kelly, P. H., Seviour, P. W., & Iversen, S. D. (1975). Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. *Brain Research*, 94, 507-522.
- Kesner, R. P. & Gilbert, P. E. (2007). The role of the agranular insular cortex in anticipation of reward contrast. *Neurobiology of Learning and Memory*, 88(1), 82-86.
- Khamassi, M., & Humphries, M. (2012). Integrating cortico-limbic-basal ganglia architectures for learning model-based and model-free navigation strategies. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6, 79.
- Killeen, P. R. (1975). On the temporal control of behavior. *Psychological Review*, 82, 89-115.
- Knapska, E., Walasek, G., Nikolaev, E., Neuhäusser-Wespy, F., Lipp, H. P., Kaczmarek, L. & Werka, T. (2008). Differential involvement of the central amygdala in appetitive versus aversive learning. *Learning and Memory*, 13, 192-200.
- Knutson, B., Fong, G. W., Adams, C. M., Varner, J. L. & Hommer, D. (2001). Dissociation of reward anticipation and outcome with event-related fMRI. *NeuroReport*, 12, 3683-3687.
- Koppe, G., Gruppe, H., Sammer, G., Gallhofer, B., Kirsch, P., & Lis, S. (2014). Temporal unpredictability of a stimulus sequence affects brain activation differently depending on cognitive task demands. *NeuroImage*, 101, 236-244.
- Kurti, A. N., & Matell, M. S. (2011). Nucleus Accumbens Dopamine Modulates Response Rate but not Response Timing in an Interval Timing Task. *Behavior & Neuroscience*, 125(2), 215–225.
- Lee, R-S., Koob, G. F., & Henriksen, S. J. (1998). Electrophysiological responses of nucleus accumbens neurons to novelty stimuli and exploratory behavior in the awake, unrestrained rat. *Brain Research*, 799, 317–322.

- Lent, R. (Coord.) (2008). *Neurociência da mente e do comportamento*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Leszczuk, M. H., & Flaherty, C. F. (2000). Lesions of nucleus accumbens reduce instrumental but not consummatory negative contrast in rats. *Behavioural Brain Research*, 116, 61-79.
- Lex, B., & Hauber, W. (2010). The role of nucleus accumbens dopamine in outcome encoding in instrumental and Pavlovian conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93, 283-29.
- Liljeholm, M., & O'Doherty, J. P. (2012). Contributions of the striatum to learning, motivation, and performance: an associative account. *Trends in Cognitive Sciences*, 16(9), 467-475.
- Lindgren, J. L., Gallagher, M. & Holland, P. C. (2003). Lesions of basolateral amygdala impair extinction of CS motivational value, but not of explicit conditioned responses, in pavlovian appetitive second-order conditioning. *European Journal of Neuroscience*, 17, 160-166.
- Lopez-Crespo G, Rodriguez M, Pellon R, Flores, P. (2004). Acquisition of schedule-induced polydipsia by rats in proximity to upcoming food delivery. *Learning & Behavior*, 32, 491-499.
- Lorenz, K. (1958). The evolution of behavior. *Scientific American*, 199(6), 67-78.
- Mannella, F., Gurney, K., & Baldassarre, G. (2013). The nucleus accumbens as a nexus between values and goals in goal-directed behavior: a review and a new hypothesis. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7, 1-29.
- Mannella, F., Mirolli, M., & Baldassarre, G. (2010). The interplay of pavlovian and instrumental processes in devaluation experiments: A computational embodied neuroscience model tested with a simulated rat. In C. R. T. G. D. Ruxton (Ed.), *Modelling perception with artificial neural networks* (pp. 93-113). New York, NY, US: Cambridge University Press.
- Martin, P. D. (2001). Locomotion towards a goal alters the synchronous firing of neurons recorded simultaneously in the subiculum and nucleus accumbens of rats. *Behavioural Brain Research*, 124, 19-28.
- Martin, P. D., & Ono, T. (2000). Effects of reward anticipation, reward presentation, and spatial parameters on the firing of single neurons recorded in the subiculum and nucleus accumbens of freely moving rats. *Behavioural Brain Research*, 116, 23-38.
- McDonald, A. J. (1991). Topographical organization of amygdaloid projections to the caudatoputamen, nucleus accumbens, and related striatal-like areas of the rat brain. *Neuroscience*, 44, 15-33.
- McFarland, K. & Kalivas, P.W. (2003). The Psychology and Ethology of Learning. In Irving B. Weiner, (Ed.), *Handbook of psychology*. (pp. 379-403). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.

- McGaugh, J. L., Cahill, L. & Roozendaal, B. (1996). Involvement of the amygdala in memory storage: Interaction with other brain systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93, 3508-3514.
- Meck, W.H., (2006). Neuroanatomical localization of an internal clock: a functional link between mesolimbic, nigrostriatal, and mesocortical dopaminergic systems. *Brain Research*, 1109, 93–107.
- Mellon, R. C., Leak, T. M., & Fairhurst, S. (1995). Timing processes in the reinforcement-omission effect. *Animal Learning & Behavior*, 23(3), 286-296.
- Metereau, E. & Dreher, J. C. (2013). Cerebral Correlates of Salient Prediction Error for Different Rewards and Punishments. *Cerebral Cortex*, 23(2), 477-487.
- Millenson, J. R. (1975). *Princípios de Análise do Comportamento*. Brasília: Coordenada
- Mittleman, G., Jones, G. H., Whisha, I. Q., & Koch, M. (1990). Cortical, Hippocampal, and Striatal Mediation of Schedule-Induced Behaviors. *Behavioral Neuroscience*, 104(3), 399-409.
- Moreira, R. C. M., & Bueno, J. L. O. (2003). Conditional discrimination learning and negative patterning in rats with hippocampal lesion induced by ionizing radiation. *Behavioural Brain Research*, 138(1), 29-44.
- Nakahara, H., & Hikosaka. O. (2012). Learning to represent reward structure: A key to adapting to complex environments. *Neuroscience Research*, 74, 177–183.
- O'Doherty, J., Kringelbach, M. L., Rolls, E. T., Hornak, J., & Andrews, C. (2001). Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nature Neuroscience*, 4, 95-102.
- Olmstead, M. C., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (1998). Basal Forebrain Cholinergic Lesions Enhance Conditioned Approach Responses to Stimuli Predictive of Food. *Behavioral Neuroscience*, 112(3), 611-629.
- Pan, W. X., Schmidt, R., Wickens, J. R., & Hyland, B. I. (2008). Tripartite mechanism of extinction suggested by dopamine neuron activity and temporal difference model. *Journal of Neuroscience*, 28, 9619-9631.
- Papini, M. R. & Dudley, T. R. (1997). Consequences of surprising reward omissions. *Review of General Psychology*, 2(1) 175-197.
- Parkinson, J. A., Willoughby, P. J., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (2000). Disconnection of the Anterior Cingulate Cortex and Nucleus Accumbens Core Impairs Pavlovian Approach Behavior: Further Evidence for Limbic Cortical-Ventral Striatopallidal Systems. *Behavioral Neuroscience*, 114(1), 42-63.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1996). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. London: Academic Press.

- Pecoraro, N. C., Timberlake, W. D., & Tinsley, M. (1999). Incentive downshifts evoke search repertoires in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 25(2), 153-167.
- Peden, B. F., Browne, M. P., & Hearst, E. (1977). Persistent approaches to a signal for food despite food omission for approaching. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 3(4), 377-399.
- Pennartz, C. M. A., Ito, R., Verschure, P. F. M. J., Battaglia, F. P., & Robbins, T. W. (2011). The hippocampal-striatal axis in learning, prediction and goal-directed behavior. *Trends in Neurosciences*, 34, 548-559.
- Pennartz, C.; Groenewegen, H. & Lopez da Silva, F. H. (1994). The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioural, electrophysiological and anatomical data. *Progress in Neurobiology*, 42, 719 -761.
- Penner, M. R., & Mizumori, S. J. Y. (2011). Neural systems analysis of decision making during goal-directed navigation. *Progress in Neurobiology*, 96, 96-135.
- Phillips, A. G., Pfaus, J. G., Blaha, C. D. (1991). Dopamine and motivated behavior: Insights provided by in vivo analyses. In: Willner P, Scheel-Kruger J (Eds.) *The mesolimbic dopamine system: From motivation to action* (pp. 199-224). London: Wiley.
- Phillips, G. D., Setzu, E., & Hitchcott, P. K. (2003). Facilitation of Appetitive Pavlovian Conditioning by d-Amphetamine in the Shell, but Not the Core, of the Nucleus Accumbens. *Behavioral Neuroscience*, 117(4), 675-684.
- Pijnenburg, A. J., Honig, W. M., Van der Heyden, J. A., & Rossum, J. M. V. (1976). Effects of chemical stimulation of the mesolimbic dopamine system upon locomotor activity. *European Journal of Pharmacology*, 35(1), 45-58.
- Pisula, W. (1997). Rat behavior in the exploration box - cluster analysis. *International Journal of Comparative Psychology*, 10(2), 74-89.
- Porter-Stransky, K. A., Seiler, J. L., Day, J. J., & Aragona, B. J. (2013). Development of behavioral preferences for the optimal choice following unexpected reward omission is mediated by a reduction of D2-like receptor tone in the nucleus accumbens. *European Journal of Neuroscience*, 38, 2572-2588.
- Reid, A. K., Vazquez, P. P., & Rico, J. A. (1985). Schedule induction and the temporal distributions of adjunctive behavior on periodic water schedules. *Animal Learning & Behavior*, 13(3), 321-326.
- Rescorla, R. A. (1967). Pavlovian Conditioning and Its Proper Control Procedures. *Psychological Review*, 74(1), 71-80.
- Rescorla, R. A. (1988). Behavioral studies of pavlovian conditioning. *Annual Review of Neuroscience*, 11, 329-352.

- Rescorla, R. A., & Holland, P. C. (1982). Behavioral studies of associative learning in animals. *Annual Review of Psychology*, 33, 265-300.
- Rinaldi, A., Oliverio, A., & Mele, A. (2012). Spatial memory, plasticity and nucleus accumbens. *Reviews in the Neurosciences*, 23(5-6): 527–541.
- Robbins T. W., Roberts D. C., & Koob G. F. (1983). Effects of d-amphetamine and apomorphine upon operant behavior and schedule-induced licking in rats with 6-hydroxydopamine-induced lesions of the nucleus accumbens. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 224, 662–673.
- Robbins, T. W. & Everitt, B. J. (2002). Limbic-striatal memory systems and drug addiction. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78, 625–636.
- Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (1996). Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Current Opinion in Neurobiology*, 6, 228–236.
- Robbins, T. W., & Koob, G. F. (1980). Selective disruption of displacement behavior by lesions of the mesolimbic dopamine system. *Nature*, 285:409-12.
- Robbins, T., Cador, M., Taylor, J. & Everitt, B. (1989). Limbic-striatal interactions in reward-related processes. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 13, 155-162.
- Ross, R. T., & Holland, P. C. (1981). Conditioning of simultaneous and serial feature-positive discriminations. *Animal Learning & Behavior*, 9 (3), 293-303.
- Sah, P., Faber, E.S.L., Armentia, M.L. & Power, J. (2003). The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiological Review*, 83, 803-834.
- Salamone J. D. (1988). Dopaminergic involvement in activational aspects of motivation: effects of haloperidol on schedule induced activity, feeding and foraging in rats. *Psychobiology*, 16,196-206.
- Salamone, J. D. (1994). The involvement of nucleus accumbens dopamine in appetitive and aversive motivation. *Behavioural Brain Research*, 61, 117-133.
- Salamone, J. D., & Correa, M. (2002). Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behavioural Brain Research*, 137, 3-25.
- Salamone, J. D., & Correa, M. (2012). The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine. *Neuron*, 76(3), 470-485.
- Salamone, J. D., Aberman, J. E., Sokolowski, J. D. & Cousins, M. S. (1999). Nucleus accumbens dopamine and rate of responding: neurochemical and behavioral studies. *Psychobiology*, 27:236-47.
- Salamone, J. D., Correa, M., Farrar, A., & Mingote, S. M. (2007). Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits. *Psychopharmacology*, 191, 461-482.

- Salamone, J. D., Cousins, M. S., & Snyder, B. J. (1997). Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21, 341-59.
- Saunders, B. T., & Robinson, T. E. (2012). The role of dopamine in the accumbens core in the expression of Pavlovian conditioned responses. *European Journal of Neuroscience*, 36(4), 2521–2532.
- Schmajuk, N. A. (1987). Classical conditioning, signal detection, and evolution. *Behavioural Processes*, 14, 277-289.
- Schultz W., Tremblay L., Hollerman J. R. (2000). Reward processing in primate orbitofrontal cortex and basal ganglia. *Cerebral Cortex*, 10, 272–284.
- Schultz, W. (1998). Predictive Reward Signal of Dopamine Neurons. *Journal of Neurophysiology*, 80, 1-27.
- Schultz, W. (2000). Multiple reward signals in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 1, 199-207.
- Schultz, W. (2010). Dopamine signals for reward value and risk: Basic and recent data. *Behavioral and Brain Function*, 6, 24.
- Schultz, W., Dayan, P. & Montague, P. R. (1997). A Neural Substrate of Prediction and Reward. *Science*, 275, 1593-1599.
- Sescousse, G.; Caldú, X.; Segura, B. & Dreher, J. C. (2013). Processing of primary and secondary rewards: A quantitative meta-analysis and review of human functional neuroimaging studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(4) 681-696.
- Seward, J. P., Pereboom, A. C., Butler, B., & Jones, R. B. (1957). The role of prefeeding in an apparent frustration effect. *Journal of Experimental Psychology*, 54(6), 445-450.
- Sideroff, S., & Bindra, D. (1976). Neural correlates of discriminative conditioning: separation of associational and motivational processes *Brain Research*, 101, 378-382.
- Silva, F. J., & Timberlake, W. (2000). A clarification on the nature of backward excitatory conditioning. *Learning & Motivation*, 31, 67-80.
- Silva, K., & Timberlake, W. (1998a). A behavior systems view of responding to probe stimuli during an interfood clock. *Animal Learning & Behavior*, 26(3), 313-325.
- Silva, K., & Timberlake, W. (1998b). The organization and temporal properties of appetitive behavior in rats. *Animal Learning & Behavior*, 26(2), 182-195.
- Simon, N. W. & Moghaddam, B. (2015). Neural processing of reward in adolescent rodents. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 11, 145–154.

- Singh, T., McDannald, M. A., Takahashi, Y. K., Haney, R. Z., Cooch, N. K., Lucantonio, F., et al. (2011). The role of the nucleus accumbens in knowing when to respond. *Learning and Memory*, 18, 85-87.
- Skinner, B. F. (1969). *Contingencies of reinforcement: a theoretical analysis*. Nova York: Appleton-Century-Crofts.
- Spicer, J., Galvan, A., Hare, T. A., Henning, V., Glover, G., & Casey, B. J. (2007). Sensitivity of the nucleus accumbens to violations in expectation of reward. *NeuroImage*, 34(1), 455-461.
- Staddon, J. E. R. (1970). Temporal effects of reinforcement: A negative "frustration" effect. *Learning and Motivation*, 1(3), 227-247.
- Staddon, J. E. R. (1974). Temporal control, attention and memory. *Psychological Review*, 5 (81) 375-391.
- Staddon, J. E. R., & Ayres, S. L. (1975). Sequential and temporal properties of behavior induced by a schedule of periodic food delivery. *Behaviour*, 54, 26-49.
- Staddon, J. E. R., & Higa, J. J. (1999). Time and memory: towards a pacemaker-free theory of interval timing. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 71, 215-251.
- Staddon, J. E. R., & Innis, N. K. (1969). Reinforcement omission on fixed-interval schedules. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 12, 689-700.
- Staddon, J. E. R., & Reid, A. (1987). Adaptation to Reward. In A. Kamil, J. Krebs & H. R. Pulliam (Eds.), *Foraging Behavior* (pp. 497-523): Springer US.
- Staddon, J. E. R., & Simmelhag, V. L. (1971). The "superstition" experiment: A reexamination of its implications for the principles of adaptive behavior. *Psychological Review*, 78, 3-43.
- Staton, D. M., & Solomon, P. R. (1984). Microinjections of d-amphetamine into the nucleus accumbens and caudate-putamen differentially affect stereotypy and locomotion in the rat. *Physiological Psychology*, 12(2), 159-162.
- Stout, S. C., Boughner, R. L. & Papini, M. R. (2003). Reexamining the frustration effect in rats: aftereffects of surprising reinforcement and nonreinforcement. *Learning and Motivation*, 34, 437- 456.
- Stout, S. C., Boughner, R. L., & Papini, M. R. (2003). Reexamining the frustration effect in rats: Aftereffects of surprising reinforcement and nonreinforcement. *Learning and Motivation*, 34, 437-456.
- Stout, S. C., Muzio, R. N., Boughner, R. L., & Papini, M. R. (2002). Aftereffects of the surprising presentation and omission of appetitive reinforcers on key-pecking performance in pigeons. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 28, 242-256.

- Tavares, T. F., Judice-Daher, D. M., & Bueno, J. L. O. (2014). Large neurotoxic amygdala lesion impairs reinforcement omission effects. *Behavioural Brain Research*, 266, 1-6.
- Timberlake, W. (1994). Behavior systems, associationism, and Pavlovian conditioning. *Psychonomic Bulletin & Review*, 1(4), 405-420.
- Tsurugizawa, T., Uematsu, A., Uneyama, H., & Torii, K. (2012). Functional brain mapping of conscious rats during reward anticipation. *Journal of Neuroscience Methods*, 206, 132-137.
- Tye, K. M. & Janak, P. H. (2007). Amygdala neurons differentially encode motivation and reinforcement. *Journal of Neuroscience*, 27 (15), 3937-3945.
- Van den Bos, R., van der Harst, J., Vijftigschild, N., Spruijt, B., van Luijtelaar, G., & Maes, R. (2004). On the relationship between anticipatory behaviour in a Pavlovian paradigm and Pavlovian-to-Instrumental Transfer in rats (*Rattus norvegicus*). *Behavioural Brain Research* 153, 397-408.
- Van der Harst, J. E., Baars, A. M., & Spruijt, B. M. (2003). Standard housed rats are more sensitive to rewards than enriched housed rats as reflected by their anticipatory behaviour. *Behavioural Brain Research*, 142, 151-156.
- Vanderwolf, C. H., Kelly, M. E., Kraemer, P., & Streather, A. (1988). Are emotion and motivation localized in the limbic system and nucleus accumbens? *Behavioural Brain Research*, 27, 45-58.
- Wallace M., Singer G., Finlay J., & Gibson S. (1983). The effect of 6- OHDA lesions of the nucleus accumbens septum on schedule-induced drinking, wheel running and corticosterone levels in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 18,129-136.
- Wheeler, D. S., & Miller, R. R. (2008). Determinants of cue interactions. *Behavioural Processes*, 78, 191-203.
- Yelnik, J. (2008). Modeling the organization of the basal ganglia. *Revue Neurologique (Paris)*, 164, 969 – 976.
- Yin, H. H., Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2008). Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: The integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *European Journal of Neuroscience*, 28(8), 1437-1448.
- Zink, C. F., Pagnoni, G., Martin, M. E., Dhamala, M., & Berns, G. S. (2003). Human striatal response to salient nonrewarding stimuli. *The Journal of Neuroscience*, 23(22), 8092-8097.
- Zorrilla, E. P. & Koob, G. F. (2013). Amygdalostriatal projections in the neurocircuitry for motivation: a neuroanatomical thread through the career of Ann Kelley. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37 (9), 1932-1945.