



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE SÃO PAULO

Paulo Eduardo da Silva

Efeitos do protocolo de estressores em ratos submetidos a um regime
contínuo de privação de água

MESTRADO EM PSICOLOGIA EXPERIMENTAL:

ANÁLISE DO COMPORTAMENTO

São Paulo

2015



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE SÃO PAULO

Paulo Eduardo da Silva

Efeitos do protocolo de estressores em ratos submetidos a um regime
contínuo de privação de água

Dissertação apresentada à banca examinadora da
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, como
exigência parcial para obtenção do título de mestre em
Psicologia Experimental: Análise do Comportamento,
sob orientação da Prof^a. Dr^a. Fani Eta Korn Malerbi.

Trabalho parcialmente financiado pela CAPES

São Paulo

2015

Banca Examinadora

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos ou científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação por processos e fotocópia ou eletrônicos.

Assinatura: _____ Local e data: _____

À minha família, meu alicerce e porto seguro.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

É chegada a hora da despedida de mais uma etapa e eu não teria chegado até aqui sem a ajuda de vocês. Por isso, vale ressaltar alguns nomes que fizeram toda a diferença nesses dois anos de mestrado.

Aos **animais de laboratório**, que com suas vidas proporcionam notória contribuição ao desenvolvimento científico, colaborando significativamente para o avanço da ciência, em especial, o avanço da Ciência do Comportamento.

À minha mãe, **Isabel**, por saber exercer tão bem a arte de ser mãe.

Ao meu pai, **Paulo**, por me ensinar o valor e as consequências de trabalhar arduamente.

À minha irmã, **Daniele**, pelo cuidado, amizade e amor ao longo dos anos.

Ao meu cunhado-irmão, **Wagner**, pela parceria desde sempre e para sempre.

Ao **Guilherme**, meu amado sobrinho, por me ensinar que um abraço pode fazer toda a diferença depois de um dia cansativo. Ver você crescer é uma das minhas maiores alegrias.

À **Luciana**, por TUDO e mais um pouco. A vida se tornou bem melhor após a sua chegada.

Aos meus amigos bioteristas: **André**, pelas risadas no final do expediente. **Maurício**, pela primeira remessa de café às 7h da manhã e por toda ajuda técnica com as caixas operantes e com os animais. À **Neusa (Neusinha)**, por todo cuidado com os alunos e professores, e por zelar pelo Laboratório em todos os aspectos. Você foi uma mãezona aí para mim.... Um até breve!

Ao **Carlão**, por auxiliar sempre com bom humor os alunos com as partes burocráticas e pelas conversas e risadas ao longo desses dois anos.

À **Mare**, por me ensinar a planejar contingências de ensino. Não "perder o pombo" é algo fundamental. Acho que vocês conseguiram!! Meu muito obrigado!

À **Paula Gioia** pelas aulas de conceitos básicos, fundamentais desde sempre.

À **Fani Malerbi**, por aceitar e me ajudar na realização deste trabalho e sobretudo por me tornar um pesquisador mais criterioso. Meu muito obrigado!

À **Nilza e Cassia**, pelas contribuições durante a qualificação e pela leitura cuidadosa do projeto de pesquisa. As críticas me fizeram crescer como pesquisador.

Ao **Bruno Costa**, pelo entusiasmo com a pesquisa com animais e pela companhia durante os sábados e domingos de coleta.

Ao **Diego Cardozo** pelo entusiasmo em conhecer outras linhas de pesquisa e me auxiliar no início da coleta, precisamos de mais pesquisadores assim!!

À minha amiga **Letícia Tiemi**, pela parceria desde os tempos de Uninove na iniciação científica até os dias de hoje no mestrado. Você foi fundamental nos testes de consumo, especialmente no teste realizado no penúltimo dia do ano. E eu tenho muito orgulho de compartilhar esse momento com você. Meu muito obrigado!!

Aos membros do Grupo de Estudos sobre Contingência e Contiguidade (**Nilza, Vanessa, Paulo Panetta, Letícia Tiemi, Carlo Henrique e Diego Sousa**), discutir artigos com vocês tem feito toda a diferença no meu repertório de pesquisador. É um prazer fazer parte desse grupo.

Ao **Marcos de Medeiros** por me apresentar a Análise do Comportamento e pelo programa de reforçamento.

À **Vanessa Di Rienzo** por ser orientadora, professora e amiga ao longo dos anos.

À **Isabella Debone** pelos momentos de risos intermináveis, intercalados com os gráficos intermináveis. Acho que agora chegou o fim! Um até breve...

Aos **amigos de laboratório - Lilian e Renan** pela parceria desde o começo, lá em Agosto de 2013; ao **Felipeta**, não só pelas batatinhas do Paraguai, mas também pela simpatia e acolhida no começo do mestrado; **Ana Alice, Carlos Henrique, Henrique Ângelo, Laís Furine, Dante Malavazzi, Vinicius Sousa, Efézio (Vulgo S11), Luís Felipe, Paula Grandi, Gabriela Abbud, Mariana Siracusa**, a companhia de vocês tornou a vida acadêmica mais leve.

Aos meus doutorandos preferidos e com certeza modelos a serem seguidos. **Luisa Schivek**, pela amizade e parceria durante o mestrado, e por me ensinar que no final "dá tempo", apesar de toda preocupação. Ao **Artur Nogueira**, sobretudo pela amizade e também pela cerveja "boa", churrasco, videogame, discussões acadêmicas e pelo sofá emprestado. Ao **Marcos Azoubel (Marquinho)**, pelas discussões sobre Análise do Comportamento (até mesmo em dias de churrasco) e pela dedicação à vida acadêmica, "Brilhou esse menino".

À **CAPES** pelo financiamento parcial deste trabalho.

RESUMO

O *Chronic Mild Stress* (CMS) tem sido descrito na literatura como um modelo experimental de anedonia, sintoma central na depressão em humanos. A anedonia tem sido estudada dentro desse modelo a partir do decréscimo no consumo de água com sacarose em ratos. Este resultado é geralmente observado após o animal ser submetido a um conjunto de estímulos estressores de forma moderada e crônica, durante seis semanas em média. O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do Protocolo de Estressores em ratos submetidos a um regime contínuo de privação de água. Foram empregados 11 ratos machos, da linhagem *Wistar*. Todos os sujeitos foram submetidos a um esquema de privação de água até atingir 85% dos seus pesos *ad lib.* e foram mantidos nesses pesos durante todo o estudo. Foram empregados 13 testes de consumo de água e de água com sacarose, sendo que o Sujeito S7 só passou pelos testes de consumo dos líquidos. O Sujeito S3 foi submetido ao Protocolo de Estressores. O sujeito S5 passou pelas mesmas condições que o S3, exceto que o Protocolo de Estressores envolveu apenas o estressor agrupamento. Para os outros 8 sujeitos, primeiramente foram modeladas as respostas de pressão às duas barras, usando água como reforçador. Depois, esses 8 animais foram submetidos a um esquema Conc VI 5 seg VI 5 seg associado aos reforços água e água com sacarose (um para cada barra). Após quatro semanas nesse esquema de reforçamento esses animais foram submetidos ao Protocolo de Estressores por seis semanas consecutivas e ininterruptas nas suas gaiolas-viveiro. Durante o Protocolo, 4 sujeitos (S2, S6, S8, S10) também tiveram suas respostas de pressão à barra reforçadas num esquema Conc VI 5 seg VI 5 seg (grupo antes, durante e depois) e os outros 4 (S1, S4, S9, S11) não (grupo antes e depois). Ao término do Protocolo de estressores, esses 8 sujeitos foram submetidos novamente à condição de linha de base. Os principais resultados encontrados foram: (a) estabilidade nos pesos dos animais submetidos ao protocolo, (b) maior oscilação em relação ao consumo de água e de água com sacarose para o sujeito submetido apenas aos testes e ao protocolo, não demonstrando anedonia, (c) redução no consumo de ração e aumento no consumo de água na gaiola-viveiro durante o protocolo (d) o protocolo de estressores não foi acompanhada por uma alteração na distribuição de respostas reforçadas com água e água com sacarose, nem durante e nem após a suspensão do mesmo, e (e) o valor reforçador dos líquidos parece ter se alternado para alguns sujeitos ao longo da maioria das sessões. Discute-se o papel da privação contínua de água e as medidas utilizadas como indicativas a de anedonia.

Palavras-chave: *Chronic Mild Stress*, Privação, Anedonia, Conc VIVI.

ABSTRACT

The Chronic Mild Stress (CMS) has been described in the literature as an experimental model of anhedonia, central symptom of depression in humans. The anhedonia has been studied in this model looking for a decrease of water with sucrose consumption in rats. This result is usually observed after the animal had been subjected to a set of stressful stimuli in a moderated and chronic way, for six weeks in average. The present study aimed to investigate the effects of the Stressors Protocol in rats subjected to a continuous water deprivation regimen. Eleven male rats of Wistar lineage were studied. All the rats were subjected to a water deprivation schedule until reaching 85% of their *ad lib* weights, and they were maintained at these weights for the whole study. Thirteen water and water with sucrose consumption tests were used for all the subjects, while S7 was exposed only to the liquids consumption tests. S3 subject was submitted only to the Stressors Protocol. S5 was exposed to the same conditions of S3, except that the Stressors Protocol involved only the grouping stressor. For the other eight subjects, first they had the bar press response to the two bars modeled, using water as reinforcement. Then these eight animals were subjected to a Conc VI 5 sec VI 5 sec reinforcement, each bar being associated to water or water with sucrose reinforcements (one for each bar). After four weeks in this reinforcement schedule these animals were subjected to the Stressors Protocol for six consecutive and uninterrupted weeks in their living cages. During the protocol, four subjects (S2, S6, S8 and S10) also had their bar press responses reinforced in a Conc VI 5 sec VI 5 sec schedule (group before, during and after). The other four rats (S1, S4, S9 and S11- group before and after) were not submitted to operant sessions as long as the Stressors Protocol was available. At the end of the phase when the Stressors Protocol was available, these eight subjects were again subjected to the base line condition. The main results were: (a) a weight stability for the animals subjected to the protocol, (b) a high alternation of water and water with sucrose consumption in the tests for the only subject submitted to the tests and to the protocol, not demonstrating anhedonia, (c) a reduction in the animal's food consumption and an increase of water consumption in the living cage during the protocol for seven subjects, (d) the stressors protocol was not followed by a modification of the distribution of water and water with sucrose reinforced responses by Conc VI 5sVI5s, neither during the protocol, nor after its cessation, and (e) it seems that the reinforcement value of the liquids alternated for some subjects over major of the sessions. The role of continuous water deprivation and the measures used as anhedonia indicators are discussed.

Key-words: Chronic Mild Stress, Deprivation, Anhedonia, Conc VI VI.

SUMÁRIO

Introdução	01
<i>Chronic Mild Stress</i> e Análise do Comportamento.....	06
Método	15
Sujeitos.....	15
Tratamento e alojamento.....	15
Ambiente, materiais e equipamentos.....	15
Procedimento.....	16
Resultados e discussão	23
Peso Corporal dos sujeitos experimentais.....	23
Resultado do Teste de Consumo e Preferência por Líquidos.....	28
Resultados do consumo total de líquidos, de água com sacarose e de água.....	32
Resultado do consumo de água e ração na gaiola viveiro.....	35
Frequência de respostas de pressão à barra no esquema concorrente VI5sVI5s.....	41
Frequência de respostas de pressão à barra no esquema concorrente VI5sVI5s em cada período de 10min.....	44
Considerações finais	49
Referências	51

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.* Distribuição dos sujeitos nos grupos e em cada condição experimental.....18
- Figura 2.* Peso corporal de cada sujeito ao longo do estudo. A linha vertical inteira representa o início da restrição de água até os sujeitos atingirem 85% dos seus pesos ad lib. e as linhas verticais pontilhadas indicam o início e o fim do Protocolo de Estressores.....23
- Figura 3.* Peso corporal dos sujeitos S1 a S11. A linha vertical inteira representa o início a restrição de água a 85% do peso ad lib., a linha horizontal pontilhada representa os 85% do peso ad lib. do sujeito, e as duas linhas verticais pontilhadas indicam, respectivamente, o início e o fim do Protocolo de Estressores.....27
- Figura 4.* Consumo de água e de água com sacarose e porcentagem de consumo de água com sacarose em relação ao consumo total de líquidos para os sujeitos S1 a S11 nos testes de consumo semanais. O espaço entre as linhas verticais corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores.....30
- Figura 5.* Consumo total de líquidos (água e água com 2% de sacarose) dos sujeitos S1 a S11 nos testes de consumo semanais. O espaço entre as linhas verticais corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores.....34
- Figura 6.* Média semanal do consumo de água e de alimento para os sujeitos S1 a S11 ao longo das 13 semanas em que ocorreram os testes de consumo de água e de água com sacarose. O espaço entre as linhas verticais corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores.....37
- Figura 7.* Consumo de ração das duplas acopladas durante o estressor agrupamento ao longo das seis semanas de exposição a esse tipo de estressor.....39
- Figura 8.* Frequência de respostas apresentadas pelos sujeitos S1, S4, S9 e S11 (grupo antes e depois) e S2, S6, S8, S10 (grupo antes, durante e depois) durante as sessões operantes em esquemas concorrentes. O espaço entre as linhas verticais corresponde ao período de exposição ao Protocolo de estressores.....42

Figura 9. Frequência de respostas apresentadas em cada período de 10 min para os sujeitos S1, S4, S9 e S11 (grupo antes e depois), durante as sessões operantes em esquemas concorrentes. Da esquerda para direita são apresentadas as frequências referentes à primeira metade da sessão (água e água com sac) e depois aquelas referentes à segunda metade da sessão (água e água com sac). O espaço entre as linhas verticais tracejadas corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores.....46

Figura 10. Frequência de respostas apresentadas em cada período de 10 min para os sujeitos S2, S6, S8 e S10 (grupo antes, durante e depois), durante as sessões operantes em esquemas concorrentes. Da esquerda para direita são apresentadas as frequências referentes à primeira metade da sessão (água e água com sac) e depois aquelas referentes à segunda metade da sessão (água e água com sac). O espaço entre as linhas verticais tracejadas corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores.....47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. *Algumas pesquisas envolvendo o Chronic Mild Stress e o modelo operante*.....07

Tabela 2. *Distribuição semanal do Protocolo de Estressores*.....22

Compreender o comportamento do ser humano através dos estudos com animais em laboratório tem sido uma prática dos pesquisadores que trabalham sob a perspectiva da Análise Experimental do Comportamento como ciência biológica, uma vez que as leis básicas do comportamento se aplicam aos organismos nas diferentes escalas da filogenia (Silva, 2003).

Os modelos animais de psicopatologias servem como instrumentos que são utilizados para reproduzir em laboratório condições análogas às observadas em psicopatologias humanas (Abramson & Seligman, 1977). Tais modelos devem atender a alguns critérios de validade, tais como: (a) Validade Preditiva (*Predictive Validity*), referente à exatidão das previsões que podem ser realizadas com base no modelo em relação ao fenômeno estudado, incluindo aspectos etiológicos e de bases fisiológicas; (b) Validade Aparente (*Face Validity*) que diz respeito à similaridade apresentada entre o modelo e os sintomas encontrados em humanos; e (c) Validade de Construto (*Construct Validity*), que corresponde à racionalidade teórica que embasa o modelo utilizado (Willner, 1991).

Entre os modelos animais, o *Chronic Mild Stress* (CMS) é um modelo experimental de anedonia, sintoma central da depressão em humanos. Nesse modelo, a anedonia é caracterizada pela insensibilidade do organismo à recompensa (Willner, Towell, Sampson, Sophokleous & Muscat, 1987).

Um experimento que serviu de base para a construção do modelo de CMS foi realizado por Katz (1982) que buscou investigar se possíveis alterações no padrão alimentar era devido à exposição a um conjunto de estímulos estressores severos apresentados de forma crônica. O Protocolo de Estressores foi aplicado durante três semanas e era composto de: (a) privação de água; (b) privação de comida; (c) imersão em água gelada; (d) exposição a choques incontroláveis; (e) reversão do ciclo noite/dia; (f) exposição ao calor; (g) 30 minutos de movimento. Os testes de anedonia consistiam em apresentar para os sujeitos mamadeiras contendo uma das três substâncias (água pura, água com sacarina e água com sacarose) pelo período de 14 horas. A sacarina e a sacarose são adocicadas, porém a sacarose é a única que apresenta um valor nutricional, o que permitiu que os autores verificassem as possíveis influências de regulações nutricionais no consumo dos sujeitos. Um grupo controle também foi exposto aos testes de ingestão, porém não foi submetido ao Protocolo de Estressores. Para alguns sujeitos, além da

submissão ao Protocolo de Estressores, um antidepressivo tricíclico foi administrado durante as três semanas de protocolo, a fim de verificar o efeito do mesmo nos testes de anedonia. Os resultados mostraram que para todos os sujeitos submetidos ao Protocolo de Estressores houve um decréscimo no consumo da água com sacarina e da água com sacarose em relação ao grupo não submetido ao protocolo e não houve qualquer alteração na ingestão de água pura, indicando que as alterações de ingestão foram decorrentes da exposição ao Protocolo de Estressores, independentemente dos aspectos calóricos das substâncias. O uso do antidepressivo utilizado em alguns sujeitos reverteu os efeitos do Protocolo de Estressores, fazendo com que o consumo de sacarose e sacarina voltasse a aumentar, sem alterar a ingestão de água pura.

Willner et al. (1987) propuseram o modelo do CMS baseado no estudo de Katz (1982) Entretanto, esses autores realizaram cinco alterações no procedimento adotado por Katz (1982): (1) reduziram a severidade dos estressores; (2) utilizaram duas garrafas no teste de preferência e não apenas uma; (3) realizaram testes semanais para ampliar o acompanhamento dos efeitos do protocolo; (4) examinaram o nível de glicose no sangue dos sujeitos; e (5) administraram um antidepressivo nas condições de preferência e ingestão de líquidos, após a submissão ao Protocolo de Estressores.

Os sujeitos utilizados nos quatro experimentos do estudo de Willner et al. (1987) foram ratos da linhagem Lister e o Protocolo de Estressores variou de nos diversos experimentos. Nos experimentos 1 e 4, consistiam do Protocolo de Estressores: (a) privação de água e comida; (b) iluminação contínua; (c) gaiola suja; (d) agrupamento, ou seja, outro animal na gaiola; (e) inclinação da gaiola em 30°; (f) temperatura reduzida (10°C). Nos experimentos 2 e 3, além serem empregados os estímulos estressores utilizados nos experimentos 1 e 4, houve o acréscimo de: (g) luz estroboscópica; (h) cheiro novo; (i) barulho branco intermitente; (j) exposição a uma garrafa vazia após o sujeito ter passado por um período de privação de água; (k) presença de um objeto estranho na caixa; e (l) acesso restrito à comida. Além disso, no experimento 2, a intensidade dos estímulos estressores foi aumentada gradualmente ao longo de seis semanas. O período de exposição ao Protocolo de Estressores foi de cinco, seis e nove semanas nos experimentos 1, 2 e 3, respectivamente. O quarto experimento não teve sua duração especificada pelos autores.

O primeiro experimento de Willner et al. (1987) tinha como objetivo investigar os efeitos da submissão ao Protocolo de Estressores na ingestão de uma solução de água com 1% de sacarina em 24 ratos. O segundo experimento, realizado com uma quantidade maior de estressores, tinha como objetivo investigar a preferência por água com 1% de sacarose em relação à água com solução salina e avaliar os efeitos de um antidepressivo tricíclico denominado desmetilemipramina (DMI) em dois grupos de 20 ratos cada. No terceiro experimento, realizado com dois grupos de 22 ratos cada, o protocolo aplicado foi o mesmo do segundo experimento e teve como objetivo investigar os efeitos do antidepressivo DMI na preferência por água com sacarose e verificar os níveis de corticosterona e de glicose no sangue dos sujeitos. O quarto experimento contou com dois grupos de 12 ratos cada e teve como objetivo verificar os efeitos do antidepressivo DMI sobre o consumo de água com sacarose, porém com uma concentração menor de sacarose (0,6%). Os resultados mostraram que todos os sujeitos submetidos ao Protocolo de Estressores apresentaram uma redução na ingestão e/ou preferência de água adocicada (água + sacarose e água + sacarina), porém o consumo de água pura foi constante ao longo do estudo. No segundo e no terceiro experimentos, observou-se que após duas semanas da administração do antidepressivo DMI, houve uma recuperação da ingestão e/ou preferência pela água adocicada. Tanto os níveis de glicose quanto os de corticosterona no sangue dos sujeitos permaneceram inalterados. Os sujeitos do quarto experimento, quando a sacarose foi utilizada em concentração menor (0,6%) do que nos outros experimentos (1%), demonstraram menor preferência por água com sacarose menos concentrada (0,6%) durante os testes de consumo e preferência.

Com esses resultados, semelhantes ao de Katz (1982), Willner et al. (1987) concluíram que a redução na ingestão e/ou preferência por água adocicada após a submissão ao Protocolo de Estressores não era produto de uma regulação calórica, pois essa redução ocorreu tanto com sacarose (substância calórica) quanto com sacarina (substância não calórica), nem decorrente da alteração do nível de corticosterona e de glicose no sangue e hipotetizaram que o Protocolo de Estressores produziu uma insensibilidade à água adocicada - que eles consideraram uma recompensa - o que poderia ser considerada um indicador de anedonia.

Muscat e Willner (1992) buscaram avaliar por meio de nove de experimentos, qual seria a variável crítica para a produção de anedonia (redução do consumo de água

com sacarose). Para isso, compararam os efeitos da submissão a estressores isolados (e.g. agrupamento) ou apresentados concomitantemente (e.g. agrupamento, alteração no ciclo-circadiano) sobre o consumo água com sacarose em ratos. Os dados obtidos sugerem que variabilidade e a frequência de apresentação dos estressores é a variável crítica para a redução no consumo de água com sacarose.

Dez anos após a publicação do primeiro trabalho envolvendo o *Chronic Mild Stress*, Willner (1997) realizou uma revisão dos estudos que utilizaram o modelo do CMS a fim de verificar o desenvolvimento do modelo, bem como avaliar se este tem atendido aos critérios de validade de construto, validade preditiva e validade aparente.

Com relação à validade de construto, Willner (1997) ressalta que o modelo do CMS apoia-se no fato de o mesmo simular anedonia - um sintoma característico da depressão em humanos - e também produzir um decréscimo geral em outras atividades. Segundo o autor, a validade preditiva do CMS baseia-se no fato de que diversos estudos que empregaram o uso de antidepressivos utilizados no contexto clínico mostraram que estes foram capazes de reverter a anedonia apresentada após o Protocolo de Estressores no CMS, enquanto o uso de outros fármacos sem ação antidepressiva (ansiolíticos, neurolépticos, psicoestimulantes e opióides) não tiveram nenhum efeito na reversão da anedonia. Para o autor a validade aparente do CMS decorre do fato de que outras mudanças comportamentais que ocorrem após a submissão ao Protocolo de Estressores, como o decréscimo nas atividades sexuais, a redução do comportamento agressivo, a redução nas atividades locomotoras, alterações no peso corpóreo, alterações no sono, entre outros, são também características da depressão em humanos.

Entretanto, nessa mesma revisão, Willner (1997) relata alguns resultados divergentes, como aqueles obtidos por Hatcher, Bell, Reed e Hagan (1997) que mostraram um aumento no consumo de solução adocicada ao invés de uma diminuição após a submissão ao Protocolo de Estressores. Para explicar essa divergência na literatura, Willner (1997) sugeriu que algumas variáveis poderiam ser responsáveis pelos resultados contraditórios, a saber: (1) a diferença na linhagem do sujeito experimental e do fornecedor; (2) a diferença nas medidas de ingestão e de preferência de líquidos quando os testes são realizados durante o período diurno; (3) o tempo que os sujeitos permanecem isolados na caixa-viveiro antes do início do experimento, uma vez que a interação social com outros animais pode influenciar uma das fases do protocolo (agrupamento); (4) o

peso corporal do sujeito, uma vez que os estudos têm demonstrado que quanto maior a perda de peso, menor a diminuição na ingestão de solução adocicada; (5) a utilização de outras medidas de anedonia (e.g., ou seja, alguns estudos não adotaram como medida principal a ingestão e a preferência dos líquidos, empregando como medida do efeito do Protocolo de Estressores as alterações na estimulação intracraniana e (6) diferenças no protocolo utilizado no CMS que variou de laboratório para laboratório.

Numa outra revisão realizada posteriormente, Willner (2005) encontrou nos dados obtidos por mais de 60 grupos de pesquisas que ratos submetidos ao CMS apresentaram mudanças comportamentais análogas às da depressão em humanos.

Ao discutir os efeitos do CMS sobre o consumo e preferência de água com sacarose ou sacarina, Willner (2005) aponta que 44 grupos de pesquisa obtiveram resultados que mostravam, pelo menos uma vez, um decréscimo no consumo e/ou preferência por água com sacarose ou água com sacarina, bem como em ambas as medidas. Vinte e seis grupos relataram o decréscimo no consumo de água com sacarose ou sacarina, utilizando ratos como sujeitos, e 7 grupos relataram os mesmos efeitos, utilizando camundongos como sujeitos. Treze grupos relataram o decréscimo na preferência por água com sacarose ou sacarina em ratos e 4 grupos relataram os mesmos efeitos em camundongos.

Nessa revisão, Willner também identificou resultados contraditórios em estudos que empregaram o modelo do CMS. O decréscimo no consumo e/ou na preferência de água com sacarose foram denominados pelo autor “resultados anômalos”. Willner (2005) salientou três estudos que apresentaram aumento no consumo de água com sacarose ou sacarina e um estudo em que houve aumento na preferência de água com sacarose. Outros dados associados aos resultados anômalos encontrados pelo autor foram: (a) aumento no comportamento agressivo em camundongos; (b) decréscimo na imobilidade, durante o teste de nado forçado; (c) aumento na preferência condicionada de lugar, quando cocaína era utilizada como reforço e (d) aumento na sensibilidade à recompensa, quando utilizada a estimulação cerebral.

Chronic Mild Stress e Análise do Comportamento

Inicialmente estudado por autores preocupados em desenvolver drogas eficazes no tratamento da depressão, o CMS é hoje também objeto de estudo de Analistas do Comportamento.

A Tabela 2 mostra algumas pesquisas envolvendo o *Chronic Mild Stress* e o modelo operante.

De modo geral, observa-se na Tabela 2 alguns pontos em comum para as pesquisadas citadas, a saber: (a) 9 dos 13 estudos empregaram como sujeitos experimentais ratos machos da linhagem *Wistar*. (b) 10 dos 13 estudos utilizaram concentração de 2% nos testes semanais de consumo e de preferência, (c) 6 dos 10 estudos que utilizaram sessões operantes, adotaram o esquema de Razão Fixa nas sessões operantes e, (d) 7 dos 8 estudos utilizaram uma concentração de 8% de água com sacarose em sessão operante de esquema concorrente. Thomaz (2001) verificou que em sessões operantes a concentração de 8% de sacarose foi acompanhada de valores mais claros de preferência, e talvez este seja um dos motivos que levou os estudos subsequentes ao de Thomaz e realizados no Laboratório de Psicologia Experimental da PUC-SP empregarem também nas sessões operantes uma concentração de 8% de água com sacarose.

Entretanto, outras manipulações tem sido realizadas de forma não sistemática, por exemplo, a quantidade de testes de consumo antes, durante e após o Protocolo de Estressores e o tipo de privação adotada no estudo.

Tabela 1. Algumas pesquisas envolvendo o Chronic Mild Stress e o modelo operante

7

	Phillips&Barr (1998)	Thomaz (2001)	Dolabela (2004)	Rodrigues (2005)	Cardoso (2008)	Pereira (2009)	Oliveira (2009)	Thomaz (2009)	Almeida (2013)
Local de realização da pesquisa	University of British	PUC-SP	PUC-SP	PUC-SP	PUC-SP	PUC-SP	PUC-SP	PUC-SP	PUC-SP
Linhagem do Animal utilizado	Long-Evans	-	Mc Cowley	Mc Cowley	Wistar	Wistar	Wistar	Wistar	Wistar
Tipo de privação adotada									
Água * ração **	20h	*85% ad lib.	*85% ad lib.	*85% ad lib.	**23h teste	**23h teste	*85% ad lib.	**23h teste	*80 a 85%
água e ração ***		+ Protocolo	+ Protocolo	+ Protocolo	23h sessão + Protocolo	23h sessão + Protocolo		sessão + Protocolo	ad lib. + Protocolo
Quantidade de Testes de Consumo (antes, durante e após)	-	4-6-3	12-6-3	16-6-3	4-6-3	12-6-3	3-6-3	4-6-3	4-6-3
Concentração de água com sacarose nos testes	-	2%	8%	8%	2% e 8%	2%	2%	2%	2%
Concentração de água com sacarose nas sessões operantes	7%	8%	8%	8%	8%	8%	-	8%	8%
Esquema de Reforçamento empregado	Razão Progressiva (RP)	Razão Fixa (FR)	Razão Fixa (FR)	Razão Fixa (FR)	Intervalo Variável (VI)	Razão Fixa (FR)	Reforçamento Contínuo (CRF)	Razão Fixa (FR)	Tempo Variável (VT)

	Lacerda (2013)	Rocha (2013)	Pereira (2015)	Júnior, Castelli & Oliveira (2015)
Local de realização da pesquisa	PUC-SP	PUC-SP	USP	Centro Universitário Padre Anchieta
Linagem do Animal utilizado	Wistar	Wistar	Wistar	Wistar
Tipo de privação adotada	*80 a 85% <i>ad lib.</i> + Protocolo	*80 a 85% <i>ad lib.</i> + Protocolo	**23h teste + Protocolo	*48h; **48h; *24h + Protocolo
Quantidade de Testes de Consumo (antes, durante e após)	4-6-3	4-6-3	3-6-3	4 -----4
Concentração de água com sacarose nos testes	2%	2%	2%	2%
Concentração de água com sacarose nas sessões operantes	-	-	-	-
Esquema de Reforçamento empregado	-	-	-	Razão Fixa (FR)

Em 2001, iniciou-se no Laboratório de Psicologia Experimental da PUC-SP uma linha de pesquisa envolvendo o modelo CMS e o modelo operante.

O primeiro experimento nessa linha foi realizado por Thomaz (2001) que teve como objetivo verificar se o que Willner et al. (1987) denominaram “insensibilidade à recompensa” equivaleria a uma “diminuição no valor reforçador do estímulo água com sacarose”. Nesse estudo foram empregados como sujeitos 12 ratos machos, experimentalmente ingênuos, dos quais quatro foram alocados para o grupo experimental, dois sujeitos serviram como controle de peso, dois serviram como reservas e os quatro restantes foram utilizados apenas na fase do Protocolo de Estressores para fins de agrupamento. Dois sujeitos do grupo experimental foram submetidos a três condições experimentais: (1) exposição ao Protocolo de Estressores, durante seis semanas, conforme proposto por Willner et al. (1987), (2) testes de consumo de líquidos semanais com duas garrafas, uma contendo água com 2% de sacarose e outra somente água, dos quais três testes ocorreram três semanas antes, seis testes durante a submissão ao Protocolo de Estressores e três testes após o término do protocolo e (3) exposição a uma condição operante em que a resposta de pressionar a barra era reforçada em esquema concorrente FR15 água – FR15 água + sacarose 8%, antes e depois do protocolo. Outros dois sujeitos do grupo experimental foram submetidos apenas às condições (1) e (2). Os resultados mostraram que os sujeitos que foram expostos apenas às condições (1) e (2) apresentaram redução no consumo total de líquidos (água e água com sacarose), bem como na preferência por água com sacarose, além de redução no peso corpóreo. Esses efeitos se mantiveram após o término do Protocolo de Estressores assim como no estudo de Willner et al. (1987). Os sujeitos que foram expostos às três condições experimentais também apresentaram redução no consumo total de líquidos e na preferência por água com sacarose, bem como redução no peso corpóreo. Entretanto, esses efeitos foram revertidos após o término do Protocolo de Estressores e o reinício da condição operante.

Os resultados apresentados por Thomaz (2001) sugerem que a exposição dos dois sujeitos à condição operante, antes de depois da submissão do Protocolo de Estressores, tenha produzido um efeito semelhante ao da droga antidepressiva utilizada por Willner et al. (1987), revertendo o efeito do *Chronic Mild Stress* sobre a diminuição do valor reforçador da água com sacarose.

Desde então, algumas variáveis tem sido comumente mensuradas, a fim de obter-se uma maior compreensão acerca da interação do CMS com o modelo operante. Essas variáveis são: (a) peso corporal; (b) consumo de água e ração¹; (c) teste de consumo e preferência de líquidos e (d) desempenho operante por meio de resposta de pressão à barra, caixa de atividade múltipla² ou roda de atividade.

Com relação a variável peso corporal, para todos os estudos que submeteram os sujeitos ao Protocolo de Estressores, observou-se uma redução no peso. Exceto para um grupo de sujeitos do estudo de Pereira (2009) que não foram expostos ao estressor privação de ração durante o protocolo (Almeida 2013; Cardoso, 2008; Dolabela, 2004; Júnior et al., (2015); Lacerda, 2013; Oliveira, 2009; Pereira, 2009, 2015; Rocha, 2013; Rodrigues, 2005; Thomaz, 2001, 2009).

Assim como nos resultados obtidos por Thomaz (2001), em relação aos testes de consumo e preferência de líquidos. Cardoso (2008), Dolabela (2004), Oliveira (2009), Rodrigues (2005), Thomaz, (2001, 2009) também observaram um decréscimo no consumo e preferência por água com sacarose nos sujeitos expostos somente ao Protocolo de Estressores, replicando assim os dados de Willner et al. (1987).

Dolabela (2004) levantou uma hipótese na qual a redução de peso nos animais submetidos ao protocolo poderia ser decorrente a uma redução no consumo de ração e água na gaiola-viveiro. A partir disso, essa medida foi adicionada as investigações envolvendo o CMS e o modelo operante, a partir do estudo de Rodrigues (2005).

Entretanto, ao replicar o estudo de Dolabela (2004), Rodrigues não observou alteração no consumo de água e ração na gaiola-viveiro. Apesar de ter replicado os mesmos resultados de Dolabela (2004) e Thomaz (2001) em relação ao decréscimo no consumo e preferência por água com sacarose em animais submetidos ao Protocolo de Estressores.

Os resultados apresentados acerca do consumo de água e ração na gaiola-viveiro no estudo de Rodrigues (2005), não se assemelham com os resultados que posteriormente utilizaram também essa medida e que utilizaram o mesmo tipo de privação, a saber: privação de água, a fim de atingir 85% do peso *ad lib.*. Em Almeida (2013), Oliveira

¹ Essa medida passou a ser adotada a partir do trabalho de Rodrigues (2005).

² Essa caixa foi adotada no estudo de Oliveira (2009), a fim de mensurar a atividade geral do rato.

(2013) e Rocha, (2013), com a introdução do Protocolo de Estressores ocorreu alterações no padrão de consumo dos animais, em especial, um decréscimo no consumo de ração. Outros estudos também adotaram essa medida, porém utilizaram a privação proposta por Willner et al. (1987), na qual o sujeito só é submetido a restrição de água e alimento durante as 23h que antecedem os testes de consumo e a restrição de água e alimento que são imposta durante o Protocolo de Estressores. Com relação a essa medida e com base na privação proposta por Willner et al. (1987), podemos destacar os trabalhos de Cardoso (2008); Pereira (2009) e Thomaz (2009). Cardoso (2008) observou que durante a submissão dos sujeitos ao Protocolo de Estressores, o consumo de água e ração aumentou em comparação com as mensurações realizadas antes do protocolo. Segundo a autora durante o protocolo os sujeitos consumiam mais ração e água, mesmo assim emagreciam. O resultado encontrado por Cardoso (2008) foi semelhante ao resultado de um grupo de sujeito da pesquisa de Pereira (2009), demonstrando o mesmo padrão no aumento do consumo de água e ração durante o Protocolo de Estressores. Diferentemente do observado no estudo de Thomaz (2009), onde o consumo de água e ração durante o protocolo apresentou uma grande variabilidade intra e inter-sujeitos. Em suma, vale destacar que diferentes tipos de privação podem gerar diferentes padrões de consumo (López-Espinoza, A. & Martínez, H., 2001), e que tal variável pode ter contribuído com os resultados encontrados nos estudos supracitados.

A medida de consumo e de preferência de líquidos, tem sido amplamente utilizadas nas pesquisas envolvendo o *Chronic Mild Stress*.

Para os sujeitos submetidos apenas ao Protocolo de Estressores nos estudos de Cardoso (2008), Dolabela (2004), Oliveira (2009), Rodrigues (2005), Thomaz (2001, 2009), observou-se uma redução no consumo e preferência por água com sacarose. Resultados esse que se assemelham com o de Willner et al. (1987). Entretanto, alguns estudos citados neste trabalho não apresentaram uma redução no consumo de água com sacarose, após a introdução do Protocolo de Estressores (Almeida, 2013; Júnior et al., 2015; Lacerda, 2013; Rocha, 2013). Vale ressaltar que na pesquisa de Pereira (2015), apesar de observar a redução no consumo de água com sacarose para os sujeitos submetidos ao Protocolo de Estressores, o mesmo efeito ocorreu para o grupo controle não exposto a tal situação. A autora por sua vez, discute se a medida consumatória de

água com sacarose seria uma boa medida para avaliar os efeitos do Protocolo de Estressores.

Por fim, e de interesse maior da Análise do Comportamento, esquemas de reforçamento tem sido empregados e sua interação com o modelo do CMS tem sido discutida.

De modo geral e conforme salientado por Dolabela (2004), Rodrigues (2005) e Thomaz (2001), as sessões operantes podem tanto minimizar os efeitos da submissão ao Protocolo de Estressores como podem reverter os efeitos produzidos no mesmo, a saber: o desempenho dos ratos que passaram por alguma condição operante nas três pesquisas, demonstraram maior recuperação de peso após o protocolo, em especial, sujeitos que são submetidos a sessão operante (antes, durante e após o protocolo) e reversão (aumento) no consumo de água com sacarose após o decréscimo observado durante o protocolo.

Diferentemente do observado em Dolabela (2014), Rodrigues (2005) e Thomaz (2001) no qual ratos submetidos ao Protocolo de Estressores também apresentaram redução na frequência resposta de pressão à barra correlacionada com água com sacarose em esquema concorrente FR-FR, no estudo de Barr e Phillips (1998) a mesma relação entre submissão ao protocolo e decréscimo no responder em esquema de Razão Progressiva (RP) não foi observada. Os autores discutem que as mudanças nas concentrações de sacarose ao longo das sessões operantes é que foram responsáveis pela mudança observada no responder, e que tanto o grupo controle quanto o grupo submetido ao protocolo, ambos apresentaram o mesmo padrão no responder.

Cardoso (2008) buscou investigar o desempenho de ratos em um esquema Concorrente Intervalo Variável Intervalo Variável submetidos ao *Chronic Mild Stress*. Seus objetivos consistiam em: (a) verificar o consumo de água e água com sacarose, antes, durante e depois da submissão ao protocolo; (b) Verificar se sujeitos expostos a um esquema de intervalo variável (VI) durante o Protocolo de Estressores produziram alteração na frequência de resposta da mesma forma como observado em esquema de Razão Fixa (FR), e (c) se a exposição ao protocolo produziria perda de peso. Foram empregados seis ratos machos, experimentalmente ingênuos da linhagem *Wistar*, cinco dos quais foram alocados no grupo experimental (S1 a S5) e um sujeito controle (S6). As condições experimentais foram: (a) submissão ao Protocolo de Estressores; (b) teste de

consumo e de preferência de líquidos; e (c) sessões operantes em esquemas concorrentes VII0s água VII0s água + sacarose 8%, antes e após o Protocolo de Estressores para os sujeitos S3 e S4, e antes, durante e depois para os sujeitos S1 e S2. O sujeito S5 não foi submetido a nenhuma fase operante, sendo submetido apenas aos testes de consumo e ao Protocolo de Estressores, conforme descrito por Willner et al. (1987). Todos os sujeitos de Cardoso (2008) submetidos ao Protocolo de Estressores apresentaram perda de peso corpóreo durante o protocolo e, posteriormente recuperação de peso com a suspensão do mesmo. Os sujeitos S1 e S2 que foram submetidos às sessões operantes antes, durante e depois do Protocolo de Estressores, apresentaram um aumento no consumo de ração durante a submissão ao protocolo. Já o sujeito S5, que não foi submetido às sessões operantes durante a fase do protocolo, também apresentou um aumento no consumo de água e ração durante o protocolo. Os sujeitos S3 e S4 submetidos às sessões operantes antes e depois do protocolo, também apresentaram um aumento no consumo de ração e água durante a fase do protocolo. Com relação aos testes de consumo de líquidos e de preferência, os sujeitos que foram submetidos às sessões operantes antes, durante e depois e antes e depois do protocolo, apresentaram aumento no consumo e na preferência de líquidos durante a vigência do protocolo.

Os resultados encontrados por Cardoso (2008) foram consistentes com aqueles obtidos por Thomaz (2001), Dolabela (2004) e Rodrigues (2005) nos seguintes aspectos: (a) perda de peso corporal para todos os sujeitos submetidos ao Protocolo de Estressores; (b) decréscimo no consumo e na preferência por água com sacarose pelos sujeitos que não foram expostos às sessões operantes; (c) recuperação do peso corpóreo, após o término do Protocolo de Estressores. Entretanto, diferentemente do que foi observado nos estudos anteriores, os sujeitos expostos às sessões operantes no estudo de Cardoso (2008) tiveram um aumento no consumo médio de líquidos e na preferência por água com sacarose nas primeiras cinco semanas em que foram submetidos ao Protocolo de Estressores.

Cardoso (2008) levantou a hipótese de que o aumento no consumo de líquido durante a submissão ao Protocolo de Estressores tenha sido decorrente do uso do esquema de intervalo variável antes da submissão ao Protocolo de Estressores. O aumento no consumo de água com sacarose durante a fase do protocolo foi interpretado pela autora

como uma imunidade aos efeitos produzidos pelo protocolo decorrente da experiência de reforçamento em intervalo variável.

Outro ponto observado refere-se a transição do esquema de intervalo variável VI5s para um intervalo variável VI10s na pesquisa de Cardoso (2008), que foi acompanhada por uma alternância maior entre as barras, diferentemente do que foi observado nos estudos anteriores quando os sujeitos eram expostos a um esquema de Razão Fixa (Dolabela, 2004; Rodrigues, 2005 e Thomaz, 2001). Segundo Cardoso (2008), isto aconteceu porque os esquemas VI em ambas as barras estavam associados com um menor custo de resposta para a obtenção dos reforçadores do que os esquemas FR.

O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do Protocolo de Estressores em ratos submetidos a um regime contínuo de privação de água, a fim de verificar se os dados observados nos estudos de Cardoso (2008) são provenientes da mudança de esquema de Razão Fixa (FR) para esquema de Intervalo Variável (VI) ou se o tipo de privação adotado tenha sido a variável crítica para os achados divergentes. No presente estudo, também retirou-se a privação de ração do Protocolo de Estressores, a fim de obter uma medida mais clara sobre o papel do esquema de Intervalo Variável nas medidas comumente utilizadas.

MÉTODO

Sujeitos

Foram utilizados neste estudo 11 ratos machos, experimentalmente ingênuos, da linhagem *Wistar*, provenientes da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Tratamento e alojamento

Os animais chegaram ao biotério de Psicologia Experimental: Análise do Comportamento da PUC-SP com 88 dias de vida acoplados em cinco, quatro e dois sujeitos, distribuídos em três caixas plásticas de 30 cm (Largura) x 45 cm (Profundidade) x 16 cm (Altura). A partir do 90º dia de vida, os animais foram alojados individualmente em caixas plásticas com as mesmas dimensões supracitadas e permaneceram com acesso livre a água e ração até completarem 123 dias de idade. A partir do 124º dia de vida, começou a restrição de água para todos os sujeitos com o objetivo de atingir 85% do peso *ad lib.* e os animais foram alojados individualmente em gaiola metálicas de 20 cm (Largura) x 30 cm (Profundidade) x 21 cm (Altura), permanecendo nessa condição até o término do experimento, exceto para os sujeitos submetidos ao estressor “agrupamento”, descrito detalhadamente na seção Protocolo de Estressores.

Ambiente, Materiais e equipamentos

Foram utilizadas duas salas do biotério de Psicologia Experimental da PUC-SP. O ciclo luminoso foi de 12 horas claro e 12 horas de escuro, regulado por timer automático (exceto durante período de estressores no qual houve iluminação contínua). A temperatura e a umidade foram aferidas diariamente, por meio de um termo-higrômetro colocado nas salas.

Balança: foi utilizada uma balança digital da marca Filizola, com precisão de 0,5g, utilizada para aferição do peso e do alimento dos sujeitos.

Garrafas: foram utilizadas 33 garrafas de plástico com capacidade para 250 ml com bico regulador de saída de líquido para disponibilizar os líquidos para os animais. Dessas, 22 garrafas foram usadas nos testes semanais de consumo (água ou água com sacarose) e 11 na disponibilização diária de água.

Seringas descartáveis: usadas para medir as quantidades disponibilizadas e consumidas de água e de água com sacarose.

Luxímetro: modelo MLM-1011-Minipa foi utilizado para garantir a mesma intensidade de luz nas duas salas utilizadas no presente experimento.

Decibelímetro: modelo 407727-Extech foi utilizado a fim de garantir que o estressor barulho tivesse a intensidade de 85 decibéis.

Caixas viveiro: feita de material plástico e dimensões 30 cm (Largura) x 45 cm (Profundidade) x 16 cm (Altura).

Gaiola viveiro: 11 gaiolas de aço inox com dimensões de 20 cm (Largura) x 30 cm (Profundidade) x 21 cm (Altura).

Sacarose: Sacarose para microbiologia Merck

Caixa experimental: Foi utilizada uma caixa de condicionamento operante *MedAssociates*[®], modelo Env-008. A caixa experimental possui duas barras pressionáveis mediante força de 15N localizadas na lateral direita e na lateral esquerda, posicionadas frente a frente. Cada barra podia, por meio de um circuito eletro mecânico, acionar uma seringa onde ficavam alojados os líquidos utilizados como reforçadores (água e água com sacarose). A apresentação dos estímulos e o registro do desempenho dos sujeitos foram controlados pelo *software Schedule Manager* para Windows produzido pela *Med Associates*[®], versão 2.0, em um computador IBM 486.

Sala onde foi aplicado o protocolo de estressores: Os animais permaneceram em uma sala isolada do Laboratório de Psicologia Experimental PUC-SP, medindo 0,90m de largura x 2,0m de profundidade x 2,80m de altura.

Procedimento

Com três meses de vida, os animais foram alojados em gaiolas individuais, e a partir de então foram pesados diariamente³. Antes de se iniciar qualquer procedimento, os sujeitos foram nomeados de S1 a S11 e distribuídos aleatoriamente, por meio de um aplicativo para plataforma *Android* que sorteia números, de forma que o S7 funcionou

³ Exceto aos finais de semana antes do protocolo de estressores.

controle, submetido apenas ao Teste de consumo e de preferência de líquidos, S5 Sujeito agrupamento, submetido as mesmas condições do sujeito controle, além de servir como “Sujeito agrupamento” durante o Protocolo de Estressores, descrito pormenorizado na seção Protocolo de Estressores. S3 sujeito protocolo, submetido ao Teste de consumo e de preferência de líquido e ao Protocolo de Estressores. Os sujeitos S1, S4, S9 e S11 (denominados grupo antes e depois) foram submetidos a dois Pré-testes de consumo de água com sacarose, treze testes de consumo e preferência de líquidos (água e água com sacarose) e, ao esquema concorrente VI5s VI5s, antes e depois do protocolo de estressores, ao passo que os sujeitos S2, S6, S8 e S10 (denominados grupo antes, durante e depois), foram submetidos às mesmas condições que o grupo descrito anteriormente, exceto pelo acréscimo das sessões em esquema concorrente VI5s VI5s durante a vigência do Protocolo de Estressores. O esquema sumarizado da distribuição dos sujeitos em cada condição experimental, pode ser visualizado na Figura 1.

Automodelagem e fortalecimento da resposta

Os animais S1, S2, S4, S6, S8, S9, S10 e S11 foram submetidos ao procedimento de automodelagem da resposta de pressão à barra no 152° e 153° dias de vida em ambas as barras (lado direito e esquerdo). As barras foram disponibilizadas uma de cada vez, ou seja, houve instalação da resposta de pressão à barra da direita e, no dia seguinte, instalação da resposta de pressão à barra da esquerda, ambas mantidas pelo reforçamento com água (0,1ml para cada resposta) em esquema de reforçamento contínuo (CRF) até que fossem apresentadas 100 pressões em uma sessão de cinquenta minutos.

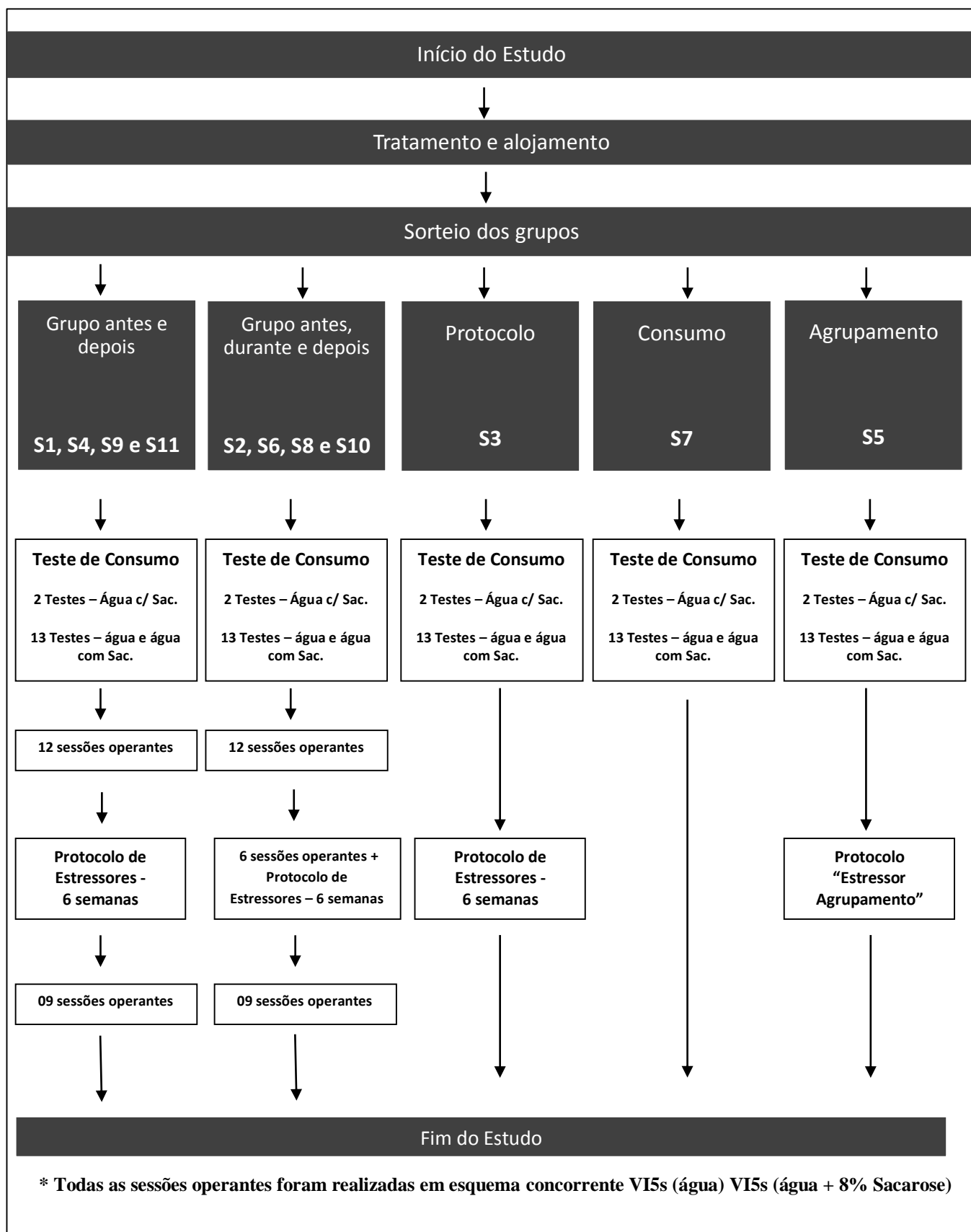


Figura 1. Distribuição dos sujeitos nos grupos e em cada condição experimental.

Esquemas concorrentes

Após a automodelagem, os animais foram submetidos a um esquema de reforçamento ConcVI5s(água)VI5s(água+8% de sacarose). Os intervalos do esquema de intervalo variável VI5s foram: 7,9 - 5,1 - 5,3 - 6,5 - 4,2 - 3,5 - 9,1 - 3,2 - 1,7 e 3,5 gerados automaticamente por meio de uma planilha eletrônica construída para elaboração de intervalos variáveis de reforçamento, conforme proposto por Pessoa e Buffara (2005).

Os sujeitos S1, S4, S9 e S11 foram submetidos a 21 sessões nas quais estava em vigor o ConcVI5s(água)VI5s(água + 8% sacarose), das quais 12 sessões precederam a apresentação do Protocolo de Estressores e nove a sucederam. Os sujeitos S2, S6, S8 e S10 foram submetidos a 27 sessões nas quais estava em vigor o ConcVI5s(água)VI5s(água + 8% sacarose), das quais 12 sessões precederam a apresentação do Protocolo de Estressores, seis ocorreram em vigência do protocolo e nove após o Protocolo de Estressores.

Para todos os sujeitos as sessões operantes ocorriam no mesmo horário. As sessões tiveram duração máxima de 20 minutos e o critério de encerramento foi a liberação de 100 reforços em um dos bebedouros ou após 20 minutos, o que ocorresse primeiro. Os líquidos - água e água com sacarose- foram alternados nos bebedouros esquerdo e direito da caixa experimental, levando em consideração o seguinte critério: se o sujeito apresentasse maior frequência de pressão na barra reforçada com água ou com água com sacarose por duas sessões consecutivas, a liberação do líquido era invertida na sessão seguinte. A partir da 8ª sessão, a alternância dos líquidos ocorria a cada sessão caso o animal apresentasse uma diferença na frequência de pressão nas duas barras.

Teste de consumo e de preferência de líquidos

a) Testes com água com sacarose

Quando os sujeitos completaram 148 dias de vida foi realizado o primeiro teste de consumo de água com sacarose no qual tinha por objetivo expor os animais a água com sacarose. Esse consistiu em apresentar aos sujeitos uma garrafa apenas contendo 100ml de água com 2% de sacarose durante um período de 1 hora, na gaiola viveiro. Diferentemente de outros estudos (Almeida, 2013; Cardoso, 2008; Dolabela, 2004; Lacerda, 2013; Pereira, 2009, 2015; Rocha, 2013; Rodrigues, 2005 e Thomaz, 2001,

2009) que submeteram seus sujeitos a uma privação de 23 horas de água e ração antes da realização dos testes, no presente estudo, que isolou a variável privação de ração do Protocolo de Estressores, a retirada da garrafa de água e da ração da gaiola viveiro ocorreu apenas duas horas⁴ antes da realização dos testes.

Sete dias após o primeiro teste, um segundo teste foi realizado seguindo a mesma rotina conforme supracitado. No primeiro teste a garrafa foi disponibilizada do lado esquerdo da parede frontal da gaiola viveiro, a 5cm da base da gaiola. No segundo teste a garrafa foi alternada para o lado direito, também a 5cm da base da gaiola. O consumo do líquido foi calculado levando em consideração a quantidade disponibilizada e a sobra do líquido ao término do período de 1 hora. Tanto os Pré-testes quanto os Testes foram realizados sempre no mesmo horário e dia da semana.

b) Testes com duas garrafas

Sete dias após o segundo teste com água com sacarose, foi realizado o primeiro teste com duas garrafas, uma contendo 100ml de água e a outra 100ml de água com 2% de sacarose com o objetivo de avaliar a preferência dos animais. Os testes com duas garrafas foram realizados semanalmente até o final do experimento. Cada teste teve duração de 1 hora e as garrafas foram disponibilizadas na gaiola viveiro de forma simultânea (duas garrafas acopladas ao mesmo tempo), equidistantes das laterais da caixa, a 5cm da base da gaiola, e os lados de apresentação das garrafas foram alternados semanalmente.

Protocolo de estressores

O protocolo de estressores utilizado na presente pesquisa foi igual àquele empregado por Almeida (2013), Dolabela (2004), Lacerda (2013), Rocha (2013), Rodrigues (2005) e Thomaz (2001), exceto pela exclusão de alguns estressores, a saber: privação de comida, acesso restrito à comida e privação de água que permaneceu constante ao longo do experimento a fim de manter o peso do sujeito a 85% *ad lib.*. Assim como nos trabalhos citados, o estressor “diminuição da temperatura da sala” não foi utilizado. Nem todos os estressores foram apresentados ao mesmo tempo. Cada sujeito

⁴ Adotou-se esse horário pois era o intervalo no qual ocorria diariamente a troca de ração e a pesagem dos animais.

foi submetido a um ou dois componentes do protocolo diariamente. Os estressores que compõem esse protocolo são os seguintes:

- a) luz estroboscópica: uma luz estroboscópica, localizada no chão da sala onde foram aplicados os estressores, ligada por 4 ou 7 horas disparando 300 flashes por minuto;
- b) inclinação da gaiola: a gaiola viveiro foi inclinada em 30° para trás, permanecendo assim por 5 ou 14h;
- c) gaiola-viveiro suja: serragem molhada com 50ml de água foi colocada no chão da gaiola, e a gaiola permaneceu suja por 15h;
- d) barulho intermitente: um ruído branco intermitente de 85 decibéis foi ligado, assim permanecendo por 2 ou 5 horas na sala onde foi aplicado o protocolo de estressores;
- e) cheiro: um desodorante purificador de ar foi colocado na sala onde foi aplicado o protocolo de estressores e permaneceu por 14 h;
- f) agrupamento: dois sujeitos foram colocados em uma mesma gaiola-viveiro, tanto na gaiola originalmente de um quanto na de outro, ou seja, a cada agrupamento da dupla, a gaiola de um dos dois sujeitos foi utilizada por 15 h;
- g) objeto estranho na gaiola: um objeto de metal redondo de 7 cm de diâmetro e 1,5cm de altura foi colocado na gaiola viveiro e deixado por um período de 17 horas;
- h) iluminação contínua: a luz da sala onde foi aplicado o protocolo de estressores permaneceu acesa por 19 horas seguidas.

A tabela 1 mostra a distribuição semanal, bem como os horários que vigorou cada estressor durante o Protocolo de Estressores. Os espaços em branco representam o período de vigência dos estressores “privação de ração, acesso limitado à ração e privação de água”, descritos em Willner et al. (1987) e não utilizados no presente estudo.

Tabela 2. Distribuição Semanal do Protocolo de Estressores.

Horas	Domingo	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
00:00	Agrupamento	Cheiro	Iluminação contínua	Inclinação da gaiola	Gaiola suja	Iluminação contínua	Objeto estranho
01:00							
02:00							
03:00							
04:00							
05:00							
06:00							
07:00							
08:00							
09:00							
10:00							
11:00			Teste de consumo	Luz estroboscópica	Sessão operante	Luz estroboscópica	Inclinação da gaiola
12:00							
13:00	Barulho intermitente						
14:00							
15:00							
16:00							
17:00							
18:00	Cheiro		Inclinação da gaiola	Gaiola suja			Agrupamento
19:00							
20:00							
21:00							
22:00							
23:00							
23:00							

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados serão apresentados na seguinte sequência: (1) peso corporal dos sujeitos experimentais, (2) resultados dos testes de consumo e de preferência de líquidos e resultados do consumo total de líquidos, de água com sacarose e de água, (3) resultados do consumo de água e de ração na gaiola-viveiro, (4) frequência da resposta de pressão à barra no esquema concorrente VI5sVI5s em cada sessão e (5) frequência da resposta de pressão à barra na primeira metade e na segunda metade das sessões em que o esquema Conc VI5sVI5s estava em vigor.

Peso Corporal dos sujeitos experimentais

O início da pesagem para todos os sujeitos se deu a partir do 90º dia de vida dos mesmos. A Figura 2 mostra os pesos de cada sujeito, em cada dia ao longo do estudo. As interrupções nas curvas representam a ausência de dados decorrentes dos finais de semana e dos feriados quando não foram realizadas as mensurações dos pesos.

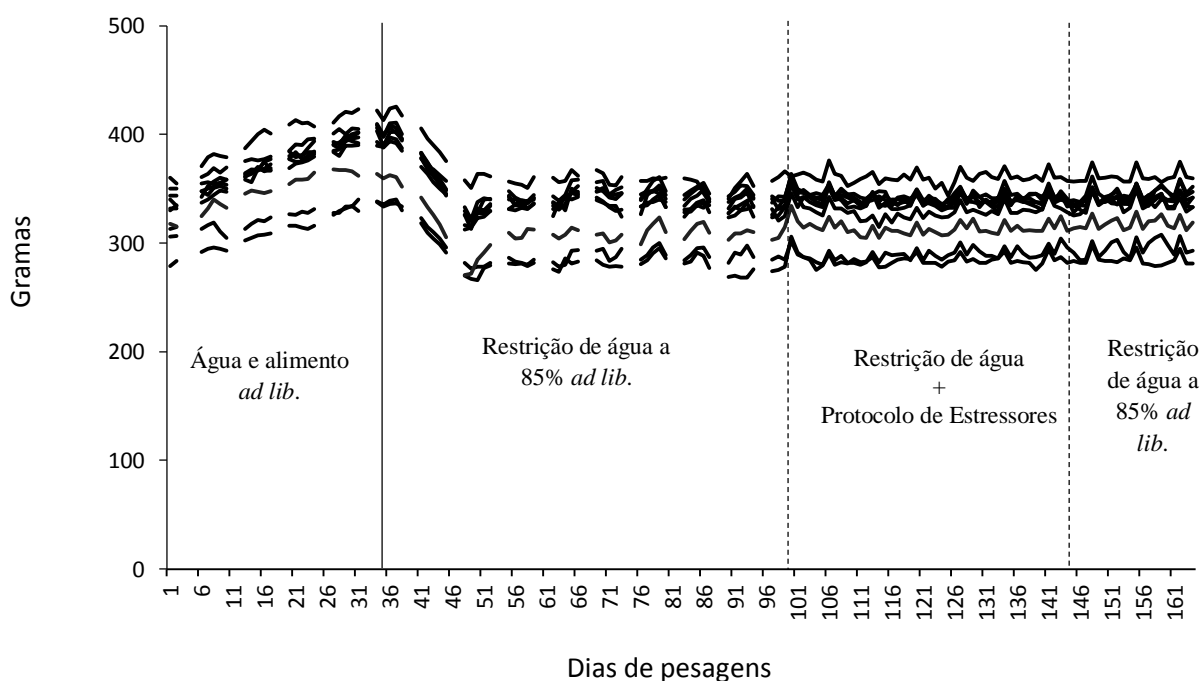


Figura 2. Peso corporal de cada sujeito ao longo do estudo. A linha vertical inteira representa o início da restrição de água até os sujeitos atingirem 85% dos seus pesos *ad lib.* e as linhas verticais pontilhadas indicam o início e o fim do Protocolo de Estressores.

É possível observar na Figura 2 que após 90 dias de vida, os pesos dos diferentes sujeitos variaram entre 279,0 gramas e 360,0 gramas. Nove dos dez sujeitos apresentaram valores iniciais acima de 300,0 gramas. Enquanto recebiam água e alimento *ad lib.*, todos os sujeitos apresentaram uma curva ascendente nos seus pesos.

Para todos os sujeitos, a restrição de água ocorreu quando os animais estavam com 124 dias de vida, não se esperando a estabilidade nos pesos para se iniciar a restrição de água com o objetivo de atingir 85% dos pesos *ad lib.* No presente estudo, o início da restrição de água começou mais tardiamente (124 dias de vida) do que nos estudos anteriores que envolveram a avaliação dos efeitos do CMS sobre a anedonia e o comportamento operante, nos quais a restrição foi iniciada por volta de 90 dias de vida dos animais para se atingir 80 a 85% do seus pesos *ad lib.* (Almeida 2013; Dolabela, 2004; Lacerda, 2013; Oliveira, 2009; Rocha, 2013; Rodrigues, 2005 e Thomaz, 2001).

Deve-se salientar que Cardoso (2008), Dolabela (2004), Oliveira (2009), Rodrigues (2005) e Thomaz (2001, 2009) tampouco esperaram a estabilidade no peso dos animais, o que não impediu que esses autores observassem um decréscimo no consumo de água com sacarose e um declínio no peso corporal nos animais submetidos ao CMS.

A partir do início da restrição de água, os pesos de todos os sujeitos apresentaram um declínio gradual, até que os animais atingissem em média valores equivalentes a 85% dos seus pesos *ad lib.*, o que ocorreu quando os animais completaram 147 dias de vida (58° dia de pesagem). Entre o 59° e o 98° dias de pesagem, os pesos dos sujeitos oscilaram entre 5,3% abaixo e 7,2% acima dos 85% *ad lib.*

Durante a fase em que o Protocolo de Estressores esteve em vigor (do 99° ao 144° dia de pesagem), os pesos dos animais variaram entre 4,5% abaixo e 9,3% acima dos pesos correspondentes a 85% *ad lib.* Após a suspensão do Protocolo de Estressores, os valores correspondentes aos pesos dos animais oscilaram entre 4,4% abaixo e 8,7% acima dos 85% *ad lib.*

No presente estudo, de modo geral, a exposição ao Protocolo de Estressores não foi acompanhada por uma redução nos pesos dos animais, comumente observada nos estudos que submeteram ratos ao CMS (Almeida 2013; Cardoso, 2008; Dolabela, 2004; Júnior et al. 2015; Lacerda, 2013; Oliveira, 2009; Pereira, 2009, 2015; Rocha, 2013; Rodrigues, 2005; Thomaz, 2001, 2009).

A análise da variação nos pesos de cada animal ao longo do presente estudo pode ser feita a partir da Figura 3.

Antes de ser submetido à restrição de água, o sujeito S3 (protocolo) apresentou um ganho de peso partindo de 343,5 gramas (1° dia de pesagem) e chegando a 406,0 gramas (34° dia de pesagem). Com a restrição de água, após atingir os 85% do peso *ad lib.* ocorreu uma pequena oscilação (4,0 % abaixo a 3,6% acima). Durante o Protocolo de Estressores, essa oscilação aumentou atingindo valores 1,5% abaixo e 6,4% acima dos 85% do peso *ad lib.* e após a suspensão do protocolo até o término do experimento esses valores oscilaram atingindo valores entre 0,9% abaixo e 6,8% acima dos 85% do peso *ad lib.*

Os sujeitos S5 (Agrupamento) e S7 (Controle), submetidos às mesmas condições durante o experimento, exceto pelo fato de que o sujeito S5 também foi exposto ao estressor “agrupamento” na fase do Protocolo de Estressores, apresentaram curvas de ganho de peso semelhantes antes da restrição hídrica. O sujeito S7 apresentou peso inicial de 360,0 gramas e final de 422,0 gramas e o sujeito S5 apresentou peso inicial de 307,0 gramas e final de 355,5 gramas. Para o sujeito S7 houve uma queda nos seus pesos entre o 86° e o 90° dias de pesagens, chegando a atingir um valor 4,5% abaixo dos 85% do seu peso *ad lib.* Nos demais dias de pesagem ocorreu uma estabilidade nos pesos dos sujeitos S5 e S7. Deve-se salientar que nas três últimas semanas do estudo, o sujeito S5 apresentou problemas de saúde, o que deve ter sido responsável pela diminuição no seu peso.

Antes da restrição da água, os sujeitos S1, S4, S9 e S11 (grupo antes e depois) apresentaram um ganho de peso semelhante, com pesos iniciais entre 332,0 a 350,0 gramas. Esses sujeitos alcançaram os pesos de 389,5 a 409,5 gramas na última pesagem antes do início da restrição hídrica. Observa-se que, após o início da privação, para os sujeitos S1 e S11 os pesos se mantiveram quase sempre acima dos 85% dos seus pesos *ad lib.*, ao passo que os sujeitos S4 e S9 apresentaram uma oscilação maior entre ganho e perda de peso durante essa fase. Pode-se ver na Figura 3 que os sujeitos S1, S9 e S11 apresentaram uma grande estabilidade nos seus pesos durante e após o Protocolo de Estressores. Vale ressaltar que o S4 foi o único sujeito que apresentou uma queda no peso atingindo valores entre 0,5% a 4,5% abaixo do equivalente a 85% do seu peso *ad lib.* quando submetido ao Protocolo de Estressores e após a suspensão do protocolo

apresentou valores oscilando entre 0,5% e 1,5% abaixo do equivalente a 85% do seu peso *ad lib.*.

Os sujeitos S2, S6, S8 e S10 (grupo antes, durante e depois) apresentaram pesos iniciais entre 279,0 a 340,0 gramas (antes da restrição de água) com um ganho de peso até o final desse período, atingindo valores entre 338,0 e 393,0 gramas na última pesagem que antecedeu o início da restrição hídrica. Após a suspensão do Protocolo de Estressores, para os sujeitos S6 e S8 ocorreu um aumento nos seus pesos de 7,8% e 8,7 % respectivamente, em relação aos pesos correspondentes aos 85% dos seus pesos *ad lib.*

Para o sujeito S10, ocorreu uma queda acentuada nas pesagens 49° a 52°, antes do protocolo e para o sujeito S2 na 92°. Nas demais aferições, os pesos de ambos os animais apresentaram uma estabilidade similar até o término do estudo.

De modo geral, para os sujeitos submetidos ao Protocolo de Estressores, ocorreu um aumento nos pesos corporais logo no segundo dia do protocolo, provavelmente devido ao “consumo” do estressor maravalha molhada. Nas apresentações subsequentes e semanais do mesmo estressor, controlou-se a quantidade de água usada para molhar a maravalha, usando-se sempre 50 ml de água, o que reduziu o “consumo” de água obtida dessa forma, mas não o evitou e, conseqüentemente, houve um menor aumento no peso dos animais. Quando submetidos aos testes de consumo de líquidos, os animais consumiram em média 20 a 35 ml de líquidos (água ou água com sacarose), o que foi acompanhado com valores mais altos de pesos corpóreos nos dias subsequentes durante a fase de submissão ao Protocolo de Estressores e após a sua suspensão. Os picos de pesos observados durante o Protocolo de Estressores e após a suspensão do mesmo, para todos os animais, exceto para o sujeito S5, devem-se provavelmente aos testes de consumo e de preferência de líquidos, realizados semanalmente. Já os testes realizados antes do protocolo ocorriam às sextas-feiras, não ocorrendo as pesagens subsequentes nos finais de semana e esta deve ser a razão pela qual as mensurações dos pesos dos animais nessa fase não terem revelado picos.

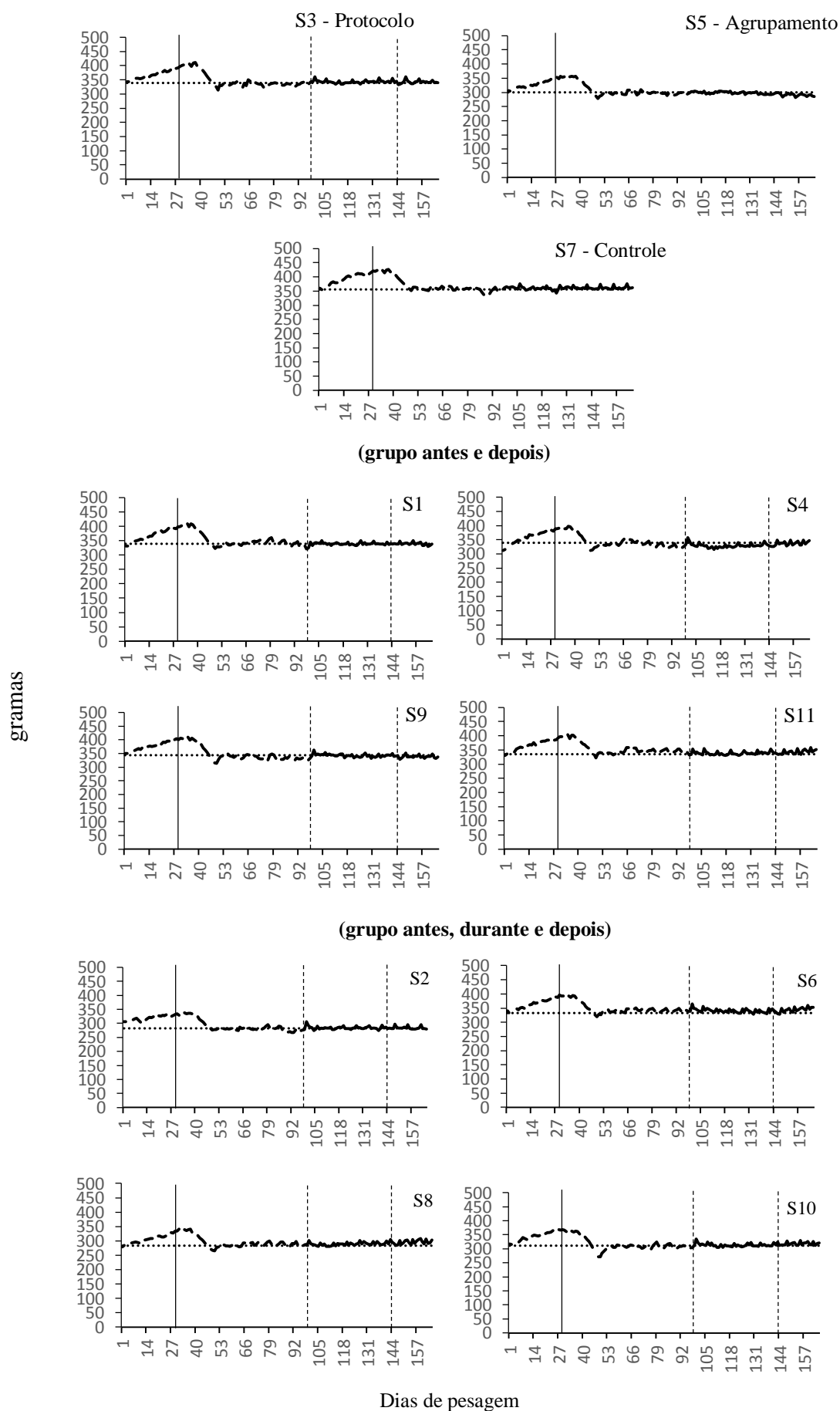


Figura 3. Peso corporal dos sujeitos S1 a S11. A linha vertical inteira representa o início a restrição de água a 85% do peso *ad lib.*, a linha horizontal pontilhada representa os 85% do peso *ad lib.* do sujeito, e as duas linhas verticais pontilhadas indicam, respectivamente, o início e o fim do Protocolo de Estressores.

Em resumo, no presente estudo a submissão ao Protocolo de Estressores não foi acompanhada por uma diminuição nos pesos dos sujeitos, exceto para o sujeito S4, diferentemente do que foi observado por outros autores (Almeida 2013; Cardoso, 2008; Dolabela, 2004; Júnior et al. 2015; Lacerda, 2013; Oliveira, 2009; Pereira, 2009, 2015; Rocha, 2013; Rodrigues, 2005; Thomaz, 2001, 2009). Na pesquisa de Pereira (2009) quatro sujeitos que foram submetidos ao Protocolo sem a privação de ração e tampouco apresentaram uma diminuição dos seus pesos.

Pode-se levantar a hipótese de que a eliminação do estressor privação de ração do Protocolo de Estressores no presente estudo e no de Pereira (2009) tenha sido responsável por esses resultados.

Resultado do Teste de Consumo e Preferência por Líquidos

A Figura 4 mostra o consumo de água e de água com sacarose pelos animais ao longo dos 13 testes semanais e a preferência por água com sacarose avaliada pela quantidade de água de sacarose consumida em relação ao consumo total de líquidos em porcentagem.

O consumo de água com sacarose apresentado pelo sujeito S7 (controle) foi maior do que ao consumo de água em todos os testes. Os quatro primeiros testes são marcados por um alto consumo de água com sacarose, chegando a 40 ml no 2º e no 4º testes. Este sujeito não foi submetido ao protocolo de estressores, permanecendo alojado em uma sala distante dos outros sujeitos. Entretanto, o pesquisador verificou que no 7º teste, o *timer* do ciclo claro-escuro estava com “mau contato”, o que ocasionou uma exposição acidental somente ao ciclo claro por um período de três semanas (5º ao 7º testes). A Figura 4 mostra que durante esse período problemático, houve um decréscimo no consumo de água com sacarose. No 8º teste, após solucionar esse problema técnico, ocorreu um consumo semelhante ao teste anterior. Nos testes subsequentes, o consumo de água com sacarose tornou a aumentar, porém não atingiu níveis semelhantes àqueles observados durante os quatro primeiros testes. Infere-se que a maior exposição a um dos estímulos utilizados como estressor no protocolo (luz contínua), durante um período ininterrupto de três semanas, tenha sido responsável pela queda no consumo de água com sacarose observada no sujeito S7.

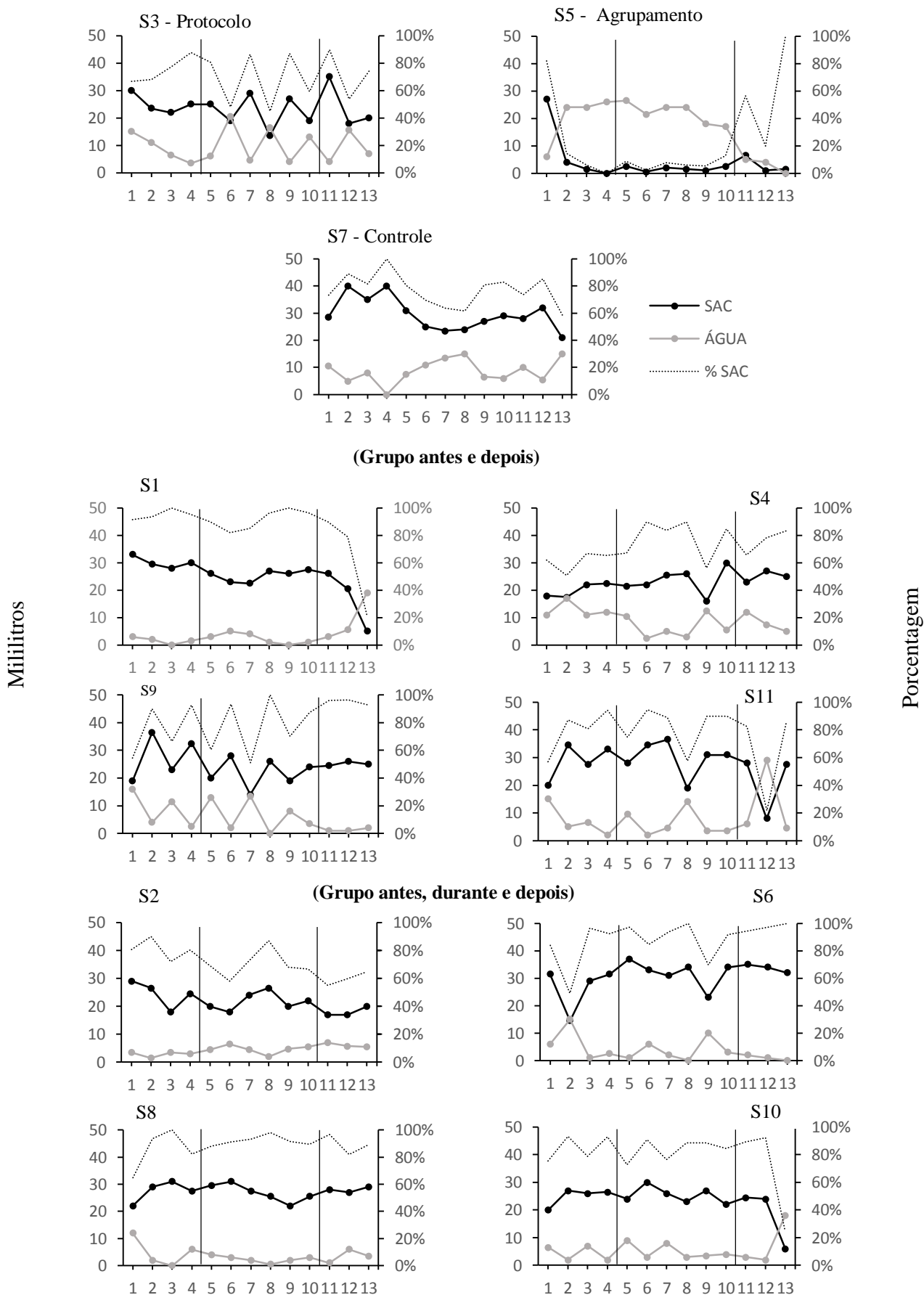
Para os sujeitos S2 e S8 (grupo antes, durante e depois) o consumo de água com sacarose foi sempre superior ao consumo de água, antes, durante e após a submissão ao

protocolo de estressores. Para o S8 a preferência por água com sacarose (eixo secundário) a partir do 2º até o 13º testes foi sempre superior a 80%, diferentemente da preferência apresentada pelos sujeitos S2 e S7, que oscilaram entre 60 a 100%. Entretanto, os valores do consumo de água com sacarose foram sempre superiores que os de consumo da água.

O consumo de água e de água com sacarose para os sujeitos S1 e S10 (Grupo antes, durante e depois) assemelham-se com o consumo apresentado pelo sujeito S7 (controle), exceto no 13º teste, no qual houve uma inversão no consumo dos dois líquidos para os sujeitos S1 e S10. A preferência por água com sacarose para os sujeitos S1 e S10, com exceção do que ocorreu no último teste, foi acima de 80% na maioria dos testes. Para os sujeitos S4 (grupo antes e depois) e S6 (grupo antes, durante e depois), o consumo de água com sacarose foi sempre maior em comparação com o consumo de água, ao longo dos 13 testes, exceto no 2º teste, quando o consumo foi semelhante para os dois líquidos, bem como no 9º teste para o S4, quando a diferença no consumo de ambos os líquidos não passou de 4ml. Com exceção do 2º e 9º testes, os resultados dos sujeitos S4 (grupo antes e depois) e S6 (grupo antes, durante e depois) se assemelham aos resultados apresentados pelo sujeito S7 (controle), para o qual o consumo de água com sacarose foi sempre maior que o consumo de água. Com relação à preferência por água com sacarose, observa-se uma oscilação na preferência entre 49,0 a 100% para o S6 e entre 50,0 e 89,7% para o S4.

O consumo de água com sacarose para o S11 (grupo antes e depois) foi predominantemente maior em comparação ao consumo de água, exceto no 12º teste, no qual o consumo de água foi maior. A preferência por água com sacarose oscilou entre 21,6 a 94,5%. Em comparação com o sujeito S7 (controle), observa-se que o consumo de água com sacarose foi semelhante ao do sujeito S11 (grupo antes e depois), exceto pelo 12º teste.

O sujeito S9 (grupo antes e depois) foi o que apresentou a maior oscilação nas quantidades consumidas de água e de água com sacarose durante os nove primeiros testes. Entretanto, o consumo de água nunca foi maior que o consumo de água com sacarose, sendo que apenas no 7º teste o consumo de ambos os líquidos foi semelhante, apesar do consumo de água com sacarose permanecer maior, mesmo nesse teste. Observa-se que a preferência por água com sacarose oscilou entre 54,3 e 100%.



Testes de consumo semanal

Figura 4. Consumo de água e de água com sacarose e porcentagem de consumo de água com sacarose em relação ao consumo total de líquidos para os sujeitos S1 a S11 nos testes de consumo semanais. O espaço entre as linhas verticais corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores.

Vale ressaltar que o sujeito S5 (agrupamento) submetido ao teste de consumo e preferência de líquidos e ao estressor agrupamento apenas apresentou desde o 2º teste, uma preferência por água que se manteve até o 10º teste. Nos três últimos testes semanais (11º, 12º e 13º), o consumo do sujeito S5 foi mínimo independentemente do líquido, chegando a 4ml de água no penúltimo teste, e a 1,5ml de água com sacarose no último teste. Pelo fato de esse animal ter adoecido nas três últimas semanas do experimento, tais resultados podem ser atribuídos às suas condições de saúde.

De modo geral, o Protocolo de Estressores não afetou o consumo de água com sacarose para os sujeitos submetidos às sessões operantes. Em especial, para os sujeitos S2, S6, S8 e S10 submetidos às sessões operantes, antes, durante e após o protocolo, o consumo de água com sacarose foi mais estável em comparação com os sujeitos S4, S9 e S11, submetidos às sessões operantes, somente antes e após o protocolo.

O sujeito S3 (protocolo) consumiu muito mais água com sacarose do que água apenas durante os quatro primeiros testes, porém a introdução e posteriormente a suspensão do protocolo de estressores ocasionaram uma alternância entre o consumo dos dois líquidos. No 6º e 8º testes, este sujeito apresentou um consumo maior de água do que de água com sacarose.

Concluindo pode-se dizer que o Protocolo de Estressores não afetou o consumo de água com sacarose pelos os sujeitos submetidos às sessões operantes, isto é, o presente estudo não observou anedonia decorrente da submissão ao protocolo de estressores nos sujeitos submetidos às sessões operantes. Em especial, para os sujeitos S2, S6, S8 e S10 submetidos às sessões operantes durante todo o estudo (grupo antes durante e depois), o consumo de água com sacarose foi mais estável em comparação com os sujeitos S4, S9 e S11, submetidos às sessões operantes, somente antes e após o protocolo.

No que se refere ao consumo de água com sacarose, os resultados do presente estudo são diferentes daqueles encontrados por Cardoso (2008), Dolabela (2004), Oliveira (2009), Rodrigues (2005), Thomaz (2001, 2009) e Willner et al. (1987), nos quais ratos submetidos ao protocolo de estressores apresentaram decréscimo no consumo de água com sacarose.

Resultados do consumo total de líquidos, de água com sacarose e de água

A Figura 5 mostra o consumo total de líquidos ao longo dos 13 testes semanais, bem como as médias de consumo, antes, durante e após a submissão ao Protocolo de Estressores.

Para o sujeito S3 (protocolo), observa-se que o consumo total de líquidos nos testes semanais variou entre 27,0ml e 45,0ml. As médias do volume total de líquido consumido por S3 foram muito semelhantes antes do Protocolo de Estressores (34,1ml nos quatro primeiros testes), durante o mesmo (32,8ml nos 6 testes seguintes) e depois da sua suspensão (33,1ml nos 3 testes finais). Este sujeito consumiu muito mais água com sacarose do que apenas água nas fases antes do Protocolo (média de 25,1 ml e de 9,0 ml, respectivamente), durante o mesmo (média de 22,1 ml e 10,8 ml, respectivamente) e depois da suspensão deste (média de 24,3 ml e 8,8 ml, respectivamente).

O sujeito S7 (controle) apresentou uma variação no consumo total de líquidos entre 29,5ml e 45,0ml ao longo dos testes semanais e foi o que consumiu o maior volume total de líquido durante os quatro primeiros testes (41,8ml). Do 5º ao 10º testes, a média do volume total de líquido consumido por este sujeito caiu atingindo 36,5ml e nos três testes finais aumentou ligeiramente (37,1ml). Como já comentado, apesar de não ser submetido ao Protocolo de Estressores este sujeito foi exposto acidentalmente somente ao ciclo claro por um período de três semanas (5º ao 7º teste) e isto pode ter funcionado como um estressor que foi acompanhado por uma diminuição no consumo total de líquidos. Este sujeito foi também o que apresentou o maior consumo médio de água com sacarose antes do protocolo, com uma média de 35,9 ml. O volume de água com sacarose consumido por este animal diminuiu para 26,6 ml durante o protocolo e para 10,2 ml depois da sua suspensão. O consumo médio de água para esse sujeito foi de 5,9 ml antes do protocolo, 9,9 ml durante o mesmo e 10,2 ml após a sua suspensão, padrão semelhante àquele apresentado pelo sujeito S3. De forma semelhante, no estudo de Kanarik, Kõiv, Matrov e Harro (2009), os autores observaram que os ratos que apresentaram o maior consumo de água com sacarose na linha de base (testes que precederam o protocolo) foram aqueles que demonstraram uma maior redução no consumo de água com sacarose quando submetidos ao Protocolo de Estressores do que os sujeitos que ingeriram menos água com sacarose nos testes iniciais.

O sujeito S5 (agrupamento) variou seu consumo total de líquidos entre 1,5ml e 33,0ml e foi o que apresentou o maior decréscimo neste consumo nos três testes finais (fase de suspensão do estressor “agrupamento”). S5 consumiu uma média de 28,1ml de líquidos nos quatro primeiros testes (antes de ser submetido ao estressor “agrupamento”), 23,5ml durante a submissão ao “estressor agrupamento” e apenas 6,0ml após a suspensão desse estressor. Como comentado anteriormente este animal adoeceu nas três últimas semanas de estudo quando foram realizados os três últimos testes semanais. Este sujeito consumiu mais água do que água com sacarose. O consumo médio de água com sacarose para o sujeito S5 foi de 8,1 ml antes do protocolo, 1,7 ml durante o mesmo e 3,0 ml após a sua suspensão. O consumo médio de água para esse sujeito foi sempre maior nos três momentos de análise, apresentando valores de 20,0 ml antes do protocolo, 21,8 ml durante o mesmo e 3,0 ml após a sua suspensão.

Os sujeitos que foram submetidos às sessões operantes apenas antes e após a submissão ao Protocolo, em especial para os sujeitos S1, S4 e S9 (grupo antes e depois), apresentaram uma diminuição no consumo total de líquidos durante a submissão ao Protocolo de Estressores em relação ao padrão pré-submissão. Já o sujeito S11 (também do grupo antes e depois) diferenciou-se do seu grupo não só não reduzindo o consumo total de líquido durante a fase de submissão ao Protocolo de estressores como aumentando tal consumo nessa fase e, em seguida, apresentando uma queda no consumo total de líquidos nos três testes que ocorreram na fase em que o protocolo foi suspenso. Em média, esse grupo (S1, S4, S9 e S11) consumiu 26,6 ml de água com sacarose antes do protocolo, 25,1 ml durante o mesmo e 22,1 ml após a sua suspensão. Uma análise de variância para medidas repetidas revelou que essas diferenças não são significativas ($p > 0,05$). As médias de consumo de água para esse mesmo grupo foram bem menores (7,7 ml antes; 5,5 ml durante; 8,0 ml depois) não tendo havido tampouco diferenças significativas entre os três momentos de avaliação.

Os sujeitos S2, S6 e S10 (grupo antes, durante e depois) aumentaram ligeiramente seu consumo total de líquidos durante a submissão ao Protocolo de Estressores e o diminuíram após a suspensão do protocolo. O sujeito S8 (grupo antes durante e depois) apresentou um consumo total diferente daquele dos sujeitos do seu grupo com uma média de consumo total de 32,4ml antes do protocolo, de 29,3ml durante e 31,5 após a suspensão do mesmo. Os sujeitos S2, S6 e S10 (grupo antes, durante e depois) apresentaram uma média de consumo de água com sacarose de 25,8 ml antes do protocolo, 26,6 ml durante o mesmo e 24,4 ml depois da sua suspensão, sem diferenças significativas entre os três momentos de avaliação ($p>0,05$). Com relação ao consumo de água para esse mesmo grupo, observou-se uma média no consumo de 5,3 ml antes do protocolo, 5,1 ml durante o mesmo e 6,2 ml depois da sua suspensão, não tendo havido tampouco diferenças significativas entre os três momentos de avaliação.

Os dados observados no presente estudo foram muito variáveis e parecem não estar relacionados com a submissão ao Protocolo de Estressores ou com a sua suspensão.

A literatura também tem encontrado dados variáveis, alguns estudos tendo observado para alguns sujeitos experimentais um aumento na média do consumo total de líquidos durante a submissão ao Protocolo de Estressores (Almeida, 2013; Cardoso, 2008; Lacerda, 2013; Rocha, 2013 e Thomaz, 2009) e para outros sujeitos uma redução na média do consumo total de líquidos durante essa fase (Almeida, 2013; Cardoso, 2008; Dolabela, 2004; Lacerda, 2013; Oliveira, 2009; Rocha, 2013 e Thomaz, 2001, 2009).

Essa variabilidade está provavelmente relacionada às diferentes condições às quais os sujeitos foram submetidos ao longo dos estudos

Resultado do consumo de água e ração na gaiola viveiro

A Figura 6 mostra as médias semanais do consumo diário de água e de ração pelos os sujeitos S1 a S11 nas gaiolas-viveiro. Os cálculos das médias foram realizados somando-se o total de ração e de água consumidas semanalmente e dividindo-se estes valores por sete. Considerou-se o período de uma semana entre terça e segunda feira.

Eram disponibilizados para cada sujeito 60 gramas de ração diariamente. O cálculo do consumo de ração era realizado a partir da diferença entre a disponibilização diária e a sobra no dia subsequente.

A quantidade de água consumida nas sessões operantes foi adicionada à média semanal de consumo de água, uma vez que a quantidade de água obtida na sessão operante poderia ser suficiente para manter o peso do animal a 85% do seu peso *ad lib.* e se isso ocorresse, restringia-se o acesso à água na gaiola-viveiro. Tal critério foi adotado a fim de manter o peso dos animais a 85% dos seus pesos *ad lib.*

Optou-se por considerar a média semanal de consumo, pois levou-se em consideração o fato de que antes do início do Protocolo de Estressores os animais não eram pesados nos finais de semana e a quantidade disponibilizada de ração era multiplicada por três, levando em consideração o consumo no final de semana. Em alguns dias da semana (nos dias de testes semanais de consumo e nos dias que sucediam esses testes) a água não era disponibilizada na caixa-viveiro a fim de manter o peso dos animais a 85% dos seus pesos *ad lib.*

Para o sujeito S3 (protocolo), ao longo das 13 semanas, o consumo médio semanal de ração na gaiola-viveiro variou entre 19 e 23 gramas e de água entre 2 e 9 mililitros. Durante a exposição ao Protocolo de estressores houve um declínio no consumo de água e de ração, sendo essa redução mais marcante na 9^o e 10^o semanas. Após a suspensão do Protocolo de estressores os consumos de água e de ração aumentaram levemente, mas não alcançaram, nas últimas três semanas, os valores correspondentes aos da 4^o semana.

Para o sujeito S7 (controle), não submetido ao protocolo de estressores, os valores do consumo médio de ração variaram entre 19 e 26 gramas e o de água entre 4 e 10 mililitros ao longo das 13 semanas. Com exceção da 3^o e da 9^o semanas, esse sujeito apresentou um padrão estável de consumo de água e de ração.

O sujeito S5 (agrupamento), submetido apenas ao estressor agrupamento, apresentou valores médios de consumo de água e de ração na gaiola-viveiro ao longo das 13 semanas entre 17 a 20 gramas e 6,5 a 20 mililitros, respectivamente. Da 10^o para 11^o semana houve um aumento abrupto na média de consumo de água que se manteve elevada até o final do estudo. A mudança no consumo de ração provavelmente se deveu ao aumento no consumo de água na gaiola-viveiro, devido à liberação diária de água em quantidades cada vez mais elevadas, nas três últimas semanas do estudo, a fim de manter o peso do animal a 85% do seu peso *ad lib.*, apesar desse aumento no consumo de água não ser capaz de manter o peso do animal, como pode ser observado na Figura 3.

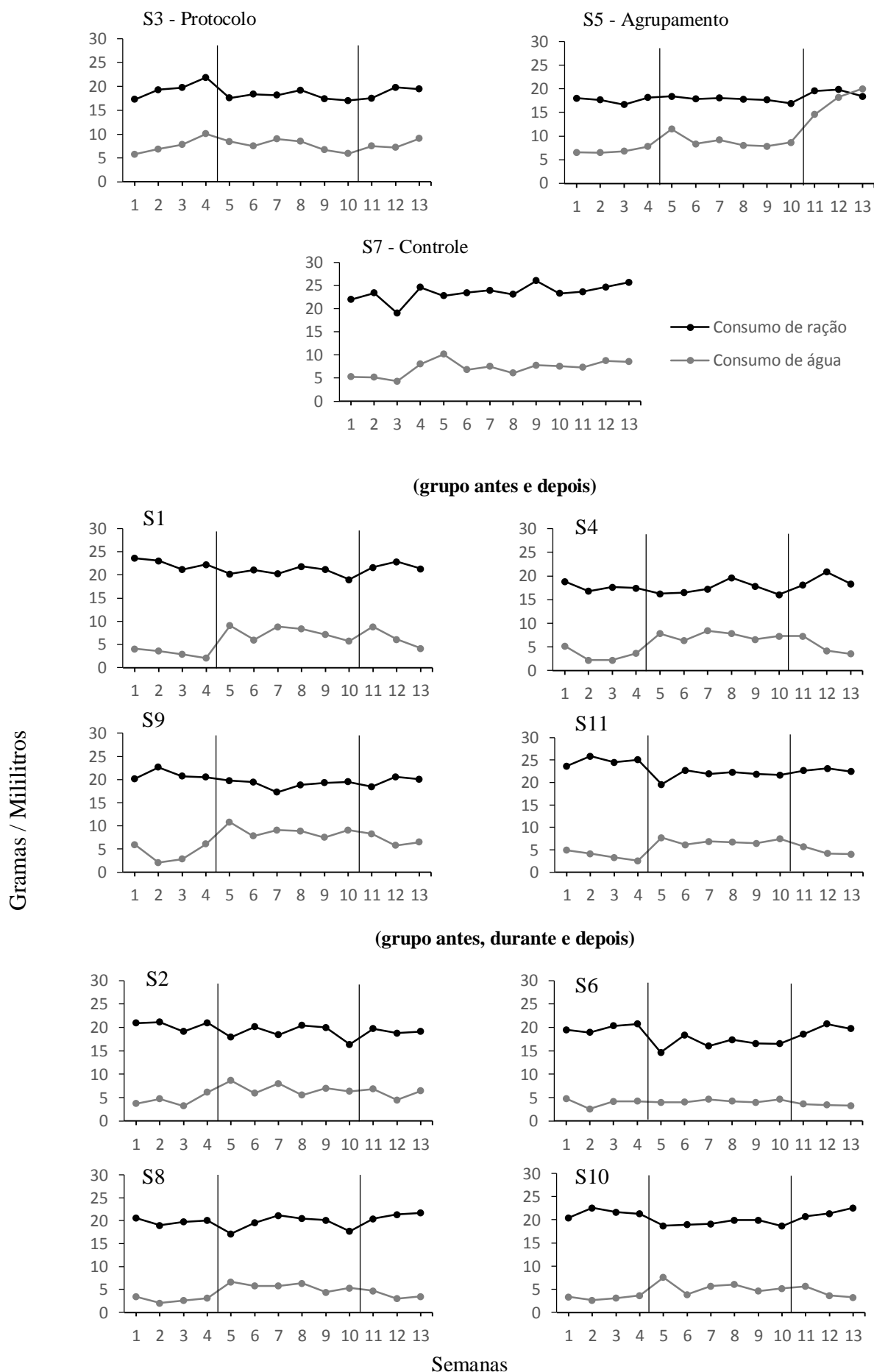


Figura 6. Média semanal do consumo de água e de alimento para os sujeitos S1 a S11 ao longo das 13 semanas em que ocorreram os testes de consumo de água e de água com sacarose. O espaço entre as linhas verticais corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores

Para os sujeitos S1, S4, S9 e S11 (grupo antes e depois) ocorreu um aumento no consumo médio de água durante a submissão ao Protocolo de estressores e, posteriormente, com a suspensão do mesmo uma redução nesse consumo. Para os sujeitos S1, S9 e S11 o consumo médio de ração diminuiu levemente durante o Protocolo, ao passo que para o sujeito S4 apenas na 10^o semana o consumo foi inferior àqueles observados antes da submissão ao Protocolo de estressores.

Os sujeitos S2, S6, S8 e S10 (grupo antes, durante e depois) apresentaram uma estabilidade no consumo de água e de ração na gaiola-viveiro antes da submissão ao Protocolo de Estressores, ao passo que durante o protocolo, o consumo médio de água e o de ração variaram entre os sujeitos. Para os sujeitos S2, S8 e S10 houve um aumento no consumo de água durante o Protocolo de Estressores e um decréscimo nesse consumo, após a suspensão do mesmo. Já o consumo médio de ração para os sujeitos S2, S6 e S10 diminuiu durante as semanas em que o protocolo esteve vigente e após a suspensão do mesmo, o consumo aumentou gradualmente.

Com relação à alimentação na gaiola-viveiro na fase em que os sujeitos eram submetidos ao “estressor agrupamento”⁵, 60 gramas de ração eram disponibilizados para cada dupla na gaiola-viveiro (15h ininterruptas por semana). Tal procedimento foi adotado, levando-se em consideração que o presente estudo avaliou o consumo de ração e de água na gaiola-viveiro e não expôs os animais a nenhum tipo de privação, exceto a restrição hídrica com o objetivo de manter os pesos dos sujeitos a 85% do seus pesos *ad lib.*

A Figura 7 mostra o consumo da dupla⁶ de ratos ao longo das seis semanas em que o estressor agrupamento esteve em vigor. Com exceção do que ocorreu na 1^o semana para a dupla S3-S5 e na 3^o semana para a dupla S8-S11, houve um consumo semelhante de ração para as cinco duplas ao longo das seis exposições ao estressor agrupamento. Uma possível explicação para os resultados discrepantes observados na 1^o e na 3^o semanas seria o fato de a água disponibilizada diariamente (a fim de manter o peso dos animais a 85% do peso *ad lib.*) nas garrafas para ambos os sujeitos ter sido consumida

⁵ Comumente o estressor privação de ração está presente quando o estressor agrupamento é apresentado.

⁶Na medida em que os sujeitos foram alojados aos pares na condição “agrupamento”, considerou-se como consumo da dupla a quantidade de ração disponibilizada para ambos menos a sobra na gaiola-viveiro, após o término desse estressor.

antes do agrupamento dos sujeitos. Com isso, os animais estariam alojados em duplas, porém sem acesso à água, o que provavelmente afetaria o consumo de ração, uma vez que geralmente ratos consomem água e ração de maneira simultânea.

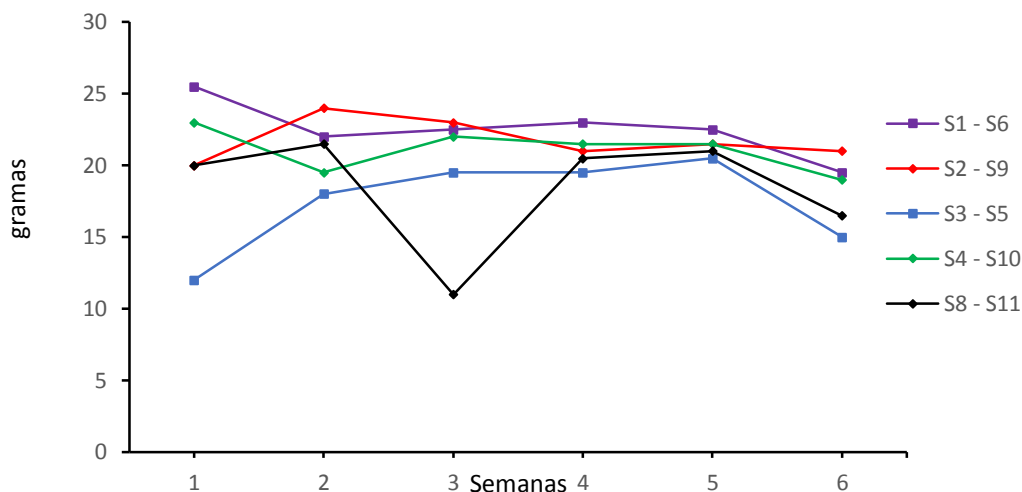


Figura 7. Consumo de ração das duplas acopladas durante o estressor agrupamento ao longo das seis semanas de exposição a esse tipo de estressor.

A literatura da área de restrição hídrica e alimentar aponta que diferentes tipos de restrição podem ocasionar diferentes tipos de consumo (López-Espinoza, A. & Martínez, H., 2001). Entre os estudos envolvendo o CMS e o modelo operante e que não mantiveram a privação de água dos animais a 85% dos seus pesos *ad lib.*, destaca-se a pesquisa de Cardoso (2008) que privou os animais de água e de ração durante o Protocolo de estressores e observou que, em vigência do mesmo, os animais apresentaram um aumento abrupto de consumo de água e de ração na gaiola-viveiro.

Os resultados de consumo de ração no presente estudo são semelhantes aos das pesquisas de Almeida (2013), Oliveira (2009), Lacerda (2013) e Rocha (2013), nas quais houve um decréscimo no consumo de ração durante a submissão ao Protocolo de Estressores. No estudo de Almeida (2013) apenas o grupo que passou por sessões em que esteve em vigor o esquema de reforçamento VT não apresentou uma redução no consumo de ração na gaiola-viveiro; pelo contrário, esse grupo aumentou o consumo de ração enquanto era submetido ao Protocolo. A autora atribuiu o aumento no consumo de ração durante a submissão ao Protocolo de Estressores ao esquema de reforçamento em vigor na pesquisa.

Os resultados do presente estudo são diferentes daqueles encontrados na pesquisa de Rodrigues (2005), na qual após a introdução da restrição hídrica a fim de atingir 85% do peso *ad lib.* dos animais, o consumo de água e de ração não se alteraram para todos os sujeitos até o final do estudo.

No presente estudo verificou-se que os efeitos da submissão ao Protocolo de Estressores no consumo de água e de ração na gaiola-viveiro devem ser analisados para cada sujeito em específico. Com a exposição dos animais às sessões operantes (grupo antes e depois e grupo antes, durante e depois) observa-se, de modo geral, uma redução no consumo de ração e/ou de água, durante a fase em que os animais foram submetidos ao Protocolo de Estressores. Para o sujeito S3, submetido apenas ao Protocolo de Estressores, observou-se também uma redução tanto no consumo de ração quanto no consumo de água. Diferentemente do sujeito S5, submetido apenas ao estressor agrupamento, no qual apresentou uma estabilidade no consumo de ração e água até a 10ª semana, seguido de um aumento no consumo de água e ração nas três últimas semanas. Para o sujeito S7 controle, observou-se uma estabilidade no consumo de água e ração ao longo das treze semanas de mensuração.

Parece que independentemente do tipo de condição à qual o sujeito foi submetido no presente estudo, a variável crítica para a alteração no padrão de consumo de água e de ração na gaiola-viveiro tenha sido o conjunto de estressores contidos no Protocolo de Estressores.

Desta forma, o consumo de ração poderia ser considerada uma medida de anedonia, uma vez que a ração é um estímulo reforçador e seu consumo diminuiu durante a submissão ao protocolo. Diferentemente dos testes de consumo de água com sacarose que foram apresentados apenas uma vez por semana, durante o período de uma hora, o consumo de ração na gaiola-viveiro poderia ser uma medida mais clara porque a ração esteve sempre disponível para os sujeitos, independentemente do horário.

Talvez a diferença encontrada nos resultados de consumo de água e de ração na gaiola-viveiro durante o Protocolo de Estressores na pesquisa de Rodrigues (2005) em comparação com os resultados obtidos no presente estudo e nos de Oliveira (2009), Lacerda (2013) e Rocha (2013), deva-se ao fato de que na Pesquisa de Rodrigues (2005) não houve uma mensuração sistemática de consumo de água e de ração durante a vigência

do Protocolo de Estressores, apenas em alguns dias específicos, segundo o próprio autor. Ao contrário das mensurações sistemáticas ao longo do protocolo, realizada no presente estudo e nos estudos de Oliveira (2009), Lacerda (2013) e Rocha (2013) que adotaram o mesmo tipo de privação de água,

Vale ressaltar também que nas pesquisas de Almeida (2013), Lacerda (2013) e Rocha (2013) a privação de ração esteve presente no protocolo. No presente estudo, tal variável foi retirada do Protocolo de Estressores e, ainda sim, foi possível observar um decréscimo no consumo de ração com a introdução do Protocolo de Estressores. Parece que não somente a privação de ração contida no protocolo como também a exposição cronicamente aos outros estressores (e.g. luz estroboscópica, inclinação de gaiola, entre outros) e a interação entre eles são suficientes para alterar o padrão de consumo em ratos.

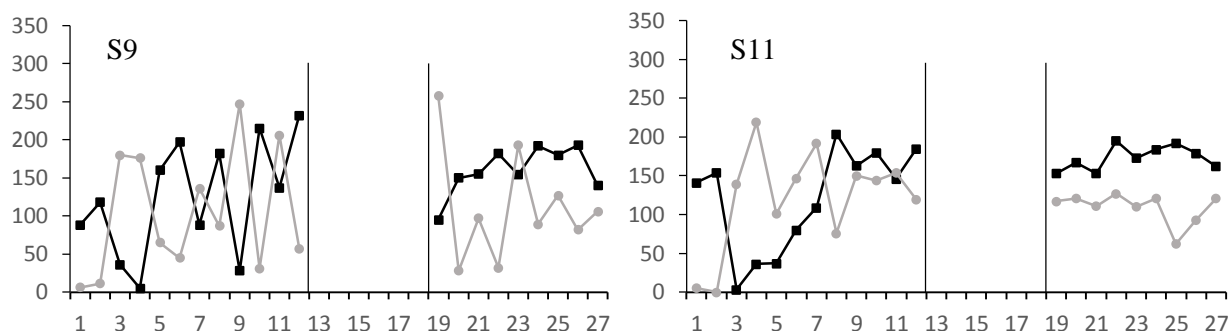
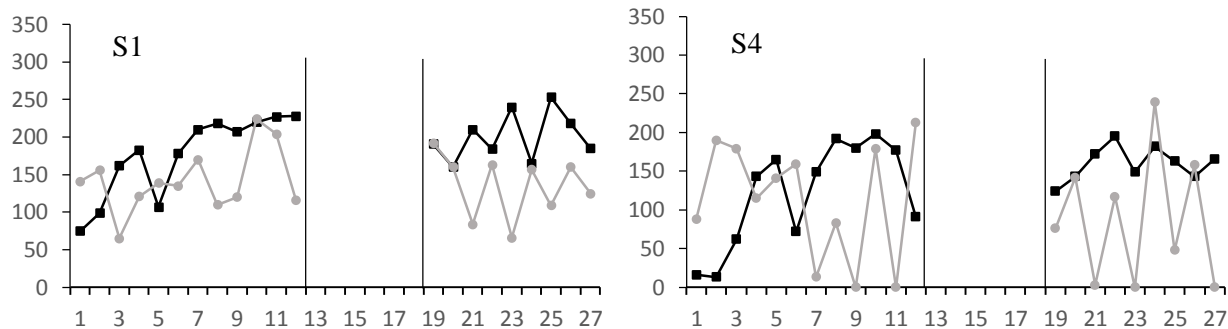
Frequência de respostas de pressão à barra no esquema concorrente VI5sVI5s

As sessões operantes nas quais os animais foram submetidos ao esquema ConcVI5s(água)VI5s(água + 8% sacarose) encerravam-se após a liberação de 100 reforços ou após 20 minutos. O líquido água com sacarose esteve inicialmente correlacionado com a barra da direita, ao passo que o líquido água esteve correlacionado com a barra da esquerda. Esses diferentes líquidos foram alternados nos bebedouros esquerdo e direito da caixa experimental, adotando-se o seguinte critério: se o sujeito apresentasse maior frequência de respostas de pressão à barra reforçadas com água ou com água com sacarose por duas sessões consecutivas, a liberação do líquido era invertida na sessão seguinte. A partir da 8^o sessão, a alternância dos líquidos ocorria nas sessões posteriores à sessão em que houvesse uma diferença na frequência das respostas de pressão nas duas barras.

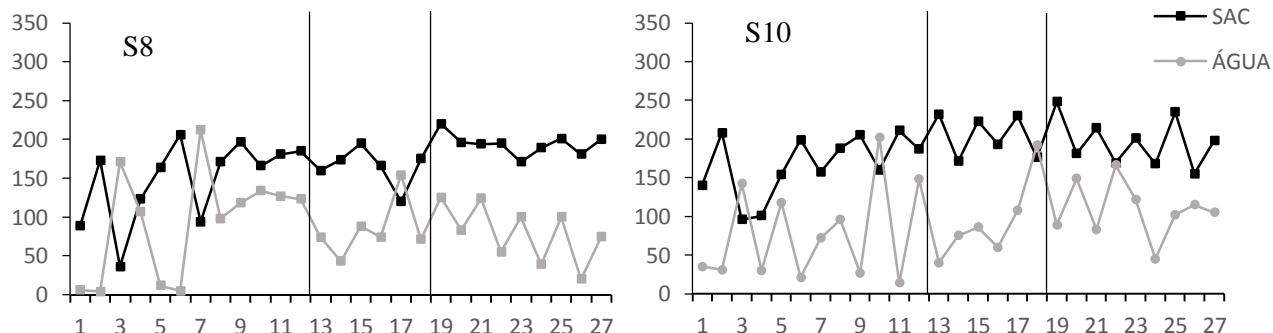
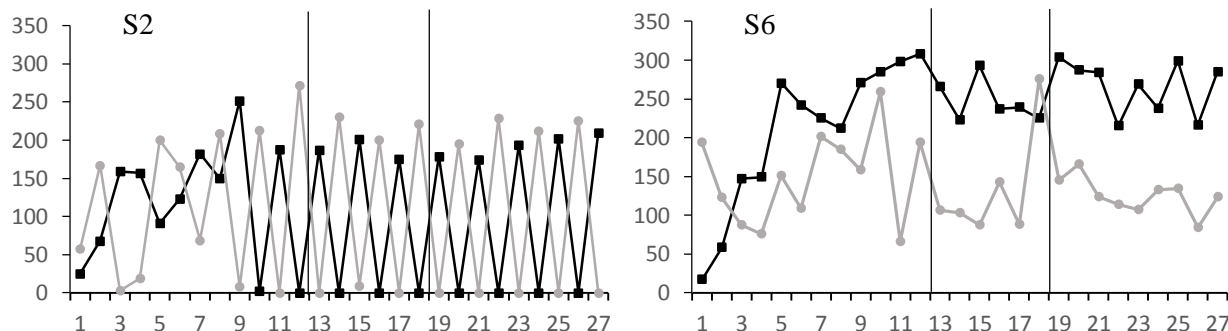
A Figura 8 mostra a frequência de respostas de pressão à barra em cada sessão operante para os sujeitos S1, S4, S9 e S11 (grupo antes e depois) e para os sujeitos S2, S6, S8 e S10 (grupo antes, durante e depois).

Para todos os sujeitos, exceto para S2 e S9, a frequência de respostas de pressão à barra reforçadas com água com sacarose foi geralmente maior, principalmente a partir da 7^o sessão, a qual ocorreu antes da apresentação do Protocolo de Estressores.

(Grupo antes e depois)



(Grupo antes, durante e depois)



Nº de Sessões operantes

Figura 8. Frequência de respostas apresentadas pelos sujeitos S1, S4, S9 e S11 (grupo antes e depois) e S2, S6, S8, S10 (grupo antes, durante e depois) durante as sessões operantes em esquemas concorrentes. O espaço entre as linhas verticais corresponde ao período de exposição ao Protocolo de estressores.

No presente estudo, a frequência de respostas de pressão à barra em cada sessão, em ambas as barras, apresentou uma grande variabilidade intra e inter-sujeitos. Os sujeitos S11 (grupo antes e depois) e S8 (grupo antes, durante e depois) foram os únicos para os quais se observa um padrão de estabilidade a partir da 19ª sessão.

Em geral, observa-se que a submissão ao Protocolo de Estressores não foi acompanhada por uma alteração na distribuição de respostas reforçadas com água e água com sacarose, nem durante e nem após a suspensão do mesmo.

Nota-se que o sujeito S2 foi o único que respondeu consistentemente na barra da esquerda, independentemente do reforço, durante todo o estudo. Este resultado é semelhante àquele encontrado em estudos com esquemas concorrentes que verificaram que o responder do sujeito pode ficar sob o controle da lateralidade na caixa experimental (Prety & Heyman, 1995).

Os estudos de Thomaz (2001), Pereira (2009) e Almeida (2013) também identificaram um controle da lateralidade sobre o responder dos seus sujeitos. Vale ressaltar que em na pesquisa de Almeida (2013) não havia barras nas sessões operantes, o reforço era liberado em esquema VT (tempo variável) e os ratos desenvolveram o padrão de ficar num dos cantos da caixa experimental.

Tendo utilizado em seu estudo um esquema de reforçamento de intervalo variável com diferentes intervalos (VI2s, VI5s e VI10s), Cardoso (2008) apresentou além da frequência de respostas de pressão à barra, outras duas medidas, a saber: (1) número total de reforços – água e água com sacarose- obtidos durante cada sessão e (2) a proporção de respostas emitidas em cada uma das barras nas sessões operantes em relação ao total de reforços obtidos em cada barra correlacionada a um dos líquidos. Pelo fato de o presente estudo ter empregado o esquema de reforçamento VI 5s em ambos os componentes do esquema concorrente, optou-se em não apresentar as medidas adicionais apresentadas por Cardoso (2008), uma vez que o número total de reforços obtidos nas sessões operantes foi muito semelhante à frequência total de respostas de pressão à barra em cada sessão.

Tanto o presente estudo quanto o de Cardoso (2008) observaram durante o Conc VI 5s VI5s uma pequena alternância de respostas entre os dois manipulandos. Talvez como observado por Cardoso (2008), o aumento no valor do intervalo no esquema de reforçamento favorece uma alternância maior entre os manipulandos.

Frequência de respostas de pressão à barra no esquema concorrente VI5sVI5s em cada período de 10min.

Nos estudos de Dolabela (2004), Pereira (2009) Rodrigues (2005) e Thomaz (2001) o esquema de reforçamento empregado foi o Concorrente Razão fixa Razão fixa. Os autores citados apresentaram os dados das sessões operantes, em geral, levando em consideração a frequência de respostas emitidas em cada barra sob os esquemas de razão fixa. Ao utilizar um esquema concorrente de Intervalo Variável Intervalo Variável, Cardoso (2008) apresentou seus dados utilizando também essa medida. O presente estudo também empregou um esquema concorrente Intervalo Intervalo Variável. Uma outra possibilidade de análise seria dividir a sessão em dois períodos e acompanhar o desempenho dos sujeitos ao longo de cada sessão. A partir disso foram criadas as Figuras 9 e 10. Tais figuras permitem verificar se o valor dos reforços -água e água com sacarose alterou-se do início para o fim de cada sessão, períodos associados a diferentes níveis de privação de água.

Devido a problemas técnicos não foi possível obter os dados ao longo das sessões 13, 14, 16, 21, 25 para o sujeito S2, das sessões 23 e 25 para o sujeito S5 e da sessão 24 para o sujeito S1.

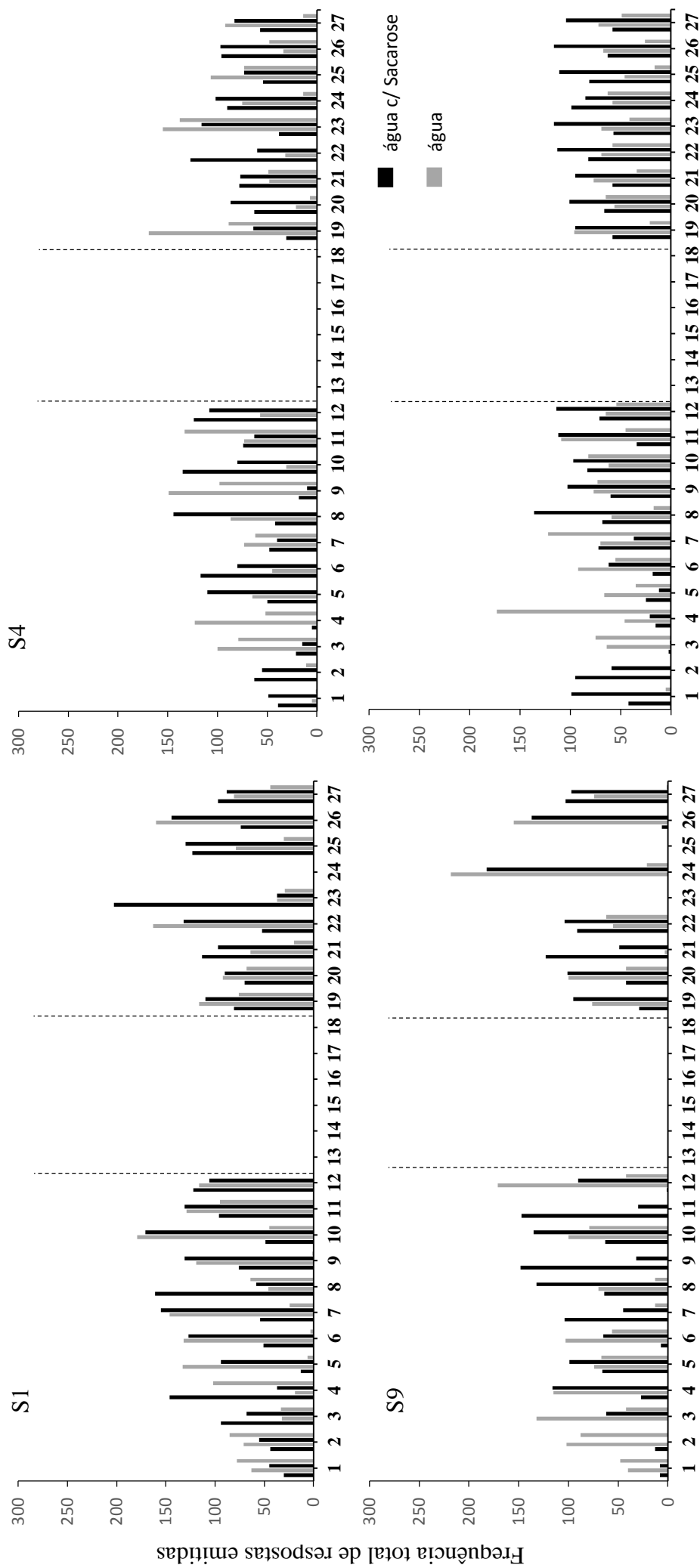
A Figura 9 mostra que para os sujeitos S1, S9, S11 (grupo antes e depois) e S2, S6 e S8 (grupo antes, durante e depois) submetidos às sessões operantes, a resposta de pressão à barra, pelo menos nas primeiras quatro sessões, esteve sob o controle do lado da caixa e não dos reforços.

Os sujeitos S1e S9 (grupo antes e depois) apresentaram um padrão semelhante de respostas durante a primeira e a segunda metades da sessão em seis sessões (5°, 6°, 7°, 9°, 10° e 11° para o sujeito S1 e 4°, 5°, 6° 8° 10° e 12° para o sujeito S9) antes da submissão ao Protocolo de Estressores. Esse padrão é marcado por uma maior frequência de respostas de pressão à barra reforçadas com água na primeira metade da sessão, seguida de uma maior frequência de respostas à barra correlacionada com água com sacarose na segunda metade, com algumas exceções, antes da submissão ao Protocolo. Os sujeitos S1 nas sessões 8° e 12° e o sujeito S9 nas sessões 7°, 9° e 11° apresentaram uma maior frequência de respostas de pressão à barra correlacionada ao estímulo água com sacarose independentemente do período da sessão analisado, exceto no segundo

período da 8ª sessão para o sujeito S11 que apresentou uma frequência maior de pressão à barra correlacionada ao estímulo água. Após a suspensão do Protocolo, é possível notar o mesmo padrão em 4 sessões para o sujeito S1 (nas sessões 19ª, 20ª, 22ª e 26ª) e em duas sessões (sessões 19ª e 20ª) para o sujeito S9.

Os sujeitos S4 e S11 pertencentes ao mesmo grupo (grupo antes e depois) apresentaram o padrão supracitado apenas nas sessões 5ª e 8ª e nas sessões 6ª, 9ª e 11ª, respectivamente, antes da submissão ao Protocolo. Após a suspensão do Protocolo, o padrão de maior frequência de respostas de pressão à barra reforçadas com água na primeira metade da sessão, seguida de uma maior frequência de respostas à barra correlacionada com água com sacarose na segunda metade ocorreu em três sessões (sessões 23ª, 25ª e 27ª) para o sujeito S4 e em quatro sessões (sessões 19ª, 21ª, 23ª e 26ª) para o sujeito S11.

A Figura 10 mostra que para os sujeitos S6, S8 e S10 (grupo antes, durante e depois), a frequência de respostas de pressão à barra reforçadas com água foi maior na primeira metade da sessão e a frequência de respostas de pressão à barra reforçadas com água com sacarose foi maior nos dez minutos finais, em pelo menos quatro sessões (nas sessões 7ª, 8ª, 9ª e 11ª para o sujeito S6, nas sessões 5ª, 7ª, 8ª, 9ª, 10ª e 12ª para o sujeito S8 e nas sessões 8ª, 9ª e 10ª para o sujeito S10) antes do Protocolo de estressores e ao menos em uma sessão (na sessão 25ª para o sujeito S1, nas sessões 20ª e 22ª para o sujeito S8 e na sessão 22ª para o sujeito S10) após a suspensão do mesmo. Durante o Protocolo de estressores, o sujeito S10 repetiu esse padrão (nas sessões 14ª, 16ª e 18ª) diferentemente dos sujeitos S6 e S8 que apresentaram esse padrão uma única vez (na sessão 17ª para o sujeito S6 e na sessão 18ª para o sujeito S8).



Nº de Sessões operantes

Figura 9. Frequência de respostas apresentadas em cada período de 10 min para os sujeitos S1, S4, S9 e S11 (grupo antes e depois), durante as sessões operantes em esquemas concorrentes. Da esquerda para direita são apresentadas as frequências referentes à primeira metade da sessão (água e água com sac) e depois aquelas referentes à segunda metade da sessão (água e água com sac). O espaço entre as linhas verticais tracejadas corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores.

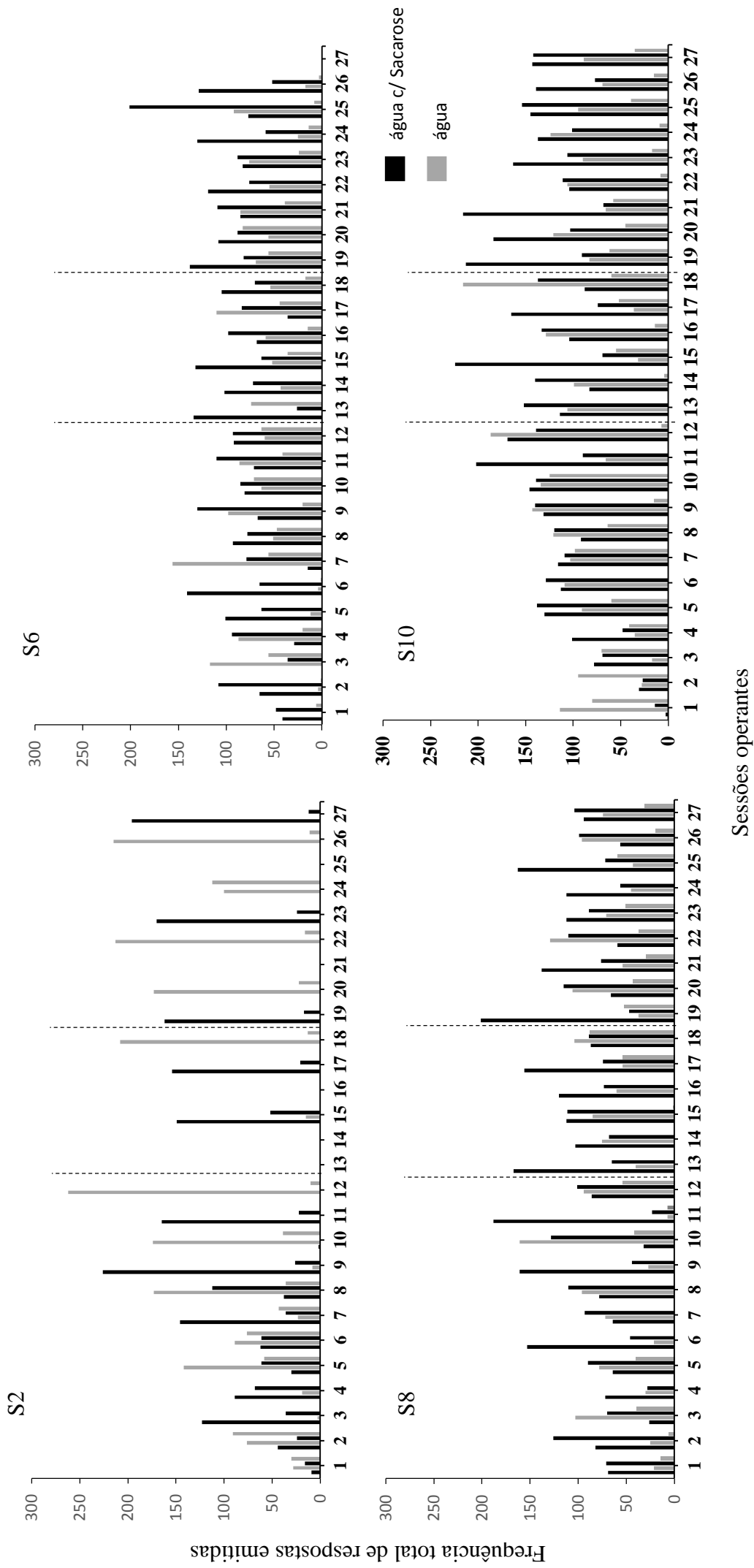


Figura 10. Frequência de respostas apresentadas em cada período de 10 min para os sujeitos S2, S6, S8 e S10 (grupo antes, durante e depois), durante as sessões operantes em esquemas concorrentes. Da esquerda para direita são apresentadas as frequências referentes à primeira metade da sessão (água e água com sac) e depois aquelas referentes à segunda metade da sessão (água e água com sac). O espaço entre as linhas verticais tracejadas corresponde ao período de exposição ao protocolo de estressores.

Como já foi mostrado anteriormente, de modo geral, o consumo de água com sacarose nos testes de consumo foi claramente maior em comparação com o consumo de água para os sujeitos S1, S4, S9, S11 (grupo antes e depois) e para os sujeitos S2, S6, S8 e S10 (grupo antes, durante e depois). O mesmo não ocorreu nas sessões operantes nas quais o valor reforçador dos líquidos parece ter se alternado ao longo da maioria das sessões. Os dados do presente estudo apontam que as respostas consumatórias, como beber nos testes, e as respostas instrumentais, como a pressão à barra não são necessariamente correlacionadas, parecendo ser indicadores diferentes de preferência de água e de água com sacarose.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do Protocolo de Estressores em ratos submetidos a um regime contínuo de privação de água, a fim de verificar se as alterações observadas nos estudos de Cardoso (2008) são provenientes da mudança de esquema de Razão Fixa (FR) para esquema de Intervalo Variável (VI) ou se o tipo de privação adotado tenha sido a variável crítica para os achados divergentes nas medidas do protocolo. Para tanto retirou-se a privação razão do Protocolo de estressores, a fim de obter uma medida mais clara sobre o papel do esquema de Intervalo Variável nas medidas comumente utilizadas.

Com relação ao peso corporal, pode-se observar que para todos os sujeitos do presente estudo a submissão ao Protocolo de Estressores não foi acompanhada por uma diminuição nos pesos dos sujeitos, exceto para o sujeito S4, que apresentou uma pequena redução no seu peso no início do Protocolo.

Os resultados dos testes de consumo e de preferência de líquidos, bem como o consumo total de ambos os líquidos foram muito variáveis e parecem não estar relacionados com a submissão ao Protocolo de Estressores ou com a sua suspensão.

No que tange aos testes de consumo e de preferência de líquidos para o sujeito S3 submetido apenas aos testes de consumo e ao Protocolo de Estressores, após a introdução do protocolo, observou-se uma grande oscilação entre o consumo de água e de água com sacarose a partir do 6º teste, oscilação esta que permaneceu até o término do estudo. Tal resultado poderia ser considerado um efeito da submissão ao Protocolo de Estressores, mas o fato de ter ocorrido uma oscilação no consumo de ambos os líquidos não nos permite afirmar que ocorreu o fenômeno da anedonia.

Trabalhos futuros deveriam utilizar mais sujeitos no grupo protocolo, bem como separá-los de acordo com o consumo de água com sacarose na linha de base, uma vez que a literatura tem demonstrado que os efeitos aparecem mais claramente em sujeitos que apresentam um consumo alto na linha de base.

Ainda com relação ao consumo, trabalhos futuros poderiam estudar as implicações da alteração do ciclo-circadiano sobre o consumo de água com sacarose, uma vez que no presente estudo mostrou-se de maneira acidental ser uma variável crítica para o sujeito controle.

Com relação ao consumo na gaiola-viveiro, parece que independentemente do tipo de condição à qual o sujeito foi submetido no presente estudo, a variável crítica para a alteração no padrão de consumo de água e de ração na gaiola-viveiro tenha sido o conjunto de estressores contidos no Protocolo de Estressores. Desta forma, o consumo de ração poderia ser considerada uma medida de anedonia, uma vez que a ração é um estímulo reforçador. Diferentemente dos testes de consumo de água com sacarose que foram apresentados apenas uma vez por semana, durante o período de uma hora, o consumo de ração na gaiola-viveiro poderia ser uma medida mais clara de anedonia porque a ração esteve sempre disponível para os sujeitos, independentemente do horário.

No presente estudo, a frequência de respostas de pressão à barra em cada sessão, em ambas as barras, apresentou uma grande variabilidade intra e inter-sujeitos. Em geral, observou-se que a submissão ao Protocolo de Estressores não foi acompanhada por uma alteração na distribuição de respostas reforçadas com água e água com sacarose, nem durante a sua apresentação, nem após a suspensão do mesmo. Parece que o tipo de esquema de reforçamento adotado (FR ao invés de VI) e não apenas a densidade de reforçamento (VI10s ou VI5s) é a variável crítica para a produção de anedonia.

Apesar de utilizar um esquema de Intervalo Variável (VI5s), diferentemente de Cardoso (2008) que utilizou um VI10s, pode-se dizer que alguns sujeitos conseguiram maximizar os reforços disponibilizados nas sessões operantes. Tal análise pode ser evidenciada por meio da frequência da resposta de pressão à barra na primeira metade e na segunda metade das sessões. No presente estudo observou-se um padrão que é marcado por uma maior frequência de respostas de pressão à barra reforçadas com água na primeira metade da sessão, seguida de uma maior frequência de respostas à barra correlacionada com água com sacarose na segunda metade, com algumas exceções, antes da submissão ao Protocolo. Poderíamos interpretar esses resultados sugerindo que no início da sessão (maior privação de água), os sujeitos preferiam água e na segunda metade da sessão (com um nível de privação menor de água) eles passaram a preferir água com sacarose.

Em suma, parece que tanto privação quanto o tipo de esquema de reforçamento adotado podem produzir diferentes resultados. Seria interessante que trabalhos futuros continuassem a manipular essas variáveis, a fim de ampliar os conhecimentos acerca da interação entre o *ChronicMild Stress* e o modelo operante.

REFERÊNCIAS

- Abramson, L. Y. & Seligman, M. E. P. (1977). Modeling psychopathology in the laboratory: history and rationale. Em: J. D. Maser e M. E. P. Seligman (Editores) *Psychopatology: Experimental Models*. San Francisco: W. H. Freeman and Company.
- Almeida, N. K. S. P. (2013). *Chronic Mild Stress (CMS) e os efeitos da exposição de sujeitos a um esquema de reforçamento de tempo variável*. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.
- Cardoso, L. R. D. (2008). *Efeitos do esquema de intervalo variável na preferência e no consumo de líquidos apresentados por ratos submetidos ao chronic mild stress*. (Dissertação de mestrado). Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, SP.
- Dolabela, A. C. F. O. (2004). *Um estudo sobre as possíveis interações entre o Chronic Mild Stress e o desempenho operante*. Dissertação de Mestrado, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.
- Hatcher, J. P., Bell, D. N., Reed, T. J. & Hagan, J. J. (1997). Chronic mild stress-induced reductions in saccharin intake depend upon feeding status. *Journal of Psychopharmacology*, 11, 331-338
- Kanarik, M., Kõiv, K., Matrov, D. & Harro, J. (2009). Response to chronic social stress in the rat depends on persistent differences in sucrose consumption. *European Neuropsychopharmacology*, 19, 139–140.
- Katz, R. J. (1982). Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 16, 965-968

- Lacerda, L. G. (2013). *Chronic Mild Stress: um estudo sobre interação entre manipulação neonatal e submissão ao protocolo de estressores na vida adulta*. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.
- López-Espinoza, A. & Martínez, H. (2001). Efectos de dos programas de privación sobre el peso corporal y el consumo total de agua y comida en ratas. *Acta Comportamentalia*, 9(1), 5-17.
- Muscat, R. & Willner, P. (1992). Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: a methodological analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 16, 507-517
- Oliveira, A. C. F. (2009). *Estresse Moderado Crônico: Efeitos sobre a atividade geral em ratos*. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, Brasília.
- Pêsoa, C. V. B. & Buffara, A. C. L. (2005). Construção de intervalos variáveis de reforçamento em planilha eletrônica de cálculo. *Revista Brasileira de Terapia Comportamental e Cognitiva*, 3, 133-136.
- Rocha, L. M. (2013). *Os efeitos da submissão ao Chronic Mild Stress (CMS) no estabelecimento de uma discriminação simples*. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.
- Rodrigues, M. B. (2005). *Interações entre o Chronic Mild Stress e o Desempenho Operante: uma Replicação de Dolabela (2004)*. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.
- Silva, M. T. A. (2003). *Modelos Comportamentais em Neurociências*. Tese de Livre Docência. Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

- Thomaz, C. R. C. (2001). *O Efeito da Submissão ao Chronic Mild Stress (CMS) sobre o Valor Reforçador do Estímulo*. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.
- Thomaz, C. R. C. (2009). *Possíveis inter-relações entre a submissão ao Chronic Mild Stress (CMS) e o desempenho operante*. Tese de Doutorado. Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Willner, P., Towell, D., Sampson, S., Sophokleous, S., & Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 93, 358-364.
- Willner, P. (1991). Methods for assessing the validity of animal models of human psychopathology. *Neuromethods: Animal models in Psychiatry I*, 18, 1-23.
- Willner, P. (1997). Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*, 134, pp. 319-329.
- Willner, P. (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52, 90-110.