

Universidade de São Paulo
Instituto de Psicologia

Ana Martins Torres Bernardes

**Efeito de enriquecimento ambiental na
auto-administração oral de álcool em
ratos**

São Paulo
2008

Ana Martins Torres Bernardes

**Efeito de enriquecimento ambiental na
auto-administração oral de álcool em
ratos**

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Psicologia – área de concentração Neurociências e Comportamento.

Orientadora: Profa Dra. Maria Teresa Araújo Silva

São Paulo
2008

Ana Martins Torres Bernardes

Efeito de enriquecimento ambiental na auto-administração oral de álcool em ratos

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Psicologia – área de concentração Neurociências e Comportamento.

Apresentada e aprovada em: _____ / _____ / _____

BANCA EXAMINADORA:

(Nome, titulação, instituição e Assinatura)

(Nome, titulação, instituição e Assinatura)

(Nome, titulação, instituição e Assinatura)

*Aos meus pais, por terem me dado a
liberdade de ser tudo aquilo que eu pudesse
ser. Por me ensinarem a pensar, observar,
discutir, por reforçarem minha curiosidade.
Por terem me ensinado a questionar o
mundo.*

Agradecimentos

Agradeço à Teresa pela orientação, pelas discussões e, acima de tudo, por ter sempre apoiado minhas escolhas e decisões neste trabalho, por ter me dado a liberdade para criá-lo, desenvolvê-lo, e por ter me dado a oportunidade de executá-lo. Obrigada, Teresa, por ser quem você é, por ser mais que orientadora, por me acolher e me ensinar tanto. Teresa, você é uma pessoa muito especial.

Agradeço à Miriam pela amizade, pelo apoio, pela paciência, por ter me ensinado tanto nesses vários anos. Miriam, sem você esse trabalho nunca teria existido, pois foi você que colocou em mim a semente do que ele viria a se tornar. Obrigada por ser tão ousada.

Obrigada, Roberto, pelos comentários inestimáveis na qualificação, pelas referências, por ser tão gentil e reforçador.

Obrigada, Felipe, por ser meu companheiro. Por, mesmo estando tão distante, se fazer tão presente. Obrigada pela ajuda nas revisões desse trabalho, por agüentar minhas inseguranças e nervosismo, pelas horas de conversa, mas, acima de tudo, obrigada por dividir sua vida comigo.

Agradeço ao Wilton pela amizade de tantos anos, pelo ombro amigo nas horas felizes e difíceis, por me agüentar. Obrigada pelas tantas ajudas, salvamentos e broncas, pelas tantas coisas que você fez por mim e por esse trabalho. Jeep, obrigada por sempre conseguir me fazer rir.

Agradeço à Márcia pela ajuda inestimável nesse trabalho. Sem ela não, teria sido possível a sua conclusão. Obrigada por agüentar a correria e por ser tão adorável quanto você é.

Agradeço a todos os companheiros de laboratório por rirem comigo, de mim e por me fazerem rir, pelas conversas no meio da tarde, discussões e apoio. Stella, obrigada por estar sempre presente, pelas conversas e companheirismo. Miriam Barbosa, obrigada por sempre me atrapalhar quando estou trabalhando, você é sempre um alívio e uma diversão. Victor, obrigada pelo seu apoio na monitoria e pelas conversas. Thais, obrigada pelos textos e pelo seu amor pelos animais. Helô, obrigada pela sua calma e tranqüilidade. Fernanda, obrigada por ouvir minhas crises teóricas e por em tão pouco tempo já se fazer tão presente. Ana Paula, obrigada pela ajuda no cuidado com os animais e pela prontidão em resolver problemas. Obrigada aos

funcionários, especialmente à equipe de segurança pelo respeito, compreensão e pelos cafés nas madrugadas.

Agradeço à Yumi por tanta ajuda na graduação, por tanta ajuda no laboratório, por ser uma menina adorável e, mesmo distante, pela amizade.

Agradeço à Érika pelas conversas, pela ajuda com o inglês, pelo socorro e, acima de tudo, pela amizade.

Obrigada Leandro, pelo companheirismo, na graduação e na pós, pela ajuda e pelas visitas que eram sempre um prazer.

Obrigada Yas, amiga antiga, por todos esses anos, pelo cuidado, pelas longas conversas, pela diversão e apoio. Por ser uma pessoa incrível, absurdamente inteligente e interessante. Obrigada pelas tardes no MSN e, é claro, pelas roupas.

Agradeço ao meu avô Ayres pelas tantas conversas, pelos tantos livros, pelas tantas discussões filosóficas e por me ensinar tanto. Vô, você é parte do que eu sou.

Agradeço a minha avó Alice por, mesmo tão pequena, ser tão forte. Obrigada por falar o que você pensa, pelos bolinhos e pelo colo no fim de tarde.

Obrigada Lia e Tais, minhas irmãs queridas, lindas e insuportáveis por serem do jeito que são, por sermos tão diferentes e tão parecidas. Obrigada pelo cuidado e compreensão durante a realização desse trabalho.

Agradeço à Giza pelas risadas, pela ajuda e pela sanidade.

Obrigada a todos os professores que me ensinaram tanto em todos esses anos, o que possibilitou que eu chegasse até aqui.

A gente não quer só comida

A gente quer comida

Diversão e arte

A gente não quer só comida

A gente quer saída

Para qualquer parte...

A gente não quer só comida

A gente quer bebida

Diversão, balé

A gente não quer só comida

A gente quer a vida

Como a vida quer...

Comida -Titãs

Bernardes, AMT

Efeito enriquecimento ambiental na auto-administração oral de álcool em ratos

Resumo

Esta pesquisa estuda a relação entre o ambiente em que ratos se desenvolvem e a auto-administração de etanol (ET) na idade adulta. Usualmente, a pesquisa comportamental com animais em laboratório utiliza sujeitos mantidos em isolamento em caixas individuais (I). Uma das espécies mais usadas é o rato, um animal social que em habitat natural vive em colônias. Que efeitos tem o isolamento nesses ratos? Propõe-se que a baixa disponibilidade de reforçadores alternativos seja um dos fatores determinantes do abuso de drogas. Algumas pesquisas mostraram que o isolamento, que caracteriza ambientes de baixa disponibilidade de reforçadores, leva a um aumento no consumo de morfina, anfetamina e barbital em relação a ratos criados em ambientes com maior disponibilidade de reforçadores (AE), e mais ET comparados a animais criados em grupo. No entanto, outras pesquisas observaram que animais criados em AE consomem mais ET do que animais criados em isolamento. Utilizando medidas de comportamento operante de ingestão de ET, o presente experimento visou observar se a disponibilidade de reforçadores no ambiente de criação e/ou concorrentes ao álcool no ambiente experimental altera o consumo, o valor reforçador e a elasticidade da demanda dessa droga. Ratos Wistar machos foram criados em I ou em AE. O consumo e o valor reforçador do ET foram medidos nos esquemas operantes de FR2 e Razão Progressiva (RP), respectivamente. O ET foi introduzido por *fade in/fade out* de sacarose, culminando numa solução de ET 10% adoçada com sacarina 0,25%. O teste de RP foi conduzido para solução de ET, depois para sacarina. Os animais foram submetidos também ao teste de ansiedade no labirinto em cruz elevado e sua atividade motora foi estimada em caixa de atividade. Os ratos I consumiram e responderam significativamente mais pelo ET comparados aos ratos AE. Os ratos I evidenciaram aumento do valor reforçador do ET, mas não da sacarina, medido em RP, quando comparados aos do grupo AE. Os grupos AE e I não apresentaram diferenças significativas em ansiedade. Os animais do grupo I mostraram-se significativamente mais ativos do que os do grupo AE. A elasticidade da demanda foi medida em um modelo concorrente no qual uma alternativa dispensava solução de ET e a outra uma solução isocalórica ao ET, e as exigências em VR foram aumentadas progressivamente, primeiro para a alternativa isocalórica, e depois para o ET. A introdução de reforçadores concorrentes alterou o consumo de ET dos animais criados em I sem alterar o comportamento dos animais criados em AE. A criação nos diferentes ambientes não alterou a elasticidade da demanda por ET, porém alterou a elasticidade da demanda pelo reforçador concorrente. Os animais do grupo I, apesar de consumirem significativamente mais da solução alternativa ao ET, apresentaram uma demanda mais elástica em relação a esse reforçador quando comparados aos do grupo AE. A dependência de drogas, e do álcool em especial, pode e deve ser entendida dentro das mesmas leis que regulam o comportamento em geral, e os modelos de escolha são essenciais para essa compreensão.

Bernardes, AMT.

Influence of environmental enrichment in alcohol oral self-administration in rats

Abstract

This research investigated the influence of different types of rearing environment on ethanol (ET) self-administration in adult rats. Usually behavioral research is conducted using isolated animals (I), one widely used animal is the rat, a social animal that under normal circumstances lives at large colonies. What kind of effects could this unnatural isolation have? It has been proposed that one major factor in drug abuse and dependence is the lack for alternative reinforcers to the drug. Animals raised in limited environments with few reinforcers (I) consume more morphine, amphetamine and barbital than animals raised in enriched environments (EE), which present different opportunities of behavior. These isolated rats have also been shown to consume more ET; however, there are some contradictory results within studies: some have even shown enhanced consumption in EE rats. The present study proposed to investigate whether differential presence of reinforcers during rearing or concurrently to the presentation of ET would influence its consumption, reinforcer value and demand elasticity. Male Wistar rats were raised either in EE or I. Using a self administration paradigm, consumption and reinforcer value were estimated in a FR2 and Progressive Ratio (PR), respectively. ET was introduced by fade in as sucrose was faded out from the solution, resulting in a 10% ET solution sweetened with saccharin 0,25% as the reinforcer solution. The PR procedure was first conducted using the ET solution and then with just the saccharin solution (vehicle). Anxiety was estimated using the elevated cross maze model, and motor activity was accessed in the activity box. I rats consumed and responded more for ET than EE rats in FR2 schedule. They also presented higher reinforcer value for ET in the PR paradigm, but not for saccharin, when compared to EE rats. There was no significant difference between groups in anxiety levels, but I rats were significantly more active. Using a concurrent model, with ET solution and an isocaloric solution as reinforcers, the demand elasticity was accessed by increasingly VRs, first for the isocaloric alternative, then for the ET solution. The introduction of an isocaloric concurrent reinforcer altered ET consumption of I rats, without affecting EE rats consumption. Groups did not differ in demand elasticity for ET, but it was shown that this demand is relatively inelastic while demand for the isocaloric solution is very elastic, especially for I rats, though. I rats consumed more isocaloric solutions than EE rats. Drug abuse and dependency must be understood using the same laws that regulate so called normal behavior, these phenomena do not belong to a special category, and choice models are essential for that understanding.

Índice de figuras

Figura 1: Número de respostas por grupo AE ou I em esquema de FR2.	33
Figura 2: Consumo de solução de ET por peso corporal para os grupos AE e I em esquema de FR2.	34
Figura 3: Peso Corporal dos grupos AE e I durante o esquema de FR2.	35
Figura 4: Desempenho em PR com solução de ET10% adoçada com sacarina 0,25% como reforçador.	36
Figura 5: Desempenho em PR com a solução de sacarina 0,25% como reforçador.	36
Figura 6: Diferença entre BP's para a solução contendo ET e para a solução de sacarina.	37
Figura 7: Latência para entrar em um dos braços do Labirinto.	38
Figura 8: Tempo em braços abertos.	39
Figura 9: Tempo em braços fechados.	39
Figura 10: Entradas em braços abertos.	39
Figura 11: Entradas em braços fechados.	40
Figura 12: Número total de entradas.	40
Figura 13: Atividade Motora por tipo.	41
Figura 14: Atividade motora total.	42
Figura 15: Distância percorrida.	42
Figura 16: Consumo de ET em VR5.	44
Figura 17: Consumo de MALTO em VR5.	45
Figura 18: Frequência relativa de respostas pelo ET em função do aumento da exigência para ET.	46
Figura 19: Frequência relativa de repostas por MALTO em função do aumento de exigência para MALTO.	47
Figura 20: Consumo de ET em função do aumento de exigência para ET.	48
Figura 21: Consumo de MALTO em função do aumento de exigência para MALTO.	49
Figura 22: Consumo de ET em função do aumento de exigência para a MALTO.	51
Figura 23: Consumo de MALTO em função do aumento de exigência para o ET.	51

Sumário

Introdução	1
Enriquecimento Ambiental	2
Escolha	5
Dependência	6
Ambiente Enriquecido e Drogas	9
Álcool	9
Ambiente Enriquecido e Álcool	10
Delineamento Experimental	17
Auto-administração	18
Razão Progressiva	19
Ansiedade	19
Reforço Concorrente	21
<i>Objetivos</i>	22
Método	23
Experimento 1	23
Sujeitos	23
Equipamento	23
Ambiente	23
Caixas de condicionamento operante	24
Labirinto em cruz elevado	24
Caixa de atividade	24
Procedimento	25
Comportamento operante: FR2 (1) e Razão Progressiva (2)	25
Labirinto em Cruz Elevado	26
Caixa de atividade	26
Análise de dados	27

Experimento 2	28
Sujeitos	28
Equipamento	28
Ambiente	28
Caixas de condicionamento operante	29
Procedimento	29
Fase Preparatória	29
Fase Experimental	30
Análise de dados	31
Resultados	32
Experimento 1	32
Comportamento operante	32
1) FR2	32
2) RP	35
Labirinto em Cruz Elevado	38
Atividade	41
Experimento 2	43
Reforçadores Concorrentes	43
Elasticidade da demanda	46
Consumo nas alternativas	50
Discussão	52
Conclusões	58
Referências Bibliográficas	59

“Um humano, colocado na solitária, quase sem contato humano, sem conhecimento ou esperança de liberdade e tendo apenas comida de prisão como alternativa, poderia muito bem auto-administrar cocaína até ter convulsões ou morrer de fome dado acesso ilimitado à droga” (Hartnoll, 1991).

A primeira preocupação de um cientista é obter dados precisos, confiáveis e replicáveis. Para tanto, reduz-se o número de variáveis a um mínimo, especialmente quando se inicia o estudo em uma área da qual ainda não se sabe quais são as variáveis importantes. Com Pavlov, Watson e Skinner aprendemos, com a análise experimental do comportamento, que a história de vida de um indivíduo o modifica, que diferentes histórias geram sujeitos diferentes, e, então, a fim de obter dados precisos, confiáveis e replicáveis, padronizou-se o ambiente de criação dos animais de laboratório, reduziu-se sua história de vida a um mínimo. Suas interações com o ambiente foram reduzidas e controladas, eliminou-se em grande parte oportunidades de exibição de comportamentos que não aqueles estudados. Padronizou-se o ambiente, o cuidado, o contato, tudo o que foi possível, e, assim, muito foi estudado, muito foi descoberto, muito conhecimento foi construído. A ciência do comportamento cresceu, aprendeu, tornou-se mais complexa e passou a estudar fenômenos também complexos. Porém, apesar de toda padronização, inclusive genética, apesar de todo o controle experimental, os sujeitos experimentais ainda surpreendem: um rato que não adquire o comportamento de pressão à barra, outro que se torna inexplicavelmente agressivo enquanto o resto de seu grupo permanece calmo. Mas, mais do que isso, ainda se vêem problemas de replicabilidade entre laboratórios, mesmo usando animais provenientes dos mesmos criadouros e métodos padronizados (Crabbe, Wahlsten, & Dudek, 1999).

A etologia, por outro lado, estuda sistematicamente os comportamentos observando os animais em seus habitats naturais. Observando quais os comportamentos típicos de cada espécie, os etólogos perceberam que eles variam grandemente de uma espécie para a outra. Enquanto a análise experimental do comportamento procurava desvendar os mecanismos da aprendizagem, a etologia buscava descobrir quais dos comportamentos característicos de uma espécie eram inatos e quais eram aprendidos. Os etólogos acabaram por obter uma enorme base de dados sobre coisas que bichos fazem

em seus ambientes naturais, e os analistas do comportamento sobre as regras do aprendizado de tantas atividades diferentes. A filogênese e a ontogênese são histórias que, somadas, produzem o comportamento global.

Usualmente, a pesquisa comportamental com animais em laboratório utiliza sujeitos criados e mantidos em isolamento, com mínimas oportunidades de comportamento, em ambiente pobre. Essa prática se justifica tanto pela padronização ambiental quanto pela maior facilidade do cuidar. Uma das espécies mais usadas é o rato (*Rattus norvegicus*), justamente um animal social que em seu habitat natural viveria em colônias.

Diante de tudo isso, seriam esses animais de laboratório, padronizados, limitados, impedidos de realizar os comportamentos naturais de sua espécie, como descritos pela etologia, equivalentes aos seus primos selvagens? Poderiam esses animais ser considerados organismos “inteiros”, especialmente no caso de animais sociais como o rato, tão usado no laboratório?

Enriquecimento Ambiental

Durante a década de 60 o psicólogo Mark R. Rosenzweig pôs-se a estudar como a criação em diferentes tipos de ambiente influenciaria a morfologia e a fisiologia cerebral dos animais. Para tanto, montou situações experimentais em que ratos eram criados em grupo, em ambientes que ofereciam oportunidade para emissão de diversos comportamentos, no que ficou conhecido como ambiente enriquecido (AE). Esses animais eram comparados aos que viviam em situação padrão de laboratório, um ambiente “pobre”, em que se encontravam isolados em pequenas caixas contendo o mínimo necessário à sobrevivência -- água e comida. Esse tipo de ambiente é aqui chamado de “I” (Rosenzweig & Bennett, 1969). Rosenzweig e Bennett observaram que o tipo de ambiente afetava a morfologia e a bioquímica cerebral: animais criados no AE mostraram maior peso, volume e atividade enzimática em diversas estruturas cerebrais. Também apresentavam maior número de conexões neuronais, maior espessura do córtex, aumento no tamanho dos contatos sinápticos, aumento no número de espinhos nos dendritos, maior ramificação dos dendritos e melhor desempenho em testes de aprendizagem (Pham, Winblad, Granholm, & Mohammed, 2002; Rosenzweig & Bennett, 1996). Esses efeitos foram observados em animais de diferentes idades quando expostos ao enriquecimento ambiental, e são muito similares às mudanças observadas com treino. Aparentemente o enriquecimento ambiental desencadeia a mesma cascata

de respostas neuroquímicas que o treinamento formal, levando a mudanças no sistema nervoso central. O enriquecimento ambiental apresenta efeitos mesmo em animais com o sistema nervoso lesionado: esses apresentam melhor recuperação se mantidos em ambientes enriquecidos em relação aos que são mantidos em isolamento (Dahlqvist et al., 2003).

O isolamento de animais sociais também pode ser considerado um fator significativo de estresse moderado e de longa duração (Souza, 2002). Por isso, Moncek e seu grupo (Moncek, Duncko, Johansson, & Jezova, 2004) resolveram estudar os efeitos da criação de ratos em AE sobre os sistemas relacionados ao estresse, comparando esses animais a animais criados em grupo, porém sem enriquecimento ambiental. Demonstraram que animais criados em grupo em AE quando comparados a animais criados apenas em grupo, apresentam nível basal de corticosteróides mais elevado e também um aumento no tamanho das glândulas adrenais. Essas medidas são medidas fisiológicas clássicas de estresse, usado neste texto como variável dependente, como proposto por Selye (1974), e indicariam que os animais do AE apresentam uma maior reação desse tipo que os apenas agrupados, sugerindo um componente aversivo na estimulação do AE.

Na visão do próprio Selye, no entanto, nem todo o estresse é prejudicial, pois certo tônus dessas respostas fisiológicas é adaptativo e seria necessário para o funcionamento ótimo do organismo. Esse conjunto de respostas fisiológicas denominado estresse seria prejudicial apenas quando a sua duração ou intensidade levam ao aparecimento de outras respostas fisiológicas, como baixa do hormônio testosterona, aumento e hiperatividade do córtex das adrenais e diminuição do timo e dos nódulos linfáticos, o que perturbaria o correto funcionamento do organismo, levando, inclusive, a uma baixa no sistema imunológico e causando sofrimento, o que ele chama de “*distress*”.

Saltar de pára-quedas, encontrar um amigo querido, tomar uma vacina ou fazer exercícios físicos causam aumento dos níveis de corticóides e de tamanho das adrenais, sem por isso causar prejuízo ao organismo. São situações que demandam adaptação do organismo, que desta forma eliciam respostas a fim de que essa adaptação aconteça. No entanto, se o organismo não consegue se adaptar a essa demanda, tamanha sua intensidade ou duração, ele começa a apresentar sofrimento (*distress*) (Selye, 1974).

Esse sofrimento também é acompanhado por perturbações no comportamento, como perda de apetite, perda de força muscular e anedonia (Selye, 1974). Os animais

criados em AE, comparados aos criados também em grupo, porém em ambiente pobre, não apresentam essas alterações que indicam o “*distress*”. A criação em isolamento social, inclusive, traz dificuldades à recuperação de ferimentos e doenças e esses animais frequentemente apresentam alterações importantes no comportamento, como aumento da atividade motora (Ehlers, Walker, Pian, Roth, & Slawecki, 2007) e aumento da estereotipia de movimentos (Kalueff, Wheaton, & Murphy, 2007). Na verdade, os animais criados em AE apresentam uma resposta mais rápida de habituação ao estresse agudo de manipulação. Ao longo de várias manipulações repetidas seus picos de corticosteróides baixam mais rapidamente, o que significa que os animais criados em AE se habitua mais rapidamente a estímulos, mesmo que sejam inicialmente aversivos, em comparação com os animais criados em grupo, mas sem brinquedos, esconderijos etc. (Moncek et al., 2004). Os níveis de adrenalina e de noradrenalina, hormônios de reação ao perigo, dos animais criados em AE são significativamente mais baixos em resposta ao estímulo manipulação do que os níveis dos animais apenas agrupados (Moncek et al., 2004). Outros experimentos também mostraram diferentes respostas fisiológicas a diversos estressores entre ratos criados em AE e ratos criados sem enriquecimento (Roy, Belzung, Delarue, & Chapillon, 2001). Assim, pode-se dizer que ratos criados em AE apresentam o tônus ótimo desses hormônios relacionados a respostas frente a estímulos aversivos, sem os efeitos deletérios associados a seu excesso.

Propõe-se que o enriquecimento ambiental, a oportunidade de o animal exibir os comportamentos naturais de sua espécie, é essencial para a manutenção da homeostase do organismo, e que as alterações comportamentais e fisiológicas observadas em animais criados em isolamento são indicativas de mau funcionamento do organismo (Olsson & Dahlborn, 2002), de uma incapacidade deste de se adaptar às exigências do ambiente. Isto implica numa menor validade, confiabilidade e replicabilidade dos dados usando sujeitos na condição padrão de laboratório. Animais criados em ambientes enriquecidos estariam menos sujeitos às alterações comportamentais e fisiológicas causadas por pequenas variações que ocorrem entre biotérios, laboratórios e experimentadores (Garner, 2005; Wurbel, 2001).

Rosenzweig (Rosenzweig & Bennett, 1996) afirma: “Uma experiência suficientemente rica parece ser necessária para o completo desenvolvimento das características cerebrais específicas da espécie e do seu potencial comportamental.” Portanto, animais criados em um ambiente rico em estímulos, com uma maior

disponibilidade de reforçadores, são diferentes de animais criados em ambientes pobres, limitados.

Catania (1999) considera que reforçadores são simplificados quando tratados meramente como estímulos, reforçadores só são reforçadores dependendo da relação que é estabelecida entre eles e as respostas que os produzem, e por isso só podem ser definidos em função dessas respostas. “Reforçadores são relativos e suas propriedades importantes são baseadas nas respostas às quais eles criam oportunidade de ocorrência” (pg. 100). Constituindo-se como uma relação que “inclui o responder, suas conseqüências e as mudanças no comportamento que se segue” (pg.101). Nesse sentido, podem ser vistos como oportunidades para o comportamento: a disponibilidade de reforçadores possibilita a ocorrência de comportamentos. A limitação ambiental usada na criação padrão em isolamento reduz imensamente as oportunidades que o animal tem de operar sobre seu ambiente, de alterá-lo e, portanto, de adaptar-se a ele. Do ponto de vista comportamental, trata-se de uma situação de baixa disponibilidade de reforçadores, prolongada e incontrolável.

Animais criados em AE têm diversas atividades para fazer que animais criados nas caixas padrão de laboratório em isolamento não têm. Como ter várias coisas para fazer altera o que se faz, como a diferente disponibilidade de estímulos, em especial de estímulos reforçadores, afeta o comportamento operante?

Escolha

Uma forma interessante de abordar essa questão deriva de estudos sobre o comportamento de escolha. Basicamente, quando se tem diversas coisas para fazer o valor reforçador e, portanto, a freqüência de respostas, nessa alternativa é menor do que se apenas uma delas estiver disponível. Quando há alternativas, não se faz apenas aquilo que tem maior probabilidade de ser reforçado, mas as respostas são distribuídas entre as várias possibilidades na mesma proporção em que respostas são reforçadas em cada uma das alternativas. Um rato que não tem muitas opções do que fazer acaba fazendo muitas vezes as poucas coisas que pode. Herrnstein estudou como os organismos distribuem suas respostas entre alternativas diferentes e chegou ao que foi chamado de “Lei da Igualação”. Segundo tal lei, a freqüência relativa de respostas em uma alternativa é proporcional à taxa relativa de reforço dessa alternativa e, portanto, ao seu valor reforçador relativo, que no caso de duas alternativas seria expressa pela seguinte equação: $R_1/(R_1+R_2) = F_1/(F_1+F_2) = V_1/(V_1+V_2)$, sendo 1 e 2 as alternativas, R a

taxa de resposta, F a taxa de reforço e V o valor reforçador. Isto significa que quando há mais de uma opção o valor de cada uma delas é diminuído em comparação ao caso em que existe apenas uma. A lei da igualação é importante para o entendimento de várias das chamadas psicopatologias, inclusive a dependência de drogas psicoativas (Herrnstein & Prelec, 1992), que no restante deste texto serão referidas apenas como drogas.

Dependência

O DSM-IV define abuso e dependência como padrões mal adaptativos de uso de substância, levando a comprometimento ou sofrimento clinicamente significativo, ocorrendo em qualquer momento no mesmo período de 12 meses. Para o critério de dependência é preciso que ocorram pelo menos três dos seguintes critérios: tolerância, abstinência, que o uso da droga continue apesar de tentativas de parar, de perdas em atividades sociais, ocupacionais ou recreativas e/ou da percepção que esse uso causa ou exacerba problemas físicos e psicológicos. Que os comportamentos associados à droga ocorram em alta frequência e a substância seja consumida em doses ou por períodos maiores que o planejado. Já o abuso é caracterizado pelo uso da substância mesmo que isso traga consequências negativas, porém não atendendo aos critérios para ser considerada dependência (APA, 1994).

As drogas de abuso funcionam como reforçadores positivos tanto para animais quanto para humanos (McKim, 2006), na medida em que a entrada de droga no organismo contingente a uma resposta aumenta a probabilidade futura dessa resposta. Animais não humanos e humanos comportam-se em função de obter drogas como consequência: vão ao bar ou a uma boca de fumo, pressionam uma barra, trabalham, roubam, pedem dinheiro emprestado, injetam, cheiram, bebem, exibem uma complexa cadeia de respostas que, no final, leva à entrada da droga no organismo.

O uso, abuso e a dependência de drogas ocorrem em ambientes nos quais existem vários outros reforçadores disponíveis, em que a cada momento escolhe-se entre buscar e usar drogas ou exibir outros comportamentos diversos. No caso da dependência, esses comportamentos relacionados à droga ocorrem em alta frequência, têm alta probabilidade de ocorrer em relação a outros comportamentos.

É preciso lembrar que drogas são reforçadores com algumas características especiais. Atuam muito mais diretamente na circuitaria cerebral do reforço do que outros reforçadores. Por agirem diretamente sobre o sistema nervoso central, seus

efeitos não dependem essencialmente das vias sensoriais, por isso sua ação é muito rápida e intensa, o que as torna reforçadores muito poderosos. Além disso, não produzem, em sua maioria, saciedade, diferentemente de outros reforçadores primários como comida e água.

De um ponto de vista evolutivo, algo que provoca uma reação tão intensa no organismo precisa ser considerado como algo muito importante, assim sendo, estímulos associados tornam-se muito salientes por condicionamento respondente (Everitt & Robbins, 2005). Desta forma, as drogas alteram o sistema nervoso e o comportamento de forma que os estímulos associados a ela tornam-se mais capazes de controlar o comportamento do que outros estímulos do ambiente (Kalivas & Volkow, 2005; Robinson & Berridge, 2001).

No entanto, a dependência de drogas produz muitas conseqüências que normalmente seriam consideradas aversivas e que na maioria dos casos funcionariam como punidores, mas que, no caso, não atuam assim, não são eficazes para reduzir a freqüência dos comportamentos de obtenção das drogas (Heyman, 1996). Mas por que as perdas da família, do emprego, dos amigos, da saúde, não funcionariam como punidores?

Em primeiro lugar, porque esses estímulos aversivos não são tão imediatos quanto os efeitos reforçadores da droga: são temporalmente mais distantes do comportamento que é conseqüenciado por eles e, portanto, têm sua capacidade de atuar sobre eles diminuída. Além disso, são também comportamentalmente mais distantes: ter todos os comportamentos para obter a droga em freqüência alta impede o indivíduo de alocar seu tempo a outras coisas, como dar atenção ao trabalho, à família e aos amigos. Os efeitos da droga levam o indivíduo a agir de formas que afastam as pessoas, ou o incapacitam de fazer coisas necessárias, como trabalhar bem. As drogas também têm um efeito dissociativo, ligado ao controle por estímulos: aquilo que é aprendido sob seu efeito é mais dificilmente recordado em outra situação (McKim, 2006). Assim sendo, as conseqüências aversivas, muitas vezes relacionadas ao comportamento de outros, ocorrem após uma longa cadeia de respostas, que incluem reforçadores diversos, e por isso perdem seu poder de punir o comportamento.

As relações familiares, de trabalho e de amizade tornam-se menos satisfatórias e mudanças no SNC, induzidas pelo uso da droga, como inibição dos receptores do tipo D2 e aumento da transmissão mediada por receptores do tipo D1, fazem com que o sistema dopaminérgico que faz parte do circuito do reforço responda adequadamente

apenas a estímulos, antecedentes e conseqüentes, associados à droga. Estes sistemas tornam-se menos sensíveis a outros estímulos, diminuindo o potencial de controle desses estímulos sobre o comportamento (Garcia-Mijares & Silva, 2006; Kalivas & Volkow, 2005).

Porém, a dependência de drogas não pode ser vista apenas pelas características especiais das substâncias como reforçadores. Ela não se deve apenas a características intrínsecas das drogas. Se assim fosse, toda experiência com drogas levaria inexoravelmente à espiral descendente da dependência, e não é isso que se observa: muitas pessoas consomem drogas, exibindo até um padrão de consumo abusivo, sem por isso tornarem-se dependentes. Muitos usuários, inclusive, descontinuam o uso da droga espontaneamente.

Especialmente interessante é o estudo conduzido durante a década de 70 com soldados da guerra do Vietnã por Robins e colegas (Robins, Helzer, & Davis, 1975; Wish, Robins, Hesselbrock, & Helzer, 1979). O estudo mostra que, durante a guerra, 35% dos soldados dos Estados Unidos da América usaram heroína. A droga era de fácil acesso, barata e seu uso pouco reprimido. Aproximadamente 20% dos usuários tornaram-se dependentes, e seus exames deram positivo para o uso de heroína, mesmo que eles tenham sido avisados com antecedência da realização dos testes. Mas, ao retornarem aos EUA, onde tinham suas famílias, encontraram maior dificuldade para conseguir a heroína, droga mais cara e não aceita socialmente. A maioria dos soldados abandonou o consumo. Apenas uma pequena porcentagem manteve o uso por mais de 3 anos, mesmo entre aqueles que continuaram usando heroína quando voltaram para casa. Aproximadamente apenas 3% dos veteranos haviam usado heroína regularmente em algum período nos dois anos anteriores e apenas um em cada seis deles havia procurado tratamento.

Muitos estudos apontam os chamados fatores de risco para a dependência, que incluem fatores genéticos, história de vida, disponibilidade, facilidade de acesso e preço das drogas, além de condições como o isolamento social (Hartnoll, 1991). A dependência de drogas é um fenômeno multifatorial e deve ser estudado como tal, não apenas como decorrência do poder reforçador de uma ou outra droga. Deve ser estudada sob as mesmas leis que regulam o comportamento dito “normal”, e há de se considerar que diversos fatores atuam de forma a aumentar a probabilidade de que comportamentos para obter e usar a droga ocorram em alta frequência. Considerando-se que a disponibilidade de reforçadores alternativos altera o valor reforçador dos outros

reforçadores, a oferta de reforçadores no AE, bem como a disponibilidade de reforçadores diretamente concorrentes à droga, poderiam alterar a frequência dos comportamentos contingenciados pela droga e seu o valor reforçador.

Ambiente Enriquecido e Drogas

Vários estudos foram realizados visando a esclarecer que influência a criação em AE exerce sobre o consumo de drogas quando comparada à criação de animais em isolamento. Bruce Alexander e colegas demonstraram que animais criados em isolamento consumiam oralmente significativamente mais uma solução de morfina do que ratos criados em AE (Alexander, Coombs, & Hadaway, 1978; Hadaway, Alexander, Coombs, & Beyerstein, 1979). Os pesquisadores também demonstraram a preferência por estimulantes (anfetamina) e barbitúricos (barbital) em animais isolados em comparação com os criados em AE (Zimmerberg & Brett, 1992). Em ambos os casos foram utilizadas medidas individuais coletadas dentro do ambiente em que os animais viviam. Ratos criados em isolamento, inclusive, generalizam para doses mais baixas de cocaína e anfetamina do que ratos criados em ambiente enriquecido, o que indica uma maior sensibilidade desses animais em isolamento às propriedades de estímulo dessas substâncias (Fowler et al., 1993).

Em relação ao álcool, porém, os dados da literatura são contraditórios. Apesar de ser uma das drogas mais antigas conhecidas pelo homem e de estar presente de alguma forma em quase todas as culturas humanas, a ciência ainda não foi capaz de desvendar todos os seus mistérios.

Álcool

O álcool é uma droga psicoativa legal e altamente acessível em grande parte do mundo. Nos últimos 20 anos, seu consumo per capita vem crescendo nos países em desenvolvimento, especialmente na Ásia e nos países da antiga União Soviética (WHO, 2002). Nas Américas, o consumo é maior entre homens jovens, e o Brasil apresenta uma média per capita de consumo anual de 8.6 litros de álcool, se considerada toda a população. Ao considerarmos apenas a parte da população que consome álcool (75% dos homens e 53% das mulheres acima de 15 anos), esse valor sobe para 12.1 litros por ano (estimativas da OMS). Apesar de seu potencial deletério e de o álcool ser a única droga cuja síndrome de abstinência em usuários pesados pode levar à morte (McKim,

2006), seu consumo é bastante aceito. O álcool ainda é considerado por muitos como uma “droga leve” ou nem como droga é visto.

A forma pela qual o álcool atua no Sistema Nervoso Central é bastante complexa e ainda não totalmente conhecida. Sabe-se, porém, que não existe um sítio específico de atuação. As moléculas de etanol atuam em diversos sítios do SNC e de diferentes maneiras, podendo ligar-se a sítios específicos em diferentes receptores e modular o seu funcionamento, ou entrar nos canais de íons dos receptores e bloqueá-los. Uma de suas ações conhecidas é sobre os receptores de glutamato do tipo NMDA. Esses receptores são canais iônicos que, quando abertos, permitem a entrada de cátions levando à despolarização da célula e, portanto, a um potencial elétrico excitatório. O álcool bloqueia esses canais, impedindo sua abertura, o que leva a uma diminuição da transmissão glutamatérgica excitatória. Os receptores NMDA estão ligados aos processos de aprendizagem e seu bloqueio parece estar ligado aos chamados *blackouts* alcoólicos. O aumento da sensibilidade aos efeitos excitatórios do glutamato que ocorre como adaptação ao uso contínuo do etanol pode ser responsável pelos efeitos observados na síndrome de abstinência. O etanol também atua sobre receptores de serotonina do tipo 5-HT₃ estimulando-os, o que aumenta sua abertura e a despolarização da célula pós-sináptica. Aparentemente, isso leva a uma liberação de dopamina no núcleo accumbens, que faz parte do chamado circuito do reforço, e por isso relaciona-se aos efeitos reforçadores do etanol. O etanol também atua sobre os receptores de GABA do tipo GABA-a, inibitório, aumentando essa inibição e diminuindo a atividade neuronal, o que se relaciona aos efeitos sedativos e depressores do etanol. Existem evidências de que o álcool também atua sobre o sistema opióide e sobre o funcionamento de enzimas no SNC (McKim, 2006; WHO, 2002).

Ambiente Enriquecido e Álcool

Na literatura sobre a influência da criação de animais em ambientes enriquecidos ou em isolamento sobre consumo de etanol encontram-se resultados muito diversos: aumento de consumo por animais criados em AE, aumento de consumo por animais em isolamento e também dados que não mostram alteração no consumo. Porém, não existe uma padronização dos experimentos, nem quanto ao tipo de ambiente natural, nem quanto aos procedimentos de introdução do etanol. Encontra-se também uma grande variação nas cepas de ratos utilizadas, nas idades de introdução e tempos de permanência nos diferentes ambientes, além de diferentes tempos de exposição e

dosagens de etanol. A maior congruência dos diversos estudos é o uso do modelo de escolha de duas garrafas, um contendo etanol e a outra contendo água ou alguma outra solução. Dada a vasta literatura a respeito, selecionamos alguns experimentos representativos da questão colocada pelo problema em foco: comportamento em relação ao etanol em função do ambiente de criação.

Durante o final da década de 1970 e ao longo dos anos 1980, o psicólogo Gaylord Ellison (1987) conduziu uma série de experimentos sobre o consumo de etanol por animais criados em ambientes seminaturalísticos, equivalentes ao que aqui está sendo chamado de AE. Os estudos de Ellison são muito interessantes, pois, além de medir o consumo de etanol, ele também fez uso de observações etológicas dos comportamentos exibidos pelos animais na colônia. Em todos os seus experimentos, ele utilizou como sujeitos ratos Long-Evans machos privados de alimento e com livre acesso a ET 10% e água.

Num primeiro experimento, Ellison comparou um grupo de animais vivendo em AE a um grupo vivendo em isolamento (I) medindo o consumo dentro do próprio ambiente. No AE havia um sistema de fotocélulas que, ao serem interrompidas quando um rato acessava o bebedouro, acionavam uma câmera que registrava qual dos sujeitos bebia o quê e por quanto tempo. Ellison considerou que essa não era uma medida precisa o suficiente para aferir o consumo individual, mas suficiente para mostrar que as médias de consumo dos grupos AE e I diferiam, sendo que o grupo I apresentava um consumo maior de água e álcool do que o grupo AE.

Ao observar e registrar outros comportamentos e medidas dos animais no AE, Ellison percebeu que eles apresentavam uma maior variabilidade quando comparados com os animais do grupo I, inclusive quanto à frequência de visitas ao bebedouro de ET. A fim de obter uma medida mais precisa dessas diferenças de consumo individuais, ele realizou um novo experimento, no qual os animais continuavam a ser criados nos ambientes distintos - com livre acesso a água e ET 10%. Porém, depois de 7 meses os animais do AE eram retirados de seu ambiente, colocados em caixas individuais e seu consumo de ET e água era medido por 7 dias. Então, foi obtido o resultado inverso: nesses dias foi observado que os animais AE passaram a consumir mais ET do que os ratos do grupo I que haviam permanecido em seu ambiente normal durante o período. Mas Ellison também observou que havia diferenças importantes no padrão de consumo dentro do grupo dos ratos da colônia: alguns bebiam muito e quase que exclusivamente

ET, outros bebiam muito pouco ET ou até apenas água. Isso não ocorria com os animais do grupo I, que apresentavam menor variação e bebiam bastante água também.

Ellison, então, correlacionou essas diferenças com as outras medidas comportamentais observadas e percebeu uma correlação com o status social do animal na colônia: os animais com status mais alto, maior dominância, consumiam muito pouco ET, enquanto os grandes bebedores eram aqueles que tinham o status mais baixo dentro da colônia. Num terceiro experimento, ele observou mais cuidadosamente esses dois subgrupos dentro do AE, os grandes bebedores e os abstêmios, e notou que os grandes bebedores consumiam também bastante ET no que seria equivalente ao período da manhã para os humanos, enquanto os outros animais não o faziam. Esses ratos também apresentavam um menor consumo de comida e eram menos ativos. Além disso, apresentavam menos comportamentos violentos e um aumento na frequência do *grooming* social quando comparados aos animais que consumiam pouco ou nenhum ET. Ellison propôs que esses grandes bebedores que aparecem dentro do AE representam um modelo do alcoolismo em humanos, e que várias de suas diferenças são comparáveis às observadas em dependentes de álcool.

É importante notar, entretanto, que esse resultado foi obtido após uma mudança radical de ambiente para os ratos criados em AE. Eles foram retirados de seu ambiente, separados de seus companheiros e privados de seus brinquedos, enquanto os ratos criados isolados permaneceram na mesma condição. Esse isolamento, essa mudança radical de ambiente no período do teste, pode ter interferido no resultado. Essa variável, não considerada por Ellison, pode ter influenciado no consumo da droga, levando à diferença encontrada.

Um grupo de psicólogos canadenses chefiado por Gary Rockman também realizou diversos experimentos relacionando enriquecimento ambiental e consumo de ET (Rockman & Gibson, 1992; Rockman, Gibson, & Benarroch, 1989; Rockman, Hall, Markert, & Glavin, 1988). Esses pesquisadores criaram ratos Sprague-Dawley a partir dos 21 dias de idade em grupos de 25 machos e 5 fêmeas (números não relatados e deduzidos pela densidade populacional e tamanho do ambiente descritos no artigo), que eram trocadas por novas fêmeas a cada 18 dias para evitar o nascimento de ninhadas na colônia. O ambiente continha duas rodas de exercício, canos de metal de diversos comprimentos, tubos de plexiglass e uma plataforma de metal com escada de metal, objetos esses que eram rearranjados periodicamente. Os animais tinham acesso

constante a comida e água. Outro grupo de ratos machos Sprague-Dawley foi criado em isolamento, também com comida e água *ad lib*.

Após 90 dias, os animais de cada grupo foram subdivididos em dois grupos. Metade dos machos da colônia foi isolada e mantida assim pelo resto do experimento. A outra metade passou a ser isolada durante 16 horas do dia para a mensuração do consumo de ET, sendo recolocada na colônia nas 8 horas restantes. Metade dos animais criados em isolamento era mantida em suas caixas habituais, enquanto a outra metade permanecia nesse arranjo durante as 16 horas em que o álcool estava disponível e nas outras 8 horas do dia era colocada na colônia. Durante 32 dias, todos os animais tinham acesso ao ET por essas 16 horas a cada dia em caixas isoladas durante o período da noite e comida e água *ad lib*. Assim, foram estabelecidos quatro grupos, que foram denominados, respectivamente, enriquecido, enriquecido/isolado, isolado e isolado/enriquecido. Os autores relatam que 6 dos animais morreram ou foram sacrificados por doença durante o experimento, porém não relatam em que fase isso ocorreu ou de que grupo faziam parte. No entanto, a configuração final de sujeitos em cada grupo foi a seguinte: enriquecido, n=9; enriquecido/isolado, n=10; isolado, n=9; isolado/enriquecido, n=6. Esse número de sujeitos totalizaria 40 sujeitos iniciando o experimento, com 15% de mortalidade em animais com menos de 5 meses de idade.

Foram testadas várias concentrações de ET (3, 5, 7 e 9 %), mas Rockman encontrou diferenças significativas apenas entre o grupo enriquecido/isolado e o grupo isolado/enriquecido na concentração de 5%. Verificou também que os animais do grupo enriquecido apenas consumiam significativamente mais ET do que todos os outros grupos na concentração de 9%. A partir disso, Rockman e seus colegas afirmam que animais criados em ambiente enriquecido consomem mais ET do que animais criados em isolamento, e que isso não se deve ao período em que os animais são retirados da colônia para a medida desse consumo.

Em primeiro lugar, o ambiente de colônia usado pelo grupo não segue as especificações para ser considerado tal como definido neste texto um AE. Para isso seriam necessários objetos manipuláveis de diversos tamanhos, formas e materiais, rearranjados e trocados regularmente (Fernandez-Teruel et al., 2002). Além disso, um AE deve contar com espaços para que os animais exibam seus comportamentos naturais. É preciso haver áreas para a criação de ninhos, esconderijos e áreas separadas para que os animais possam fugir de brigas. Preferencialmente, a comida deve ser escondida dentro do ambiente, para que os ratos tenham a oportunidade de forragear,

procurar e esconder as pelotas de ração (Baumans, 2005; Hutchinson, Avery, & Vandewoude, 2005). Nada disso existia no ambiente utilizado por Rockman e colegas.

Ellison (1987) relata que a introdução de fêmeas nesse ambiente espacialmente restrito, em vez de ser um fator de enriquecimento, aumenta muito a agressividade dos animais, levando a lutas, ferimentos e mortes entre eles. Ratos são animais sociais que vivem em grupos hierarquicamente organizados, e essa hierarquia leva tempo para ser estabelecida. A introdução de sujeitos estranhos é bastante perturbadora, tanto que a introdução de um sujeito novo é usada como um estímulo aversivo no modelo de estresse moderado e crônico (CMS- Cronic Mild Stress) (Willner, 1997). Esses fatores poderiam explicar os 15% de mortalidade encontrados nos sujeitos experimentais de Rockman.

Existem tantas variáveis que os autores não consideraram que se torna impossível afirmar que a criação em ambiente enriquecido leve a um aumento no consumo de ET, muito menos que isso não se deva ao isolamento desses animais por um período tão longo como 16 horas por dia.

De fato, em outro experimento, (Rockman & Gibson, 1992) o mesmo grupo não replicou seus próprios dados. Eles usaram ratos Sprague-Dawley criados na colônia e em isolamento, mas também em um ambiente similar à colônia, porém menor e com 5 sujeitos apenas em cada um, que chamaram de quase-enriquecido. Os grupos foram subdivididos de forma diferente, sendo eles: enriquecido/isolado, isolado, isolado/quase-enriquecido, quase-enriquecido e quase-enriquecido/isolado. Todos os grupos continham 15 sujeitos.

O consumo de ET do grupo quase-enriquecido e do grupo isolado/quase-enriquecido foi medido dentro das colônias e, por isso, cada grupo de 5 animais foi considerado estatisticamente como um único sujeito, sendo o consumo total de ET dividido pelo peso somado de todos os animais naquele grupo. Os animais dos outros grupos, cujo consumo foi medido individualmente, foram selecionados aleatoriamente para compor grupos de 5 sujeitos que, então, foram considerados como um único sujeito. Nesse caso, apenas os animais do grupo isolado/quase-enriquecido apresentaram um consumo significativamente maior do que os outros grupos, que não apresentaram diferenças entre si. Ou seja, apenas os animais que, habituados a viverem sozinhos e apresentados a estranhos durante o período de exposição ao etanol, apresentaram maior consumo de ET. Considerando-se que o período de exposição ao ET foi de apenas 32 dias, que apenas os animais do grupo isolado e do quase-

enriquecido não foram retirados de seus ambientes nesse período e não apresentaram diferenças de consumo entre si, não se pode afirmar de que modo a criação em ambiente enriquecido, ou em outro tipo de ambiente, influencia o consumo de etanol.

Outro experimento (Fernandez-Teruel et al., 2002) usou cepas especialmente selecionadas pelo seu comportamento de fuga no procedimento de “shuttle-box”: RHA/Verh, que apresenta uma aquisição rápida da resposta de fuga/esquiva e RLA/Vehr, com baixa aquisição dessa resposta. O experimento demonstrou um aumento no consumo de ET em ambas as linhas criadas em AE, quando comparadas a animais das mesmas linhagens criados em duplas, e aumento do consumo de sacarina nos animais RLA/Verh. Porém, novamente, o procedimento utilizado foi o de livre escolha entre duas garrafas, uma contendo água e a outra ET 10% ou sacarina. Os animais do AE foram retirados de seu ambiente e alojados em duplas para esses testes. Os autores não descrevem como foram consideradas as medidas de consumo, sendo que havia dois animais por caixa, e apresentam apenas o consumo total dos grupos nos 4 dias de exposição ao etanol.

Em suma, os experimentos que mostram um aumento de consumo pelos animais criados em grupos, duplas ou colônias são aqueles em que estes animais tiveram seu ambiente alterado durante a fase de teste. De fato, pelo menos em primatas, mudanças de ambientes sociais para isolados, e vice-versa, causam alterações importantes no comportamento (Bayne, 2005).

Já um experimento comparando animais adolescentes mantidos em isolamento com animais adolescentes mantidos em duplas não encontrou diferenças de consumo entre esses grupos medido no paradigma de livre escolha entre duas garrafas quando este consumo foi medido no mesmo ambiente de criação (Thorsell, Slawecki, Khoury, Mathe, & Ehlers, 2005).

Outros experimentos demonstraram que ratos criados em grupo e isolados por um período de 24 horas consomem mais ET durante esse período do que quando na colônia, e se comparados a ratos mantidos em grupo. Também foi demonstrado que seus níveis de consumo nesse período são significativamente mais elevados, inclusive, do que os de ratos mantidos sempre em isolamento. Ou seja, a mudança de ambiente pode causar mudanças significativas no consumo de ET em ratos (Wolffgramm, 1990).

Comparando-se o consumo de ET e sacarose por animais criados desde o desmame em duplas com o de animais criados desde o desmame em isolamento, e quando a mensuração do consumo foi feita nas caixas viveiro, foi encontrado um

aumento significativo no consumo de sacarose e de ET em concentração alta (16%) nos animais em isolamento, em ratos Fawn-Hooded e Wistar (Hall, Huang, Fong, Pert, & Linnoila, 1998b). Também foi demonstrado um aumento no consumo de ET por ratos geneticamente selecionados pela sua preferência por etanol em isolamento. Tanto aqueles com alta quanto os com baixa preferência, criados em isolamento, apresentaram aumento no consumo de etanol quando comparados a animais das mesmas cepas criados em duplas (Ehlers et al., 2007). No entanto, o consumo de etanol medido nas gaiolas com duplas foi simplesmente dividido por dois, sem que fossem consideradas as diferenças de peso entre os animais, ou a competição pelo acesso ao bebedouro. Ambos os experimentos usaram o modelo de livre escolha entre duas garrafas, uma contendo solução alcoólica e a outra uma solução alternativa, para medir o consumo de ET.

Finalmente, em outubro de 2007, foi publicado um artigo explorando a questão que usou uma medida tomada em caixas operantes de consumo (Deehan, Cain, & Kiefer, 2007). Ratos Long-Evans foram criados desde os 21 dias de idade em três condições distintas: em isolamento, em duplas e em AE com 10 animais. Os animais foram privados de água aos 90 dias de idade e a modelagem de pressão a barra em caixa operante foi conduzida em sessões de 30 minutos com sacarose a 20% como reforçador. Na caixa operante havia duas barras, sendo uma ativa, cuja pressão dispensava a solução e a outra inativa, apenas registrando as respostas. O procedimento de introdução ao etanol foi o de *fade-in* do ET e *fade-out* da sacarose. O consumo de ET 10% foi medido em esquema de CRF em 5 sessões de 30 minutos, 10 sessões de 60 minutos e mais 5 sessões de 60 minutos em que a barra antes inativa passou a dispensar água. Os resultados mostram que os ratos criados em isolamento responderam significativamente mais a ET do que os animais dos outros grupos nas duas primeiras fases do teste, sem que isso afetasse as respostas na barra inativa. Também apresentaram marcada preferência pelo ET em relação à água, o que não ocorreu nos dois outros grupos.

É necessário notar que nenhum dos experimentos acima fez uso de medidas de consumo de etanol que incluíssem alguma forma de intermitência no reforço, sendo que, quando se observa o fenômeno da dependência em humanos, dificilmente todas as repostas de obtenção ou consumo da droga são reforçadas. Existe uma grande intermitência no reforço e apenas algumas das respostas são reforçadas. Trata-se de esquemas de reforço não-contínuo. Dado que o esquema de reforço altera o padrão e a frequência de reposta (Ferster & Skinner, 1957), esse é mais um fator que deve ser

levado em consideração ao tentar-se modelar em laboratório a dependência (Hartnoll, 1991).

A criação em isolamento social, quando comparada com a criação em grupo, afeta a preferência de ratos por diferentes dosagens de ET: animais criados em isolamento apresentam preferência significativamente mais alta por soluções com maior concentração de ET (Schenk, Gorman, & Amit, 1990; Wolffgramm, 1990). Seus padrões de consumo: os isolados consumiam grandes doses em pouco tempo, várias vezes durante o período escuro, enquanto que os animais agrupados consumiam doses pequenas de modo mais distribuído ao longo do dia (Wolffgramm, 1990).

Seres humanos são animais sociais e desenvolvem-se num ambiente mutável, com diversas oportunidades de exibirem comportamentos e uma gama de diferentes reforçadores disponíveis, inclusive drogas. Dentre as drogas, entre os diversos reforçadores disponíveis, existe o álcool, ao qual o acesso é especialmente fácil em nossa sociedade. Um modelo experimental que mimetize melhor a condição humana é importante para que se possa compreender a dependência do álcool.

Delineamento Experimental

Um primeiro passo nessa direção é compreender como ratos, também animais sociais, que se desenvolvam em um ambiente complexo, com diferentes reforçadores disponíveis, comportam-se em relação ao álcool quando comparados ao modelo experimental mais comumente utilizado, isto é, o de ratos isolados.

No presente estudo compararam-se ratos Wistar albinos, uma cepa mista bastante utilizada em pesquisas, criados em AE ou em isolamento. Dado que existe na literatura variação e discussão a respeito da idade de introdução ao AE e do tempo de tratamento suficientes para causar alterações (Schenk et al., 1990), e que a formação e desenvolvimento de hierarquia dentro de um grupo social demandam tempo, no presente estudo optou-se pela criação dos animais nos diferentes ambientes desde logo após o desmame. O AE foi construído de forma a permitir que os animais desempenhassem comportamentos naturais da espécie importantes na manutenção de sua homeostase, como esconderijos, material para a construção de ninhos, objetos variados para a manipulação, objetos imóveis que possibilitassem movimentos diversos e objetos que pudessem ser roídos e usados para o desgaste dos dentes. A comida era escondida em locais diversos dentro do ambiente para possibilitar forrageamento (Baumans, 2005; Hutchinson et al., 2005). O ambiente de isolamento tratava-se do

ambiente padrão de laboratório, que segue as orientações do Guia de Uso e Cuidado de Animais de Laboratório para roedores (ILAR, 1997).

Auto-administração

Foi utilizado um modelo de auto-administração oral da droga, por mimetizar com maior fidedignidade a forma como o álcool é consumido como droga de abuso por seres humanos (Meisch, 2001). Devido às diferenças observadas entre os diversos tipos de criação na preferência por concentrações altas e baixas de ET, optou-se por uma dosagem média, 10%. Ratos são animais noturnos e seu período de maior atividade coincide com o final do período claro, início do período escuro. Por esse motivo, tal horário foi escolhido para as sessões de consumo de ET e a alimentação era fornecida logo após as sessões (Baumans, 2005). Para que a mudança de ambiente fosse controlada, os animais permaneceram em seus respectivos ambientes durante toda a duração dos experimentos, sendo deles retirados apenas para a pesagem e a duração das sessões experimentais, quando todos os animais eram colocados sozinhos em caixas operantes. No primeiro experimento, decidiu-se por uma medida de consumo operante que incluísse intermitência, Razão Fixa 2 (FR2), por aproximar-se mais do esquema de consumo humano (Hartnoll, 1991). Além disso, o uso de um procedimento operante é importante, por possibilitar maior precisão das medidas de consumo individual, mesmo nos animais criados em grupo.

O uso do procedimento de fade-in de ET/fade-out de sacarose para a introdução do ET tem por objetivo evitar a aversão natural que os animais apresentam ao sabor do ET. Fazendo com que os animais consumam quantidade suficiente da solução afim de que obtenham doses ativas e associem o sabor do etanol, inicialmente aversivo, a seus efeitos, sem que ocorra a condição possivelmente aversiva de consumo forçado. Tem sido demonstrado que esse procedimento é eficiente em estabelecer comportamento operante em relação ao ET, mesmo em animais não privados de comida ou água, e que leva a taxas de respostas elevadas (Samson, Pfeffer, & Tolliver, 1988). Pelo mesmo motivo, foi usado um agente de sabor, no caso, a sacarina, um adoçante não calórico, para tornar a solução alcoólica mais palatável.

Razão Progressiva

O procedimento de Razão Progressiva é um dos procedimentos mais usados para avaliar a eficácia de drogas como reforçadores (Goudie, 1991). Nesse procedimento, animais previamente treinados a receber droga contingente a uma resposta são submetidos a um aumento progressivo do número de respostas exigidas para o reforço, até o momento em que param de responder por um período arbitrariamente definido. Esse ponto é chamado de Ponto de Ruptura (*BP-Breaking Point*) e é usado como índice da eficácia da droga como reforçador nas condições estabelecidas pelo experimento (BP's variam não apenas em função do reforçador usado, mas também em função de privação, experiência anterior com a droga, tipo de esquema usado no treino, esquema de aumento de exigência utilizado, gênero e cepa utilizados etc. (para revisão ver Stafford, LeSage, & Glowa, 1998). O BP pode ser usado como índice do valor reforçador da droga, diferentemente do simples consumo (Richardson & Roberts, 1996), e também pode ser usado para comparar o valor reforçador de drogas diferentes. Porém, por ser influenciado por outros fatores, não deve ser usado um único procedimento para tal (Stafford et al., 1998). Por este motivo, no presente estudo foram tomadas duas medidas de BP: uma para a solução de ET adoçada com sacarina e outra para solução contendo apenas sacarina. O procedimento de RP é sensível a diferentes tratamentos pré-drogas e, ao mesmo tempo, não é influenciado por fatores que afetam o consumo (Richardson & Roberts, 1996), refletindo diferentes aspectos envolvidos no reforço.

Ansiedade

Situações de estresse e ansiedade são um fator importante no abuso de bebidas alcoólicas, assim como no desencadeamento de transtornos psiquiátricos (Vaillant & Milofsky, 1982). O uso do álcool pode mesmo ser visto em certos casos como uma automedicação, por seus efeitos antidepressivos e ansiolíticos (Markou, Kosten, & Koob, 1998; Steele & Josephs, 1990). Do ponto de vista comportamental, a contingência aversiva altera o valor reforçador de agentes ansiolíticos como o ET. Por exemplo, animais mais sensíveis a estimulação aversiva tendem a consumir mais álcool do que os menos sensíveis (Kamrov-Polevoy et al., 1996). Diferentes formas de estimulação aversiva estão associadas ao consumo de drogas, como ameaça, choques intermitentes, isolamento social, separação materna, restrição de comida etc. (Lu, Shepard, Scott Hall, & Shaham, 2003). Especialmente, o estresse moderado e de longo prazo encontra-se relacionado ao consumo de álcool (DeTurck & Pohorecky, 1987;

Pohorecky, 1987; Weinberg, Taylor, & Gianoulakis, 1996). A ansiedade foi definida por Skinner como o termo que descreve as reações emocionais e respostas do sistema autônomo usualmente encontradas em situações da apresentação de estímulos que no passado precederam estímulos aversivos (Silva, 1997).

Torna-se interessante, assim, saber se a criação em diferentes ambientes proposta no presente trabalho alteraria os níveis de ansiedade dos animais e se esses níveis poderiam estar associados ao aumento de consumo de ET encontrado em alguns trabalhos com ratos criados em isolamento. Por este motivo, foi usado nesse trabalho um modelo de ansiedade incondicionada, o Labirinto em Cruz Elevado.

Trata-se de um modelo rápido e fácil, por não exigir treinamento ou privação, cujo equipamento necessário é barato, confiável e bastante usado na literatura. Tem validade teórica, sendo sensível a procedimentos aversivos anteriores, e é capaz de selecionar ratos ansiosos de não ansiosos, que depois se diferenciarão em termos de consumo de ET (Silva, 1997; Spanagel et al., 1995). Além disso, é um modelo ecológico, valendo-se da aversão natural dos ratos a espaços abertos e altos (Rodgers & Cole, 1993). Nesse modelo, o número de entradas, e tempo dispendido nos braços abertos do labirinto são considerados como sendo inversamente proporcionais ao nível de ansiedade do animal: animais mais ansiosos exploram menos as áreas do labirinto onde estariam mais expostos a riscos. No entanto esse modelo é bastante sensível a mudanças na atividade motora (Silva, 1997), e, como têm sido relatadas alterações de atividade motora de animais criados em isolamento, torna-se necessária uma medida de controle da atividade. No presente estudo, para tanto, foi usada uma caixa de atividade. Um fator importante nesse modelo de ansiedade do labirinto em cruz elevado é a novidade do ambiente. Assim, uma desvantagem é que não se pode tomar medidas repetidas ou estabelecer uma linha de base (Silva, 1997). Trata-se de uma medida única, e, por isso, foi tomada em apenas uma sessão. Já no caso da medida de atividade é justamente o oposto: a medida estaria contaminada por exploração caso não houvesse um período de habituação ao ambiente. Por isso, no presente estudo os animais foram expostos por dois dias ao ambiente e a medida tomada num terceiro. Na literatura encontram-se exemplos de que a criação em isolamento pode alterar (Da Silva, Ramos, & Takahashi, 2004) ou não (Rodgers & Cole, 1993) o comportamento dos animais no labirinto em cruz elevado.

Reforço Concorrente

Buscando um aprofundamento maior na questão de como a diferente disponibilidade de reforçadores altera o comportamento em relação ao ET, o presente estudo valeu-se também de um procedimento de escolha, segundo o qual um reforçador alternativo era dispensado concorrentemente ao ET na caixa operante. O modelo concorrente usado baseou-se no desenvolvido pelo psicólogo Gene Heyman na Universidade de Harvard.

Heyman (1999) demonstrou que mudanças na exigência da tarefa afetam diferencialmente a auto-administração de ET quando apresentado concorrentemente ao suplemento calórico maltodextrina (MALTO- Polycose™ da Bayer). A MALTO é um carboidrato de cadeia longa, derivado da hidrólise do amido de milho.

Ratos eram treinados em um esquema concorrente em razão variável (VR) em que a resposta a uma das barras era reforçada com ET e a outra com MALTO. Posteriormente, a exigência de respostas (aumento no esquema de VR) para a MALTO era aumentada, enquanto a para o ET era mantida constante; depois a condição era invertida. Os resultados mostraram que quando a exigência para o ET era aumentada, os animais também aumentavam a taxa de respostas, enquanto que a taxa não mudava quando a exigência pela MALTO era aumentada. Na análise econômica que o autor faz desses dados a exigência de resposta para a obtenção de um reforço pode ser considerada como o preço desse reforço, e a relação entre as alterações relativas no consumo em função do preço são chamadas de elasticidade da demanda. Se a mudança relativa no consumo é menor do que a mudança relativa no preço do produto (no caso de um reforço), ou seja, se com o aumento de exigência o número de respostas aumenta, ou se mantém, mesmo que o consumo diminua, a demanda é chamada de inelástica. Agora, se a mudança relativa no consumo é maior que a mudança relativa do preço, ou seja, se com o aumento de exigência o número de respostas e o consumo diminuem, essa demanda é chamada de elástica. O autor concluiu que o consumo de ET por parte dos ratos era inelástico enquanto que o da MALTO era elástico. Em outras palavras, aumentos no “preço” do ET eram acompanhados de aumentos do número de respostas para obter esse reforçador, de modo a manter o consumo estável, mas quando era o “preço” da MALTO que mudava, os animais não aumentavam a taxa de respostas, o leva a uma diminuição do consumo. Nesse sentido, pode-se afirmar que o ET mostrou maior poder de controle sobre o comportamento do que a MALTO.

O modelo usado por Heyman (1999) é bastante interessante por se tratar de um modelo de escolha, aproximando-se mais da situação na qual ocorre o abuso da droga,

em que o organismo está exposto a diferentes reforçadores. Possibilita também que seja medido como esses reforçadores influenciam de forma diferencial o comportamento. O uso da VR possibilita uma alta taxa de respostas e um controle preciso do animal sobre consumo da droga.

Objetivos

O objetivo deste trabalho é verificar se a disponibilidade de reforçadores no ambiente de criação e/ou concorrentes ao álcool altera o consumo, o valor reforçador e a elasticidade da demanda deste. Para tal utilizou-se razão fixa 2 como uma medida operante de consumo, o esquema de razão progressiva como medida de valor reforçador e, em outro grupo, o modelo concorrente proposto por Heyman (1999) para a elasticidade da demanda.

E, já que o uso e a dependência do álcool em humanos são freqüentemente associados aos seus efeitos ansiolíticos, ou seja, aos níveis de ansiedade dos sujeitos, tomou-se uma medida de ansiedade incondicionada no modelo do labirinto em cruz elevado. Foi tomada também uma medida de atividade motora em campo aberto como controle para as medidas de ansiedade, pois os modelos utilizados podem sofrer interferência da atividade motora.

Método

Experimento 1

Sujeitos

Foram utilizados 20 ratos albinos Wistar, machos, provenientes do biotério do Instituto Butantan, obtidos com 23 dias de idade. Os animais permaneceram no biotério do Departamento de Psicologia Experimental, o qual dispõe de controle de temperatura ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$) e de iluminação claro-escuro (liga as 6:00, desliga as 18:00). Receberam ração balanceada e água *ad lib* por 40 dias, quando foi iniciada a privação de comida. Durante a restrição alimentar os animais tinham acesso a aproximadamente uma hora de comida por dia, suficiente para mantê-los em aproximadamente 90% do seu peso *ad lib*. Aproximadamente uma vez por semana os animais recebiam 20 a 30 g de comida por indivíduo, que era escondida dentro do ambiente, para que os ratos forrageassem. Após 30 dias de procedimento o experimento foi interrompido e a privação foi retirada por 10 dias. O peso dos animais foi medido para o estabelecimento de uma nova linha de base, acompanhando-se assim o crescimento dos animais. Ao final do experimento com ET a privação foi suspensa para os testes no *labirinto em cruz elevado* e de atividade.

Equipamento

Ambiente

O AE seguiu o modelo proposto por Fernandez-Teruel e outros (2002). Os animais do grupo AE (n=10) foram criados em um viveiro de arame, com dimensões de 100x50x50cm. O ambiente continha vários objetos diferentes que eram rearranjados e trocados regularmente. Os objetos eram: bolas e brinquedos de plástico, escadas de madeira e de metal, pedaços de madeira, esconderijos de plástico e de cerâmica, objetos metálicos, correntes, cordas penduradas, amarradas e nós de corda soltos e pendurados, vasilhas de cerâmica, garrafas PET de tamanhos diversos, caixas de papelão, pedaços de papel e duas plataformas de metal elevadas a alturas diferentes. O chão era coberto com maravalha, trocada 3 vezes por semana.

Os animais do grupo I (N= 10) foram criados em caixas individuais padrão em polietileno, de 25x40x20cm, forradas com maravalha, trocada 3 vezes por semana.

Caixas de condicionamento operante

Foram utilizadas caixas experimentais de fabricação *Med-Associates*, de dimensões 30x25x21 cm, com controle por microcomputador IBM-PC, por meio de interface e programas *Med-Associates*. Cada caixa tinha uma barra, localizada centralmente numa das paredes, a 8 cm do chão. Sob a barra estava localizado um bebedouro, a 2 cm do piso. Localizada 7 cm acima da barra havia uma luz estímulo, que acendia sinalizando a disponibilidade do reforço. Na parede oposta uma luz ficava acesa durante toda a sessão experimental (*house light*). Cada caixa tinha um exaustor que fornecia circulação de ar e ruído branco, e era isolada acusticamente. Uma microcâmera permitia a observação do comportamento do sujeito de outra sala, minimizando a necessidade de interferência.

Labirinto em cruz elevado

Foi utilizado um labirinto em cruz elevado padrão, em madeira, consistindo de dois braços fechados opostos de 50x10x40 cm, dois braços abertos opostos de 50x10 cm, ligados a um espaço central de 10x10 cm. Os braços abertos eram cercados por um centímetro de polietileno transparente, a fim de evitar quedas. O aparelho era elevado a 50 cm do solo, e iluminado apenas por uma lâmpada fraca (15W) localizada 90 cm acima da área central.

Caixa de atividade

O teste de atividade foi conduzido em uma Caixa de Atividade (ENV-515 Med-Associates) de policarbonato acrílico transparente, de medidas 42,5x42,5x30,5 cm. Para medir a atividade motora foram utilizadas fotocélulas infravermelhas (16x16x16), colocadas a cada 2,5 cm. O controle das sessões experimentais e o registro dos dados foram feitos por computador conectado à interface da caixa.

Procedimento

Após três dias de habituação ao biotério os animais então com 26 dias de idade foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: 10 sujeitos foram criados no AE enquanto outros 10 sujeitos foram criados em I. Durante 40 dias receberam comida e água *ad lib*, e então foi iniciada a privação. Por toda a duração do experimento os animais foram mantidos nas suas respectivas condições ambientais. As sessões eram realizadas no final da tarde, início do período escuro, e os animais eram alimentados imediatamente após o final da sessão experimental, horário em que estão mais ativos e em que na natureza exibiriam comportamentos de busca de alimentos (Baumans, 2005).

Os animais passaram sucessivamente por três fases experimentais:

a) Comportamento operante: FR2 (1) e Razão Progressiva (2)

Os animais foram treinados a pressionar uma barra aos 68 dias de idade em um esquema de CRF, recebendo como reforçador uma solução de sacarose a 10%. Posteriormente essa solução foi substituída gradualmente por uma de ET adoçado, evitando assim a aversão à solução. As sessões eram sempre realizadas no final de período vespertino, próximas ao início do período escuro.

(1) Aos 79 dias de idade foram expostos pela primeira vez ao ET. A passagem da sacarose ao ET seguiu a seguinte programação em esquema de razão fixa 2 (FR2): 3 sessões com solução de sacarose a 10%; 3 sessões com solução de sacarose a 10% + ET a 2%; 3 sessões com sacarose 10% + ET 5%; 4 sessões com sacarose 5% + ET 5%; 5 sessões com sacarose 5% + ET 10%; 8 sessões com ET 10% adoçado com sacarina 0,25%. As sessões em FR2 duravam 30 min.

(2) Atingida essa última etapa, os animais foram colocados em esquema de RP: Os sujeitos foram submetidos a um esquema operante de RP, em que a proporção de respostas exigidas por reforço aumentava gradualmente. Nesse procedimento o animal acompanha o aumento de exigência do esquema aumentando sua taxa de resposta, até um ponto em que pára de responder por um período arbitrariamente definido. Essa razão é chamada “ponto de ruptura” (*Breaking point* -BP¹).

A progressão utilizada foi definida pela fórmula de Richardson e Roberts (1996), que resulta nos valores: 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 32, 40, 50, As sessões tinham 60

¹ Decidiu-se pela utilização da abreviação do termo em inglês (BP) para evitar a semelhança da abreviação em português (PR) com a abreviação do procedimento (RP).

min de duração, sempre no período vespertino, seis dias por semana. Foram realizadas cinco sessões com a solução de ET como reforçador (ET 10% + Sacarina 0,25%) e depois mais 5 sessões com apenas a sacarina 0,25% como reforçador. O BP foi definido como a última razão completada em cada sessão.

b) Labirinto em Cruz Elevado

Aos 10 meses de idade os animais foram testados no labirinto em cruz elevado em uma única sessão. Cada animal foi colocado no espaço central do labirinto, voltado para um dos braços fechados, e observado por 5 min por um pesquisador treinado, posicionado a 1,5 m do centro do labirinto. O pesquisador anotou o tempo de latência, quanto cada animal demorou para entrar com os quatro membros em um dos braços, o tempo despendido e o número de entradas em cada braço. A entrada foi computada apenas quando o animal ultrapassava a linha divisória do braço com os quatro membros. A sessão foi realizada às 14:30.

c) Caixa de atividade

Quinze dias depois iniciou-se o procedimento para medida de atividade. Antes de cada sessão os animais foram mantidos na sala experimental por 15 min. para habituação ao ambiente. Também como procedimento de habituação, evitando que reações ao ambiente novo fossem computadas como medidas de atividade motora, cada animal foi colocado na caixa de atividade por 5 min por dia durante dois dias, por esse motivo também os dados desses dias não foram considerados na análise. No terceiro dia cada animal foi colocado na caixa e teve sua atividade registrada por 5 min. Os parâmetros analisados foram: episódios ambulatórios, quantas vezes o animal andou, interrompendo fotocélulas adjacentes, episódios de auto-limpeza (grooming), quantas vezes o animal parava de andar e se limpava, interrompendo repetidamente a mesma fotocélula, episódios de levantamento vertical, quantas vezes o animal se levanta nas patas traseiras (rearing), interrompendo fotocélulas elevadas, e distância total percorrida na sessão, somando-se a distância percorrida pelo animal em todos os episódios ambulatórios. As sessões foram iniciadas às 14:30 de cada dia.

Análise de dados

A análise de dados foi feita separadamente para cada fase do experimento. Para as medidas operantes foram usadas apenas as medidas com ET 10% + sacarina 0,25% como reforçador para análise dos dados de FR2, e para a análise dos dados de RP foram utilizados apenas os BP's do ultimo dia de teste. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se o teste de comparação de médias: teste-*t* para medidas não repetidas. Foi utilizada a correção de Bonferroni para a análise das medidas em FR2, no Labirinto em Cruz Elevado e de atividade.

Experimento 2

Sujeitos

Foram utilizados 12 ratos albinos Wistar, machos, provenientes do biotério do Instituto Butantan, obtidos com 23 dias de idade. Os animais permaneceram no biotério do Departamento de Psicologia Experimental, o qual dispõe de controle de temperatura ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$) e de iluminação claro-escuro (liga as 6:00, desliga as 18:00). Os animais receberam ração balanceada e água *ad lib* por 100 dias, quando foi iniciada a privação de comida. Durante a restrição alimentar os animais tinham acesso a aproximadamente uma hora de comida por dia, suficiente para mantê-los em aproximadamente 90% do seu peso *ad lib*. Aproximadamente uma vez por semana os animais recebiam 20 a 30 g de comida por indivíduo, que era escondida dentro do ambiente, para que os ratos forrageassem.

Equipamento

Ambiente

O AE seguiu o modelo proposto por Fernandez-Teruel e outros (2002). Os animais do grupo AE ($n=6$) foram criados em um viveiro de arame, com dimensões de 100x50x50cm. O ambiente continha vários objetos diferentes que eram rearranjados e trocados regularmente. Os objetos eram: Bolas e brinquedos de plástico, escadas de metal, pedaços de madeira, esconderijos de plástico e de cerâmica, objetos metálicos, correntes, cordas penduradas, amarradas e nós de corda soltos e pendurados, vasilhas de cerâmica, garrafas PET de tamanhos diversos, caixas de papelão, pedaços de papel, copos plásticos e duas plataformas de cerâmica com diferentes alturas. O chão era coberto com maravalha, trocada 3 vezes por semana.

Os animais do grupo I ($N= 6$) foram criados em caixas individuais padrão em polietileno, de 25x40x20cm, forradas com maravalha, trocada 3 vezes por semana.

Caixas de condicionamento operante

Foram usadas câmaras de condicionamento operante de fabricação *Med Associates*, de dimensões 32x25x21 cm, isoladas acusticamente. Numa das paredes, cada caixa tinha duas barras (à direita e à esquerda da parede) de aproximadamente 5cm de largura, colocadas a 8cm do chão da caixa. Sob cada barra (2cm) ficava localizado um bebedouro. A pressão na barra direita acionava o bebedouro direito e a pressão na barra esquerda acionava o bebedouro esquerdo. Um estímulo luminoso de 1W (luz branca) ficava localizado 7cm acima de cada barra. Uma luz de 2W localizada na parede esquerda, a 18cm do chão, ficava acesa durante toda a sessão experimental (*house light*). Cada caixa tem um exaustor que fornece circulação de ar e ruído branco.

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

Procedimento

Após 2 dias de habituação ao biotério os animais então com 25 dias de idade foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: 6 sujeitos foram criados no AE enquanto outros 6 sujeitos foram criados em I. Durante 100 dias receberam comida e água ad lib, e então foi iniciada a privação. Por toda a duração do experimento os animais foram mantidos nas suas respectivas condições ambientais. As sessões eram realizadas no final da tarde, início do período escuro, e os animais eram alimentados imediatamente após o final da sessão experimental, horário em que os animais estão mais ativos e na natureza exibiriam comportamentos de busca de alimentos (Baumans, 2005). O procedimento foi adaptado de Heyman (1999).

O experimento consistiu em duas fases:

I. Fase Preparatória

1- treinamento:

- a) Modelagem: os ratos foram modelados à pressão a barra usando-se um esquema CRF.
- b) VR5-VR5: Então durante 3 sessões foram colocados num esquema VR5-VR5. Ambos os dispensadores apresentavam uma solução de sacarose (SAC) a 10% como reforçador.

2- introdução do ET:

Inicialmente uma das soluções de SAC foi substituída por água durante 3 sessões.

Mantendo-se um esquema concorrente VR5-VR5 a solução de SAC foi substituída gradualmente por uma de ET adotado, evitando assim a aversão ao ET. A passagem da sacarose ao ET seguiu a seguinte programação: 2 sessões com solução de SAC a 10% ; 4 sessões com solução de SAC10% + ET 0,2%; 3 sessões com solução de SAC a 10% + ET a 2%; 3 sessões com SAC 5% + ET 5%; 3 sessões com SAC 5% + ET 10%; 4 sessões com SAC 2,5% + ET 10%; 8 sessões com ET 10% adotado com sacarina 0,25%. Os reforçadores (água e solução de ET) foram alternados de posição aleatoriamente evitando-se preferência por uma das barras.

3- soluções isocalóricas:

Introdução de alternativa calórica: MALTO foi acrescentada à água gradativamente, segundo a seguinte programação: MALTO 2,5% 3 sessões; 5,0% 3 sessões; 7,5% 3 sessões; 10,2% 4 sessões; 12,5% 3 sessões; e finalmente a 14,8%.

Ao final obteve-se e seguinte situação experimental: os reforçadores ET 10% + sacarina 0,25% x MALTO 14,8% liberados no esquema concorrente VR5 x VR5, sendo que nessas concentrações as soluções de ET e MALTO são isocalóricas. Esse esquema foi mantido por 5 sessões.

II. Fase Experimental

1- aumento da exigência de resposta:

- a) Aumento da exigência para a MALTO: A exigência para a alternativa, na barra que dispensa MALTO foi aumentada a cada cinco sessões, sendo que a exigência de resposta na barra que dispensa a solução de ET foi mantida em VR5. A progressão de aumento de exigência seguiu a seguinte ordem: de VR5 para VR7,5; depois sucessivamente para VR10, VR15, e finalmente VR30.
- b) Volta à linha de base: Retornou-se a exigência da MALTO para VR5 por 4 sessões.
- c) Aumento da exigência para o ET: Manteve-se a exigência de resposta para a MALTO em VR5, enquanto a exigência para obtenção de ET era elevada a cada 4 sessões, primeiro de VR5 para VR7,5; depois VR10, VR15, e finalmente até VR30.

Análise de dados

A primeira análise conduzida foi uma análise exploratória em que foram definidas, para cada fase do experimento, aquelas sessões em que a taxa de repostas de cada rato desviava-se significativamente do padrão de repostas daquele animal naquela fase, sendo considerados como *outliers*, ou seja, que se encontravam fora da faixa onde estavam 95% das repostas do animal. Essas sessões foram excluídas da análise por se tratarem de variações fora do padrão, possivelmente devido a elementos externos ao desenho experimental e não controlados. Todos os outros dados de todas as sessões válidas de todas as fases foram considerados na análise.

Todas as análises referentes à solução de ET foram feitas para a solução de ET 10% adoçada com sacarina 0,25% e todas as análises referentes à MALTO foram conduzidas para a solução de MALTO 14,8%, isocalórica à solução de ET.

Foi usado então o teste-*t* para amostras não pareadas com correção de Bonferroni para analisar o consumo das soluções em VR5, o Modelo Linear Geral (GLM- General Linear Model), que inclui diversos modelos de análise linear como ANOVA, MANCOVA e regressões lineares, para medidas repetidas com o grupo como fator independente, para as análises dos períodos de aumento de exigência. Foi conduzida uma análise posterior usando-se o teste-*t* para amostras pareadas comparando os consumos VR a VR com correção de Bonferroni.

Resultados

Experimento 1

a) Comportamento Operante

1) FR2

Todas as análises referem-se às 8 sessões com solução de ET10% + sacarina 0,25% como reforçador em esquema de FR2.

A média de consumo de ET por animal variou de um mínimo de 0,5g/kg de peso corporal a 4g/kg de peso corporal. Trata-se de uma medida indireta, calculada a partir da taxa de reforço, do número de reforços recebidos numa sessão. A Figura 1 mostra a média \pm EP do número de respostas por dia do procedimento por grupo AE e I **(a)** e a média \pm EP do número de repostas de todas as sessões por grupo AE ou I **(b)**. Na Figura 1a pode-se observar que os grupos tiveram um padrão de consumo semelhante ao longo das sessões, no entanto, o número de respostas do grupo I foi maior em todas as sessões comparado ao grupo AE. O teste *t* para amostras não pareadas, para cada sessão, usando-se a correção de Bonferroni para oito fatores que determina que apenas $p < 0,00625$ corresponde a uma diferença significativa, mostrou que essa diferença não foi significativa para todas as sessões, exceto para o dia 2. A Figura 1b mostra que a média do número de repostas de todos os dias por grupo AE ou I foi significativamente maior para o grupo I comparado ao grupo AE usando-se o teste *t* para amostras não pareadas com correção de Bonferroni para 2 fatores ($t = 2,85$; $p=0,011$).

A Figura 2 mostra o consumo de solução de ET no mesmo período por peso corporal por grupo, como deduzido pela taxa de reforço, pelo número de reforços recebidos por sessão. A Figura 2a mostra média \pm EP do consumo de solução de ET por peso corporal por sessão para os grupos AE e I. A Figura 2b mostra a média \pm EP do total de consumo de ET por peso corporal para todas as 8 sessões por grupo AE ou I. O teste *t* para amostras não pareadas, com correção de Bonferroni para 2 fatores, mostrou que o grupo I consumiu doses significativamente maiores de ET em relação ao grupo AE ($t = 2,84$; $p=0,012$).

A Figura 3 mostra que os grupos AE e I não apresentaram diferença significativa em termos de peso corporal ($t = 1,546$; $p=0,140$).

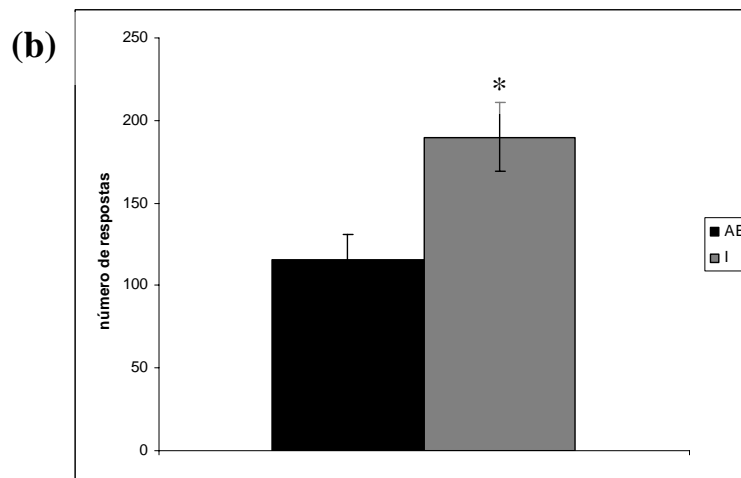
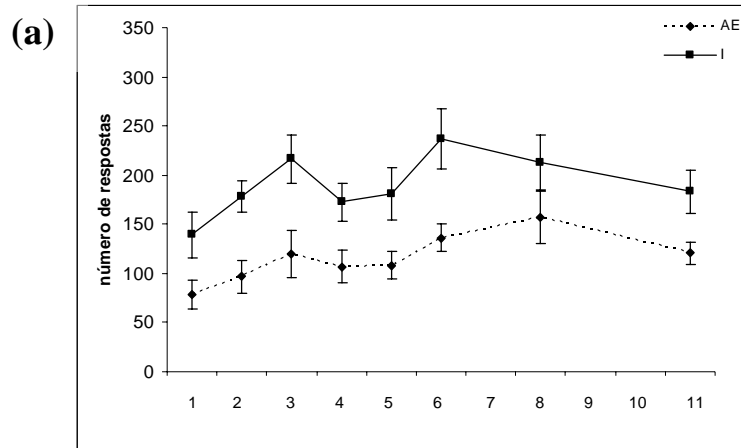


Figura 1: Número de respostas por grupo AE ou I em esquema de FR2. **(a)** Número de respostas \pm EP em cada sessão no esquema de FR2 para os grupos I e AE. **(b)** Média \pm EP total do número de respostas para os grupos AE e I. O grupo I apresenta uma média de respostas significativamente mais alta que o grupo AE, * $p < 0,025$.

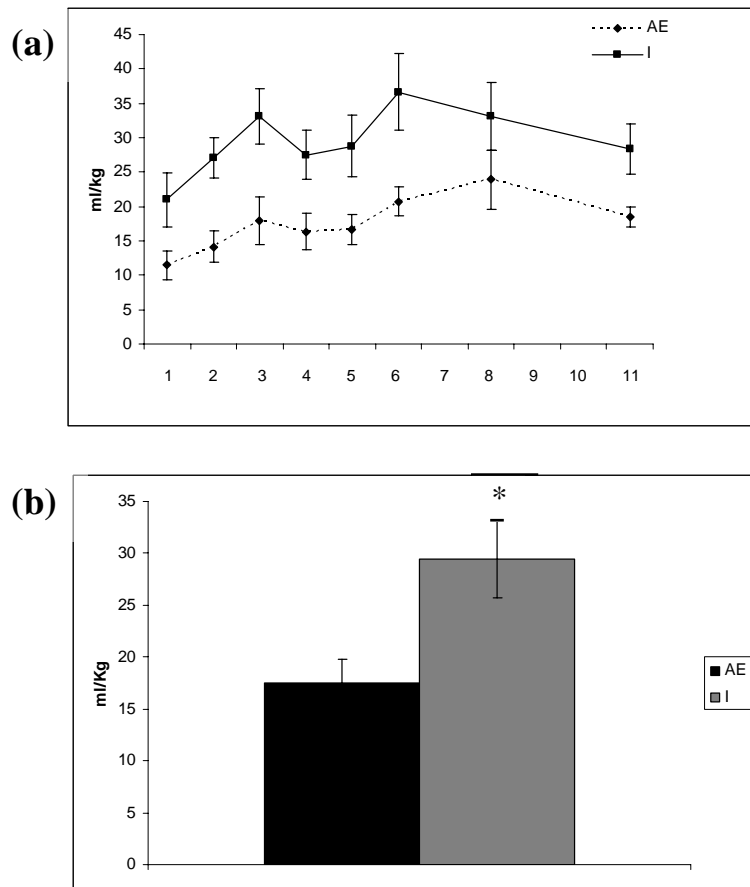


Figura 2: Consumo de solução de ET por peso corporal para os grupos AE e I em esquema de FR2. **(a)** A Figura mostra a média \pm EP de consumo de solução de ET por peso corporal ao longo das sessões em FR2 para os grupos I e AE. **(b)** Apresenta a média \pm EP de consumo de solução de ET nas 8 sessões para os grupos AE e I. Os animais do grupo I consumiram significativamente mais ET por kg de peso corporal se comparados aos do grupo AE, * $p < 0,025$.

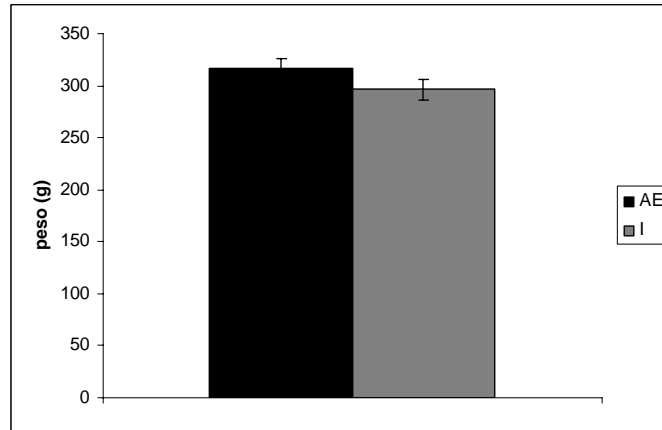


Figura 3: Peso Corporal dos grupos AE e I durante o esquema de FR2. A Figura mostra a média ± EP dos pesos corporais dos animais por grupo I ou AE nessa fase do experimento. Os grupos AE e I não apresentaram diferenças significativas em termos de peso corporal.

2) RP

Todas as análises referem-se ao último dia de RP.

A Figura 4 mostra a média ± EP dos BP's para a solução de ET por grupo AE e I. O grupo I apresentou BP's significativamente mais altos para ET que o grupo AE ($t = 2,559$; $p=0,02$). A Figura 5 das médias ± EP dos BP's para sacarina por grupo AE e I, os grupos não apresentaram diferenças significativas em relação aos BP's para a solução de sacarina ($t = 1,083$; $p=0,293$).

Para a análise apresentada na figura 6 foram tomados os BP's de cada animal com a solução de ET 10% adoçada com sacarina 0,25% e subtraiu-se deles o BP respectivo medido com a solução de sacarina 0,25% como reforçador. Essa diferença entre os BP's indica que os animais do grupo I apresentaram BP's mais altos para a solução contendo etanol do que para a solução apenas de sacarina, o que não ocorreu para o grupo AE. A média ± EP das diferenças entre os BP's é significativamente maior para o grupo I comparado com o grupo AE ($t = 2,275$; $p=0,036$).

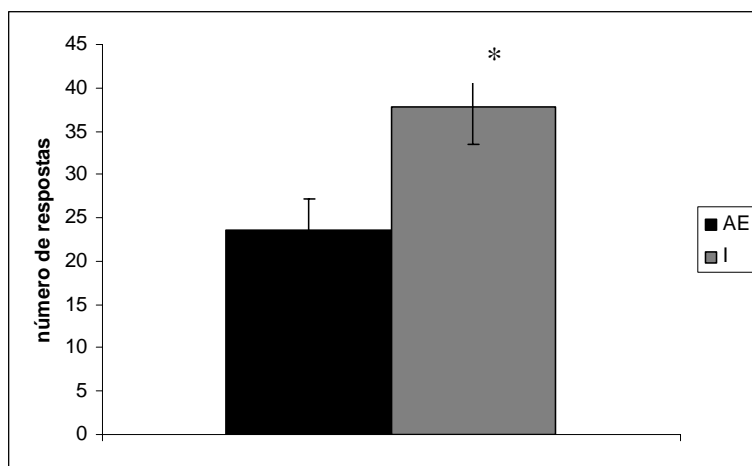


Figura 4: Desempenho em PR com solução de ET10% + sacarina 0,25% como reforçador. A Figura apresenta a média ± EP dos BP's para a solução de ET por grupo AE e I. O grupo I apresentou BP's significativamente mais elevados que o grupo AE, * $p < 0,05$. O tratamento aumentou o valor reforçador da solução de ET para os ratos do grupo I em comparação com os ratos do grupo AE.

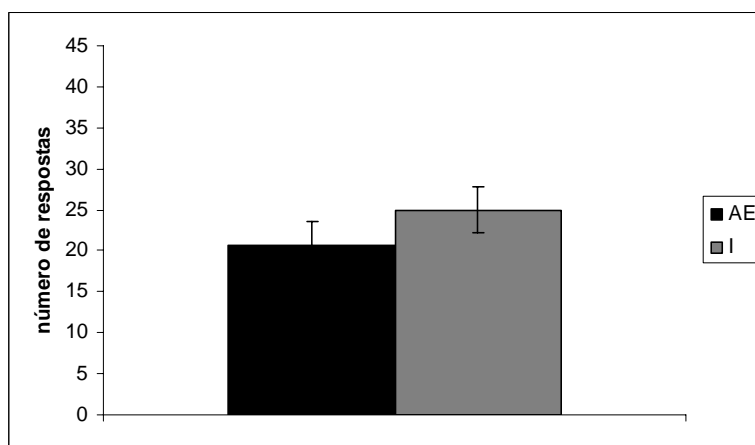


Figura 5: Desempenho em PR com a solução de sacarina 0,25% como reforçador. A Figura mostra a média ± EP dos BP's para a solução de sacarina por grupo AE ou I. Não houve diferença significativa entre os grupos. O tratamento não afetou o valor reforçador da sacarina para os grupos, medido em RP.

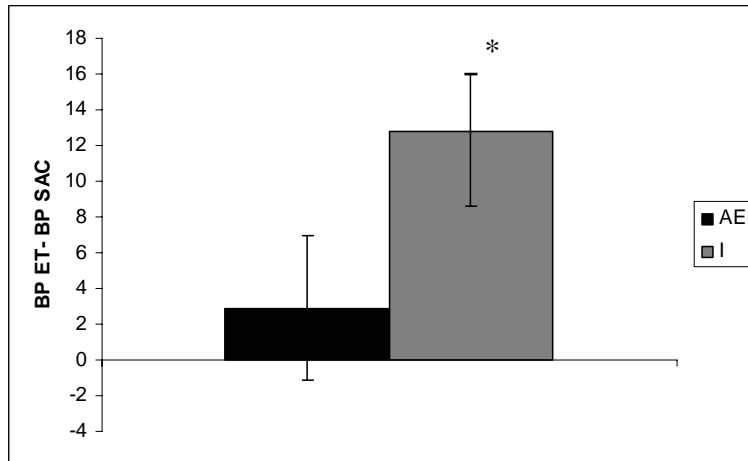


Figura 6: Diferença entre BP's para a solução contendo ET e para a solução de sacarina. A Figura representa a média \pm EP das diferenças entre BP's individuais para solução de ET e BP para solução de sacarina (BP ET- BP sacarina) por grupo I e AE. O grupo I respondeu significativamente mais pelo ET que pela sacarina quando comparado com o grupo AE. A diferença entre o valor reforçados do ET em relação a sacarina foi afetada pelo tratamento, sendo maior para os ratos do grupo I que para os ratos do grupo AE, * $p < 0,05$.

b) Labirinto em Cruz Elevado

Os grupos I e AE não apresentaram diferenças estatisticamente significativas na média \pm EP em qualquer dos comportamentos estudados no labirinto em cruz elevado. Sendo eles: latência inicial para entrar em um dos braços, representada na Figura 7; tempo despendido nos braços abertos, correspondente a Figura 8; tempo despendido nos braços fechados representado na Figura 9; número de entradas nos braços abertos, mostrado na Figura 10; e nos braços fechados, Figura 11; e total do número de entradas nos braços abertos e fechados, apresentado na Figura 12. Foi usado o teste t para amostras não pareadas nesta análise estatística com correção de Bonferroni para 6 fatores que prediz um índice de significância de $p < 0,008$.

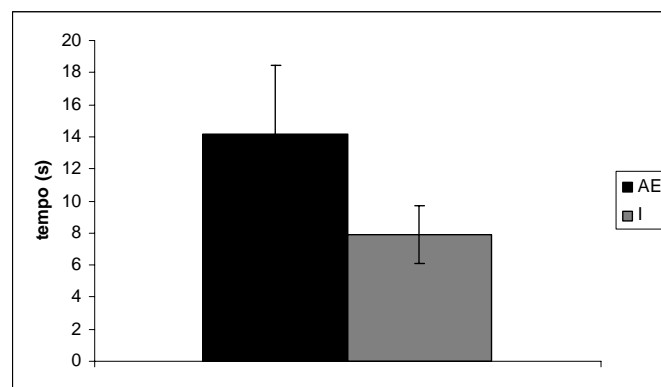


Figura 7: Latência inicial. A Figura apresenta a média \pm EP do tempo de latência para que o animal entrasse em qualquer um dos braços do labirinto por grupos AE e I. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($t = 1,36$; $p=0,191$).

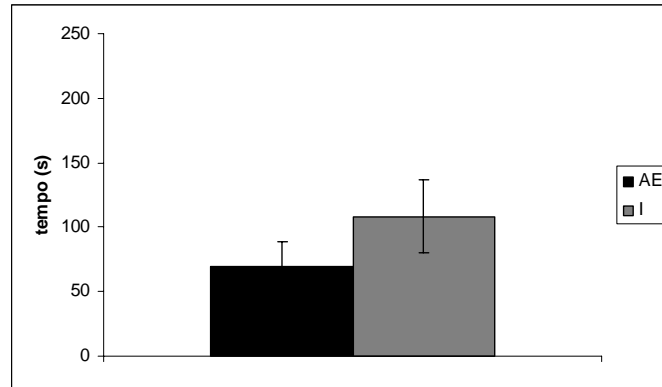


Figura 8: Tempo em braços abertos. Apresenta a média \pm EP do tempo despendido pelos animais nos braços abertos do labirinto em cruz elevado por grupo AE ou I. Não houve diferença significativa entre os grupos ($t = 1,12$; $p=0,279$).

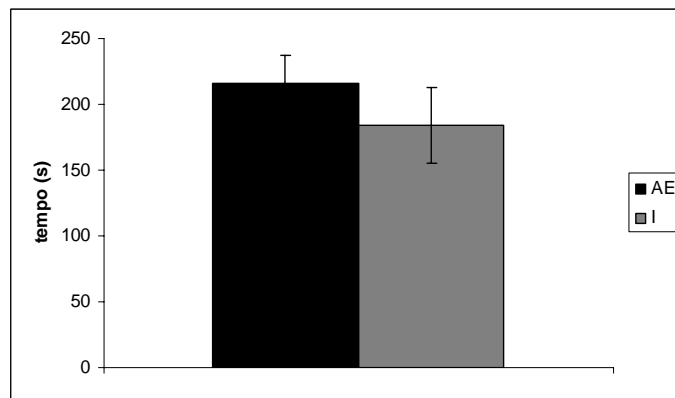


Figura 9: Tempo em braços fechados. Apresenta a média \pm EP do tempo despendido em braços fechados no labirinto em cruz elevado por grupo AE ou I. Não houve diferença significativa entre os grupos ($t = 0,897$; $p=0,383$).

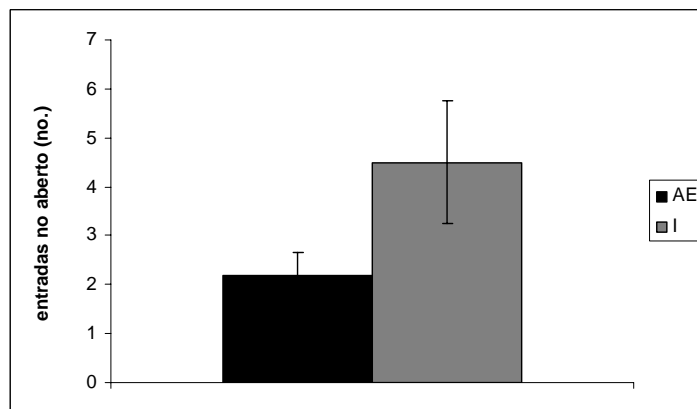


Figura 10: Entradas em braços abertos. Apresenta a média \pm EP do número de entradas em braços abertos do labirinto em cruz elevado por grupo AE ou I. Não houve diferença estatisticamente significativas entre os grupos ($t = 1,714$; $p=0,104$).

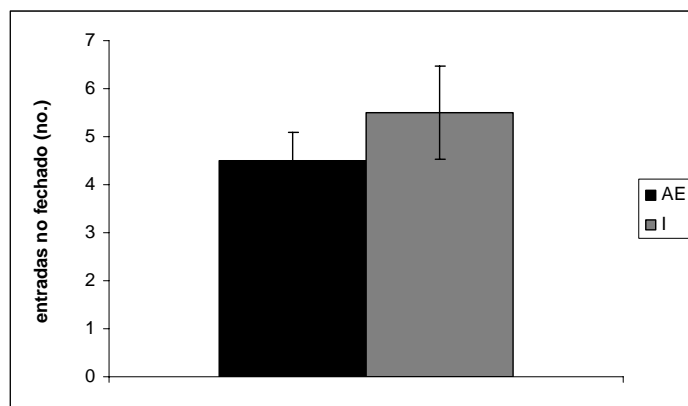


Figura 11: Entradas em braços fechados. Apresenta a média \pm EP do número de entradas em braços fechados do labirinto em cruz elevado por grupo AE ou I. Não houve diferença significativa entre os grupos ($t = 0,87$; $p=0,396$).

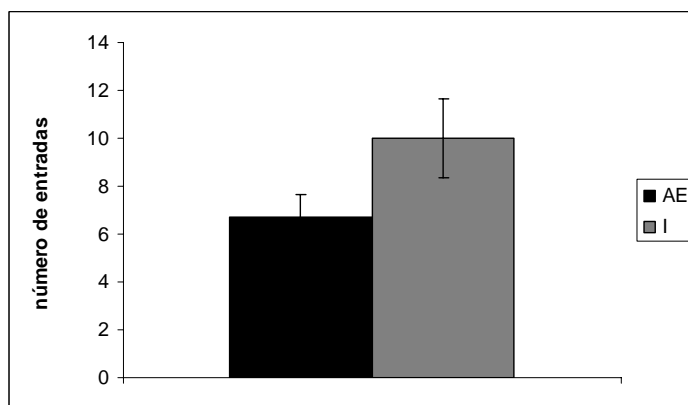


Figura 12: Número total de entradas. Apresenta a média \pm EP do total do número de entradas nos braços do labirinto por grupo AE e I. Não houve diferença significativa entre os grupos ($t = 1,766$; $p=0,099$).

c) Atividade

Os animais do grupo I mostraram-se significativamente mais ativos que os animais do grupo AE usando-se o teste *t* para amostras não pareadas com correção de Bonferroni para cinco fatores, que determina um $p < 0,01$ para que haja significância. Como apresentado na Figura 13, que mostra a média \pm EP do número de episódios de atividade por tipo de atividade por grupo, o grupo I apresentou médias mais altas de episódios ambulatorios ($t = 4,634$; $p = 0,000$), também uma maior média do número de episódios de auto-limpeza ($t = 4,305$; $p = 0,001$), comparado ao grupo AE. Apenas nas médias de levantamento nas patas traseiras a diferença não se mostrou significativa ($t = 2,39$; $p = 0,032$). A média \pm EP da soma desses episódios de atividade, mostrada na Figura 14 também é significativamente mais alta para o grupo I do que para o grupo AE ($t = 4,761$; $p = 0,000$). A média \pm EP da distância percorrida na sessão, apresentada na Figura 15, também foi significativamente mais alta para o grupo I que para o grupo AE ($t = 4,998$; $p = 0,000$).

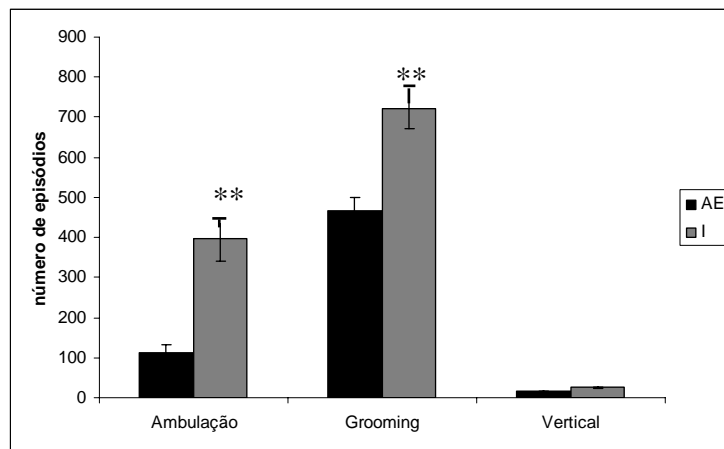


Figura 13: Atividade Motora. Apresenta a média \pm EP do número de episódios de atividade por tipo de atividade por grupo AE e I. O grupo I apresentou significativamente mais episódios de ambulação e de grooming (auto-limpeza), quando comparado ao grupo AE, ** $p < 0,01$.

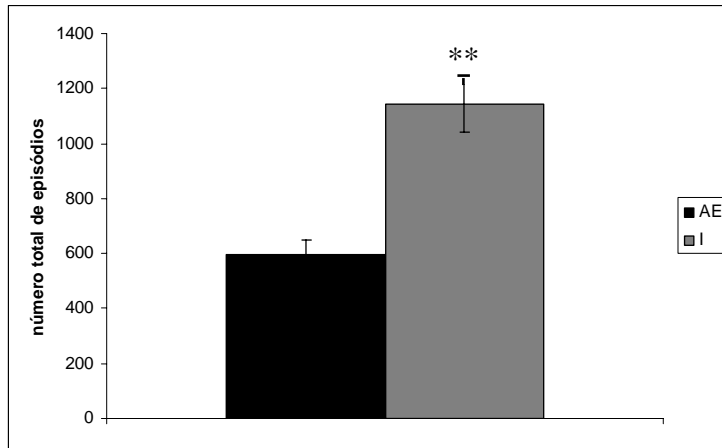


Figura 14: Atividade total. Apresenta a média \pm EP do número total de episódios de atividade (soma dos episódios ambulatorios, de auto-limpeza e de levantamento nas patas traseiras). O grupo I apresentou uma atividade total significativamente mais elevada se comparado ao grupo AE, ** $p < 0,01$.

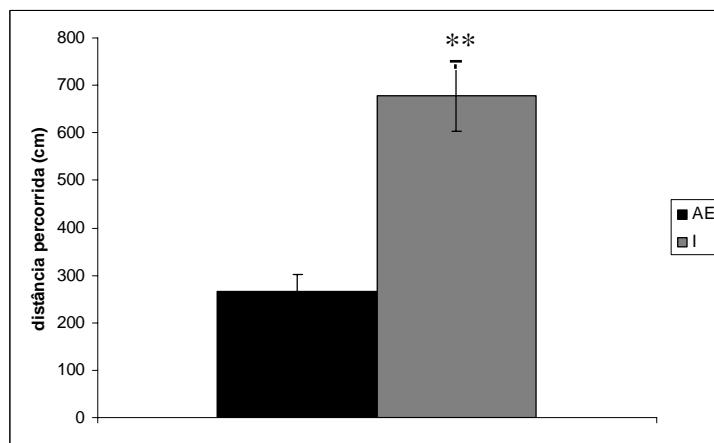


Figura 15: Distância percorrida. Apresenta a média \pm EP da distância percorrida durante a sessão por grupo AE e I. O grupo I percorreu uma distância significativamente maior durante a sessão comparado ao grupo AE, ** $p < 0,01$.

Experimento 2

A análise exploratória dos dados de taxa de respostas determinou que 11 dados de um conjunto de 576 sessões foram considerados *outliers* e por isso todos os dados de cada uma dessas sessões foram excluídos da análise. Esses dados referiam-se particularmente às fases iniciais do experimento, porém, dentro dessas fases estavam distribuídos de modo aleatório, não representando variação dentro de um mesmo dia para diversos ratos, ou para um animal específico em sessões diferentes, não se tratando, portanto de efeitos de dias ou animais específicos.

Todos os animais consumiram doses ativas de ET quando a água era a alternativa, e as médias de consumo variaram de um mínimo de 1,52g de ET por kg de peso do animal a 5g/kg de peso. Quando a alternativa passou a dispensar MALTO 14,8%, um dos animais do grupo I passou a consumir doses muito pequenas de ET, menores que 0,5g/kg de peso, não configurando doses ativas. Quando a exigência de MALTO foi elevada a VR30, ele voltou a consumir dose ativa (média=0,9g/kg). Com a exigência para a solução de ET 10% adoçada com sacarina em VR30, quatro dos animais falharam em consumir doses significativas de ET, sendo dois do grupo I e dois do grupo AE. Os dados desses animais e sessões foram considerados na análise, pois não se configuraram como *outliers* em relação ao grupo ou ao próprio animal.

a) Reforçadores Concorrentes

As Figuras 16 e 17 referem-se à média \pm EP do consumo das diferentes soluções em g/kg por grupo AE ou I no esquema de VR5.

O teste *t* para amostras não pareadas com correção de Bonferroni para 3 fatores ($p < 0,016$) mostrou que o consumo de solução de ET 10% adoçada com sacarina foi significativamente maior para o grupo I, quando comparado ao grupo AE, apenas quando a solução alternativa era água ($t = 3,454$; $p = 0,006$). Com a solução de MALTO 14,8% como alternativa, os grupos não se diferenciam mais nos níveis de consumo da solução de ET, tanto na linha de base A -antes do aumento da exigência para a solução de MALTO ($t = 0,639$; $p = 0,537$), quanto na linha de base B -antes do aumento da exigência para a solução de ET ($t = 0,183$; $p = 0,858$), como mostrado na Figura 16. A introdução de um reforçador diretamente concorrente e isocalórico ao ET altera o valor reforçador do ET para os ratos do grupo I.

A Figura 17 mostra que os ratos do grupo I consumiram significativamente mais MALTO do que os ratos do grupo AE na linha de base A, como mostrado pelo teste t para amostras não pareadas ($t = 2,778$; $p=0,020$) com correção de Bonferroni para dois fatores ($p<0,025$). Na linha de base B essa diferença não foi estatisticamente significativa ($t= 2,313$; $p=0,043$).

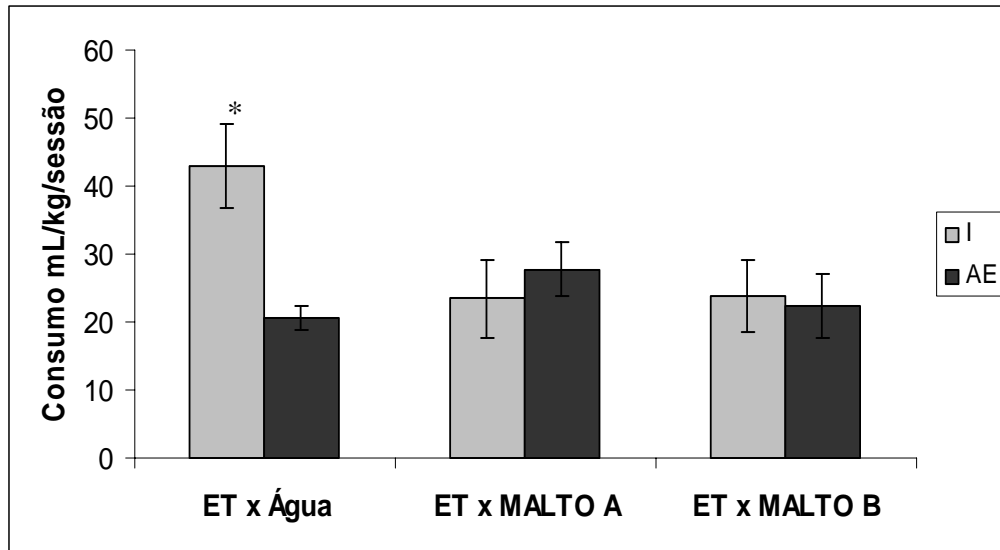


Figura 16: Consumo de ET em VR5. A figura mostra a média \pm EP do consumo em mL/kg por sessão da solução de ET 10% adoçada com sacarina 0,25% por grupo AE ou I, nas três condições de exigência VR5: quando o reforçador alternativo disponível era água (ET x Água), quando o reforçador alternativo era a solução de MALTO, na primeira linha de base (ET x MALTO A) e no retorno à linha de base (ET x MALTO B). A diferença de consumo é significativamente diferente entre os grupos apenas na situação em que a solução de ET é dispensada concorrentemente à água, $*p < 0,016$.

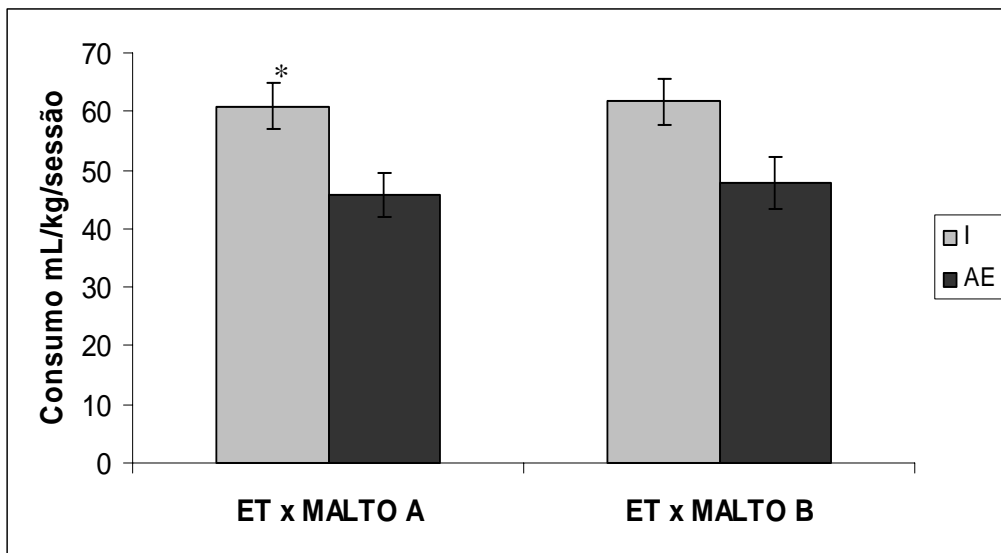


Figura 17: Consumo de MALTO em VR5. A figura mostra a média \pm EP do consumo em mL/kg por sessão da solução de MALTO 14,8% por grupo AE ou I, nas duas condições de exigência em VR5: primeira linha de base (ET x MALTO A) e no retorno à linha de base (ET x MALTO B). A diferença de consumo entre os grupos é significativa apenas para a linha de base A, $*p < 0,025$.

b) Elasticidade da demanda

O GLM (General Linear Model) de medidas repetidas com o grupo como fator independente da porcentagem de repostas pelo ET em função do aumento de exigência para o ET, mostrada na Figura 18, mostra que as repostas na barra que dispensava o ET variavam em função da exigência ($F=80,389$; $p=0,000$). Mostra, também, que essa é uma relação que tem componentes lineares ($F=26,703$; $p=0,000$), quadráticos ($F=7,729$; $p=0,019$) e cúbicos ($F=5,707$; $p=0,038$). A análise demonstra que não há diferença significativa entre os grupos, tanto no cômputo global ($F=1,363$; $p=0,270$), quanto nas funções descritas pelas curvas ($F=4,459$; $p=0,061$).

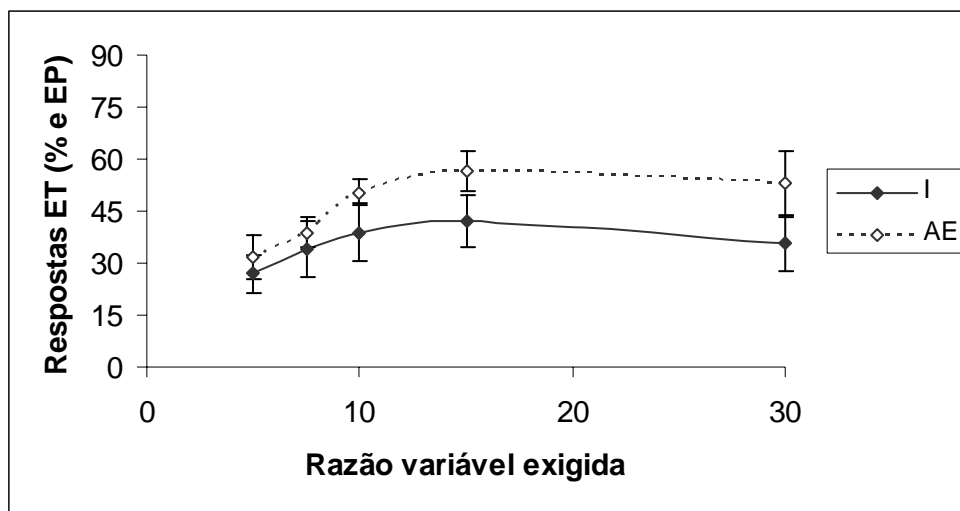


Figura 18: Frequência relativa de repostas pelo ET em função do aumento da exigência para ET. A figura mostra a média \pm EP da porcentagem de repostas na alternativa que dispensava a solução de ET 10% adoçado com sacarina por grupo AE ou I em função do aumento da exigência na barra que dispensava a solução de ET. A frequência relativa de repostas nessa alternativa aumenta em função do aumento de VR. Os grupos não apresentam diferenças estatisticamente significantes.

A Figura 19 apresenta a porcentagem média \pm EP de repostas na alternativa que dispensava a solução de MALTO por grupo AE ou I em função do aumento de exigência nessa alternativa. A análise usando o GLM para medidas repetidas com o fator independente grupo mostra que a porcentagem de repostas na alternativa MALTO varia em função da exigência ($F=388,218$; $p=0,000$), mas que essa relação é tanto do tipo linear ($F=9,438$; $p=0,012$) quanto cúbica ($F=10,231$; $p=0,010$). Não existe diferença

significativa entre os grupos ($F=0,585$; $p=0,462$) no cômputo geral. No entanto, existe uma diferença significativa nas curvas descritas por cada um dos grupos ($F=6,932$; $p=0,025$), em VR5 os animais do grupo AE apresentavam uma porcentagem menor de repostas para MALTO, quando comparados ao grupo I. Na medida em que a exigência para MALTO aumentou, eles aumentaram a porcentagem de repostas nessa alternativa, até se igualarem ao grupo I. Enquanto isso, os animais do grupo I mantiveram-se razoavelmente estáveis, apesar do aumento da exigência, com aproximadamente 75% das repostas na alternativa que dispensava MALTO.

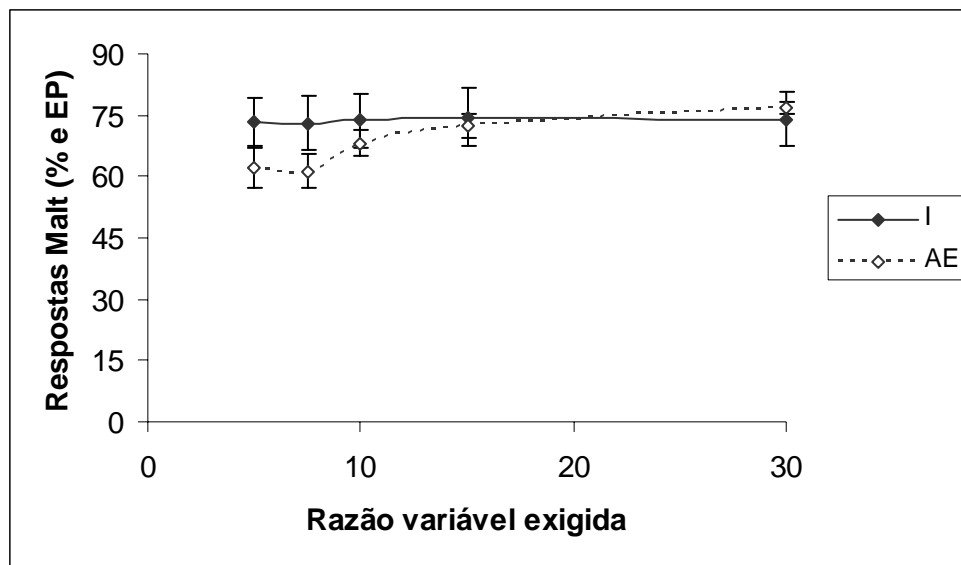


Figura 19: Frequência relativa de repostas por MALTO em função do aumento de exigência para MALTO. A figura apresenta a média \pm EP da porcentagem de repostas na alternativa que dispensava a solução de MALTO 14,8% por grupo AE e I em função do aumento de exigência nessa alternativa. O grupo AE aumenta a sua frequência relativa de repostas nessa alternativa em função do aumento de VR, enquanto a frequência relativa de repostas do grupo I permanece constante.

A Figura 20 mostra a média \pm EP do consumo da solução de ET em ml/kg por sessão por grupo AE e I em função do aumento de exigência para a alternativa que dispensava a solução de ET. O GLM (General Linear Model) de medidas repetidas com o grupo como fator independente mostrou que existe uma relação entre o consumo e o aumento de exigência ($F= 53,268$; $p=0,000$), mas que ela é tanto linear ($F =27,540$; $p=0,000$) quando quadrática ($F=21,616$; $p=0,001$). Ou seja, o consumo varia em função do aumento da exigência, mas essa curva tem tanto elementos lineares quanto

quadráticos. A análise mostrou também que não existe diferença significativa entre os grupos AE e I ($F= 0,005$; $p= 0,946$). Porém, o teste t para amostras pareadas comparando o consumo VR a VR com a correção de Bonferroni para 10 fatores ($p<0,005$) mostra que existe diferença significativa do consumo total de ambos os grupos apenas entre o consumo em VR5 e o consumo em VR30 ($t=5,344$; $p=0,000$). Os consumos em VR7,5, VR10 e VR15 não se diferenciam significativamente do consumo em VR5. Entre o VR5 e o VR 15, a média do consumo de solução de ET diminui apenas em 23%. Isso demonstra que os animais regulam o responder de acordo com o aumento da exigência mantendo o nível de consumo, o que demonstra uma certa inelasticidade da demanda por ET.

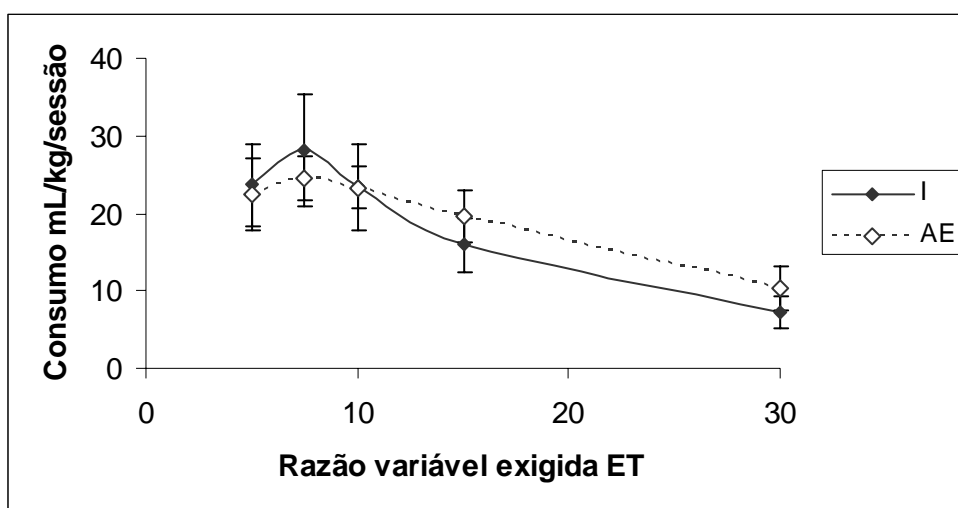


Figura 20: Consumo de ET em função do aumento de exigência para ET. A figura mostra a média \pm EP do consumo em ml/Kg de solução de ET10% adoçado com sacarina 0,25% por sessão por grupo AE e I em função do aumento de exigência na barra que dispensava a solução de ET. Não há diferença significativa entre os grupos. O consumo de ET de ambos os grupos só diminui significativamente em relação ao consumo em VR5 ao atingir-se VR30, mostrando inelasticidade da demanda para a solução de ET.

A Figura 21 mostra a média \pm EP de consumo da solução de MALTO em ml/kg por sessão por grupo AE ou I em função do aumento de exigência para a alternativa que dispensava MALTO. O GLM de medidas repetidas com o grupo como fator independente mostrou que existe uma relação linear entre o consumo de MALTO e o aumento da exigência: quanto maior a exigência, menos MALTO os animais consomem ($F=226,176$; $p=0,000$), e essa relação é altamente linear ($F=141,847$; $p=0,000$).

Não há diferença entre os grupos no cômputo geral ($F=2,532$; $p=0,143$), porém, existe uma diferença significativa nas curvas descritas pelos grupos ($F=8,332$; $p=0,016$). O grupo I apresenta um consumo inicial da solução de MALTO significativamente maior do que o apresentado pelo grupo AE, e seu consumo diminui mais a cada aumento de exigência do que o consumo dos animais do grupo AE diminuía, até que o consumo dos grupos se iguala. O teste- t para amostras pareadas comparando a média do consumo dos dois grupos AE e I VR a VR com a correção de Bonferroni para 10 fatores ($p<0,005$) mostra que existe diferença significativa do consumo total entre todas as exigências no nível de $p<0,002$, ou seja, que a cada mudança de exigência o consumo de MALTO cai significativamente. Entre VR5 e VR15 existe uma queda de 38% no consumo, que chega a 60% de queda do consumo em VR30. Isso mostra que os animais não regulam seu responder de modo a compensar as mudanças na exigência, indicando uma demanda elástica por MALTO. Essa demanda é mais elástica para o grupo I do que para o grupo AE.

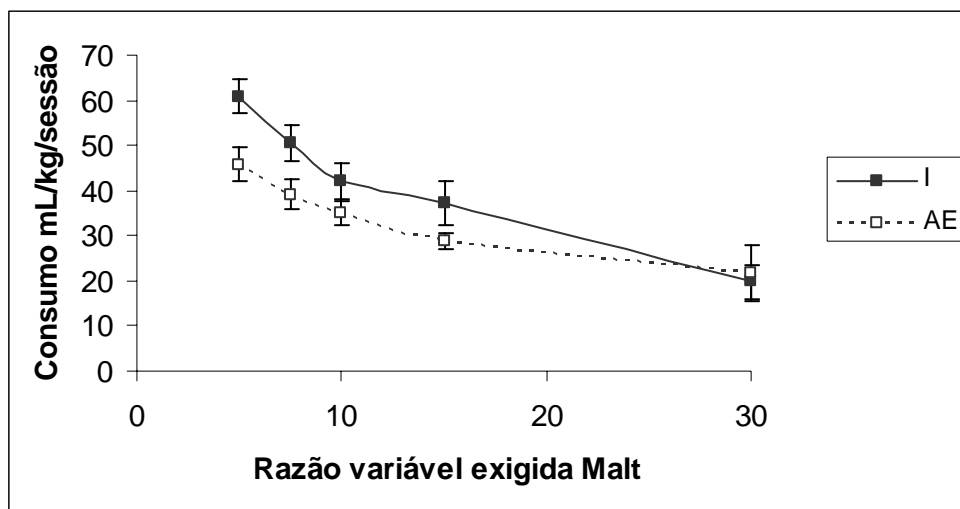


Figura 21: Consumo de MALTO em função do aumento de exigência para MALTO. A figura mostra a média \pm EP do consumo em ml/kg da solução de MALTO 14,8% por sessão para os grupos AE e I em função do aumento da exigência para MALTO. O consumo de ambos os grupos decresce significativamente em função do aumento de VR, no entanto o consumo do grupo I decresce de maneira mais acentuada. Mostra elasticidade da demanda para MALTO.

c) Consumo nas alternativas

As Figuras a seguir mostram o consumo da substância cuja exigência era mantida enquanto a da outra substância era aumentada, ou seja, o consumo em ml/kg da solução de ET em esquema de VR5 enquanto a exigência para a solução de MALTO era aumentada e vice versa.

Na Figura 22 temos a média \pm EP de consumo em ml/kg por sessão da solução de ET em esquema de VR5 por grupo AE ou I em função do aumento de exigência para a solução de MALTO. O GLM de medidas repetidas com o fator independente grupo mostrou que o consumo de ET varia em função da exigência da alternativa ($F=66,703$; $p=0,000$), e que essa relação é linear ($F=11,051$; $p=0,008$). Ou seja, ao se aumentar a exigência para a MALTO, o consumo da solução alternativa aumenta também e os animais buscam o ET quando a exigência para MALTO aumenta. A análise mostrou que não houve diferença significativa entre os grupos ($F=0,000$; $p=0,996$) no cômputo geral, no entanto, ocorrem diferenças significativas nas curvas descritas pelos diferentes grupos ($F=5,955$; $p=0,035$). Os animais do grupo I aumentam seu consumo de ET quando a exigência da MALTO aumenta, deslocando sua preferência, enquanto o consumo de ET pelos animais do grupo AE permanece quase inalterado.

A Figura 23 mostra a variação da média \pm EP do consumo em ml/kg por sessão de solução de MALTO por grupo AE ou I em função do aumento da exigência para a alternativa que dispensava a solução de ET. A análise no GLM de medidas repetidas com fator independente grupo mostra que o consumo de MALTO varia em função da exigência para o ET ($F=475,756$; $p=0,000$). No entanto, essa relação não é linear ($F= 1,149$; $p=0,309$), e sim de quarta-ordem ($F=23,485$; $p=0,001$). A análise mostra que existem diferenças significativas entre os grupos, tanto no cômputo geral ($F=12,949$; $p=0,005$), quanto na forma da curva ($F=5,709$; $p=0,038$), ou seja, os animais do grupo I consomem mais MALTO em geral em relação aos animais do grupo AE e também variam mais esse consumo em função das alterações na exigência da alternativa ET que dispensava solução de ET.

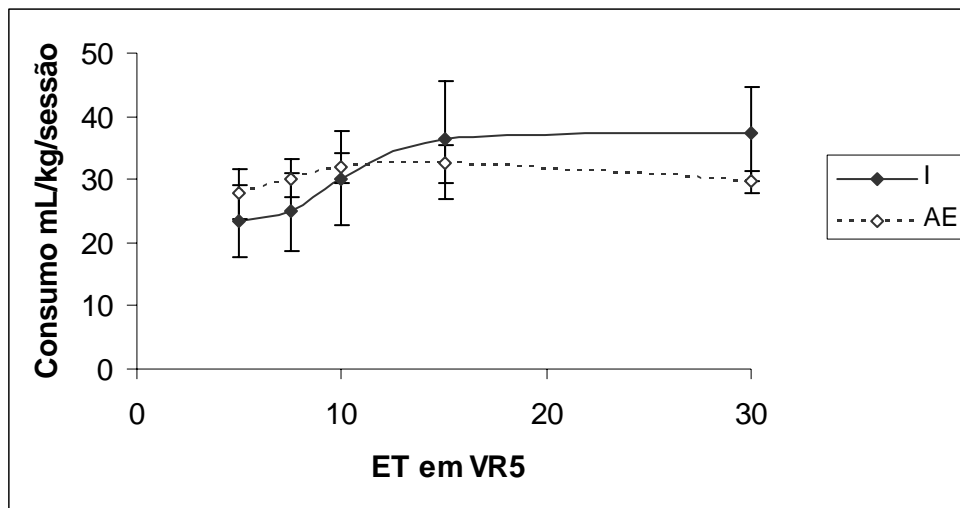


Figura 22: Consumo de ET em função do aumento de exigência para a MALTO. A figura mostra a média \pm EP do consumo em ml/kg da solução de ET 10% adoçada com sacarina 0,25% em VR5 por sessão para os grupos AE e I em função do aumento da exigência para MALTO. O grupo I apresenta um aumento de consumo de solução de ET em função do aumento de exigência para a alternativa concorrente, enquanto o consumo do grupo AE pouco se altera.

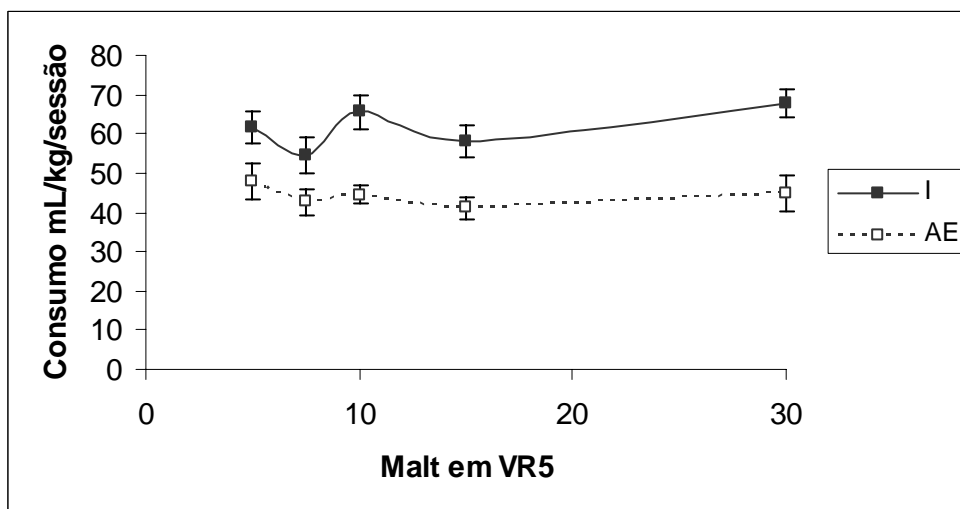


Figura 23: Consumo de MALTO em função do aumento de exigência para o ET. A figura mostra a média \pm EP do consumo em ml/kg da solução de MALTO 14,8% por sessão para os grupos AE e I em VR5 em função do aumento de exigência para a solução de ET. O grupo I consome significativamente mais MALTO e o consumo da solução de MALTO varia em função do aumento da exigência para a alternativa, porém essa variação é maior para os animais do grupo I.

Discussão

Uma primeira questão ao se trabalhar com ET é estabelecer que os sujeitos experimentem os efeitos psicoativos do ET. Para tal, devido às propriedades farmacocinéticas do ET consumido oralmente, é necessário que os sujeitos consumam uma quantidade suficiente de solução em um determinado período de tempo. Estudos anteriores (Porrino, Whitlow, & Samson, 1998) demonstraram que uma dose de 0,5 g de ET por kg de peso de ratos Wistar consumidos oralmente num período de 30 min é suficiente para induzir mudanças de atividade cerebral, sendo, portanto, uma dose ativa. No presente estudo todos os animais, em ambos os experimentos, consumiram doses ativas de ET em pelo menos uma fase experimental, o que permite afirmar que o comportamento observado em função do ET tem relação com os efeitos psicoativos dessa droga.

Os animais do grupo I consumiram significativamente mais ET que os animais do grupo AE, mostrando que a criação em ambientes com diferente disponibilidade de reforçadores altera esse consumo, no sentido DE que uma menor disponibilidade aumenta o consumo de ET.

A criação nos diferentes ambientes, portanto a história de vida dos animais, também altera o valor reforçador do ET como medido pelo modelo de RP: os animais criados em isolamento apresentaram BPs mais elevados para a solução de ET do que os animais criados com diferentes reforçadores disponíveis, mas não apresentaram diferença em seus BP's com a solução de sacarina. A solução de sacarina era o veículo com o qual o ET era consumido, e a comparação entre o BP pela droga e pelo veículo é essencial para demonstrar-se alterações no valor reforçador da droga (Stafford et al., 1998). A análise das diferenças entre os BPs dos grupos pelo ET e pela sacarina mostra que, enquanto o valor reforçador do ET FOI maior que o da sacarina para o grupo I, o mesmo não aconteceu para o grupo criado em AE, cujos BP's pouco se diferenciaram para as duas soluções. No entanto é preciso cautela ao afirmar que o valor reforçador do ET e da sacarina não se diferenciaram para o grupo AE, pois pelas características exponenciais da progressão a análise estatística de diferenças entre BPs é sujeita a falsos negativos (como vantagem é muito pouco sujeita a falsos positivos), pois uma diferença entre um BP 40 e outro 50, por exemplo, não representa uma diferença de 10 níveis, mas sim, de 50: para atingir um BP 50 o sujeito precisa dar 50 repostas a mais que um sujeito que atinja o BP 40.

O procedimento de RP foi inicialmente desenvolvido e ainda é muito usado com estimulantes. O BP intra-sessão, como o utilizado neste trabalho é muito raramente usado com administração oral de ET, devido às características farmacocinéticas, já discutidas, dessa droga. Por esse motivo desenvolveram-se inclusive procedimentos de RP inter-sessão para o ET (Czachowski & Samson, 1999). O RP aproxima-se de um procedimento de extinção de modo geral (Goudie, 1991), mas no presente estudo devido ao uso de progressão exponencial e da obtenção de BP intra-sessão, tratou-se de realmente de um procedimento de extinção, no sentido de que os animais não consumiam quantidades suficientes de ET em uma sessão para obterem doses ativas: um animal que atinge o BP 50, por exemplo, recebeu 12 reforços, o que totaliza 0,09g de ET em uma hora de sessão. Isso sugere que as respostas para os BPs são função não dos efeitos da droga, mas sim de reforçador condicionado à droga, provavelmente o sabor do ET, pois é cada vez mais claro o papel dos estímulos discriminativos associados à droga na adicção (Ciccocioppo, Angeletti, & Weiss, 2001; Ciccocioppo, Sanna, & Weiss, 2001; Robinson & Berridge, 2001; Weiss et al., 2001). De fato, presente trabalho, os animais do grupo I apresentam não apenas o valor reforçador do ET aumentado, mas também uma maior resistência à extinção do comportamento em função do ET. O uso de uma RP exponencial e de BP intra-sessão possibilita algo importante: obtenção de BPs livres das influências motoras da droga, não contaminados por estar o animal intoxicado pela droga, o que costuma ser um grande problema nos procedimentos de RP (Richardson & Roberts, 1996).

Os ratos do grupo I apresentaram um aumento significativo da atividade motora, aumento esse frequentemente observado em animais isolados (Hall, Huang, Fong, Pert, & Linnoila, 1998a), assim como neles também se observa aumento de estereotipia de movimentos (Kalueff et al., 2007) Porém, não houve alteração no valor reforçador da sacarina medido no modelo de RP, o que demonstra que não foi esse aumento de atividade motora o responsável pelo aumento dos BPs do grupo I em relação ao grupo AE.

Os grupos (I X AE) não apresentaram diferenças nos níveis de ansiedade incondicionada, tal como medida no modelo do labirinto em cruz elevado. Portanto, ao menos no presente estudo, o aumento de consumo e do valor reforçador encontrado no grupo I não se deveu a um aumento nos níveis de ansiedade desses animais, de forma que as diferenças encontradas não parecem estar relacionadas aos efeitos ansiolíticos do ET. Uma questão interessante a ser estudada em trabalhos futuros é se esse tipo de

tratamento alteraria diferencialmente as reações dos sujeitos a estímulos aversivos condicionados. Especialmente considerando-se que animais isolados parecem ser hiperreativos (Garner, 2005), poderia o isolamento social em um ambiente empobrecido aumentar as respostas de ansiedade aprendida?

No presente trabalho foi observado informalmente que os animais do grupo I comportavam-se mais agressivamente, em especial no grupo do experimento 2 que foi mais longo, mesmo sendo manipulados diariamente. Esses sujeitos eram mais difíceis de manipular, mordendo, arranhando e se debatendo, e pareciam muito sensíveis a quaisquer alterações no ambiente: a entrada de uma pessoa diferente, um barulho, qualquer mudança de cheiro parecia torná-los especialmente agressivos, ao contrário do que ocorria com os animais do grupo AE, que permaneceram dóceis e calmos durante toda a duração do experimento.

No experimento 2 observou-se que quando a alternativa concorrente dispensava água os animais do grupo I respondiam significativamente mais pelo ET que os animais do grupo AE e que essa diferença desaparecia quando a alternativa era uma solução isocalórica ao ET. Pode-se argumentar que essa diferença deve-se ao fato de que os animais foram privados de comida, enquanto a água estava sempre disponível. No entanto, ambos os grupos estavam igualmente privados e a introdução do concorrente calórico não diminuiu o consumo de ET dos animais do grupo AE: pelo contrário, parece ter ocorrido um leve aumento desse consumo. A introdução de um reforçador isocalórico concorrente reverteu o aumento de consumo observado nos animais criados em isolamento, o que é condizente com a idéia de que a disponibilidade de reforçadores é um fator importante no consumo elevado de álcool. E que essa disponibilidade diminui o valor reforçador do ET para aqueles animais privados de reforçadores, mas não para aqueles que já dispõem de reforçadores diversos.

Em uma analogia com o comportamento humano poder-se-ia falar de consumidores abusivos e consumidores sociais de drogas, apontando que a introdução de novos reforçadores poderia estar presente, por exemplo, em adolescentes que consomem maconha abusivamente, mas que diminuem significativamente o consumo ao iniciarem a idade adulta e terem a sua disposição novos reforçadores, encontrados, por exemplo, no trabalho, ou em novos grupos sociais (Silva, Barros, & de Magalhaes, 1994). Pode-se hipotetizar que dependentes que procuram terapia, grupos de ajuda, grupos religiosos, etc., encontram nesses lugares reforçadores sociais concorrentes ao álcool, e assim reduzem ou eliminam o consumo da droga. Essa análise levanta questões

passíveis de serem observadas e confirmadas, ou refutadas, em grupos humanos -- questões para estudos futuros.

Os animais criados em isolamento consumiram significativamente mais MALTO que os animais do grupo AE, mostrando que a diferença no consumo de ET pode ser eliminada com a introdução de reforçadores concorrentes, mas que os animais dos diferentes grupos continuam a comportar-se diferentemente em relação a reforçadores. Essa diferença pode tanto se dar em função do aumento de atividade motora encontrado nos ratos criados em isolamento (Hall et al., 1998a), ou como um exemplo de comportamento compulsivo, para o qual certos comportamentos encontrados em ratos criados em isolamento são usados como modelo (Garner, 2005). São necessários outros estudos a fim de esclarecer esse ponto.

Não houve diferença entre os grupos tanto para frequência relativa de respostas quando para o consumo de ET. No entanto é interessante notar que os animais aumentaram a frequência de repostas na barra que dispensava o ET de modo a compensar o aumento de exigência e manter os seus níveis de consumo, que cai apenas em VR30, mostrando certa inelasticidade da demanda pelo ET, sendo que o mesmo não acontece quando a exigência por MALTO é aumentada. Mesmo que a frequência relativa de repostas para MALTO tenha sido sempre maior que para a solução de ET, que os animais tenham alocado mais repostas na barra que dispensava a MALTO do que naquela que dispensava ET, o consumo de solução de MALTO caiu significativamente a cada aumento de exigência e a frequência relativa de repostas pouco se alterou em função desse aumento. Esses resultados mostram que a demanda por ET é mais inelástica que a demanda por MALTO e que essa é muito elástica, tal como encontrado por Heyman (1999). É interessante notar que foi possível reproduzir esses dados com um procedimento mais curto, e com aumentos de exigência em momentos diferentes enquanto Heyman aumentava as exigências simultaneamente. Isso mostra que esses reforçadores têm propriedades diferentes de controle sobre o comportamento, e que analisar apenas preferência não mostra essas diferenças. Numa analogia humana, se o preço da cerveja aumentar as pessoas ainda tomarão suas duas cervejas, enquanto que se o preço do macarrão aumentar elas passarão a consumir menos macarrão, mesmo que consumam mais macarrão que cerveja no dia a dia.

Os ratos do grupo I e AE apresentaram diferenças significativas nas curvas que descrevem seus comportamentos em função da solução de MALTO quando a exigência dessa passou a ser aumentada. Parte dessas diferenças pode ser explicada pelo maior

consumo inicial de MALTO por parte dos animais do grupo I. No entanto, é interessante notar que os animais do grupo AE aumentaram sua frequência relativa de repostas para MALTO no início do aumento de VR, enquanto não houve alteração nessa frequência para os ratos I, o que pode indicar que os ratos do grupo AE defendem mais seu consumo de MALTO que os ratos I. Esses inicialmente responderam e consumiram mais MALTO, mas a demanda dos ratos I por essa substância foi mais elástica que a do grupo AE. De fato a queda de consumo de MALTO observada é significativamente mais acentuada no grupo I. O grupo I inclusive deslocou seu comportamento para o ET nessa situação: aumentos na exigência por MALTO levaram a um aumento no consumo de ET nesse grupo, o que não ocorreu com o grupo AE, É interessante notar que esse fenômeno guarda alguma semelhança com a ocorrência das chamadas recaídas que são observadas em seres humanos: alguém que usava drogas compulsivamente para de fazê-lo e após algum tempo retoma o uso, para novamente, retoma, para, etc. Essas retomadas do comportamento de alta frequência em função da droga, que sempre confundiram os estudiosos da área, poderiam ter relação com aumentos de exigência e/ou de disponibilidade de reforçadores concorrentes à droga, provocando o deslocamento do comportamento.

Apesar de não se diferenciarem nos comportamento em função do ET, quando a exigência para o reforçador concorrente foi aumentada, os animais dos grupos AE e I comportarem-se de maneiras diferentes, mostrando que existem diferenças significativas de sensibilidade aos reforçadores entre os grupos. A criação em isolamento parece ser um fator de risco para a dependência de álcool, mas ela pode ser influenciada por outros fatores, como a disponibilidade e/ou exigência de reforçadores concorrentes em determinar o comportamento em função de ET.

De modo geral os animais do grupo AE apresentaram maior estabilidade no seu comportamento, seu comportamento variando menos, o que reforça a idéia que os comportamentos atípicos observados em animais criados em isolamento podem atrapalhar a validade, confiabilidade e replicabilidade dos dados obtidos nessa condição (Garner, 2005), e corrobora a idéia de que os animais isolados são mais reativos, mais sensíveis a mudanças de estimulação. São necessários mais estudos que verifiquem essa sensibilidade, com que tipos de estimulação ela ocorre, e se é generalizada.

Há também que considerar se animais sociais isolados são realmente um modelo a ser usado no estudo do comportamento, especialmente do comportamento relacionado à dependência de drogas. Não seria mais interessante, não teria também uma maior

validade de face, estudar drogas com animais criados em AE, buscar, como fez Ellison (1987), aqueles grandes bebedores que aparecem dentro das colônias, e por sua maior estabilidade de comportamento poder avaliar com maior precisão que fatores influenciam esse consumo?

Isso pode parecer pouco prático à primeira vista, dadas as exigências de número de sujeitos, espaço e praticidade dos ambientes enriquecidos. No entanto, o estudo de problemas complexos demanda modelos complexos também. O estudo de fenômenos que levam anos ou até décadas para se manifestar em humanos, como é o caso da dependência de álcool, demanda tempo. E muitos procedimentos até pouco tempo considerados pouco práticos, como o seqüenciamento genético, hoje são usados rotineiramente, é uma questão de desenvolvimento de tecnologias, como procedimentos de introdução de ET mais rápidos, mas eficientes, ambientes enriquecidos bem planejados, desenhos experimentais cuidadosos. Para fazer boa ciência é preciso conhecer bem o fenômeno que se pretende modelar, estudar, mas também é preciso conhecer bem os sujeitos experimentais que se pretende usar.

Conclusões

A criação de animais em diferentes ambientes, com diferentes disponibilidades de reforçadores, altera o comportamento relativo ao álcool. Ratos criados em isolamento consomem mais álcool e este apresenta um maior valor reforçador para esses animais. A introdução de reforçadores concorrentes altera o consumo de ET dos animais criados em ambiente de baixa disponibilidade de reforçadores sem alterar, no entanto, o comportamento dos animais criados em um ambiente rico de oportunidades. A criação nos diferentes ambientes não altera a elasticidade da demanda por ET, porém altera a elasticidade da demanda por MALTO, alimento isocalórico em relação ao ET. Os animais do grupo I, apesar de consumirem mais MALTO, apresentam uma demanda mais elástica desse consumo em relação aos do grupo AE. Animais em isolamento apresentam um aumento na atividade motora, mas não se diferenciam em seus níveis de ansiedade em relação aos criados em AE.

A dependência de drogas, e do álcool em especial, pode e deve ser entendida dentro das mesmas leis que regulam o comportamento em geral, e os modelos de escolha são essenciais para essa compreensão.

Referências Bibliográficas

- Alexander, B. K., Coombs, R. B., & Hadaway, P. F. (1978). The effect of housing and gender on morphine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, *58*(2), 175-179.
- APA. (1994). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (Forth ed.). Washington, DC: American Psychiatric Association.
- Baumans, V. (2005). Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research. *ILAR Journal*, *46*(2), 162-170.
- Bayne, K. (2005). Potential for unintended consequences of environmental enrichment for laboratory animals and research results. *ILAR Journal*, *46*(2), 129-139.
- Catania, A. (1999). *Aprendizagem: Comportamento, Linguagem e Cognição* (D. d. G. d. Souza, Trans. 4 ed.). Porto Alegre: Artmed Editora.
- Ciccocioppo, R., Angeletti, S., & Weiss, F. (2001). Long-lasting resistance to extinction of response reinstatement induced by ethanol-related stimuli: role of genetic ethanol preference. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, *25*(10), 1414-1419.
- Ciccocioppo, R., Sanna, P. P., & Weiss, F. (2001). Cocaine-predictive stimulus induces drug-seeking behavior and neural activation in limbic brain regions after multiple months of abstinence: reversal by D(1) antagonists. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(4), 1976-1981.
- Crabbe, J. C., Wahlsten, D., & Dudek, B. C. (1999). Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science*, *284*(5420), 1670-1672.
- Czachowski, C. L., & Samson, H. H. (1999). Breakpoint determination and ethanol self-administration using an across-session progressive ratio procedure in the rat. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, *23*(10), 1580-1586.
- Da Silva, G. E., Ramos, A., & Takahashi, R. N. (2004). Comparison of voluntary ethanol intake by two pairs of rat lines used as genetic models of anxiety. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *37*(10), 1511-1517.
- Dahlqvist, P., Ronnback, A., Risedal, A., Nergardh, R., Johansson, I. M., Seckl, J. R., et al. (2003). Effects of postischemic environment on transcription factor and serotonin receptor expression after permanent focal cortical ischemia in rats. *Neuroscience*, *119*(3), 643-652.
- Deehan, G. A., Jr., Cain, M. E., & Kiefer, S. W. (2007). Differential rearing conditions alter operant responding for ethanol in outbred rats. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, *31*(10), 1692-1698.
- DeTurck, K. H., & Pohorecky, L. A. (1987). Ethanol sensitivity in rats: effect of prenatal stress. *Physiology & Behavior*, *40*(3), 407-410.
- Ehlers, C. L., Walker, B. M., Pian, J. P., Roth, J. L., & Slawecki, C. J. (2007). Increased alcohol drinking in isolate-housed alcohol-preferring rats. *Behavioral Neuroscience*, *121*(1), 111-119.
- Ellison, G. (1987). Stress and alcohol intake: the socio-pharmacological approach. *Physiology & Behavior*, *40*(3), 387-392.
- Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2005). Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nature Neuroscience*, *8*(11), 1481-1489.
- Fernandez-Teruel, A., Driscoll, P., Gil, L., Aguilar, R., Tobena, A., & Escorihuela, R. M. (2002). Enduring effects of environmental enrichment on novelty seeking,

- saccharin and ethanol intake in two rat lines (RHA/Verh and RLA/Verh) differing in incentive-seeking behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(1), 225-231.
- Ferster, C., & Skinner, B. (1957). *Schedules of reinforcement*. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Fowler, S. C., Johnson, J. S., Kallman, M. J., Liou, J. R., Wilson, M. C., & Hikal, A. H. (1993). In a drug discrimination procedure isolation-reared rats generalize to lower doses of cocaine and amphetamine than rats reared in an enriched environment. *Psychopharmacology*, 110(1-2), 115-118.
- Garcia-Mijares, M., & Silva, M. (2006). Dependência de Drogas. *Psicologia USP*, 17(4), 213-240.
- Garner, J. P. (2005). Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. *ILAR Journal*, 46(2), 106-117.
- Goudie, A. J. (1991). Animal Models of Drug Abuse and Dependence. In P. Willner (Ed.), *Behavioural Models in Psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives* (pp. 453-484). Cambridge: Cambridge University Press.
- Hadaway, P. F., Alexander, B. K., Coombs, R. B., & Beyerstein, B. (1979). The effect of housing and gender on preference for morphine-sucrose solutions in rats. *Psychopharmacology*, 66(1), 87-91.
- Hall, F. S., Huang, S., Fong, G. W., Pert, A., & Linnoila, M. (1998a). Effects of isolation-rearing on locomotion, anxiety and responses to ethanol in Fawn Hooded and Wistar rats. *Psychopharmacology*, 139(3), 203-209.
- Hall, F. S., Huang, S., Fong, G. W., Pert, A., & Linnoila, M. (1998b). Effects of isolation-rearing on voluntary consumption of ethanol, sucrose and saccharin solutions in Fawn Hooded and Wistar rats. *Psychopharmacology*, 139(3), 210-216.
- Hartnoll, R. (1991). The relevance of behavioural models of drug abuse and dependence liabilities to the understanding of drug misuse in humans. In P. Willner (Ed.), *Behavioural models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives* (pp. 503-519). Cambridge: Cambridge University Press.
- Herrnstein, R., & Prelec, D. (1992). A Theory of Addiction. In G. Loewenstein & J. Elster (Eds.), *Choice Over Time* (pp. 331-360). New York: Russell Sage Foundation.
- Heyman, G. M. (1996). Resolving the contradictions of addiction. *Behavioral and Brain Sciences*, 19(4), 561-610.
- Heyman, G. M., Gendel, K., & Goodman, J. (1999). Inelastic demand for alcohol in rats. *Psychopharmacology*, 144(3), 213-219.
- Hutchinson, E., Avery, A., & Vandewoude, S. (2005). Environmental enrichment for laboratory rodents. *ILAR Journal*, 46(2), 148-161.
- ILAR. (1997). *The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (2 ed.). Washington, D.C.: National Academy Press.
- Kalivas, P. W., & Volkow, N. D. (2005). The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *American Journal of Psychiatry*, 162(8), 1403-1413.
- Kalueff, A. V., Wheaton, M., & Murphy, D. L. (2007). What's wrong with my mouse model? Advances and strategies in animal modeling of anxiety and depression. *Behavioural Brain Research*, 179(1), 1-18.
- Kampov-Polevoy, A. B., Kasheffskaya, O. P., Overstreet, D. H., Rezvani, A. H., Viglinskaya, I. V., Badistov, B. A., et al. (1996). Pain sensitivity and saccharin

- intake in alcohol-preferring and -nonpreferring rat strains. *Physiology & Behavior*, 59(4-5), 683-688.
- Lu, L., Shepard, J. D., Scott Hall, F., & Shaham, Y. (2003). Effect of environmental stressors on opiate and psychostimulant reinforcement, reinstatement and discrimination in rats: a review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(5), 457-491.
- Markou, A., Kosten, T. R., & Koob, G. F. (1998). Neurobiological similarities in depression and drug dependence: a self-medication hypothesis. *Neuropsychopharmacology*, 18(3), 135-174.
- McKim, W. (2006). *Drugs and Behavior* (6th Edition ed.). New Jersey: Prentice Hall.
- Meisch, R. A. (2001). Oral drug self-administration: an overview of laboratory animal studies. *Alcohol*, 24(2), 117-128.
- Moncek, F., Duncko, R., Johansson, B. B., & Jezova, D. (2004). Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 16(5), 423-431.
- Olsson, I. A., & Dahlborn, K. (2002). Improving housing conditions for laboratory mice: a review of "environmental enrichment". *Laboratory Animals*, 36(3), 243-270.
- Pham, T. M., Winblad, B., Granholm, A. C., & Mohammed, A. H. (2002). Environmental influences on brain neurotrophins in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(1), 167-175.
- Pohorecky, L. A. (1987). Workshop on the Interaction of Ethanol and Stress. Helsinki, Finland, June 13, 1986. Proceedings. *Physiology & Behavior*, 40(3), 373-410.
- Porrino, L. J., Whitlow, C. T., & Samson, H. H. (1998). Effects of the self-administration of ethanol and ethanol/sucrose on rates of local cerebral glucose utilization in rats. *Brain Research*, 791(1-2), 18-26.
- Richardson, N. R., & Roberts, D. C. (1996). Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *Journal of Neuroscience Methods*, 66(1), 1-11.
- Robins, L. N., Helzer, J. E., & Davis, D. H. (1975). Narcotic use in southeast Asia and afterward. An interview study of 898 Vietnam returnees. *Archives of General Psychiatry*, 32(8), 955-961.
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2001). Incentive-sensitization and addiction. *Addiction*, 96(1), 103-114.
- Rockman, G. E., & Gibson, J. E. (1992). Effects of duration and timing of environmental enrichment on voluntary ethanol intake in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 41(4), 689-693.
- Rockman, G. E., Gibson, J. E., & Benarroch, A. (1989). Effects of environmental enrichment on voluntary ethanol intake in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 34(3), 487-490.
- Rockman, G. E., Hall, A. M., Markert, L. E., & Glavin, G. B. (1988). Influence of rearing conditions on voluntary ethanol intake and response to stress in rats. *Behavioral and Neural Biology*, 49(2), 184-191.
- Rodgers, R. J., & Cole, J. C. (1993). Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus-maze behaviour in mice. *Physiology & Behavior*, 54(4), 729-736.
- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1969). Effects of differential environments on brain weights and enzyme activities in gerbils, rats, and mice. *Developmental Psychobiology*, 2(2), 87-95.

- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1996). Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behavioural Brain Research*, 78(1), 57-65.
- Roy, V., Belzung, C., Delarue, C., & Chapillon, P. (2001). Environmental enrichment in BALB/c mice: effects in classical tests of anxiety and exposure to a predatory odor. *Physiology & Behavior*, 74(3), 313-320.
- Samson, H. H., Pfeffer, A. O., & Tolliver, G. A. (1988). Oral ethanol self-administration in rats: models of alcohol-seeking behavior. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 12(5), 591-598.
- Schenk, S., Gorman, K., & Amit, Z. (1990). Age-dependent effects of isolation housing on the self-administration of ethanol in laboratory rats. *Alcohol*, 7(4), 321-326.
- Selye, H. (1974). *Stress without distress* (1 ed.). Philadelphia & New York: J. B. Lippincott Company.
- Silva, M. T. A. (1997). Modelos animais de ansiedade. In D. Zamignani (Ed.), *Sobre comportamento e cognição* (Vol. III, pp. 91-96). Santo André: ARBytes.
- Silva, M. T. A., Barros, R. S., & de Magalhaes, M. P. (1994). Use of marijuana and other drugs by college students of Sao Paulo, Brazil. *International Journal of the Addictions*, 29(8), 1045-1056.
- Souza, V. B. (2002). *Efeitos do estresse psicossocial crônico e do enriquecimento ambiental em sagüis (Callithrix penicillata): Um estudo comportamental, fisiológico e farmacológico*. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Spanagel, R., Montkowski, A., Allingham, K., Stohr, T., Shoaib, M., Holsboer, F., et al. (1995). Anxiety: a potential predictor of vulnerability to the initiation of ethanol self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 122(4), 369-373.
- Stafford, D., LeSage, M. G., & Glowa, J. R. (1998). Progressive-ratio schedules of drug delivery in the analysis of drug self-administration: a review. *Psychopharmacology*, 139(3), 169-184.
- Steele, C. M., & Josephs, R. A. (1990). Alcohol myopia. Its prized and dangerous effects. *American Psychologist*, 45(8), 921-933.
- Thorsell, A., Slawecki, C. J., Khoury, A., Mathe, A. A., & Ehlers, C. L. (2005). Effect of social isolation on ethanol consumption and substance P/neurokinin expression in Wistar rats. *Alcohol*, 36(2), 91-97.
- Vaillant, G. E., & Milofsky, E. S. (1982). The etiology of alcoholism: a prospective viewpoint. *American Psychologist*, 37(5), 494-503.
- Weinberg, J., Taylor, A. N., & Gianoulakis, C. (1996). Fetal ethanol exposure: hypothalamic-pituitary-adrenal and beta-endorphin responses to repeated stress. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 20(1), 122-131.
- Weiss, F., Martin-Fardon, R., Ciccocioppo, R., Kerr, T. M., Smith, D. L., & Ben-Shahar, O. (2001). Enduring resistance to extinction of cocaine-seeking behavior induced by drug-related cues. *Neuropsychopharmacology*, 25(3), 361-372.
- WHO. (2002). *Alcohol in developing societies : a public health approach*. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- Willner, P. (1997). Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*, 134(4), 319-329.
- Wish, E. D., Robins, L. N., Hesselbrock, M., & Helzer, J. E. (1979). The course of alcohol problems in Vietnam veterans. *Currents in Alcoholism*, 6, 239-256.
- Wolffgramm, J. (1990). Free choice ethanol intake of laboratory rats under different social conditions. *Psychopharmacology*, 101(2), 233-239.

- Wurbel, H. (2001). Ideal homes? Housing effects on rodent brain and behaviour. *Trends in Neurosciences*, 24(4), 207-211.
- Zimmerberg, B., & Brett, M. B. (1992). Effects of early environmental experience on self-administration of amphetamine and barbital. *Psychopharmacology*, 106(4), 474-478.