

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA

GUILHERME CAIADO DE CASTRO POPOWICZ

Avaliação do desempenho de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) em um
procedimento de extinção prolongado

São Paulo

2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA

GUILHERME CAIADO DE CASTRO POPOWICZ

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em ciências, no programa: Neurociências e Comportamento, sob orientação do Prof. Dr. Fábio Leyser Gonçalves.

São Paulo

2021

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

Catálogo na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo
Dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Caiado de Castro Popowicz, Guilherme

Avaliação do desempenho de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) em um
procedimento de extinção prolongado / Guilherme Caiado de Castro Popowicz;
orientador Fábio Leyser Gonçalves. -- São Paulo, 2021.

59 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Neurociências e
Comportamento) -- Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, 2021.

1. TDAH. 2. Extinção. 3. Ratos Espontaneamente Hipertensos. 4. Wistar Kyoto.
5. Wistar. I. Leyser Gonçalves, Fábio, orient. II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA

GUILHERME CAIADO DE CASTRO POPOWICZ

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em ciências, no programa: Neurociências e Comportamento, sob orientação do Prof. Dr. Fábio Leyser Gonçalves.

Banca Examinadora

Nome: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Nome: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Nome: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Agradecimentos

Agradeço a minha avó, Marcelina por todo o apoio, horas de conversa durante o almoço e por todo o interesse demonstrado durante minha vida acadêmica, desde a iniciação científica até os dias atuais, me dando força e base como ser humano.

Agradeço ao meu avô Plínio, por seu exemplo de dedicação ao trabalho e seriedade com a profissão.

Agradeço a minha mãe Roberta, pelas horas de conversa e amor incondicional.

Agradeço ao melhor orientador que alguém pode ter, Fábio, pela orientação de vida, não só acadêmica, e pela dedicação e exemplo de como ser um cientista.

Agradeço a Juliana por ter acreditado e me dado segurança em todos os processos da vida e de realização do mestrado.

Agradeço a minha família escolhida: Alessandra, por ter me dado força, carinho e amor.

Agradeço aos meus tios João, Marcela, Plínio e Camila, pelo apoio de serem exemplos de irmãos mais velhos para minha formação na vida adulta.

Agradeço a banca examinadora por todos os apontamentos concedidos.

Agradeço ao conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida e pelo apoio ao desenvolvimento da ciência no Brasil.

Resumo

Popowicz, G. C. C. (2021). Avaliação do desempenho de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) em um procedimento de extinção prolongado. Dissertação de Mestrado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é um distúrbio neurocomportamental que afeta entre 5% a 10% de crianças do mundo. Para o estudo experimental do TDAH em aspectos básicos e para isolar de maneira mais eficaz as variáveis de pesquisa, são amplamente utilizados os modelos animais. A linhagem de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) é o modelo animal com maior evidência e validação para o TDAH. Os ratos desta linhagem apresentam comportamentos semelhantes aos de humanos com TDAH como problemas de atenção, impulsividade e hiperatividade. Os SHR também apresentam mudanças estruturais no sistema nervoso central. A Teoria do Desenvolvimento Dinâmico tem como hipótese etiológica do TDAH, o hipofuncionamento do sistema mesolímbico dopaminérgico, uma hipoatividade tônica desse sistema levaria a um déficit do processo de extinção. O presente projeto teve por objetivo avaliar o processo de extinção de forma prolongada, através da análise de seus componentes microestruturais. Para isso o desempenho de 7 ratos SHR, 7 Wistar Kyoto e 7 Wistar em um esquema VI 15s, seguido por 10 sessões de extinção, foi avaliado. Os resultados demonstraram que as taxas de respostas foram similares entre as linhagens ao final da linha de base em VI 15. A análise das sessões de extinção revelou dois grandes padrões. A linhagem SHR respondeu com alta taxa e com respostas agrupadas em jorros, os WIS e WKY responderam com IRT's mais longos, dando margem para algumas respostas isoladas. A análise dos dados indicou que os SHR são diferentes no processo de extinção em comparação com as outras duas linhagens. Serviria como sugestão para pesquisas futuras uma análise intrassessão com os critérios de jorros pré-estabelecidos ou mesmo a possibilidade de se usar algum modelo *post hoc* para definição do critério da duração do jorro.

Palavras chave: TDAH; Extinção; Ratos Espontaneamente Hipertensos; Wistar Kyoto; Wistar.

Abstract

Popowicz, G. C. C. (2021). Performance evaluation of spontaneously hypertensive rats (SHR) in a prolonged extinction procedure. Dissertação de Mestrado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) is a neurobehavioral disorder that affects between 5% to 10% of children worldwide. For the experimental study of ADHD in its basic aspects and to more effectively isolate research variables, animal models are widely used. The spontaneously hypertensive rat (SHR) strain is the animal model with the greatest evidence and validation for ADHD. Mice of this strain show behaviors similar to humans with ADHD such as attention problems, impulsivity and hyperactivity. SHR also show structural changes in the central nervous system. The Dynamic Development Theory has as an etiological hypothesis of ADHD, the hypofunctioning of the mesolimbic dopaminergic system, a tonic hypoactivity of this system would lead to a deficit in the extinction process. This project aimed to evaluate the extinction process in a prolonged way, through the analysis of its microstructural components. The performance of 7 SHR rats, 7 Wistar Kyoto and 7 Wistar was evaluated in a VI 15s schedule, followed by 10 extinction sessions. The results demonstrated that response rates were similar among strains at the end of baseline in VI 15. Analysis of extinction sessions revealed two major patterns. The SHR strain responded with a high rate and with responses grouped in bouts, the WIS and WKY responded with longer IRT's, allowing for some isolated responses. Data analysis indicated that the SHR are different in the extinction process compared to the other two strains. Would serve as a suggestion for future research an intrasession analysis with pre-established bouts criteria or even the possibility of using a post hoc model to define the criteria for bout duration.

Keywords: ADHD; Extinction; Spontaneously Hypertensive Rats; Wistar Kyoto; Wistar.

Sumário

Introdução	11
Método	26
Resultado	30
Discussão	51
Conclusão	55
Referências Bibliográficas	57

Lista de Figuras

Figura 1 - Parâmetros microestruturais de respostas em jorros	18
Figura 2 - Frequência de respostas referente as sessões de critério	30
Figura 3 - Frequência de respostas referente as sessões de extinção	31
Figura 4 - Frequência relativa de respostas referente as sessões de extinção	32
Figura 5 - Frequência de jorros referente as sessões de critério	33
Figura 6 - Frequência de jorros referente as sessões de extinção.....	34
Figura 7 - Frequência relativa de jorros referente as sessões de extinção.....	35
Figura 8 - Frequência de respostas dentro do jorro referente as sessões de critério ..	36
Figura 9 - Frequência de respostas dentro do jorro referente as sessões de extinção	37
Figura 10 - Frequência relativa de respostas dentro do jorro referente as sessões de extinção	38
Figura 11 - Frequência de respostas fora do jorro referente as sessões de critério	39
Figura 12 - Frequência de respostas fora do jorro referente as sessões de extinção ..	40
Figura 13 - Frequência relativa de respostas fora do jorro referente as sessões de extinção	41
Figura 14 - Comprimento do jorro referente as sessões de critério	42
Figura 15 - Comprimento do jorro referente as sessões de extinção	43
Figura 16 - Comprimento relativo do jorro referente as sessões de extinção	44
Figura 17 - Taxa de respostas que ocorrem dentro do jorro referente as sessões de critério	45
Figura 18 - Taxa de respostas que ocorrem dentro do jorro referente as sessões de extinção	46

Figura 19 - Taxa relativa de respostas que ocorrem dentro do jorro referente as sessões de extinção	47
Figura 20 - Frequência de respostas na barra da direita referente as sessões de critério	48
Figura 21 - Frequência de respostas na barra da direita referente as sessões de extinção	49
Figura 22 - Frequência relativa de respostas na barra da direita referente as sessões de extinção	50

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Comparação entre as linhagens nos parâmetros que tiveram efeito estatístico	51
--	----

Introdução

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é um distúrbio neurocomportamental que afeta de 5% a 10% de crianças mundialmente. O TDAH geralmente compromete o desempenho acadêmico, ocupacional e social, em função de sintomas de hiperatividade e/ou desatenção. (Sagvolden, Johansen, Aase & Russell 2005). O diagnóstico para o transtorno é baseado em critérios comportamentais, como hiperatividade, falta de atenção sustentada, impulsividade e déficit de aprendizagem, estes critérios devem estar presentes por pelo menos 6 meses e ter impacto negativo nas atividades sociais e acadêmicas/profissionais (American Psychiatric Association, 2013).

O tratamento para TDAH envolve intervenções psicológicas e farmacológicas. O medicamento mais usualmente prescrito é o metilfenidato, um estimulante do sistema nervoso central que obtém melhora nos sintomas em 75% dos sujeitos estudados (Peeples, Searls & Wellingham-Jones, 1995).

Para o estudo experimental do TDAH em aspectos básicos, como o desempenho em diversos esquemas de reforço, e para isolar de maneira mais eficaz as variáveis de pesquisa, são utilizados modelos animais. A linhagem de ratos espontaneamente hipertensos (do inglês, *Spontaneously Hypertensive Rats*, SHR) é o modelo animal com maior evidência e validação para o TDAH (Sagvolden, 2000). Os SHR foram originalmente derivados da linhagem Wistar (WIS), em Kyoto. Em um momento posterior, descendentes normotensos, também da linhagem Wistar, deram origem a uma segunda linhagem, Wistar Kyoto (WKY), amplamente utilizada como grupo controle para os ratos SHR (Theodore, Kurtz & Morris, 1987).

Os ratos desta linhagem apresentam sintomas semelhantes aos de humanos com TDAH, como problemas de atenção (Sagvolden, Hendley & Knardahl, 1992), impulsividade e

hiperatividade (Sagvolden, Pettersen & Larsen, 1993). Comparando-se crianças com e sem o diagnóstico de TDAH e ratos da linhagem SHR com linhagens controle, percebe-se as mesmas alterações na taxa de respostas em esquemas múltiplos de intervalo fixo e extinção. Ou seja, os SHR e as crianças com TDAH apresentam uma taxa de respostas maior em ambos os componentes (Sagvolden, Aase, Zeiner & Berger 1998). Também foram encontradas certas anormalidades no condicionamento operante dos ratos da linhagem SHR, como a alta taxa de respostas, consideradas como característica fenotípica do TDAH (Brackney, Cheung, Herbst, Hill & Sanabria, 2012).

Além das alterações comportamentais já citadas, os SHR também apresentam alterações no funcionamento do sistema nervoso central, como redução na atividade dopaminérgica no córtex pré-frontal, putâmen e núcleo acumbens (Russell, Villiers, Sagvolden, Lamm & Taljaard 1995). Após a realização dos estudos anteriores com os ratos da linhagem SHR, conforme já apresentado, os autores Sagvolden, Johansen, Aase e Russell (2005) desenvolveram a Teoria do Desenvolvimento Dinâmico (do inglês, *dynamic developmental theory*, DDT). Esta teoria tem como hipótese etiológica do TDAH, o hipofuncionamento do sistema mesolímbico dopaminérgico. A dopamina exerce um forte efeito regulador na atividade de neurônios piramidais no córtex pré-frontal, estes neurônios demonstram potenciais de membrana biestáveis, alternando entre um estado hiperpolarizado não-disparador e um estado despolarizado. Segundo os autores, um sistema mesolímbico dopaminérgico hipofuncionante gera alterações no processo de reforço e déficit na extinção de comportamentos previamente reforçados, podendo causar aversão ao reforço atrasado, hiperatividade, impulsividade e demais sintomas do TDAH (Sagvolden, Johansen, Aase & Russell 2005).

Os mecanismos de reforço e extinção estão associados com a atividade de neurônios dopaminérgicos. Estes mecanismos possuem a função de reprogramar, constantemente,

conexões neurais, seja pela potencialização de conexões associadas a comportamentos reforçados ou pelo enfraquecimento de certas conexões associadas a situações onde não há reforço. O reforço funciona com um intervalo curto entre o comportamento e a percepção da consequência. A percepção da consequência ocorre de acordo com a atividade fásica do neurônio dopaminérgico (Sagvolden, Johansen, Aase & Russell 2005). A atividade fásica de neurônios dopaminérgicos provoca uma breve liberação de dopamina em resposta a estímulos. Já a atividade tônica dopaminérgica refere-se ao estado estável destes neurônios, portanto, ao nível estacionário extracelular de dopamina nas estruturas subcorticais (Grace, 1991).

Os componentes fásicos e tônicos dopaminérgicos são funcionalmente distintos e rigidamente regulados. O nível tônico dopaminérgico é controlado por duas fontes: a primeira é uma baixa concentração de dopamina que escapa da fenda sináptica; a segunda envolve a liberação do neurotransmissor glutamato, liberado principalmente do córtex pré-frontal com proximidade dos terminais dopaminérgicos. Essa estimulação glutamatérgica, próxima dos heteroreceptores pré-sinápticos do terminal dopaminérgico, leva à liberação de dopamina diretamente ao espaço extra sináptico. Um córtex pré-frontal subdesenvolvido, imaturo ou hipoativo possui redução desta entrada glutamatérgica (Grace, 1991), o que poderia resultar em um nível tônico dopaminérgico baixo, afetando, também, a atividade fásica.

A atividade fásica pode ocorrer em dois momentos: no erro de previsão positivo e negativo. Quando um estímulo reforçador não previsto é apresentado, ocorre o erro de previsão positivo através do aumento pontual da atividade dopaminérgica. Em um organismo com desenvolvimento típico, esse aumento fásico dopaminérgico é gradualmente transferido para um estímulo antecedente, permitindo, então, que o organismo preveja a apresentação do reforçador. Em contraste a esse aumento de atividade dopaminérgica associado ao reforço, a descontinuidade do reforço é associada a uma diminuição fásica da atividade neuronal

dopaminérgica. Esta diminuição fásica ocorre no erro de previsão negativo, ou seja, quando um reforçador previsto não é apresentado, caracterizando uma situação de extinção (Schultz, 2002).

Johansen & Sagvolden (2004) compreendem que uma hipoatividade tônica dopaminérgica afeta a resposta fásica neuronal durante a extinção devido a um efeito piso, levando a uma deficiência no processo de extinção. Neurônios dopaminérgicos com taxa de disparo tônica baixa apresentam menor oportunidade para uma redução fásica da atividade desses neurônios, afetando a capacidade de previsão do erro negativo, ou seja, da detecção da descontinuidade do reforço. Portanto, na linhagem SHR, que apresenta um sistema dopaminérgico hipoativo, estas alterações no processo de extinção seriam responsáveis por uma parte das demais alterações comportamentais encontradas, como a hiperatividade, por exemplo (Johansen & Sagvolden, 2004).

Com o objetivo de avaliar o desempenho no componente de extinção na linhagem SHR a maioria dos estudos utilizou esquemas múltiplos de intervalo fixo – extinção (FI- EXT). Este esquema é composto por dois componentes que se alternam. No componente FI, sinalizado pela luz acesa da caixa, a resposta só é seguida de reforço após um intervalo fixo pré-determinado pelo experimentador. Respostas que ocorram antes deste intervalo não são reforçadas. Neste componente é analisada a reatividade ao reforço e a impulsividade motora, já no componente EXT, sinalizado pela luz apagada, é mensurada a sensibilidade à mudança de estímulo e atenção sustentada, uma vez que o reforço não é disponibilizado neste componente (Berger & Sagvolden, 1998; Sagvolden, Hendley & Knardahl, 1992; Sagvolden, Pettersen & Larsen, 1993; Sagvolden, 2000). Berger e Sagvolden (1998) avaliaram o componente de extinção em um esquema múltiplo FI 2 min – EXT 5 min, e os resultados demonstraram uma redução das respostas para as linhagens SHR e WKY na extinção, porém com os SHR respondendo em média cinco vezes mais que WKY no mesmo

componente, outros estudos também avaliaram a extinção no mesmo tipo de esquema múltiplo FI – EXT, variando de FI 2 min – EXT 5 min a FI 2,5 min – EXT 2 min (Berger & Sagvolden, 1998; Sagvolden, Hendley & Knardahl, 1992; Sagvolden, Pettersen & Larsen, 1993; Sagvolden, 2000).

Sagvolden, Hendley, e Knardahl, (1992) realizaram 58 sessões no esquema múltiplo e os SHR responderam o dobro que seu grupo controle (WKY). Em outro experimento, os SHR responderam na extinção mais do que WKY mesmo com ambos os grupos sob efeito de metilfenidato (Sagvolden et al., 1992). Quando a linhagem SHR foi comparada a cinco linhagens diferentes em 32 sessões de esquema múltiplo FI – EXT, Sagvolden, Pettersen e Larsen (1993) perceberam que os SHR responderam em média três vezes mais do que a linhagem WIS, que foi a segunda linhagem que mais respondeu.

Em um esquema de FI 2,5 min e EXT 2 min, comparando 18 grupos em que cada grupo representava variáveis como: linhagem, biotério de criação e sexo dos ratos, Sagvolden (2000) analisou que dos cinco grupos que mais respondiam no componente de extinção, todos eram variantes da linhagem SHR.

Johansen e Sagvolden (2004) utilizaram um esquema de reforço diferente do múltiplo FI – EXT para avaliar o desempenho dos SHR no processo de extinção. Os autores utilizaram esquemas de intervalo variável (VI) ou fixo (FI) que variaram entre 15s, 30s e 60s em média para a liberação do estímulo reforçador. Nas sessões de avaliação da extinção, os esquemas de intervalo eram apresentados por 10 minutos no início da sessão e, então, seguidos por um período em extinção de 40 minutos. O experimento durou setenta e quatro sessões. A linhagem SHR respondeu mais que o grupo controle (WKY) no componente de reforço e principalmente nos últimos segmentos de extinção. Este estudo indica que a alteração no

padrão de extinção é uma característica consistente nos SHR, mesmo em arranjos experimentais diferentes.

Nos estudos anteriormente citados em que foi utilizado o modelo animal de TDAH com foco na extinção, a linhagem SHR respondeu mais que a WKY, independente do esquema, tempo, ou tipo de reforço utilizado (Berger, 1998; Sagvolden, Hendley & Knardahl 1992; Sagvolden et al, 1992; Sagvolden Pettersen & Larsen 1993; Sagvolden 2000; Johansen, Savolden & Kvande 2005).

Para melhor compreender o efeito da extinção em seres humanos e avaliar a validade do modelo animal, Sagvolden e colaboradores (Sagvolden Aase, Zeiner & Berger, 1998) realizaram um experimento com crianças de 7 a 12 anos diagnosticadas com TDAH, com o esquema de reforço múltiplo FI-EXT, já utilizado nos estudos com ratos SHR, citados anteriormente. O estudo consistia na análise de desempenho das crianças do grupo experimental em comparação com crianças sem diagnóstico de TDAH como grupo controle. As crianças eram expostas a uma caixa de madeira em formato de rosto de palhaço, o nariz servia como a barra que quando pressionada disponibilizava moedas, borrachas, bolinhas de gude, entre outros reforçadores. Foram duas sessões em um esquema de reforço de intervalo fixo (FI) 30s e extinção (EXT) 2 min. O componente FI durava 2,5 min e o de EXT durava 2 min, alternando-se 6 vezes em cada sessão. Os resultados demonstraram que o número total de respostas foi maior para as crianças com TDAH nos dois componentes, respondendo mais do que o dobro que o grupo controle no componente de EXT. As crianças com TDAH também responderam mais e com intervalos entre respostas (IRT, do inglês *interresponse time*) mais curtos do que o grupo controle. Estes dados corroboram os estudos que apontam para um déficit de extinção presente em organismos com o transtorno do déficit de atenção e hiperatividade, tanto em humanos quanto em modelos animais do transtorno.

Uma vez compreendidos os estudos realizados com organismos com TDAH, deve-se compreender detalhadamente como mensurar, e quais os arranjos experimentais possíveis ao avaliar o processo de extinção. Para Keller & Schoenfeld (1950), uma resposta é extinta quando sua frequência diminui em função da não apresentação do estímulo reforçador. Desta forma, para os autores, quando o objetivo é avaliar a resistência à extinção, pode-se analisar o número total de respostas emitidas ou o número necessário para atingir algum critério, como por exemplo, dez minutos em que nenhuma resposta ocorra. Como forma de análise, avaliar o número total de respostas no componente de extinção é geralmente mais satisfatório, uma vez que o critério de período em que não ocorram respostas exclui a possibilidade da análise de dados contidas no fim do período e no resto da curva de extinção. (Keller & Schoenfeld, 1950). O tempo necessário para que uma resposta seja considerada extinta, é proporcional ao número de reforços por resposta durante o condicionamento. Conforme o número de reforços por resposta aumenta, reforços adicionais produzem pouca influência na frequência de resposta (Keller & Schoenfeld, 1950). Desta forma, ao avaliarmos a resistência à extinção, a taxa de reforços deve ser relativamente estável, e não alta demais, para que os estímulos reforçadores produzam influência na frequência de resposta.

A extinção é caracterizada por padrões de comportamento específicos que, ao serem analisados, podem refinar a análise desse processo. Estes padrões incluem o aumento da taxa de resposta no início da sessão de extinção e a emissão de jorros de respostas após períodos de pausa. Um jorro de resposta pode ser definido operacionalmente como a emissão de respostas com menos de 5 s de intervalo (Brackney, Cheung, Herbst, Hill & Sanabria, 2012). A ocorrência de jorros é particularmente alta durante o início do componente de extinção, principalmente na linhagem SHR, que tem uma frequência de jorros quatro vezes maior do que a linhagem controle, conforme os estudos de Brackney, Cheung, Herbst, Hill & Sanabria

(2012). A análise dos jorros de respostas permite uma compreensão microestrutural da taxa de resposta durante a extinção (Brackney, Cheung, Herbst, Hill & Sanabria, 2012).

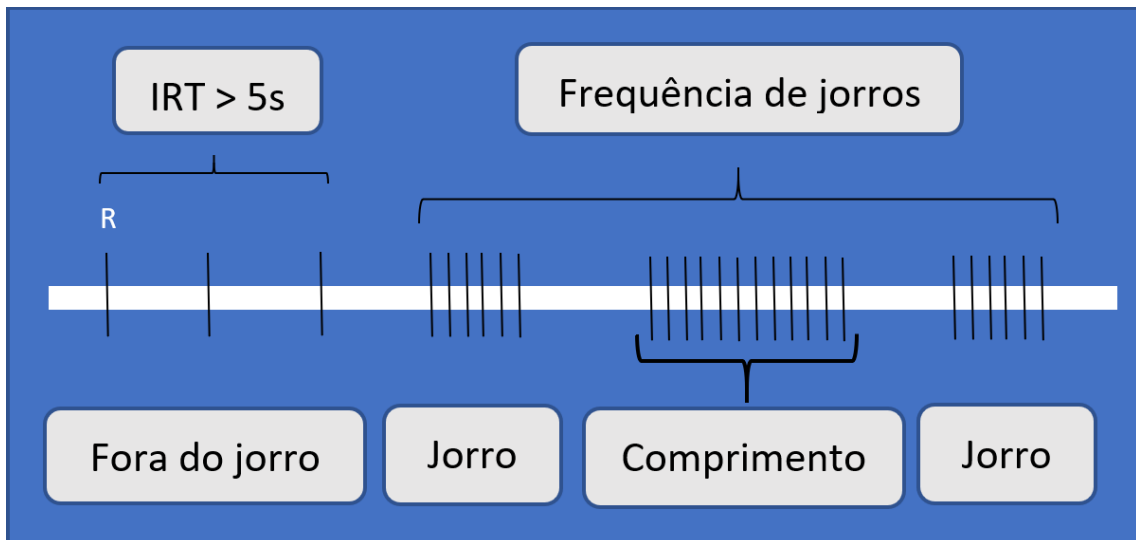


Figura 1 – Parâmetros microestruturais de respostas em jorros

Os parâmetros para a avaliação dos padrões microestruturais de resposta, conforme apresentados na Figura 1, são: respostas com mais de 5s de intervalo são consideradas fora do jorro; respostas com menos de 5 s de intervalo são consideradas dentro do jorro; o comprimento do jorro é definido pelo número de respostas que ocorre dentro de um jorro; a frequência de jorros é definida pela quantidade de vezes que o sujeito inicia um jorro; a duração de cada jorro é definida como o intervalo entre a primeira resposta e a última resposta do jorro; e a taxa de respostas no jorro é definida pela frequência de respostas durante os jorros dividida pelo tempo de duração dos mesmos (Brackney et al., 2012).

A definição de que o jorro é composto por respostas com IRT menor do que 5 s é arbitrária. O processo de encontrar um valor que seja mais adequado foi o objetivo do trabalho de Brackney e Sanabria (2015), neste artigo os autores discutem o método para encontrar o tempo de critério necessário para definição do jorro, e por fim sugerem estimar o IRT de acordo com parâmetros definidos *post hoc*, por um modelo estatístico chamado de Modelo Refratário Bi-Exponencial Dinâmico (DBERM). Esse modelo avalia se cada IRT será

considerado dentro ou fora do jorro baseado nas características que todos os IRT's possuem durante a sessão analisada. Uma avaliação *post hoc* é mais trabalhosa por definir, de acordo com o ajuste de um modelo estatístico, cada jorro individualmente após a coleta dos dados.

Além da avaliação microestrutural da resposta proposta por Brackney, et al. (2012), outra forma de análise se dá na comparação entre o padrão de respostas emitidas durante o condicionamento e o padrão de respostas emitidas na extinção, para assim compreender quais variáveis afetam, ou não, a resistência à extinção.

Dentre as teorias que avaliam a resistência à mudança e extinção, e que auxiliam na compreensão dos padrões de resposta durante o condicionamento e após a retirada do estímulo reforçador, destaca-se a teoria do momentum comportamental (por exemplo, Nevin, 2012). Nesta teoria, a resistência à mudança é analisada por meio de esquemas múltiplos, onde dois ou mais estímulos são apresentados sucessivamente e sinalizam diferentes taxas de reforço. Diferentemente dos esquemas múltiplos que alternam componentes de reforço e extinção utilizados nas pesquisas com os SHR, esta teoria utiliza, em suas análises de desempenho, esquemas múltiplos com alternância entre esquemas de reforço, como por exemplo, CRF (do inglês *continuous reinforcement*) e PRF (do inglês *partial reinforcement*). Esquemas múltiplos como o proposto por Nevin (2012) permitem a comparação de taxas assintóticas de resposta e sua resistência à mudança. Assim como na lei da inércia de Newton, onde a mudança no movimento de um corpo físico depende diretamente da magnitude de uma força externa inversa à do corpo, a teoria prediz que a mudança da taxa de respostas também depende diretamente de variáveis externas. O comportamento com maior resistência é aquele com maior massa, ou em termos tradicionais, com maior força. Em termos comportamentais, o comportamento com maior resistência é aquele que demora mais a se alterar após uma mudança na contingência que o mantém (Nevin, 2012).

Ainda segundo Nevin (2012), diferenças no responder durante a extinção podem ocorrer devido a uma diferença na responsividade ao reforço durante o processo de condicionamento, e não, exclusivamente, devido a alterações no processo de extinção. Alguns sujeitos, ou linhagens, podem apresentar uma maior taxa de respostas em comparação com outras sob a mesma contingência e taxa de reforço. Esta variação na responsividade ao reforço pode alterar a resistência à extinção, sendo que, sujeitos com maior taxa de respostas, após a suspensão do reforço apresentam maior resistência à extinção (Nevin, 2012).

Compreendendo a importância dos esquemas de reforço, na análise da resistência à mudança (Nevin, 2012), buscamos quais os esquemas de reforço utilizados nos estudos acerca da extinção na linhagem SHR, e percebeu-se que um dos esquemas mais utilizados é o de intervalo fixo (FI) (Sagvolden, Hendley & Knardahl 1992; Sagvolden et al., 1992; Sagvolden Pettersen & Larsen 1993; Sagvolden 2000). O esquema de intervalo fixo varia significativamente o número de respostas por sessão e por linhagem. A variação da taxa de respostas em FI poderia gerar maior taxa de respostas no componente de extinção, por este motivo a análise da extinção no esquema múltiplo FI-EXT utilizado em muitos estudos é dificultada (Sagvolden, Hendley & Knardahl 1992; Sagvolden et al., 1992; Sagvolden Pettersen & Larsen 1993; Sagvolden 2000), justamente pelas taxas de resposta e reforço serem significativamente diferentes entre as linhagens no componente de FI. Como, normalmente, os SHR apresentam uma maior taxa de respostas, mas também de reforços, do que os grupos controle, torna-se impossível separar a resistência à extinção atribuída às diferenças entre linhagens, do efeito atribuído às diferentes taxas de reforço e de resposta. Com isso ao estudarmos o processo de extinção seria importante controlar as taxas de resposta e de reforço nos componentes que antecedem a extinção.

O estudo de Johansen & Sagvolden (2004) utilizou esquemas VI e FI na manutenção de respostas de pressão à barra. Os autores relataram utilizar VI justamente pois este esquema

tende a produzir uma taxa de respostas mais estável, uma vez que o reforço é liberado de maneira imprevisível. Foram realizadas sessões contendo 2 componentes, um primeiro de FI 60s ou VI 15s, 30s ou 60s, e outro componente de EXT com duração de 40 minutos. As taxas de respostas, no componente de manutenção do reforço (FI ou VI) entre as linhagens se aproximaram, facilitando a análise da extinção. Os resultados demonstraram que ambas as linhagens responderam e receberam mais reforçadores no esquema FI em comparação com o VI. As taxas de respostas durante os segmentos de reforço, e no início das sessões de extinção foram estáveis para as duas linhagens. Porém, durante os segmentos finais dos componentes de extinção, a taxa de resposta e os reforços que seriam produzidos pelas respostas, mas que não foram entregues, foi superior para a linhagem SHR. Neste estudo a análise dos resultados pôde ser comparada igualmente entre as linhagens, por usarem um esquema de intervalo variável, em que as taxas de respostas entre as linhagens se aproximam. As variáveis, taxas de respostas e reforço foram isoladas, que permitiu a avaliação do componente de componente de extinção entre as linhagens. Como já visto, os dados demonstraram uma taxa de resposta próxima nos segmentos de reforço para as duas linhagens devido ao esquema de intervalo variável, mas por alternarem entre componentes de reforço e de extinção, a avaliação específica da extinção pode ter sido prejudicada, uma vez que o estudo não separou os resultados de acordo com qual esquema, e qual valor do esquema, estava em vigor.

T. Sagvolden, Metzger, e G. Sagvolden (1993) fizeram um estudo com o objetivo de analisar a relação entre a taxa de reforço e de resposta para as linhagens SHR e WKY, uma vez que tem sido proposto que a hiperatividade nos SHR e em organismos com TDAH é causada por uma alteração no processo de reforço. Os resultados indicaram que as diferenças entre as linhagens aparecem quando as taxas de respostas são mantidas por baixa frequência de reforçadores, diferentemente de quando as taxas de respostas atingem a assíntota e são

mantidas por uma alta taxa de reforço. No estudo, o esquema de reforço VI 15s foi o que mais aproximou a taxa de resposta entre as duas linhagens. Ainda segundo o estudo, nos esquemas de intervalo variável menores do que 15 s, a taxa de resposta das duas linhagens se mostrou similar. A taxa de respostas para as duas linhagens foi, em média, 25 respostas por minuto, tanto para a taxa de reforço de 4 reforços por minuto, equivalente a VI 15 s, quanto para a taxa de 8 reforços por minuto, equivalente a um VI 7,5s. Este esquema produz uma taxa de respostas constante, por não permitir que nenhuma característica de comportamento do organismo adquira propriedades discriminativas (Ferster & Skinner, 1957). Portanto, as diferenças entre as linhagens no processo de extinção seriam melhor avaliadas se tivessem taxas de respostas semelhantes. Isso pode ser obtido utilizando o esquema de VI 15s (T. Sagvolden, Metzger, e G. Sagvolden 2003) como linha de base anterior ao período de extinção. Além disso, é importante analisar o processo de extinção de forma prolongada, permitindo avaliar as etapas finais desse processo, em que jorros de resposta podem acontecer, mesmo após períodos sem respostas.

A maioria das análises de desempenho dos estudos feitos com ratos SHR, foi feita com esquemas múltiplos (Sagvolden, Hendley & Knardahl 1992; Sagvolden et al, 1992; Sagvolden Pettersen & Larsen 1993; Sagvolden 2000). Os únicos estudos que não utilizaram esquema múltiplo para analisar o processo de extinção na linhagem SHR, ou tiveram como reforço a estimulação intracraniana em vez de água e comida (Johansen & Sagvolden, 2005), ou alternaram as sessões entre segmentos de reforço e de extinção, o que não deixa de caracterizar um esquema misto ou múltiplo, caso seja sinalizado (Johansen & Sagvolden, 2004). Outro estudo que não utilizou esquema misto ou múltiplo de reforço foi o de Brackney, Cheung, Herbst, Hill e Sanabria (2012), porém os autores realizaram somente 2 sessões de extinção, desta forma não avaliando o processo de forma prolongada. Nenhum

destes estudos realizou sessões separadas e contínuas de reforço seguidas por sessões contínuas de extinção.

Um outro estudo realizado em nosso laboratório (Gonçalves, 2018, manuscrito não publicado) utilizou um procedimento diferente dos anteriores. Não foram utilizados esquemas múltiplos, e foram realizadas sessões prolongadas de extinção. O estudo consistiu na análise de desempenho de ratos SHR, WKY e WIS em um procedimento de reforço condicionado, em que, na linha de base, respostas em uma de duas barras apagavam duas luzes de estímulo por 3s (LO), e respostas em outra barra acionavam uma campainha por 3s (TONE). Após a linha de base, iniciou-se a segunda fase, de condicionamento, onde as barras foram retiradas e os sujeitos receberam pelotas de alimento, após a apresentação de LO em intervalo randômico de 45s. Após quatro sessões de condicionamento o procedimento retornou à condição de extinção em relação ao reforçador primário, como na linha de base. O procedimento foi mantido até que, por três sessões consecutivas, a média da frequência de pressão à barra estivesse igual ou abaixo da média observada na primeira fase. Este procedimento não alternou extinção e componentes de reforço, e realizou sessões prolongadas sem a apresentação de reforço, porém utilizou de reforço condicionado, e não tinha como objetivo inicial avaliar a extinção. Desta forma, foi observada a extinção de respostas operantes mantidas por reforçadores condicionados, e não mantidas pelos estímulos reforçadores primários. Os resultados demonstraram que os sujeitos da linhagem SHR, durante a extinção, não apresentaram taxas de respostas menores ou iguais à linha de base, mas aumentaram ou mantiveram a frequência de respostas bastante acima da linha de base, mesmo após 30 sessões consecutivas nessa condição. Além disso, as taxas de respostas das sessões iniciais em extinção foram similares entre as linhagens, diferenciando-se apenas após várias sessões. Em conjunto, os experimentos com os SHR apresentados anteriormente, sugerem alterações no processo de extinção, mas nenhum deles procurou avaliar a extinção de maneira isolada e

prolongada, controlando, assim, o efeito de variáveis como a taxa de reforço e a taxa de resposta.

Objetivo

O objetivo do presente projeto foi avaliar o desempenho das linhagens SHR, WKY e WIS, em um procedimento que buscou igualar a taxa de respostas e de reforços durante o condicionamento para as três linhagens assim permitindo a avaliação prolongada do processo de extinção, sem o uso de reforçadores condicionados ou esquemas múltiplos.

Método

Sujeitos

Os sujeitos foram 7 ratos da linhagem SHR, 7 da linhagem WKY e 7 da linhagem WIS, todos machos e com idade aproximada de 60 dias, provenientes do Instituto de Ciências Biomédicas - USP. Os ratos foram mantidos em gaiolas individuais e com água *ad lib* no Biotério do Laboratório Didático do Departamento de Psicologia da Faculdade de Ciências - UNESP. A privação de alimento ocorreu inicialmente para que os sujeitos atinjam 85% de seu peso *ad lib* antes dos procedimentos, em seguida, aproximadamente 16g de comida foram fornecidas diariamente após cada sessão.

Material e/ou equipamento

Foram utilizadas 6 caixas de Skinner (Lafayette Instruments, Lafayette). Cada uma equipada com uma luz na parte superior (*house light*), uma barra na parede esquerda da caixa, uma luz de estímulo, colocada acima da barra, um comedouro ligado a um compartimento no centro, à direita da barra. No compartimento do comedouro havia uma lâmpada de LED e um sensor de infravermelho. As caixas foram controladas por um computador tipo PC e através do programa ABET II (Lafayette Instruments, Lafayette).

Procedimento

Após a manipulação e o critério de peso alcançado, os ratos foram submetidos a duas sessões de treino ao comedouro. Nesta fase a luz do comedouro acendeu por até 10s indicando a disponibilidade de comida em um esquema VT 30s, ou seja, em média a cada 30s, a introdução da cabeça no receptáculo leva à liberação de uma pelota de comida, (Bio-Serv Dustless Precision Pellets, 45mg, Purified Diet). A seguir, foi realizada a modelagem manual, utilizando a técnica de reforço diferencial de aproximações sucessivas. A modelagem tem por objetivo instalar a resposta de pressão à barra alvo de modo gradativo. Neste caso, as

respostas que mais se assemelharam ao comportamento de pressionar a barra foram reforçadas com uma pelota de alimento, até que o comportamento de pressioná-la estivesse instalado. Nesta fase, as pelotas de comida foram disponibilizadas de acordo com VT 30s. Qualquer pressão à barra durante o treino ao comedouro ou a modelagem era sucedida pela disponibilidade de uma pelota de alimento. Após o comportamento de pressionar a barra estar modelado os sujeitos foram submetidos a uma sessão de CRF (do inglês *continuous reinforcement*), onde toda resposta de pressão à barra é sucedida de uma pelota de alimento. Após a modelagem e a sessão de CRF os sujeitos foram submetidos a sessões de VI 15s. No esquema VI 15s o reforço é disponibilizado caso haja resposta de pressão à barra após um intervalo de 15s, em média. A luz ambiente permaneceu ligada durante toda a sessão e a disponibilidade da pelota de alimento era sinalizada pelo acendimento da luz do comedouro por até 5s, ou até que o reforço fosse coletado. As sessões de VI ocorreram até que os sujeitos atingissem o critério de menos de 20% de variabilidade da taxa de resposta em relação à média durante 3 sessões consecutivas, em seguida se sucederam 10 sessões de extinção. Nas sessões de EXT apenas a luz ambiente permaneceu ligada e nenhuma resposta foi reforçada. Todas as sessões tiveram a duração de 45 minutos. O desempenho dos sujeitos no esquema de VI 15s durante as três sessões de estabilidade foram considerados como linha de base. Foi escolhido o esquema VI 15s já que em estudo anterior (T. Sagvolden, Metzger & G. Sagvolden, 1993) as taxas de respostas nas linhagens SHR e WKY se aproximaram.

Análise de resultados

Todos os dados foram registrados pelo sistema ABET II (*Lafayette Instruments, Lafayette*), os dados que foram utilizados na análise de resultados se referem às taxas de resposta, intervalo entre respostas (IRT) e intervalo entre reforçadores. As análises do desempenho dos sujeitos no componente de EXT foram feitas pela comparação da taxa de resposta entre as linhagens, nas 3 sessões em que o critério foi atingido no componente de VI, e a taxa de resposta nas 10 sessões de extinção. Também foi avaliada a ocorrência de jorros de resposta. Um jorro é considerado quando o organismo emite respostas com menos de 5 s de intervalo. Assim, foram avaliados os dados de duração, quantidade de respostas e taxa de iniciação ao jorro durante as sessões de extinção, comparando-se as três linhagens. A frequência de jorros, é definida pela quantidade de vezes que o sujeito inicia um jorro. A duração de cada jorro é definida como o intervalo de tempo entre a primeira resposta e a última resposta do jorro. A taxa de respostas dentro do jorro é resultante da divisão entre frequência de respostas durante os jorros, e o tempo de duração dos jorros. O comprimento do jorro é definido pelo número de respostas que ocorrem dentro de um jorro, ou seja, respostas com menos de 5 s de intervalo (Brackney et al., 2012). Todos esses parâmetros foram comparados entre os grupos SHR, WIS e WKY através de análises não paramétricas pelo método ANOVA-Type statistics (ATS), utilizando o pacote nparLD para o software de análise de dados R (Noguchi et al., 2012). Quando foram necessárias análises de comparação múltipla, utilizamos o pacote NparCOMP (Konietschke et al., 2015) também disponível no software R. Essas análises comparam estimativas de efeitos de tratamento relativos baseados em rankings, intervalos de confiança simultâneos e valores p ajustados. Para avaliar a linha de base foi utilizado o teste de Kruskal Wallis (Kruskal & Wallis, 1952), esse teste provê uma análise estatística não paramétrica que avalia as diferenças entre três ou mais amostras em uma distribuição de variáveis ordinais.

Aspectos Éticos

O presente projeto foi submetido à análise e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências – UNESP – Bauru, onde os experimentos foram realizados. Os ratos foram mantidos em biotério com o apoio de bioterista e médico veterinário. O local possui sistema de climatização e gaiolas separadas para o acondicionamento. Os sujeitos foram manipulados por pessoas com experiência, e, após, o experimento foram eutanasiados por sobrecarga de anestésico e descartados conforme recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea).

Resultado

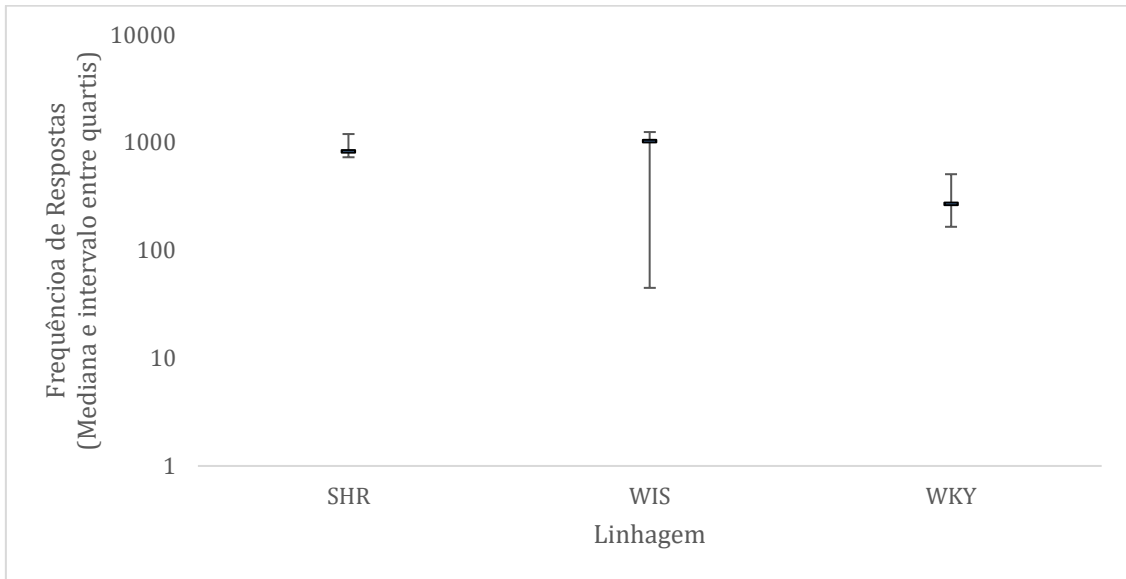


Figura 2. Mediana de respostas na barra da esquerda, referente às 3 sessões em que os sujeitos atingiram o critério, apresentada em escala logarítmica, para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 2 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis de respostas que ocorreram da barra da esquerda referentes às linhagens SHR, WIS e WKY nas 3 sessões em que o critério foi atingido. Segundo o teste de Kruskal Wallis [$KW = 4,70$; $p = 0,094$] não houve efeito de linhagem. O fato de não haver efeito de linhagem nas sessões de critério permite, além da análise relativa à linha de base, análises absolutas dos componentes de extinção. Esse resultado também está de acordo com o artigo de T. Sagvolden e G. Sagvolden (1993) o qual indica que reforços frequentes diminuem a diferença de respostas entre as linhagens SHR e WKY, no estudo supracitado, as linhagens tem as taxas de respostas igualadas quando o número de reforços por minuto é 4, ou seja VI 15.

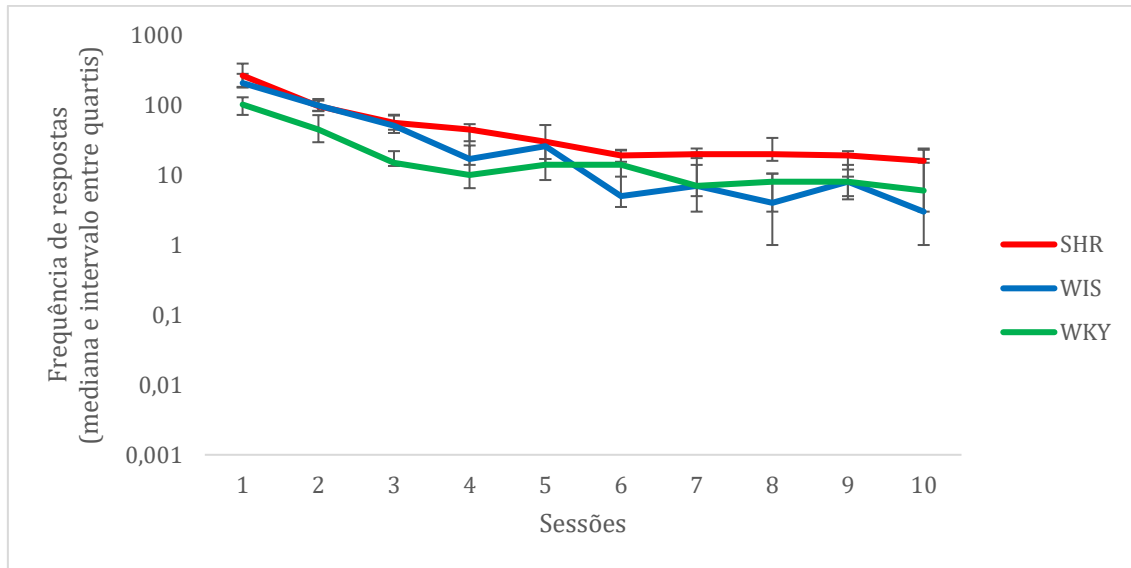


Figura 3. Frequência de respostas na barra da esquerda, apresentada em escala logarítmica, referente às 10 sessões de extinção para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 3 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis da frequência de respostas, referente à barra da esquerda, para as linhagens SHR, WIS e WKY ao longo das 10 sessões de extinção. Segundo testes do tipo ATS houve efeito principal da linhagem [ATS(1,82) = 7,83; $p < 0,001$], comparações múltiplas indicaram que a linhagem SHR respondeu mais em comparação a linhagem WIS ($p = 0,02$) e WKY ($p < 0,001$). Não houve diferença entre as linhagens WIS e WKY ($p = 0,38$). Houve efeito principal de sessão [ATS(4,67) = 40,75; $p < 0,001$], porém não houve interação [ATS(7,23) = 1,80; $p = 0,08$]. Uma vez que não houve interação, o efeito principal da sessão indica apenas uma diminuição na frequência de respostas ao longo das sessões, não necessitando de comparações múltiplas. Desta forma os resultados que indicarem somente efeito de sessão e sem interação não terão as comparações múltiplas demonstradas no presente texto.

É interessante notar que na fase de critério (Figura 2) não houve efeito principal de linhagem, ao contrário do que aconteceu na extinção (Figura 3). O que indica que quando comparada às linhagens controle, a linhagem SHR responde mais, principalmente na fase de extinção, esta frequência de respostas dos SHR superior é compatível com o estudo de

Brackney, et al. (2012), onde houve uma taxa de resposta maior e um número de jorros também superior para os SHR em comparação à linhagem WKY, durante a extinção.

O fato de não haver efeito de linhagem no critério (Figura 2) permitiu que fossem realizadas análises absolutas e relativas dos resultados. A análise absoluta permite avaliar a medida em si, enquanto a análise relativa pondera o resultado em relação às medidas realizadas durante as sessões em que o critério foi atingido. Outro motivo para termos realizado a análise absoluta foi a possibilidade de comparação com o estudo de Brackney, et al. (2012) em que a análise de jorros no processo de extinção foi realizada a partir de dados absolutos.

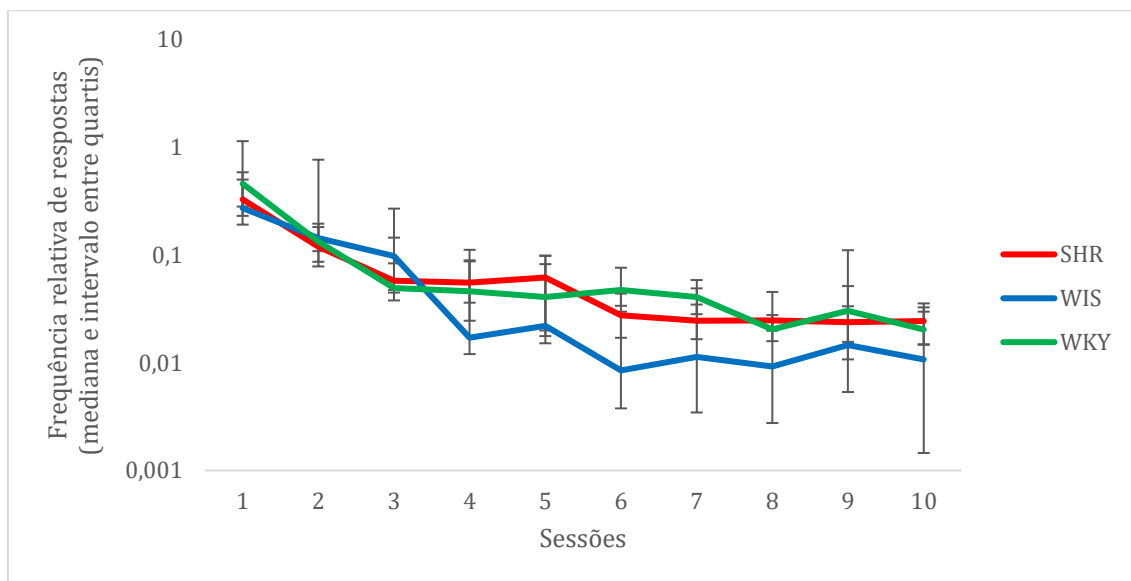


Figura 4. Frequência relativa de respostas na barra da esquerda, referente às 10 sessões de extinção, apresentada em escala logarítmica, para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A figura 4 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis da frequência de respostas referente às 10 sessões de extinção em uma análise relativa ao desempenho das três linhagens durante as sessões de critério. Os testes do tipo ATS não apresentaram efeito principal de linhagem [ATS(1,76) = 0,14; $p = 0,841$]. Houve efeito principal de sessão [ATS(3,98) = 30,77; $p < 0,001$], porém sem interação [ATS(5,78) = 0,82; $p = 0,55$]. A linhagem WIS

apresenta uma frequência de respostas superior no início da fase de extinção, mas a partir da sessão 5 se aproxima das linhagens SHR e WKY até o fim do procedimento. Esta análise indica que não existe diferença entre as linhagens quando comparadas as frequências de respostas da extinção relativas às medianas das sessões de critério.

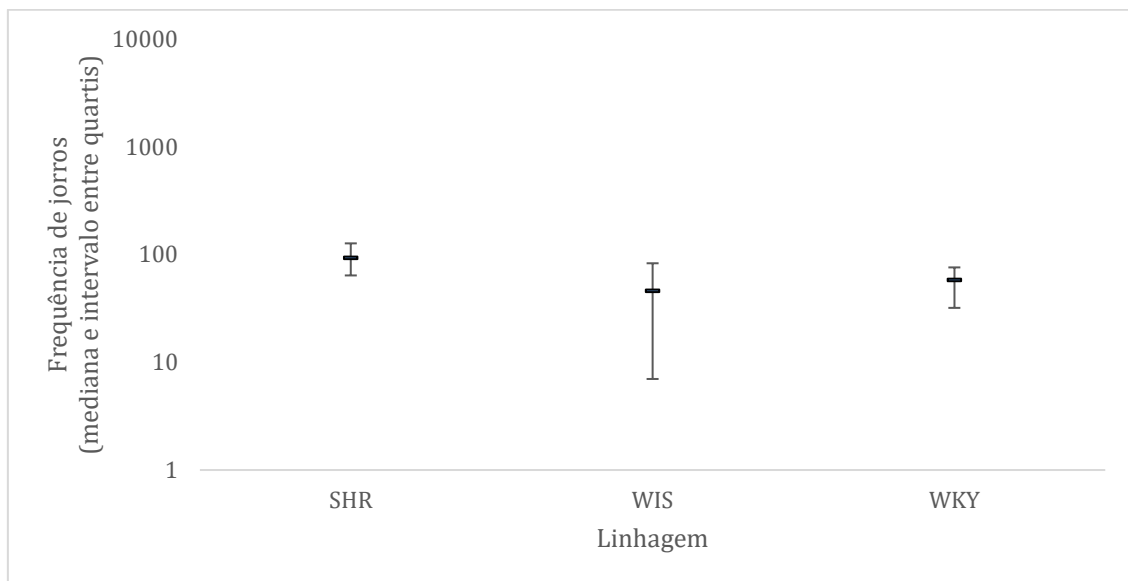


Figura 5. Frequência de Jorros, apresentada em escala logarítmica, referente às 3 sessões em que os sujeitos atingiram o critério para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 5 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis da frequência de jorros na barra da esquerda referente às linhagens SHR, WIS e WKY nas 3 sessões em que o critério foi atingido. Segundo o teste de Kruskal Wallis [$KW = 3,70$; $p = 0,16$] não houve efeito de linhagem. A frequência de jorros emitidos pelas linhagens foi similar durante as sessões de critério.

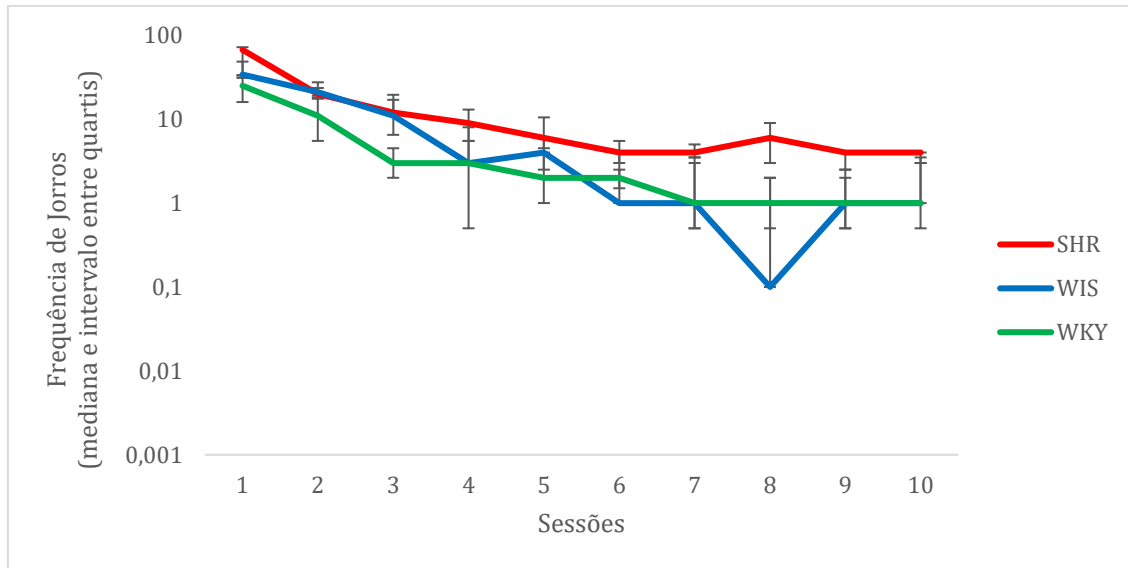


Figura 6. Frequência de Jorros, apresentada em escala logarítmica, referentes às sessões de extinção para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A figura 6 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis referentes a frequência de jorros para as linhagens SHR, WIS e WKY ao longo das 10 sessões de extinção. Para avaliar a frequência de jorros, de acordo com os testes do tipo ATS, houve efeito principal de linhagem [ATS(1,93) = 9,19; $p < 0,001$], testes de comparação múltipla mostraram a linhagem SHR com uma mediana de jorros maior em comparação com WIS ($p = 0,004$) e WKY ($p < 0,001$), mas sem diferença quando comparados WIS e WKY ($p = 0,52$). Também houve efeito principal de fase [ATS(4,88) = 38,83; $p < 0,001$], porém não houve interação [ATS(7,79) = 1,60; $p = 0,12$].

Observa-se que a queda da frequência de jorros da linhagem SHR e WIS é mais acentuada do que na Figura 3, onde a queda da mediana de respostas cai de forma menos acentuada. Apesar de uma queda mais acentuada, as linhagens SHR e WIS tem as frequências aproximadas nas três primeiras sessões, enquanto a frequência da linhagem WKY decai mais rapidamente até a sessão 3. A frequência de jorros das três linhagens se aproximam entre as sessões 4 e 7, somente se diferenciando para a linhagem SHR na sessão 8.

Esta análise permite avaliar que a linhagem SHR emite mais jorros do que as duas linhagens controle, ou seja, responde com menor intervalo entre respostas, mais frequentemente. A linhagem SHR com uma média de jorros acima da linhagem WKY está de acordo com a literatura, por exemplo no estudo de Brackney, et al. (2012), a média de jorros da linhagem SHR foi 3 vezes superior comparada a linhagem WKY porém nesse estudo não foi utilizada a linhagem WIS.

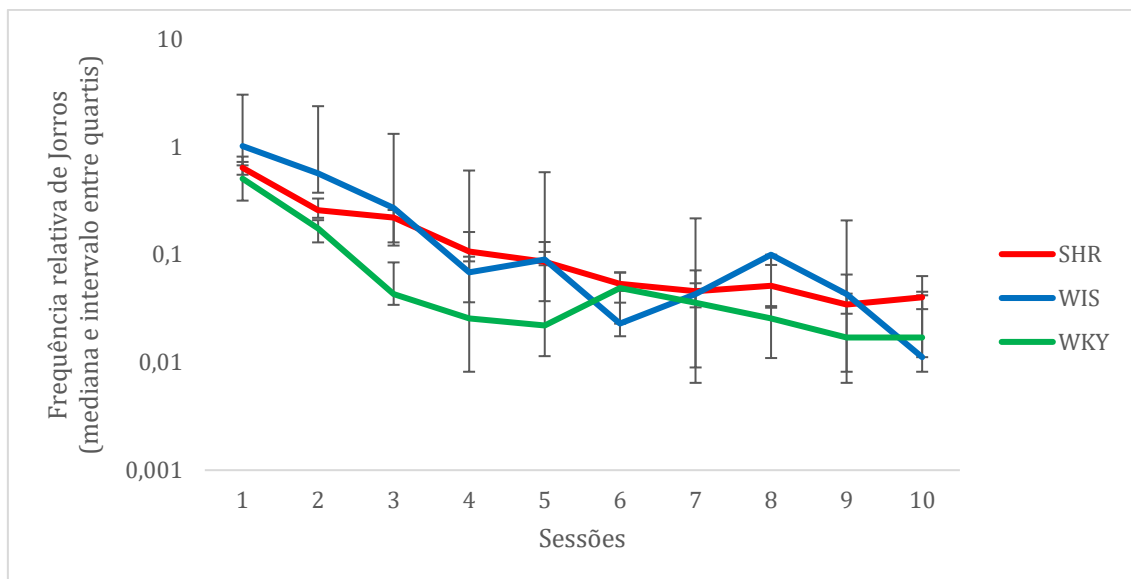


Figura 7. Frequência relativa de Jorros apresentada em escala logarítmica, referentes às sessões de extinção, para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 7 apresenta os dados de mediana, primeiro e terceiro quartis da frequência relativa à linha de base de jorros emitidos pelas três linhagens ao longo das 10 sessões de extinção. Os testes do tipo ATS para avaliar a frequência de jorros não indicaram efeito principal de linhagem [$ATS(1,84) = 1,80; p = 0,169$] e indicaram efeito de sessão [$ATS(4,11) = 25,76; p > 0,001$]. Os testes ATS mostraram que não houve interação [$ATS(5,88) = 1,31; p = 0,25$].

Assim como na primeira análise relativa da Figura 4, vemos nesta Figura 7 a linhagem WIS com uma média inicialmente superior, mas a partir da sessão 5 se aproximando das

linhagens SHR e WKY. A figura 7 indica que quando comparada a frequência de jorros em relação a linha de base de cada linhagem, não existem diferenças significativas.

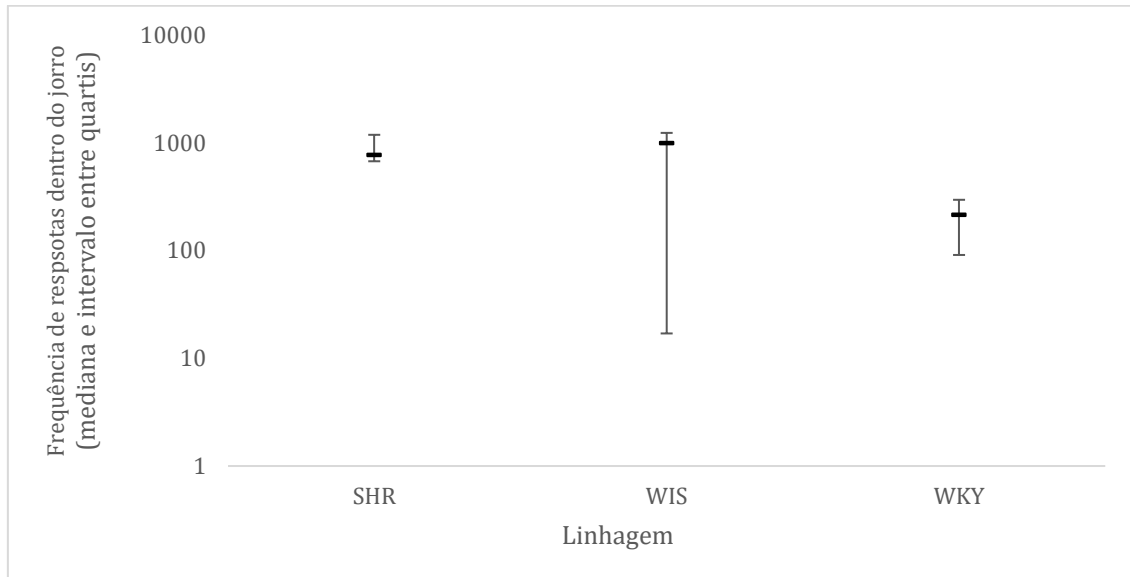


Figura 8. Frequência de respostas dentro do jorro na barra da esquerda (respostas com menos de 5s de intervalo), apresentada em escala logarítmica, referentes às sessões em que os sujeitos atingiram o critério para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A figura 8 apresenta os dados da mediana, primeiro e terceiro quartis da frequência de respostas dentro do jorro, ou seja, respostas que ocorreram com IRT menor do que 5 s, durante as sessões em que o critério foi atingido para as 3 linhagens. Segundo o teste de Kruskal Wallis [$KW = 5,04$; $p = 0,078$] não houve diferença entre as linhagens. Portanto, na fase de critério, as 3 linhagens respondem de forma similar quando as respostas são em jorros.

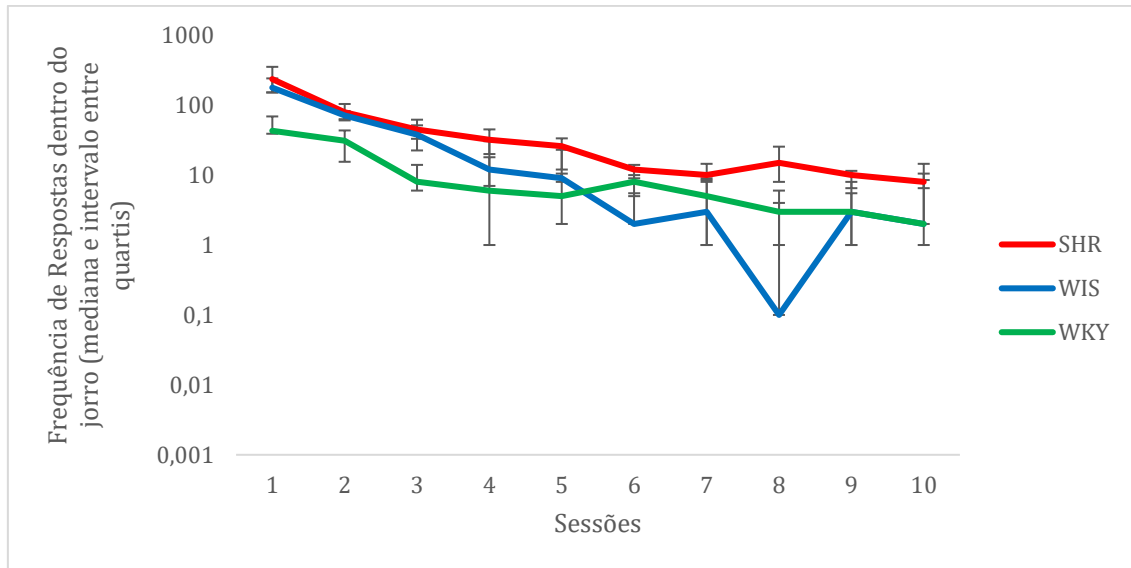


Figura 9. Frequência de respostas dentro do jorro na barra da esquerda (respostas com menos de 5s de intervalo), apresentada em escala logarítmica, referentes às sessões de extinção para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 9 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis de respostas dentro do jorro na barra da esquerda para as linhagens SHR, WIS e WKY nas 10 sessões de extinção. Avaliando as respostas dentro do jorro, os testes ATS demonstraram que houve efeito principal de linhagem [ATS(1,92) = 9,03; $p < 0,001$], comparações múltiplas indicaram a linhagem SHR com uma mediana de respostas maior em comparação com a linhagem WIS ($p = 0,012$) e WKY ($p < 0,001$), sem diferença entre WIS e WKY ($p = 0,34$). Também houve efeito de fase [ATS(4,79) = 36,41; $p < 0,001$] porém não houve interação [ATS(7,60) = 1,77; $p = 0,08$]. A frequência de respostas da linhagem WKY é inferior às das linhagens SHR e WIS nas 3 primeiras sessões, mas todas as medianas são aproximadas a partir da sessão 5. A linhagem SHR apresentou frequência de respostas ligeiramente superior durante todas as sessões de extinção.

A frequência de respostas dentro do jorro superior da linhagem SHR é consistente com a literatura que indica esta linhagem emitindo mais jorros e respondendo mais dentro do jorro do que a WKY (Brackney, et al. 2012).

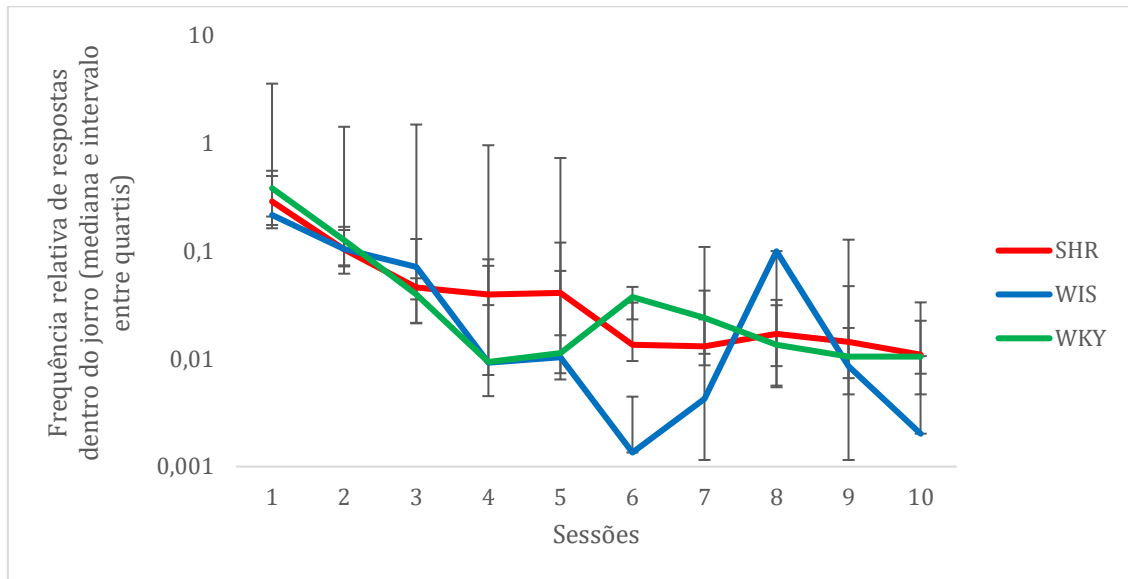


Figura 10. Frequência relativa de respostas dentro do jorro na barra da esquerda (respostas com menos de 5s de intervalo), referentes às sessões de extinção, apresentada em escala logarítmica, para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

Para avaliar a frequência relativa de respostas que ocorrem dentro do jorro, os testes do tipo ATS apontam que não houve efeito principal de linhagem [ATS(1,85) = 0,36 $p = 0,682$] e que houve efeito de sessão [ATS(3,99) = 22,16 $p < 0,001$] mas sem interação [ATS(5,33) = 1,32 $p = 0,25$]. As três linhagens iniciam com um padrão similar de respostas até a sessão 4, onde a linhagem SHR fica aparentemente acima das linhagens WIS e WKY, que voltam a se aproximar na sessão 9. Nenhuma das três linhagens respodem acima da linha de base durante a extinção. Novamente quando as médias são avaliadas relativamente à linha de base não há diferença entre as linhagens.

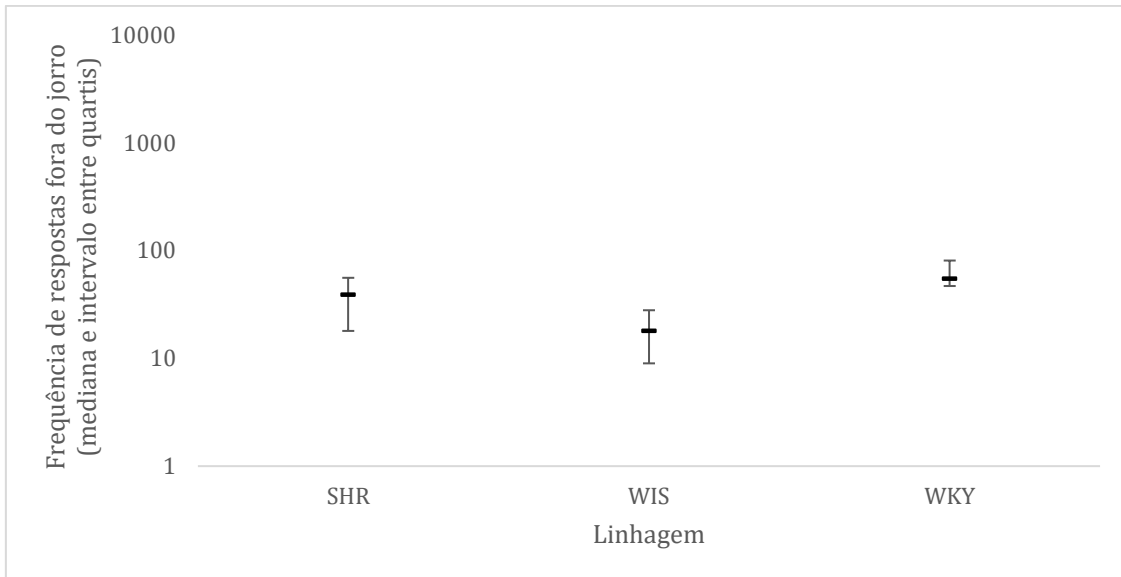


Figura 11. Frequência de respostas fora do jorro na barra da esquerda (respostas com mais de 5s de intervalo), apresentada em escala logarítmica, referentes às sessões em que os sujeitos atingiram o critério para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A figura 11 apresenta os dados da mediana, primeiro e terceiro quartis da frequência de respostas fora do jorro, ou seja, respostas que ocorreram com mais de 5s de intervalo, nas sessões de critério para as 3 linhagens. Segundo o teste de Kruskal Wallis [KW = 5,04; $p = 0,003$] houve efeito de linhagem, com a linhagem WKY com uma média superior a linhagem WIS ($p = 0,005$), mas sem diferença entre WKY e SHR ($p = 0,394$) e WIS e SHR ($p = 0,304$). A análise da frequência de respostas fora do jorro indica as respostas são feitas com um intervalo maior do que 5s, conforme dito anteriormente, isso indica que a linhagem WKY responde mais frequentemente de maneira espaçada quando comparada à linhagem WIS. Esta análise também indica que as três linhagens respondem mais com intervalo entre respostas curtos (Figura 8) do que longos (Figura 11).

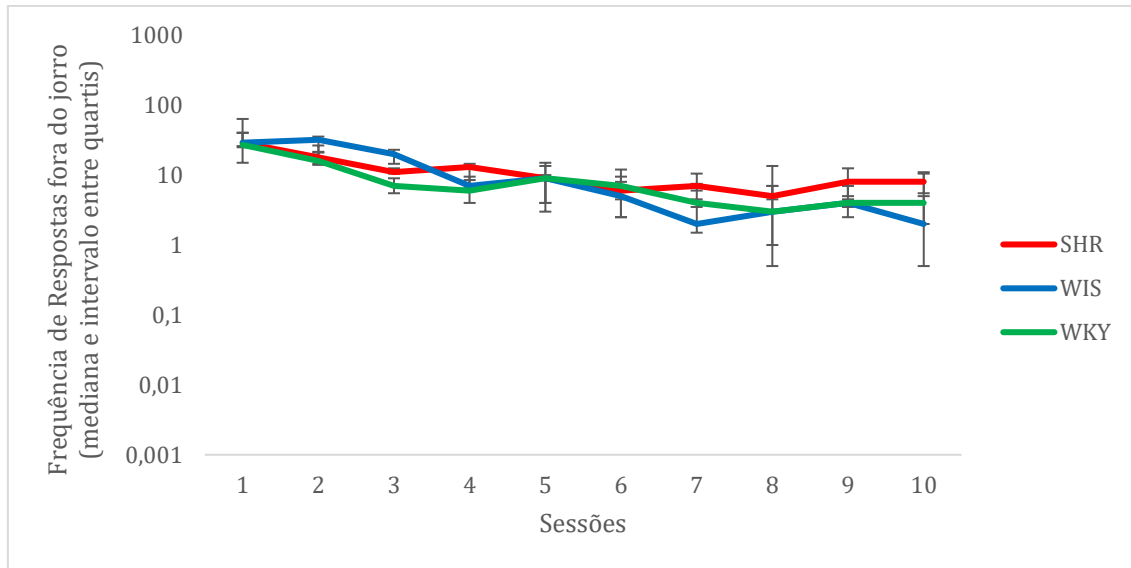


Figura 12. Frequência de respostas fora do jorro na barra da esquerda (respostas com mais de 5s de intervalo), apresentada em escala logarítmica, referentes às sessões de extinção para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 12 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis da frequência de respostas fora do jorro para as linhagens SHR, WIS e WKY ao longo das 10 sessões de extinção. Para avaliar as respostas fora do jorro, os testes do tipo ATS não indicaram efeito de linhagem [ATS(1,66) = 1,90; $p = 0,16$], e indicaram efeito de sessão [ATS(5,02) = 24,87; $p = < 0,001$] porém sem interação [ATS(7,71) = 1,28; $p = 0,25$]. As respostas fora do jorro (Figura 12) ou seja, que ocorrem com um intervalo maior de 5s, são aproximadas para as três linhagens durante quase todo o processo de extinção. Comparando-se as Figuras 9 e 12, nota-se que as respostas para as 3 linhagens ocorrem mais em jorros do que fora dos jorros. As três linhagens respondem de forma similar fora do jorro (Figura 12).

As respostas da linhagem SHR e WIS são emitidas mais dentro do jorro (figura 9) do que fora do jorro (figura 12) indicando que o padrão de respostas se dá com pequenos intervalos, diferentemente da linhagem WKY que continua respondendo, porém em um padrão com maior intervalo entre respostas.

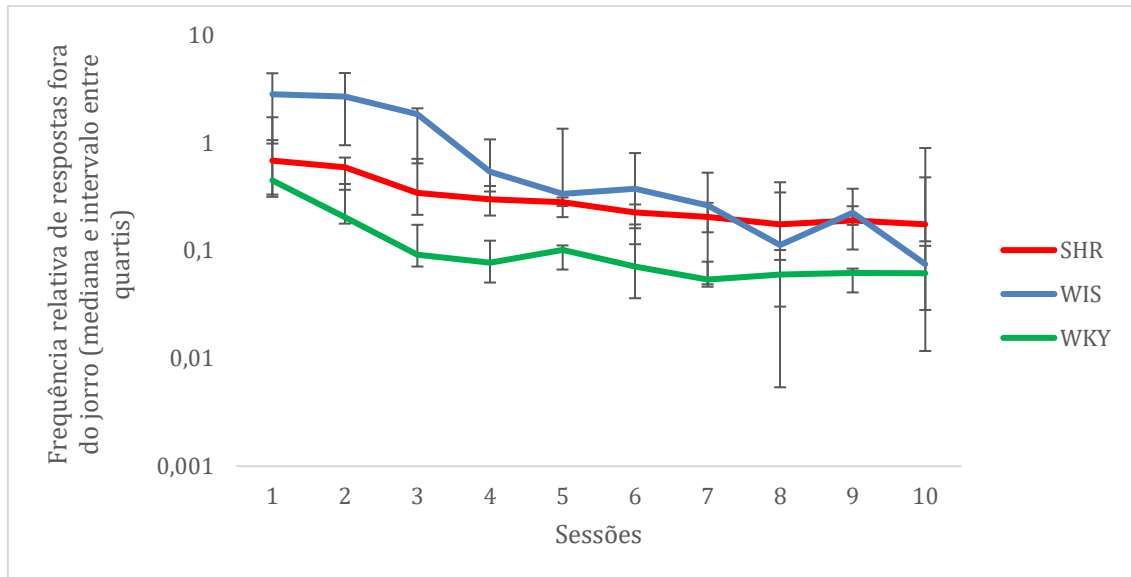


Figura 13. Frequência relativa de respostas que ocorrem fora do jorro na barra da esquerda (respostas com mais de 5s de intervalo), referentes às sessões de extinção, apresentada em escala logarítmica, para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

Para analisar a frequência relativa de respostas que ocorrem fora do jorro os testes ATS, demonstraram efeito principal de linhagem [$ATS(1,52) = 6,68$; $p = 0,003$], comparações múltiplas indicaram a linhagem SHR com média superior à linhagem WKY ($p < 0,001$) e a linhagem WIS com média superior a linhagem WKY ($p < 0,001$), porém não indicaram diferença entre as linhagens SHR e WIS ($p = 0,466$). Os testes ATS indicaram efeito principal de sessão [$ATS(4,66)=20,97$; $p < 0,001$], mas sem interação [$ATS(6,44) = 1,52$; $p = 0,16$]. Importante notar que até a sessão 7 a linhagem WIS teve sua frequência de respostas acima da linha de base. Os resultados da figura 13 indicam que quando a frequência de resposta é comparada relativamente ao critério, as linhagens se diferenciam, diferentemente do que ocorre na figura 13 onde não houve efeito principal de linhagem. A mediana de respostas com mais de 5s de intervalo diminui para todas as linhagens, porém diminui mais para a linhagem WKY do que para SHR e WIS.

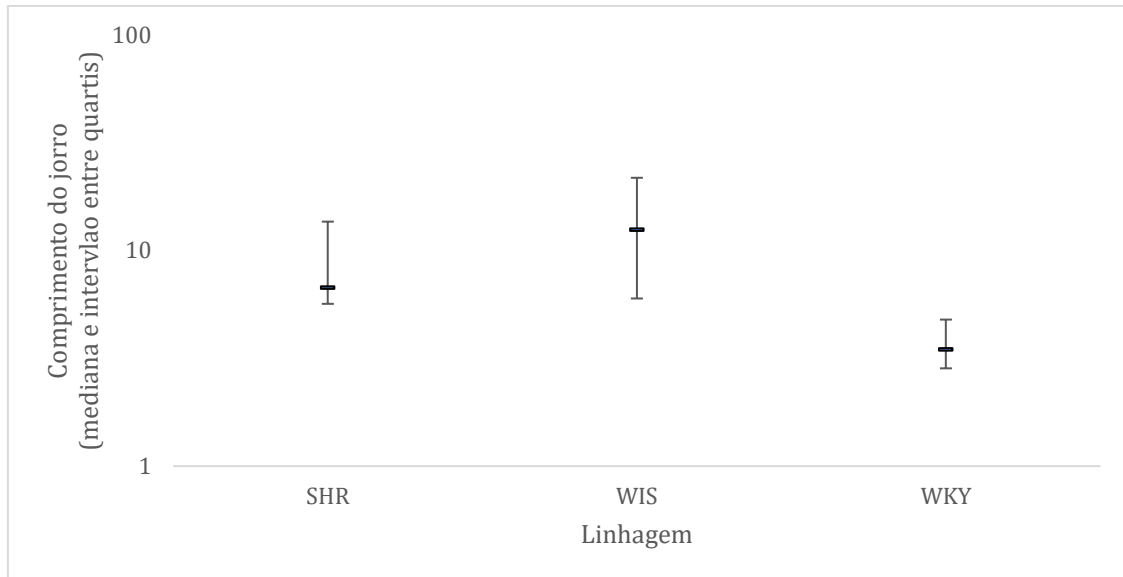


Figura 14. Comprimento do jorro na barra da esquerda referentes às 3 sessões de critério para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

Nesta Figura 14 é possível observar o comprimento do jorro, ou seja, quantas respostas ocorrem em média por jorro, durante as 3 sessões de critério referentes às linhagens SHR, WIS e WKY. Segundo o teste de Kruskal Wallis [KW = 8,10; $p = 0,012$] houve diferença entre as linhagens. A linhagem WIS teve um comprimento de jorro maior do que a linhagem WKY ($p = 0,029$), porém não houve diferença entre as linhagens SHR e WIS ($p = 0,999$) e SHR e WKY ($p = 0,060$).

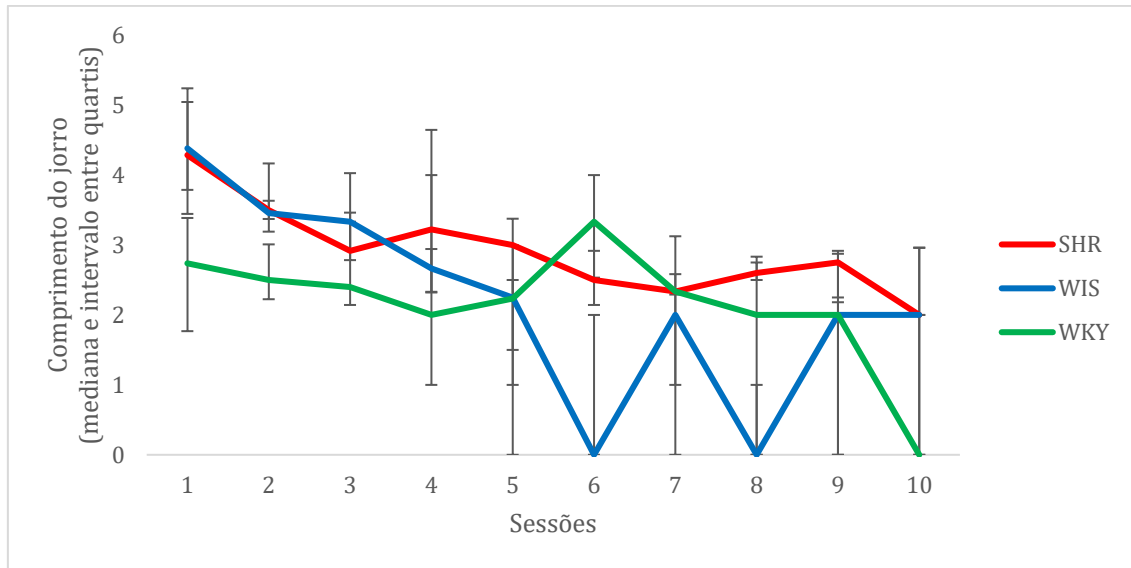


Figura 15. Comprimento do jorro na barra da esquerda referentes às sessões de extinção para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 15 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis do comprimento do jorro referente à barra da esquerda nas sessões de extinção para as linhagens SHR, WIS e WKY. Este dado indica a mediana das respostas que ocorrem por jorro. Os testes do tipo ATS não indicaram efeito principal de linhagem [ATS(1,80) = 2,63; $p = 0,080$]. Houve efeito de sessão [ATS(4,66) = 20,97; $p < 0,001$], mas sem interação [ATS(1,52) = 6,44; $p = 0,16$].

Inicialmente as linhagens SHR e WIS apresentam comprimento aparentemente igual e WKY abaixo, mas o comprimento do jorro da linhagem WIS continua decaindo de forma sistemática até a quinta sessão, e então as frequências de respostas das três linhagens oscilaram sem padrão claro.

Durante a extinção a linhagem WIS se equipara as linhagens SHR e WKY, diferentemente do que ocorreu no critério (figura 14), indicando que o processo de extinção fez o comprimento dos jorros da linhagem WIS diminuir mais do que para as outras duas linhagens.

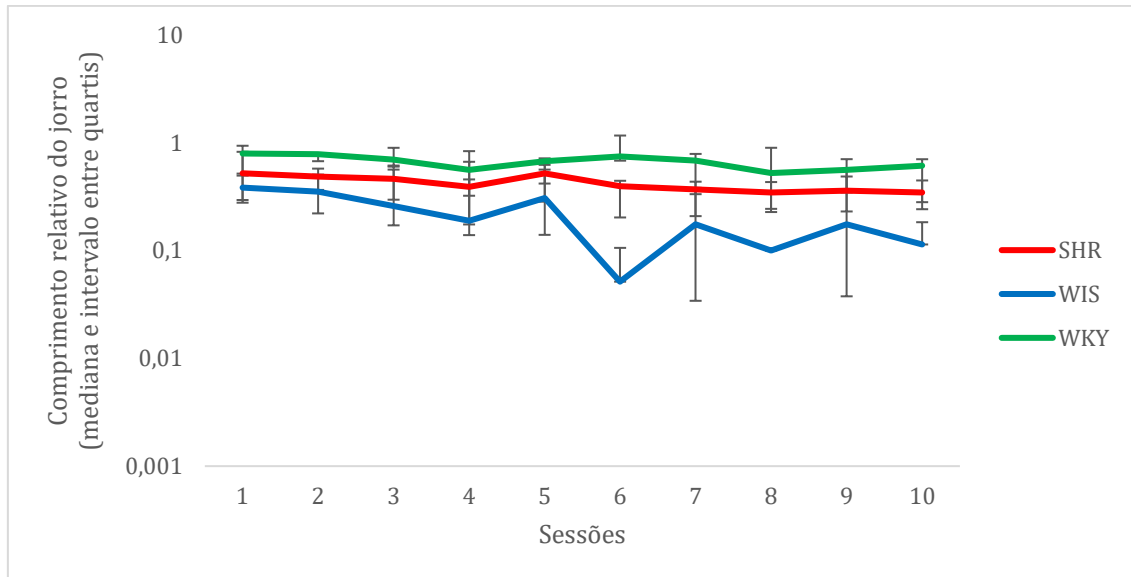


Figura 16. Comprimento relativo do jorro na barra da esquerda referentes às sessões de extinção, apresentada em escala logarítmica, para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

Avaliando o comprimento relativo do jorro, os testes ATS, demonstraram efeito principal de linhagem [$ATS(1,71) = 4,25$; $p = 0,02$], Testes múltiplos indicam que a linhagem WKY apresentou um comprimento relativo de jorros superior em comparação com SHR ($p = 0,001$) e WIS ($p < 0,001$), e a linhagem SHR teve uma mediana superior a linhagem WIS ($p = 0,022$). Os testes também apresentaram efeito de sessão [$ATS(4,25) = 2,90$; $p = 0,02$], porém sem efeito de interação [$ATS(4,94) = 1,14$; $p = 0,33$].

Os dados da Figura 16 indicam que a o comprimento relativo do jorro da linhagem WKY decai menos durante a extinção do que das linhagens SHR e WIS, a queda da frequência de respostas é menos acentuada para a linhagem WKY do que para SHR, sendo está menos acentuada do que para os WIS.

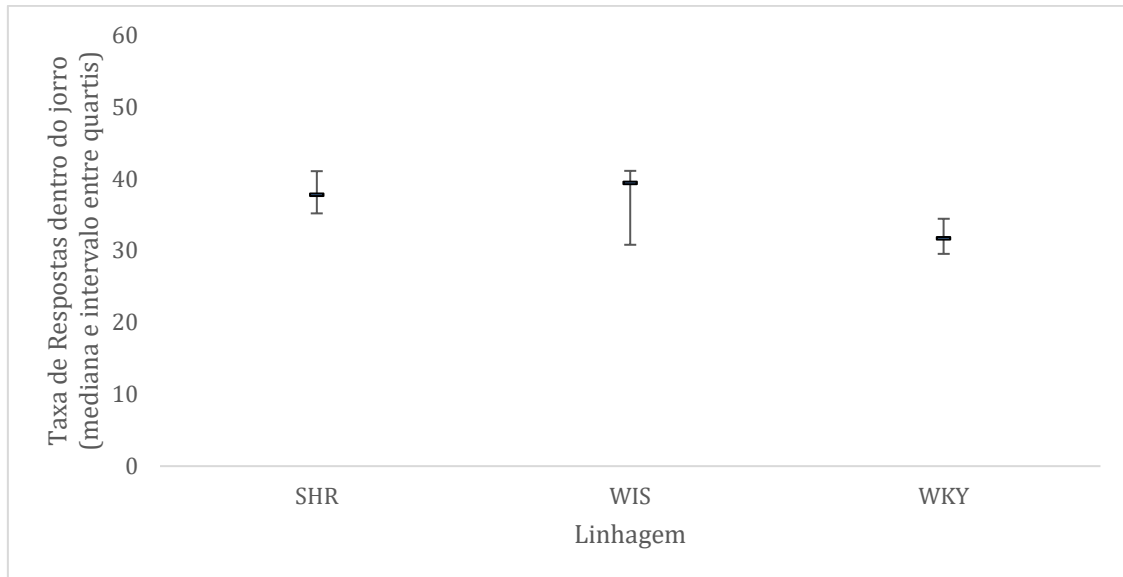


Figura 17. Taxa das respostas por minuto que ocorrem dentro do jorro na barra da esquerda referentes às 3 sessões de critério para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A figura 17 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis da taxa de respostas da barra da esquerda que ocorrem no jorro, ou seja, o total de respostas que ocorrem dentro do jorro, dividido pela duração do jorro nas 3 sessões de critério referentes às linhagens SHR, WIS e WKY. Segundo o teste de Kruskal Wallis [$KW = 4,15$; $p = 0,125$] não houve efeito de linhagem, as 3 linhagens responderam de forma similar durante as sessões de critério.

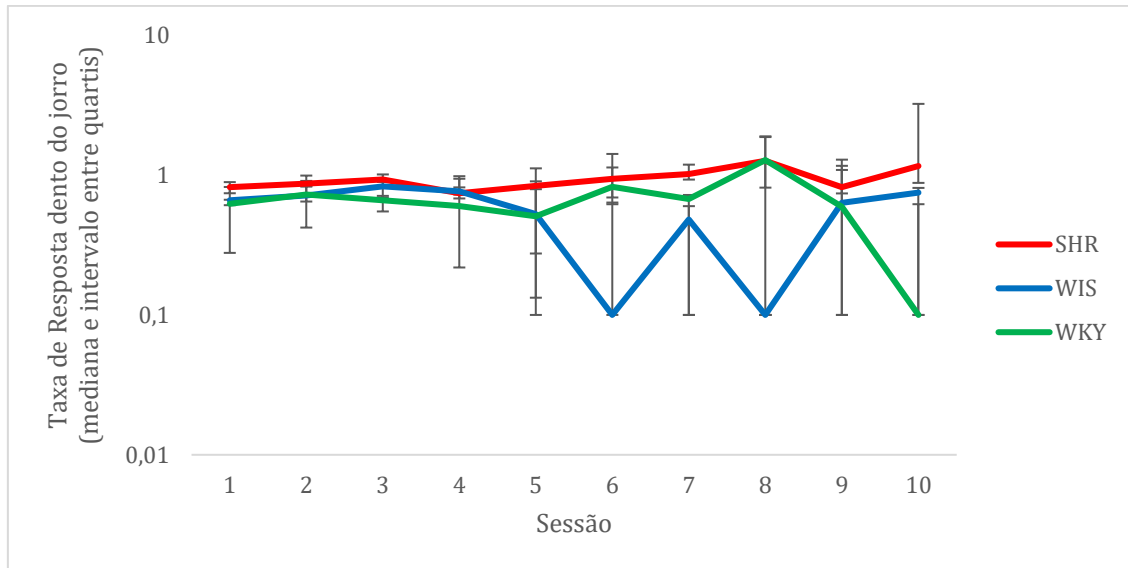


Figura 18. Taxa de respostas dentro do jorro nas sessões de extinção, apresentada em escala logarítmica, para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 18 apresenta a mediana, primeiro e terceiro quartis da taxa de respostas no jorro, referentes às linhagens SHR, WIS e WKY. Os testes ATS indicaram efeito principal das linhagens [ATS(1,73) = 13,95; $p < 0,001$]. Os testes para comparação múltipla indicam a linhagem SHR com uma frequência de respostas maior em comparação a WIS ($p < 0,001$) e WKY ($p < 0,001$) porém não indicaram efeito entre WIS e WKY ($p = 0,97$). Os testes ATS também indicaram que não houve efeito de fase [ATS(5,28) = 0,88; $p = 0,49$] nem interação [ATS(7,67) = 1,40; $p = 0,19$]. À medida que as sessões decorrem, a variabilidade da taxa de respostas aumentou, porém é observada uma maior variabilidade na taxa de respostas das linhagens SHR e WKY se comparadas a linhagem WIS.

Uma taxa de respostas por jorro maior indica que a linhagem SHR responde mais rápido quando está emitindo um jorro, do que as linhagens controle, sendo este um componente que pode indicar hiperatividade.

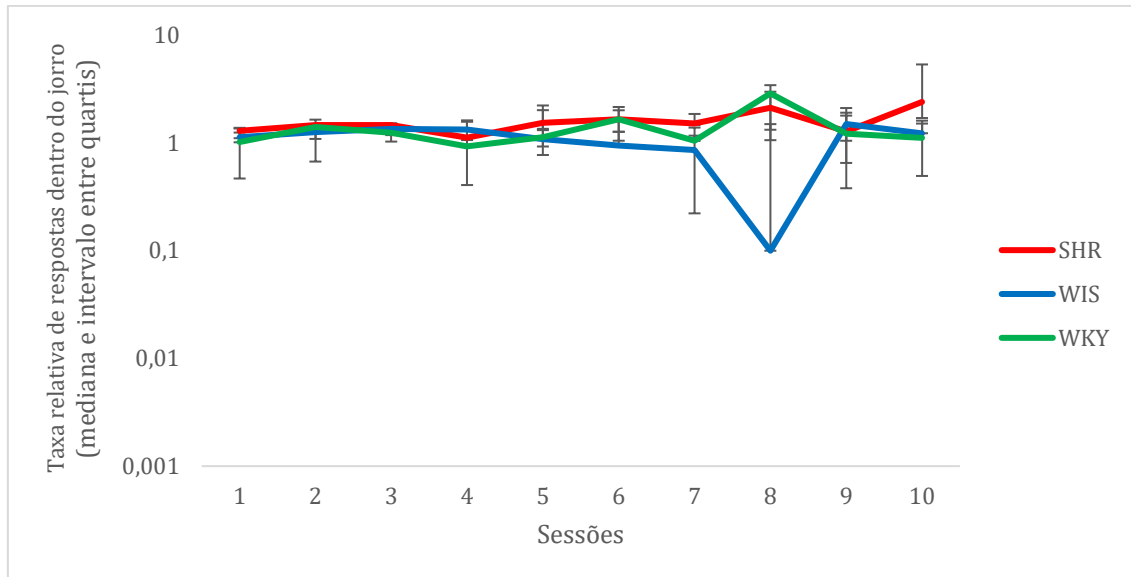


Figura 19. Taxa relativa das respostas que ocorrem dentro do jorro nas sessões de extinção, apresentada em escala logarítmica, para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

Para avaliar a taxa relativa de respostas dentro do jorro, os testes ATS demonstraram efeito principal de linhagem [ATS(1,83) = 4,52; $p = 0,013$] Com a linhagem SHR com menor alteração em relação a linha de base, em comparação com WIS ($p < 0,001$) e WKY ($p = 0,003$), mas sem diferenças entre WIS e WKY ($p = 0,510$). Os testes ATS também indicaram que não houve efeito de sessão [ATS(5,21) = 0,87; $p = 0,50$], nem interação [ATS(7,66) = 1,08; $p = 0,37$]. A frequência de respostas das linhagens se manteve estável durante a fase de extinção, somente com os SHR respondendo mais do que as linhagens controle, mas não houve aumento nem diminuição expressiva quando comparadas às linhas de base de cada uma.

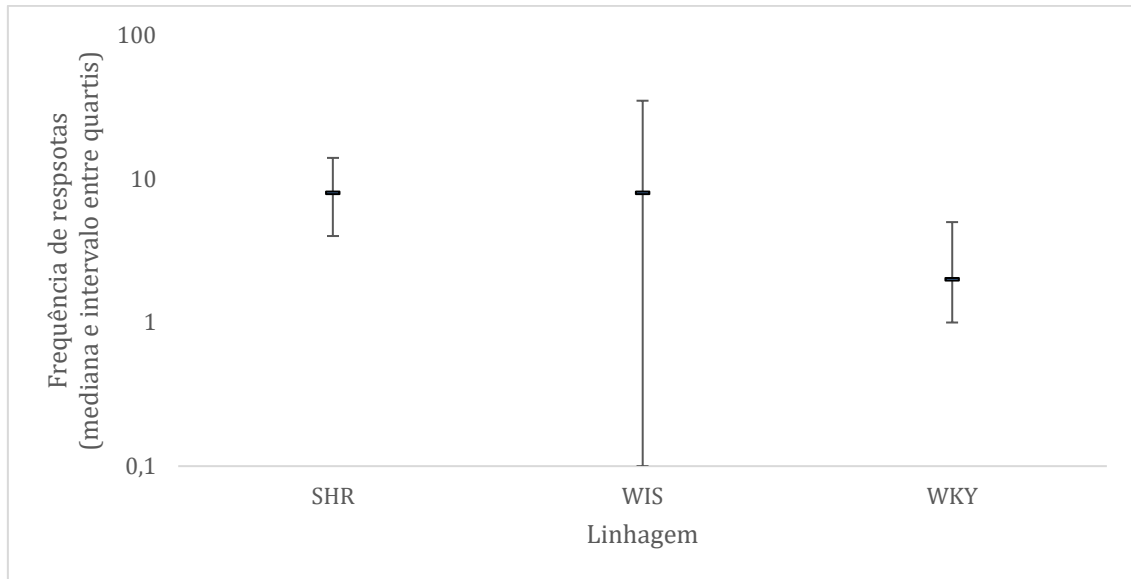


Figura 20. Frequência de respostas na barra da direita nas 3 sessões de critério, apresentada em escala logarítmica para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A Figura 20 apresenta a frequência de respostas, primeiro e terceiro quartis para as linhagens SHR, WIS e WKY, como na Figura 2, porém a Figura 10 se refere à barra da direita que não tinha nenhuma consequência programada. Segundo o teste de Kruskal Wallis [KW = 1,57; $p = 0,475$] não houve efeito de linhagem, as 3 linhagens responderam de forma similar na barra da direita durante as sessões de critério.

Na Figura 2 a escala máxima era 10000, na Figura 20 é 100, demonstrando que houve mais respostas na barra da esquerda do que na direita nas sessões de critério.

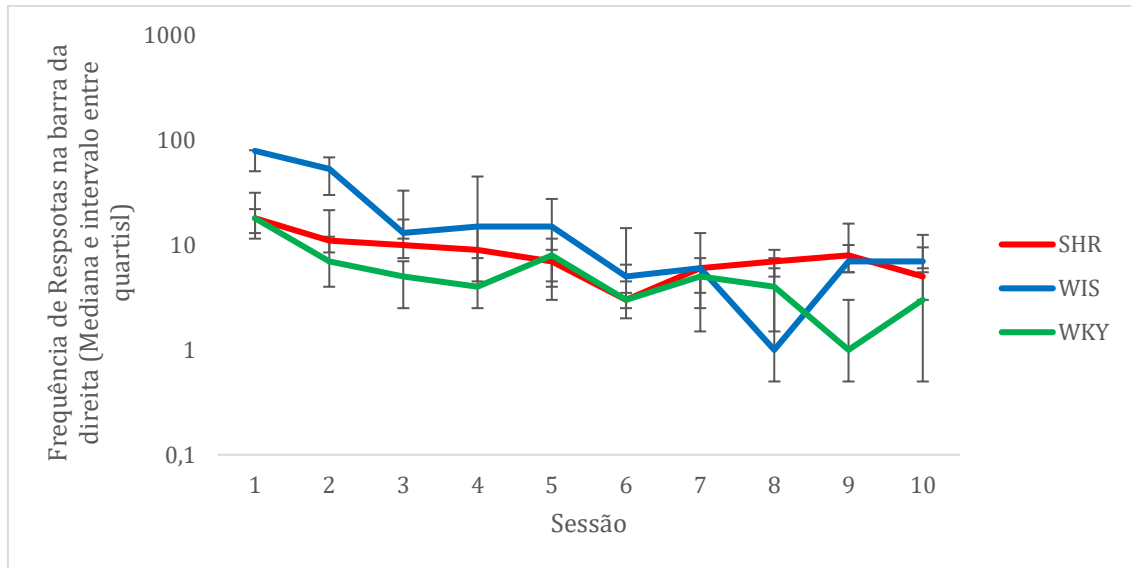


Figura 21. Frequência de respostas na barra da direita, apresentada em escala logarítmica, nas sessões de extinção para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A figura 21 apresenta a frequência de respostas na barra da direita durante as 10 sessões de extinção. Os testes ATS demonstraram que não houve efeito principal de linhagem [ATS(1,89) = 2,02; $p = 0,135$]. Os testes ATS também indicaram que houve efeito de sessão [ATS(5,68) = 8,80; $p < 0,001$], mas sem interação [ATS(8,05) = 0,91; $p = 0,505$]. Respostas na barra da direita, que nunca foram reforçadas durante todo o procedimento, podem ser consideradas como medida de variação comportamental, um aumento de respostas nesta barra seria esperado a partir de um padrão da extinção típico (Ferster & Skinner 1957). Importante notar que desta vez é a frequência de respostas da linhagem SHR que decai e se aproxima da frequência da linhagem WKY.

As linhagens tiveram suas taxas de respostas estáveis e aproximadas entre si durante o critério. Porém quando observamos os dados da extinção, vemos mais respostas para a linhagem WIS do que para as linhagens SHR e WKY nas três primeiras sessões, indicando um provável déficit neste aspecto da extinção para as linhagens modelo de TDAH.

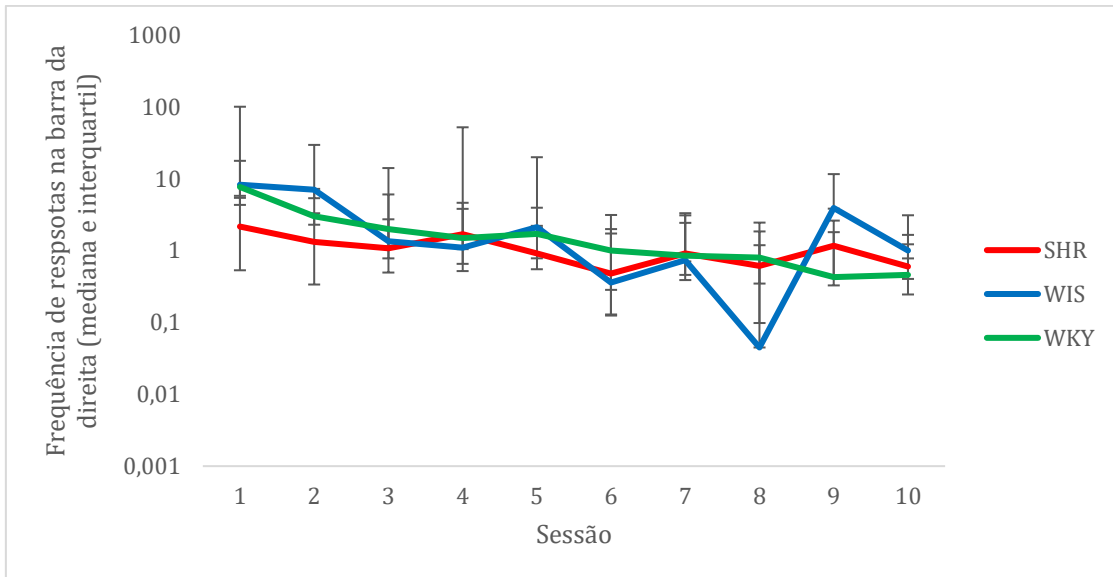


Figura 22. Frequência relativa de respostas na barra da direita, apresentada em escala logarítmica, nas sessões de extinção para as linhagens SHR (N=7), WIS (N=7) e WKY (N=7).

A figura 22 apresenta os dados da mediana, primeiro e terceiro quartis da frequência relativa de respostas na barra da direita. Os testes ATS demonstraram que não houve efeito principal de linhagem [ATS(1,89) = 2,02; $p = 0,135$]. Os testes ATS também indicaram que houve efeito de sessão [ATS(5,68) = 8,80; $p < 0,001$], mas sem interação [ATS(8,05) = 0,91; $p = 0,505$]. Estes resultados indicam uma frequência maior na extinção do que na linha de base, o que sugere variabilidade durante a extinção, pois conforme dito acima, respostas nessa barra nunca foram reforçadas.

Discussão

Tabela 1

Comparação entre as linhagens nos parâmetros que tiveram efeito estatístico

Parâmetro	SHR x WIS	SHR x WKY	WKY x WIS
Dados Absolutos			
Número de jorros	SHR > WIS	SHR > WKY	WKY = WIS
Respostas	SHR > WIS	SHR > WKY	WKY = WIS
Respostas dentro do jorro	SHR > WIS	SHR > WKY	WKY = WIS
Taxa de respostas dentro do jorro	SHR > WIS	SHR > WKY	WKY = WIS
Dados Relativos			
Comprimento do jorro	SHR > WIS	SHR < WKY	WKY > WIS
Respostas fora do jorro	SHR = WIS	SHR > WKY	WKY < WIS
Taxa de respostas dentro do jorro	SHR > WIS	SHR > WKY	WKY = WIS

Em síntese, para as análises dos parâmetros absolutos, durante a extinção, foram observados efeitos de linhagem quando os ratos da linhagem SHR são comparados com as outras duas linhagens nos seguintes parâmetros: Frequência de respostas, frequência de jorros, respostas dentro do jorro e na taxa de resposta dentro do jorro como visto na Tabela 1.

Detalhando cada uma das diferenças encontradas, podemos sugerir as seguintes

interpretações: o número de jorros maior indica que a linhagem SHR se engajou em respostas de curto IRT mais vezes do que as linhagens controle. As Respostas dentro do jorro com maior frequência para os SHR indicam maior número de respostas com IRT curto, e mais precisamente, podemos ver uma alta velocidade de respostas para a linhagem SHR na taxa de respostas no jorro, pois neste parâmetro são retiradas as pausas entre respostas maiores do que 5 s do cálculo da taxa, indicando que, além de responder mais frequentemente em jorros, a linhagem SHR responde com os IRT's mais curtos em comparação às linhagens controle.

Com isso dois grandes padrões aparecem, enquanto a linhagem SHR respondeu com alta taxa e com respostas agrupadas em jorros, os WIS e WKY responderam com IRT's mais longos, dando margem para algumas respostas isoladas.

Quando observamos os dados da extinção relativos às sessões em que o critério foi atingido, as diferenças entre as linhagens se apresentam de maneira diferente do que quando analisados os resultados absolutos. Nessa análise a alteração relativa no comprimento do jorro dos WKY foi maior do que das demais linhagens. Além disso, a alteração do comprimento do jorro também foi maior para os SHR do que para os WIS. No entanto, isso parece estar relacionado ao baixo comprimento do jorro dos WKY durante as sessões de critério, não havendo margem para que esse parâmetro decaísse tanto quanto para as outras duas linhagens, durante a extinção. Em relação à taxa de respostas por jorro, a linhagem SHR foi a que permaneceu mais próxima da linha de base em comparação com as duas linhagens controle. Interessante notar, também, que neste parâmetro as diferenças aparecem apenas durante a extinção, tanto pela análise relativa, quanto pela absoluta, mostrando que a diferença entre as linhagens se deu somente sob essa contingência. Por fim, com relação às respostas fora do jorro a linhagem WIS foi a única a manter uma frequência de respostas fora do jorro acima da linha de base durante a extinção. Ainda fora do jorro, observou-se frequências relativas maiores na extinção para as linhagens SHR e WIS quando comparadas à linhagem WKY, mas não houve diferença entre SHR e WIS. Ou seja, a linhagem WKY respondeu com IRT maior do que 5 s mais frequentemente nas sessões de critério do que nas de extinção, o que poderia indicar uma diminuição geral da frequência de respostas.

A avaliação dos resultados absolutos foi mais clara do que a avaliação dos resultados relativos. A análise absoluta indicou mais indícios de que os SHR são diferentes no processo de extinção do que as outras duas linhagens, uma vez que eles respondem mais em quatro parâmetros de análise. O único parâmetro em que os SHR se mostram mais hiperativos, independente da análise ser absoluta ou relativa, foi na taxa de resposta dentro do jorro. No entanto, nas respostas fora do jorro, a análise relativa ainda indicou uma diferença entre os

SHR e os WKY, linhagem que é mais comumente utilizada como grupo controle (Johansen & Sagvolden, 2004).

T. Sagvolden, Metzger, e G. Sagvolden (1993) avaliaram em seu estudo que quando os reforços são apresentados em VI 15 as taxas de resposta são praticamente igualadas, o que foi corroborado nesse estudo, não houve diferenças nas frequências de respostas das três linhagens nas sessões em que o critério foi atingido, dessa forma possibilitando que a análise absoluta fosse realizada. A análise absoluta do processo de extinção avalia a frequência com que o comportamento é apresentado, enquanto a análise relativa apresenta o quanto o comportamento mudou em relação ao comportamento inicial. Pensando em usar a extinção para diminuir comportamento de uma pessoa com TDAH, o quanto esse comportamento alvo é reduzido relativamente à linha de base, pode não ser suficiente, ainda representando uma alta taxa e que gere prejuízos à qualidade de vida do organismo, mesmo que a proporção de redução seja a mesma de um indivíduo que não é portador do transtorno. Para exemplificar, se uma criança com TDAH, em uma sala de aula, interrompe a fala da professora 100 vezes a cada hora, e passa a interromper 10, este comportamento ainda é relevante, e ainda gera prejuízos, tanto à professora, quanto ao próprio indivíduo. Diferentemente de uma criança que interrompia a professora 10 vezes e passou a interromper 1. A redução é relativamente igual, porém em níveis absolutos essa diferença leva a consequências diferentes.

Uma das questões que ainda geram dúvida no processo de análise dos resultados se relacionam as diferenças que mudanças na definição de jorro produziriam. O jorro de resposta é definido a partir de um critério arbitrário, de acordo com o IRT. Por exemplo, se definido como respostas com $IRT < 5s$, respostas com IRTs de 3 ou 4s são consideradas respostas dentro do jorro. Se esse critério passasse para 3s, as mesmas respostas seriam consideradas como respostas fora do jorro. Como descrito anteriormente, Brackney e Sanabria (2015) propõem análise *post hoc* para determinar o IRT. Essa maneira de avaliar o jorro é mais

trabalhosa justamente por ter a necessidade de definir cada jorro individualmente após a coleta dos dados de acordo com o ajuste de um modelo estatístico, porém pode ser uma forma mais precisa de análise. Por outro lado essa análise dificulta a comparação entre estudos.

Conclusão

Podemos dizer que há diferenças no processo de extinção, em termos absolutos a linhagem SHR apresenta comportamentos com maior frequência de respostas, comprimento de jorro, taxa de respostas no jorro, e respostas dentro do jorro, parâmetros esses que sustentam sua posição como modelo animal de TDAH. Em termos relativos essas diferenças são menores, mesmo em alguns parâmetros ainda existindo diferenças, como na taxa de respostas dentro do jorro, por exemplo.

O uso dos parâmetros microestruturais de análise propostos por Brackney, et al. (2013) ajudaram a esclarecer as diferenças específicas da extinção, sem elas a maioria dos detalhes poderiam não ter sido identificados. Porém, a definição de um jorro com base no modelo citado pelos autores, pode ser uma forma mais precisa de análise, uma vez que o valor de 5 s pode ser um critério muito rigoroso ou muito brando dependendo do padrão de respostas de cada sujeito. Serviria como sugestão para pesquisas futuras uma análise intrassessão com os critérios de jorros pré-estabelecidos ou mesmo a possibilidade de se usar algum modelo *post hoc* de parâmetro de duração do jorro como de Brackney e Sanabria (2015). Também seria interessante aumentar o número de sessões de extinção para avaliar como se dariam estes padrões de resposta e de jorros em um procedimento ainda mais prolongado, uma vez que os sujeitos ainda respondiam, mesmo após dez sessões em extinção.

Alguns dados que obtivemos corroboram com o que Sagvolden previa em seus trabalhos, como uma maior taxa de respostas para os SHR em comparação com os WKY em esquemas de intervalo variável (Johansen & Sagvolden, 2004) e uma taxa de respostas próxima entre as linhagens quando o estímulo reforçador é apresentado frequentemente (Sagvolden, et al., 1993).

Talvez essa diferença que os resultados apresentam entre análises absolutas e relativas nos leve a refletir sobre a natureza da hiperatividade, as diferenças entre as linhagens não

estão no formato ou no desenvolvimento do processo de extinção, mas no fato de que mesmo que as linhagens partam de pontos similares, o resultado é diferente. Alsop (2007) apresentou em seu artigo dados indicando que não há diferenças no procedimento quando comparadas as taxas de respostas em extinção com a linha de base, e por esse motivo deveriam ser feitas mais análises relativas para avaliar SHR como modelo experimental de TDAH. Porém, apesar da redução de comportamento relativa à linha de base ser igual entre as linhagens, ainda continua sendo uma taxa alta de resposta para os SHR, conforme vemos, por exemplo, na frequência de respostas geral (Figura 2). A avaliação da redução relativa não indica se essa redução teria impacto clínico em portadores de TDAH.

Uma questão importante a ser discutida é a utilização da linhagem WKY como controle, Alsop (2007) já levantou essa questão em seu artigo, ele conclui que a linhagem WKY acaba sendo pouco ativa. Corroborando o estudo citado acima, em quase todos os parâmetros analisados no presente estudo a linhagem WKY realmente teve um desempenho hipoativo. Seria interessante maiores estudos com a linhagem WKY para avaliar se ela realmente deveria ser utilizada como controle para os SHR. Com o objetivo de avaliar de maneira mais acurada incluímos a linhagem WIS como segunda linhagem controle, mas talvez não seja o suficiente, um estudo somente com a linhagem WKY avaliando parâmetros de hipoatividade seria de bom proveito.

Referências

- American Psychiatric Association. (1996). DSM-IV: Manual de diagnóstico e estatística das perturbações mentais.
- Berger, D. F., & Sagvolden, T. (1998). Sex differences in operant discrimination behaviour in an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder. *Behavioural brain research*, 94(1), 73-82.
- Brackney, R. J., Cheung, T. H., Herbst, K., Hill, J. C., & Sanabria, F. (2012). Extinction learning deficit in a rodent model of attention-deficit hyperactivity disorder. *Behavioral and Brain Functions*, 8(1), 59.
- Brackney, R. J., & Sanabria, F. (2015). The distribution of response bout lengths and its sensitivity to differential reinforcement. *Journal of the experimental analysis of behavior*, 104(2), 167-185.
- Ferster, C. B., & Skinner, B. F. (1957). Schedules of reinforcement.
- Gonçalves F. L. (2018) Avaliação da formação de reforçadores condicionados com e sem atraso em ratos da linhagem SHR. Manuscrito em preparação.
- Grace, A. A. (1991). Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience*, 41(1), 1-24.
- Johansen, E. B., & Sagvolden, T. (2004). Response disinhibition may be explained as an extinction deficit in an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Behavioural Brain Research*, 149(2), 183-196.
- Johansen, E. B., Sagvolden, T., & Kvande, G. (2005). Effects of delayed reinforcers on the behavior of an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Behavioural Brain Research*, 162(1), 47-61.
- Keller, F. S. & Schoenfeld. (1950). *WN Principles of Psychology*. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Konietschke, F., Placzek, M., Schaarschmidt, F., & Hothorn, L. A. (2015). nparcomp: an R software package for nonparametric multiple comparisons and simultaneous confidence intervals. *Journal of statistical software*, 64(1), 1-17.
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association*, 47(260), 583-621.
- Kurtz, T. W., & Morris Jr, R. C. (1987). Biological variability in Wistar-Kyoto rats. Implications for research with the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*, 10(1), 127-131.
- Nevin, J. A. (2012). Resistance to extinction and behavioral momentum. *Behavioural processes*, 90(1), 89-97.

- Noguchi, K., Gel, Y. R., Brunner, E., & Konietschke, F. (2012). nparLD: an R software package for the nonparametric analysis of longitudinal data in factorial experiments. *Journal of Statistical software*, 50(12).
- Peeples, E. E., Searls, D. T., & Wellingham-Jones, P. (1995). Attention-deficit hyperactivity disorder: a longitudinal case study of handwriting characteristics. *Perceptual and motor skills*, 81(3_suppl), 1243-1252.
- Russell, V., de Villiers, A., Sagvolden, T., Lamm, M., & Taljaard, J. (1995). Altered dopaminergic function in the prefrontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen of an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder—the spontaneously hypertensive rat. *Brain research*, 676(2), 343-351.
- Sagvolden, T. (2000). Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(1), 31-39.
- Sagvolden, T., Aase, H., Zeiner, P., & Berger, D. (1998). Altered reinforcement mechanisms in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Behavioural brain research*, 94(1), 61-71.
- Sagvolden, T., Hendley, E. D., & Knardahl, S. (1992). Behavior of hypertensive and hyperactive rat strains: Hyperactivity is not unitarily determined. *Physiology & Behavior*, 52(1), 49-57.
- Sagvolden, T., Johansen, E. B., Aase, H., & Russell, V. A. (2005). A dynamic developmental theory of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) predominantly hyperactive/impulsive and combined subtypes. *Behavioral and Brain Sciences*, 28(3), 397-418.
- Sagvolden, T., Johansen, E. B., Aase, H., & Russell, V. A. (2005). A dynamic developmental theory of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) predominantly hyperactive/impulsive and combined subtypes. *Behavioral and Brain Sciences*, 28(3), 397-418.
- Sagvolden, T., Metzger, M. A., & Sagvolden, G. (1993). Frequent reward eliminates differences in activity between hyperkinetic rats and controls. *Behavioral and neural biology*, 59(3), 225-229.
- Sagvolden, T., Metzger, M. A., Schiorbeck, H. K., Rugland, A. L., Spinnangr, I., & Sagvolden, G. (1992). The spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of childhood hyperactivity (ADHD): changed reactivity to reinforcers and to psychomotor stimulants. *Behavioral and neural biology*, 58(2), 103-112.
- Sagvolden, T., Pettersen, M. B., & Larsen, M. C. (1993). Spontaneously hypertensive rats (SHR) as a putative animal model of childhood hyperkinesis: SHR behavior compared to four other rat strains. *Physiology & Behavior*, 54(6), 1047-1055.

- Sagvolden, T., Pettersen, M. B., & Larsen, M. C. (1993). Spontaneously hypertensive rats (SHR) as a putative animal model of childhood hyperkinesis: SHR behavior compared to four other rat strains. *Physiology & Behavior*, 54(6), 1047-1055.
- Schultz, W. (2002). Getting formal with dopamine and reward. *Neuron*, 36(2), 241-263.
- Tripp, G., & Alsop, B. (1999). Sensitivity to reward frequency in boys with attention deficit hyperactivity disorder. *Journal of Clinical Child Psychology*, 28(3), 366-375.