

EFEITOS DO ESQUEMA DE INTERVALO VARIÁVEL NO DESENVOLVIMENTO DE ANEDONIA INDUZIDA POR ESTRESSE CRÔNICO MODERADO EM RATOS

THE EFFECTS OF VARIABLE INTERVAL SCHEDULE ON ANHEDONIC INDUCTION BY RATS SUBJECTED TO CHRONIC MILD STRESS

LUCIANA ROBERTA DONOLA CARDOSO¹ E ROBERTO ALVES BANACO

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE SÃO PAULO, BRASIL

RESUMO

Este estudo verificou o desempenho de ratos em esquema concorrente de intervalo variável (*concVIVI*) e o desenvolvimento de anedonia induzido por estresse crônico moderado (CMS). Os sujeitos foram submetidos a testes de consumo/preferência de líquidos, sessões operantes (*concVIVI*) e CMS. A frequência de respostas em uma barra que correspondia à apresentação de água com sacarose foi maior antes do CMS do que durante e depois do protocolo de estresse. Durante o CMS, os sujeitos apresentaram aumento no consumo de líquidos e perda de peso. A perda de peso durante o CMS parece estar relacionada à combinação de estímulos aversivos e privação intermitente e aumento no consumo de líquidos durante o CMS, e à exposição ao esquema concorrente.

Palavras-chave: estresse crônico moderado, estímulo aversivo, esquema concorrente, intervalo variável, *Rattus norvegicus*.

ABSTRACT

This study has investigated the performance of rats in concurrent schedule of variable intervals (*concVIVI*) and the development of anhedonia induced to chronic mild stress (CMS). The subjects were submitted to tests of consumption/preference of liquids, operant sessions (*concVIVI*) and CMS. The frequency response on the bar that corresponded to sucrose liberation was greater before the CMS than during and after the stress protocol. During the CMS, the subjects showed an increase in fluid intake and weight loss. The weight loss during the CMS seems to be related to the combination of deprivation and intermittent aversive stimuli and increased consumption of liquids during the CMS in concurrent schedule exposure.

Keywords: chronic mild stress, aversive stimulus, concurrent schedule, variable interval, *Rattus norvegicus*.

O *chronic mild stress* (CMS – estresse crônico moderado) é um modelo experimental de depressão que tem por objetivo verificar a relação entre a exposição de sujeitos, comumente ratos, a um conjunto de estímulos aversivos crônicos e moderados por um longo e ininterrupto período de tempo (no mínimo três semanas e no máximo seis semanas) e o desenvolvimento de anedonia (Willner, 1984). A anedonia, ou insensibilidade ao reforço em modelos experimentais, é uma característica comportamental similar à perda de interesse ou prazer e sintomas de melancolia apresentados por humanos diag-

nosticados com depressão (Willner, Tower, Sampson, Sophokleous, & Muscat, 1987). Nesse modelo de depressão, a anedonia ou insensibilidade ao reforço é avaliada por meio da ingestão (em ml) de pelo menos duas substâncias, geralmente água e solução de sacarose, antes, durante e depois da exposição ao protocolo de estresse. Quando os sujeitos apresentam diminuição no consumo de líquidos (solução adocicada e água) durante o protocolo de estresse, comparado com o consumo medido antes da exposição ao CMS, diz-se que eles apresentam anedonia ou que diminuíram a sensibilidade ao

¹ Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 785, São Paulo – CEP: 05403-010 – Tel.: (11) 3069-6960 – E-mail: lucidonola@uol.com.br

reforço (Heyman, 1997; Samson, Pfeffer, & Tolliver, 1988; Samson, Roehrs, & Tolliver, 1982; Willner *et al.*, 1987).

Nos primeiros estudos realizados com estresse crônico moderado, seguindo o protocolo proposto por Willner *et al.* (1987), observou-se que os sujeitos, quando expostos aos estímulos aversivos, no decorrer das seis semanas do protocolo, apresentaram redução no consumo de líquidos (água e solução de sacarose), comparado com as aferições iniciais. Já os sujeitos que não foram submetidos ao protocolo não apresentaram tal redução. A diminuição no consumo de líquidos, especialmente no consumo de sacarose, foi interpretada como uma alteração na “sensibilidade à recompensa”, ou anedonia, característica de depressão em humanos. Segundo os autores, a exposição ao conjunto de estímulos aversivos provocou tal alteração (ver também Muscat, Papp, & Willner, 1992; Willner, 2005). Com o objetivo de reverter esse sintoma de depressão (anedonia), os autores submeteram os sujeitos a um tratamento com um antidepressivo tricíclico (DMI – desmetilimipramina) por um período de quatro semanas. Após a administração do antidepressivo, os sujeitos que receberam a droga apresentaram aumento no consumo de solução de sacarose, chegando próximo aos valores obtidos antes da exposição ao protocolo (linha de base). A resposta dos sujeitos ao antidepressivo ressaltou que a diminuição no consumo poderia ser compreendida como insensibilidade ao reforço ou anedonia. Esse resultado validou a anedonia como uma característica de depressão, e o estresse crônico moderado como um modelo experimental para aferir essa psicopatologia.

Inúmeros trabalhos foram realizados nas últimas duas décadas utilizando o CMS. Uma

revisão realizada por Willner em 2005 mostrou, em linhas gerais, que a submissão dos sujeitos (ratos) a um conjunto de estímulos aversivos crônicos e moderados, além de alterar a sensibilidade à recompensa, também provocava alterações em outras características presentes no diagnóstico de depressão. Os sujeitos apresentavam variação na ingestão de alimentos (Gamaro, Manoli, Toerres, Silveira, & Dalmaz, 2003; Tannenbaum, Tannenbaum, Sudom, & Anisman, 2002; Weiss, 1997), perda de peso corporal (Willner, 1997), diminuição na atividade motora (Strekalova, Spanagel, Bartsch, Henn, & Glass, 2004), entre outros. Na maioria desses estudos, foram administradas drogas antidepressivas a fim de reverter os sintomas produzidos pelo procedimento de CMS. Os tratamentos medicamentosos proporcionaram aumento no consumo da solução de sacarose, restabelecimento do peso corporal, diminuição na variação do padrão alimentar e aumento na locomoção (Di Chiara, Loddo, & Tanda, 1999; Willner, 1997, 2005).

Entretanto, três estudos recentes realizados no Brasil (Dolabela, 2004; Rodrigues, 2005; Thomaz, 2001), mais especificamente no Laboratório de Psicologia Experimental da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, apresentaram uma característica diferente dos já publicados. Em vez de utilizar drogas antidepressivas para reverter os sintomas de depressão, tal como a diminuição no consumo da solução de sacarose, os sujeitos foram submetidos a situações de controlabilidade (sessões operantes). Nessas pesquisas, o delineamento experimental foi composto, basicamente por três condições: 1) submissão dos sujeitos aos testes de consumo e preferência de líquidos; 2) exposição ao proto-

colo de estresse; e 3) submissão dos sujeitos a sessões operantes antes e depois do CMS (Thomaz, 2001), ou antes, durante e depois do CMS (Dolabela, 2004; Rodrigues, 2005).

O primeiro estudo foi realizado por Thomaz (2001) com o objetivo de investigar a influência da exposição ao protocolo de estresse no desempenho de ratos submetidos a um esquema concorrente de razão fixa (FR) com valores idênticos. O delineamento experimental foi realizado dentro de um ciclo de sete dias: durante cinco dias consecutivos, os sujeitos eram submetidos às sessões operantes (com 20 minutos de duração). No sexto dia não era realizada nenhuma intervenção, e no sétimo dia os sujeitos eram submetidos ao teste de consumo e preferência de líquidos. Antes do CMS, esse ciclo se repetiu até que os sujeitos atingissem a exigência de 15 respostas para obtenção do reforçador em esquema concorrente em razão fixa (*conc* FR15 FR15). Depois do CMS, os sujeitos foram submetidos a esse ciclo durante três semanas consecutivas. As sessões operantes tiveram início pela modelagem de resposta de pressão à barra. Em seguida, os sujeitos foram submetidos a duas sessões em esquema *conc* FR4 FR4, quatro sessões em *conc* FR10 FR10, quatro sessões em *conc* FR12 FR12 e oito sessões em *conc* FR15 FR15, utilizando como estímulo reforçador água e solução de sacarose a 8%. Após as oito sessões em *conc* FR15 FR15, os sujeitos foram submetidos ao protocolo de estresse. Durante a exposição ao CMS, os sujeitos não foram submetidos às sessões operantes: a única condição que se mantinha eram os testes de consumo e preferência de líquidos. Os testes de consumo e preferência de líquidos eram realizados uma vez por semana durante todo o experimento

e consistiam em dispor aos sujeitos, em sua gaiola viveiro (lado a lado na parede frontal), duas garrafas, uma contendo água e a outra, solução de sacarose durante 60 minutos. Os lados da apresentação das garrafas (à esquerda ou à direita da gaiola) eram alternados sessão a sessão.

Thomaz (2001) observou que os sujeitos submetidos ao protocolo de estresse apresentaram maior perda de peso, comparados com aqueles que não foram submetidos aos estressores. Além disso, durante o CMS, os sujeitos diminuíram o consumo total de líquidos (água e solução de sacarose), comparado com o consumo anterior ao protocolo. Os sujeitos que não foram submetidos às sessões operantes começaram a diminuir o consumo a partir da primeira semana, enquanto para aqueles que foram submetidos às sessões operantes antes do CMS a diminuição ocorreu mais tardiamente, a partir da terceira e quarta semana de exposição ao protocolo de estresse. Após a suspensão do CMS, os sujeitos submetidos às sessões operantes voltaram a consumir uma quantidade de líquidos semelhante ao período anterior à exposição ao protocolo.

Segundo a autora, a perda de peso durante o CMS esteve associada à diminuição no consumo total de líquidos em decorrência da exposição aos estímulos estressores. A diminuição no consumo de solução de sacarose pode ter ocorrido em decorrência de uma alteração no valor reforçador do reforço (sacarose) provocado pela exposição ao CMS. A submissão à situação operante posterior ao CMS proporcionou um restabelecimento no consumo de líquidos (água e solução de sacarose). Esse resultado foi semelhante aos encontrados em estudos que utilizaram drogas

antidepressivas para reverter a insensibilidade ao reforço em sujeitos submetidos ao CMS.

Dando continuidade ao estudo realizado por Thomaz (2001), Dolabela (2004) buscou investigar se a exposição dos sujeitos à sessão operante antes, durante e depois do CMS produziria alterações no peso corporal, no consumo de líquidos (água e solução de sacarose) avaliado no teste de consumo e preferência de líquidos e na taxa de resposta de pressão à barra medida nas sessões operantes em esquema concorrente de razão fixa. A grande diferença entre esses dois estudos se deu pela inclusão das sessões operantes durante o CMS para um grupo de sujeitos. Após a estabilização do peso a 85% *ad lib*, os sujeitos foram submetidos à modelagem de resposta de pressão à barra e em seguida a 12 sessões operantes em esquema de reforçamento contínuo (CRF) com 20 minutos de duração. Nas primeiras quatro sessões, as respostas de pressão à barra eram conseqüenciadas com água pura; nas quatro sessões consecutivas com solução de sacarose a 8%; nas duas sessões seguintes novamente com água; e nas outras duas com solução de sacarose. Após essas 12 sessões, os sujeitos foram submetidos ao esquema de reforçamento concorrente, inicialmente em *conc* CRF CRF, posteriormente em *conc* FR2 FR2, *conc* FR3 FR3, *conc* FR5 FR5, *conc* FR9 FR9 e *conc* FR15 FR15. Antes e depois do CMS, o delineamento experimental foi realizado em um ciclo de sete dias: durante cinco dias consecutivos, os sujeitos eram submetidos às sessões operantes (com 20 minutos de duração); no sexto dia, não era realizada nenhuma intervenção; e, no sétimo dia, os sujeitos eram submetidos ao teste de consumo e preferência de líquidos. Após 15 sessões em *conc* FR15 FR15, os su-

jeitos foram submetidos ao mesmo protocolo de estresse utilizado por Thomaz (2001). Durante o CMS, três sujeitos foram submetidos a uma sessão operante uma vez na semana. Após a exposição ao protocolo de estresse, os sujeitos voltaram a ser submetidos ao mesmo ciclo de sete dias, utilizando o esquema *conc* FR15 FR15, durante três semanas. Os sujeitos submetidos ao protocolo de estresse apresentaram uma diminuição no peso corporal que variou de 12 a 22%. Os sujeitos submetidos às sessões operantes antes, durante e depois do CMS recuperaram o peso mais rapidamente do que aqueles que não tiveram o treino operante durante o CMS. A ingestão de líquidos, medida nos testes de consumo, mostrou que a submissão dos sujeitos às sessões operantes retardou a diminuição no consumo de líquidos (água e solução de sacarose) durante o protocolo de estresse, e três sujeitos começaram a apresentar tal redução após a terceira semana de exposição ao protocolo, três sujeitos quatro semanas depois e um sujeito apenas na quinta semana. Dolabela (2004) também observou que os sujeitos expostos à sessão operante antes da exposição ao protocolo de estresse voltaram a ingerir sacarose depois do término do protocolo de modo semelhante ao início da exposição. Além disso, todos os sujeitos submetidos às sessões operantes apresentaram maior número de respostas na barra correspondente à sacarose do que na correspondente à água, durante todo o experimento. Segundo a autora, a submissão dos sujeitos às sessões operantes dificultou a alteração no valor reforçador da sacarose após a exposição ao protocolo de estresse. A submissão dos sujeitos a uma situação de controlabilidade (relação de dependência entre resposta e conseqüência)

durante a exposição ao protocolo de estresse parece promover uma redução dos efeitos aversivos decorrentes do protocolo.

Seguindo o procedimento empregado por Dolabela (2004), Rodrigues (2005) replicou sua metodologia e verificou com mais especificidade a relação entre a exposição dos sujeitos (ratos) aos CMS e a submissão às sessões operantes. Para tal, realizou duas alterações metodológicas, sendo elas: acréscimo de medidas diárias no consumo de líquido e de alimento e introdução do esquema concorrente de razão fixa (*conc* FR5 FR5) para alguns sujeitos. A introdução do FR5 teve por objetivo investigar se o custo de resposta envolvido nos esquemas concorrentes (*conc* FR FR5 *versus conc* FR15 FR15) poderia reduzir os efeitos decorrentes do CMS. Desse modo, quatro sujeitos foram submetidos ao esquema *conc* FR5 FR5; dois sujeitos, ao *conc* FR9 FR9; e dois sujeitos, ao *conc* FR15 FR15. Todos os sujeitos submetidos ao protocolo de estresse apresentaram redução no peso corporal, inclusive aqueles submetidos às sessões operantes. Não houve diferença na redução do peso corporal entre os sujeitos submetidos aos diferentes esquemas concorrentes. No entanto, a submissão à sessão operante influenciou na recuperação do peso dos sujeitos expostos ao CMS, visto que os que não foram submetidos a essas sessões não recuperaram o peso. Todos os sujeitos expostos ao protocolo apresentaram redução no consumo total de líquidos avaliado no teste de consumo e preferência. O aumento no consumo de solução de sacarose após o CMS foi mais rápido para os sujeitos expostos às sessões operantes antes, durante e depois da exposição ao protocolo, do que para os sujeitos que foram submetidos às ses-

sões operantes antes e depois do CMS. O consumo de solução de sacarose foi maior entre os sujeitos submetidos ao esquema *conc* FR5 FR5 em relação aos sujeitos submetidos aos outros esquemas concorrentes.

Quanto aos resultados obtidos em esquema concorrente, todos os sujeitos apresentaram maior número de respostas na barra correspondente à solução de sacarose do que na barra correspondente à água durante todo o experimento, fato que foi interpretado como uma medida de preferência por sacarose. Durante a exposição ao protocolo, houve uma diminuição no número de resposta de pressão na barra correspondente à solução de sacarose comparada com o desempenho operante antes e depois do CMS. Entretanto, em nenhum momento o número de respostas na barra correspondente à sacarose foi menor do que na correspondente à água.

Com esses resultados, Rodrigues (2005) conclui que a perda de peso apresentada pelos sujeitos submetidos ao CMS parece estar relacionada com a restrição de água e ração a que os sujeitos são submetidos durante o protocolo. A partir dos dados produzidos por esse estudo, pode-se supor que a exigência de um operante de baixo custo (FR5) retardou o aparecimento de anedonia.

Como observado nos mencionados trabalhos de Thomaz (2001), Dolabela (2004) e Rodrigues (2005), foram utilizados esquemas concorrentes de reforçamento com componentes de razão fixa, FR15 (água) FR15 (solução de sacarose), para avaliar o desempenho operante dos sujeitos submetidos ao CMS. Uma característica dos esquemas concorrentes FR FR de valores iguais é que, uma vez iniciada uma sequência de respostas em uma das alternativas, a probabilidade de o refor-

ço ocorrer naquela alternativa é maior. Com a utilização de reforçadores de magnitude idêntica para cada alternativa e essas alternativas fornecendo os reforçadores em esquemas concorrentes FR FR de valores iguais, é possível gerar padrões de preferência com baixas ocorrências de alternância entre as alternativas e pausas do responder típicas do esquema em razão fixa (Banaco, 1988). Já no esquema concorrente com componentes de intervalo variável (*conc VI VI*), o padrão de respostas é mais estável no decorrer do tempo, pois é possível que o organismo mantenha-se respondendo regularmente (Millenson, 1967). As respostas de alternância entre as alternativas são mais frequentes e as pausas entre uma resposta e outra, menores. No esquema de intervalo variável, quanto mais tempo o sujeito permanece respondendo ao Esquema 1, maiores são as chances de o reforço ocorrer quando emitir a primeira resposta no outro (Esquema 2). Dessa maneira, o organismo é capaz de produzir todos os reforçadores programados para a sessão, caso alterne entre os *manipulanda*.

Por outro lado, uma das medidas tradicionalmente aceitas para medir anedonia tem sido a medida de preferência com a simples submissão do animal à apresentação de dois tipos de líquidos. Os esquemas concorrentes de reforçamento podem ser utilizados também como uma medida de preferência, por produzirem taxas de respostas comparáveis entre os operantes que produzem reforçadores de qualidades distintas, se mantidas as condições de exigência (custo da respostas, magnitude do reforçador, valor do esquema de reforçamento). Nessas medidas, os esquemas em intervalo variável traduziriam melhor a preferência, já que produzem taxas

estáveis de respostas em cada *manipulandum*, distribuídas conforme a preferência do sujeito. Os esquemas de reforçamento em intervalo variável também produzem um número fixo de reforços, caso o animal responda às alternativas constantemente. Produção de números menores do que os reforçadores programados em uma das alternativas também pode ser um indicativo da diminuição no valor do reforçador.

Considerando essas diferenças metodológicas das contingências que caracterizam cada esquema, levantam-se alguns questionamentos: 1) Sujeitos submetidos ao esquema concorrente com componentes de intervalo variável produziram resultados semelhantes ao encontrado nos trabalhos que utilizaram esquema concorrente com componentes de razão fixa? 2) Os resultados encontrados nos estudos de Thomaz (2001), Dolabela (2004) e Rodrigues (2005) seriam uma característica típica do esquema concorrente com componente de razão ou poderiam ser obtidos com outros esquemas, como o esquema concorrente com componente de intervalo variável? 3) As medidas de preferência produzidas em esquemas concorrentes com componente de intervalo variável poderiam ser indicativas de anedonia?

O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do esquema concorrente com componentes de intervalo variável (VI) sobre o desenvolvimento de anedonia em ratos submetidos ao estresse crônico moderado (CMS).

MÉTODO

Sujeitos

Foram utilizados cinco ratos Wistar machos, experimentalmente ingênuos, com aproximadamente dois meses de vida, provenien-

tes do Laboratório de Psicologia Experimental da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo.

Equipamento

Foi utilizada uma caixa de condicionamento operante Med Associates®, medindo 27 cm × 28 cm × 30 cm, conectada a uma interface para registro das sessões. A caixa experimental continha, tanto na parede direita quanto na parede esquerda, uma barra (2 cm × 4,5 cm) pressionável mediante força de 15 N, posicionadas frente a frente. A barra ficava localizada no centro, tanto na parede esquerda quanto na direita, a 8 cm de altura da grade do chão. O bebedouro ficava localizado 6 cm a baixo da barra. Cada barra podia, por meio de um circuito eletromecânico, acionar seringas nas quais ficavam alojados os líquidos utilizados como reforçadores (água e solução de 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.

Procedimento

Com aproximadamente dois meses de vida, os animais foram alojados em gaiolas individuais. A partir de então, foram pesados diariamente. Antes e depois do CMS, os sujeitos S1, S2, S3 e S4 foram submetidos à privação diária de água (23h30min). Os animais tinham acesso à água por 30 minutos ao dia. Durante o CMS, a privação de água e ração foi realizada de acordo com as exigências do protocolo de estresse proposto por Willner *et al.* (1987). O sujeito S6 não foi submetido à privação em nenhum momento do experimento.

Aferiu-se o consumo de água e alimento diariamente para todos os sujeitos durante todo o experimento. Media-se a diferença entre o volume em mililitros disponíveis antes e depois do acesso à água. O volume de água desperdiçado ficava alojado em um reservatório abaixo da garrafa e era recolhido por meio de uma seringa. As pelotas de ração eram pesadas antes e depois da disponibilidade ao alimento. Além disso, o farelo de ração depositado ao fundo da gaiola era recolhido, peneirado e pesado junto com o restante das pelotas de ração. Essas medidas foram realizadas sempre no mesmo horário.

O delineamento experimental foi composto por três condições, sendo elas: teste de consumo e preferência de líquidos, sessão operante em esquema *concVI VI* e protocolo de estresse.

Os sujeitos S1 e S2 foram submetidos às aferições diárias do peso; consumo diário de água e ração; testes de consumo e preferência de líquidos durante todo o experimento; sessões operantes em esquema *concVI VI* antes, durante e depois do CMS; e submissão ao protocolo de estresse.

Os sujeitos S3 e S4 foram submetidos às mesmas condições experimentais de S1 e S2, com a diferença de que não foram submetidos às sessões operantes durante o CMS.

O sujeito S6 foi submetido às aferições diárias do peso. Esse sujeito ficou alojado no biotério sem acesso aos estímulos estressores.

A distribuição dos sujeitos nas condições experimentais pode ser observada na Figura 1.

Optou-se por não incluir mais sujeitos na condição experimental a que S6 foi submetido, porque, baseado em literatura da área (Tomanari *et al.*, 2007; Tomanari, Pine, & Silva, 2003), acredita-se não ser necessário

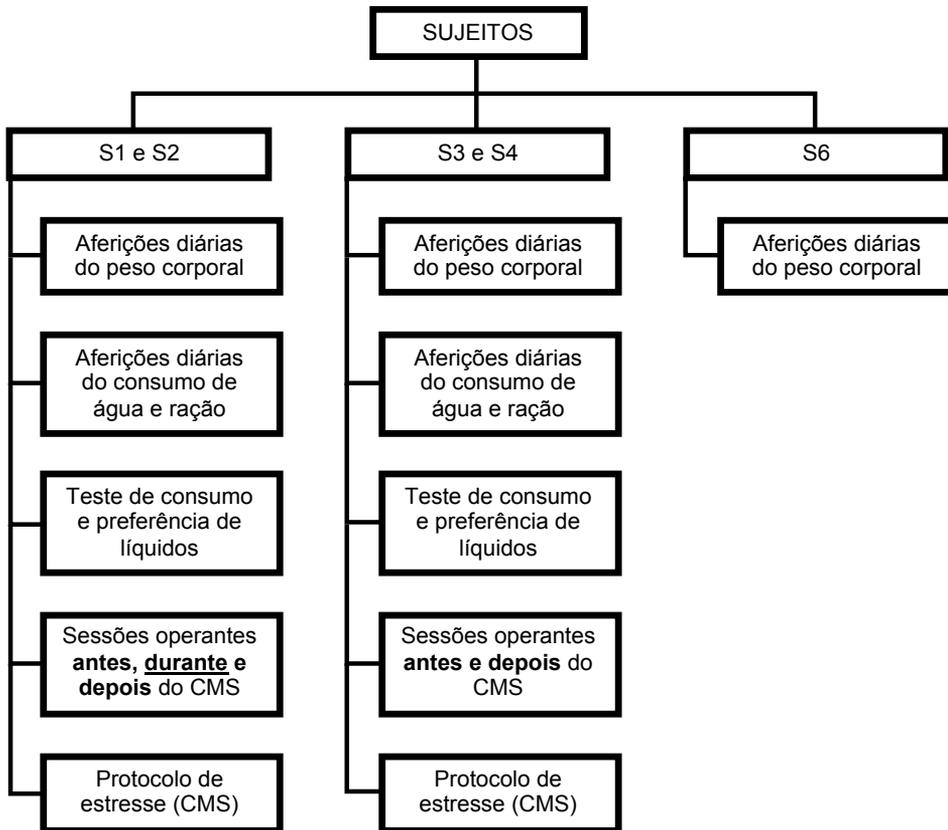


Figura 1. Distribuição dos sujeitos em relação às condições experimentais em que foram submetidos ao longo do estudo.

a utilização de mais de um sujeito para controle de peso.

Após a resposta de pressão à barra ter sido modelada, os sujeitos S1 a S4 foram submetidos a 12 sessões em esquema de reforçamento contínuo (CRF), como proposto por Dolabela (2004). As respostas eram conseqüenciadas com água pura ou com solução de sacarose. Tanto a magnitude do reforço (água ou sacarose) quanto o lado (direito ou esquerdo) da caixa experimental em que eram liberadas foram randomizados dia a dia.

Em seguida às 12 sessões em CRF, os sujeitos S1 a S4 foram submetidos às ses-

sões operantes em esquema *conc* VI VI com valores idênticos. De um lado da caixa experimental, eles tinham acesso a uma barra correspondente à água; do outro, a uma barra correspondente à solução de sacarose. Os sujeitos foram submetidos a quatro sessões em esquema *conc* VI2 VI2; em seguida, a quatro sessões em *conc* VI5 VI5 e a nove sessões em *conc* VI10 VI10. Essas sessões tinham duração de 20 minutos cada. Após as nove sessões em esquema *conc* VI10 VI10, os sujeitos S1 a S4 foram submetidos ao protocolo de estresse.

O protocolo de estresse é composto por um conjunto de estressores que são apresentados alternadamente aos sujeitos durante seis semanas consecutivas. Os estressores que compõem esse protocolo são: a) inclinação da gaiola a 30°; b) luz estroboscópica; c) privação de água; d) privação de ração; e) barulho intermitente; f) gaiola suja com maravalha; g) iluminação contínua; h) exposição a uma garrafa vazia após período de privação; i) objeto estranho; j) agrupamento; e k) acesso restrito à ração após período de privação e odor (purificador de ambiente). A distribuição e apresentação dos estressores podem ser visualizadas na Tabela 1.

Durante o CMS, os sujeitos S1 e S2 foram submetidos uma vez por semana a uma sessão operante em *conc* VI10 VI10. Ao término do protocolo, os sujeitos S1 a S4 foram submetidos a 15 sessões operantes em *conc* VI10 VI10. A exposição do sujeito às sessões operantes foi realizada de acordo com a programação proposta por Dolabela (2004) e utilizada por Rodrigues (2005).

Antes e depois da exposição ao protocolo de estresse, as condições experimentais eram realizadas dentro de um ciclo de sete dias. Do primeiro ao quinto dia do ciclo, os sujeitos S1 a S4 eram submetidos às sessões operantes com 20 minutos de duração. No sexto dia, os sujeitos não eram submetidos a nenhuma intervenção. No sétimo dia, finalizando o ciclo, era realizado o teste de consumo e preferência de líquidos. Em seguida, novo ciclo era iniciado com as sessões operantes. Essa sequência de procedimentos ocorreu por três semanas consecutivas antes e três semanas após o término do protocolo.

Vale ressaltar que, no protocolo de estresse proposto por Willner *et al.* (1987), há duas

pausas na apresentação dos estímulos aversivos, cada uma com duração de 60 minutos. Nos estudos com CMS, essas pausas têm duas finalidades: 1) realização do teste de consumo de preferência de líquidos; e 2) aplicação de tratamento (administração de drogas antidepressivas, por exemplo). No presente estudo, os testes de consumo de preferência de líquidos e as sessões operantes foram realizados nessas pausas. Em seguida, retornava-se a apresentação dos estímulos estressores.

Inicialmente, foram realizados dois pré-testes, com um intervalo de sete dias entre eles, com o objetivo de medir a quantidade de consumo apenas de solução de sacarose. Após 23 horas de privação de água e comida, os sujeitos tinham acesso, por uma hora, a uma garrafa tipo mamadeira com 100 mililitros de sacarose. Após sete dias do segundo pré-teste, iniciaram-se os testes de consumo e de preferência de líquidos com ambos os líquidos (água e solução de sacarose), conforme descrito a seguir. Os testes eram realizados uma vez por semana, sempre no mesmo dia e horário. Os sujeitos tinham acesso, em sua gaiola viveiro, às soluções (água e solução de sacarose), concomitantemente, por 60 minutos, após 23 horas de privação de água e ração. A apresentação dos líquidos era alternada (lado direito e lado esquerdo) a cada teste. Ao final, os sujeitos foram submetidos a três testes antes, seis durante e três após o CMS, totalizando 12 testes. A concentração de sacarose empregada nos testes para os sujeitos S1, S2, S3 e S4 foi de 8%, a mesma utilizada nas sessões operantes (Dolabela, 2004; Rodrigues, 2005). Vale ressaltar que, 23 horas antes da realização do teste, bem como no dia em que eles eram realizados, os sujeitos não foram submetidos a nenhum outro procedimento.

Tabela 1

Distribuição semanal dos estressores que compõem o protocolo de estresse apresentados aos sujeitos durante seis semanas consecutivas

Horas	Dia 1 Dom.	Dia 2 Seg.	Dia 3 Ter.	Dia 4 Qua.	Dia 5 Qui.	Dia 6 Sex.	Dia 7 Sáb.				
00h00	Privação de água/ração	Inclinação	Privação de água/ração	Privação de água	Privação de água/ração	Privação de ração	Odor				
01h00	+		+	+	+	+					
02h00											
03h00											
04h00	Iluminação contínua		Sujeira	Iluminação contínua	Objeto estranho	Agrupamento					
05h00	TESTE DE CONSUMO DE LÍQUIDOS		Luz estroboscópica	Privação de água	Garrafa vazia + Luz estroboscópica	Privação de ração + Inclinação		Acesso restrito à ração			
12h00											
13h00					Luz estroboscópica			Privação de água + Barulho intermitente	Luz estroboscópica	Barulho intermitente	Privação de água/ração
14h00											
15h00											
16h00											
17h00		Privação de água/ração			Privação de água + Barulho intermitente		Privação de água/ração + Objeto estranho	Privação de ração + Agrupamento	Odor	Privação de água/ração	
18h00											
19h00	Inclinação	Privação de água/ração	ESQUEMA CONCORRENTE	Privação de água/ração + Objeto estranho	Privação de ração + Agrupamento	Odor					Privação de água/ração
20h00	+	+									
21h00											
22h00			Sujeira				Privação de água +	Iluminação contínua			
23h00	Iluminação contínua										
00h00											

Análise dos dados

Os efeitos da relação entre esquema concorrente em intervalo variável e exposição ao CMS foram avaliados por meio das medidas do peso corporal (valores em gramas); consumo diário de ração e água (valores em gramas e mililitros); consumo e preferência de líquidos; frequência de respostas emitidas em cada barra; e frequência de reforços obtidos nelas quando submetidos ao esquema concorrente. Os valores obtidos em cada uma dessas variáveis foram comparados intra e intersujeitos, antes, durante e depois do protocolo. Além disso, os resultados também foram comparados entre os sujeitos que foram submetidos às sessões operantes antes, durante e depois do CMS com aqueles que foram sub-

metidos apenas antes e depois. Os resultados foram descritos por números absolutos (n) e porcentagem (%). Nos testes de consumo e preferência de líquidos, a preferência foi avaliada por meio da porcentagem de mililitros ingeridos de sacarose sobre a quantidade em mililitros ingeridos de água pura.

RESULTADOS

Peso corporal

A Figura 2 mostra o peso corporal de todos os sujeitos (ao longo de todo o experimento). O sujeito S6, utilizado para controle do peso, apresentou do 1º ao 57º dia do experimento aumento corporal de 47%. Entre o 58º e o 100º dia do experimento,

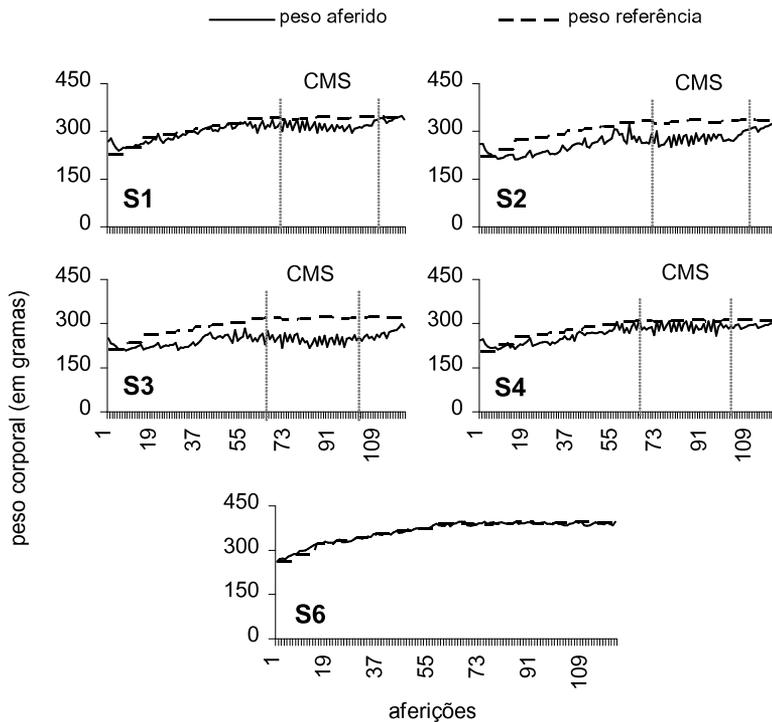


Figura 2. Aferição diária do peso corporal dos sujeitos antes, durante e depois do CMS.

houve aumento de 3%. Posteriormente a essa data, o peso se estabilizou até o final do experimento. Para os sujeitos S1, S2, S3 e S4, o aumento do peso corporal foi menor do que o aumento apresentado por S6. Até o dia anterior ao início do protocolo de estresse (57^o dia do experimento), os sujeitos apresentaram aumento progressivo no peso corporal, variando entre 4,8 e 23%. Durante o CMS, os sujeitos S1, S2, S3 e S4 apresentaram estabilidade no peso. Após o CMS, todos os sujeitos voltaram a ganhar peso. O aumento no peso corporal variou entre 4,2%, apresentado por S4; 6,8%, por S2; 14,6%, por S1; e 17%, por S3.

Ingestão diária de água e ração

A Figura 3 mostra o consumo de água e ração antes, durante e depois do CMS. Antes do CMS, o consumo médio de água variou

entre 9,2 ml e 10 ml por dia, e o consumo de ração variou entre 21 g e 23,8 g por dia, para os sujeitos S1, S2, S3 e S4. Durante o CMS, o consumo de água e ração aumentou para todos os sujeitos, comparado com o consumo antes e depois da exposição ao protocolo. Com a suspensão do protocolo de estresse, o consumo de água e ração foi semelhante ao apresentado antes do CMS para todos os sujeitos.

Teste de consumo e preferência de líquido

A Figura 4 mostra os resultados obtidos nos testes de consumo e preferência de líquidos antes, durante e depois do CMS. Observa-se que a quantidade de ingestão de solução de sacarose oscilou durante todo o experimento para todos os sujeitos (S1, S2, S3 e S4). O consumo médio de ambos os líquidos foi maior durante o protocolo de

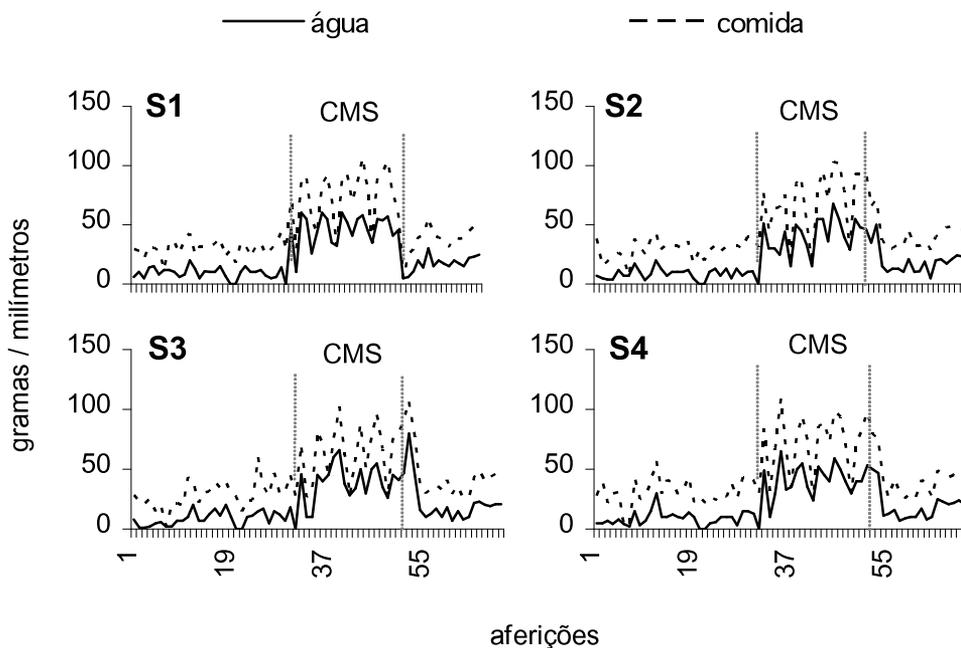


Figura 3. Consumo diário de água e ração, antes, durante e depois do CMS.

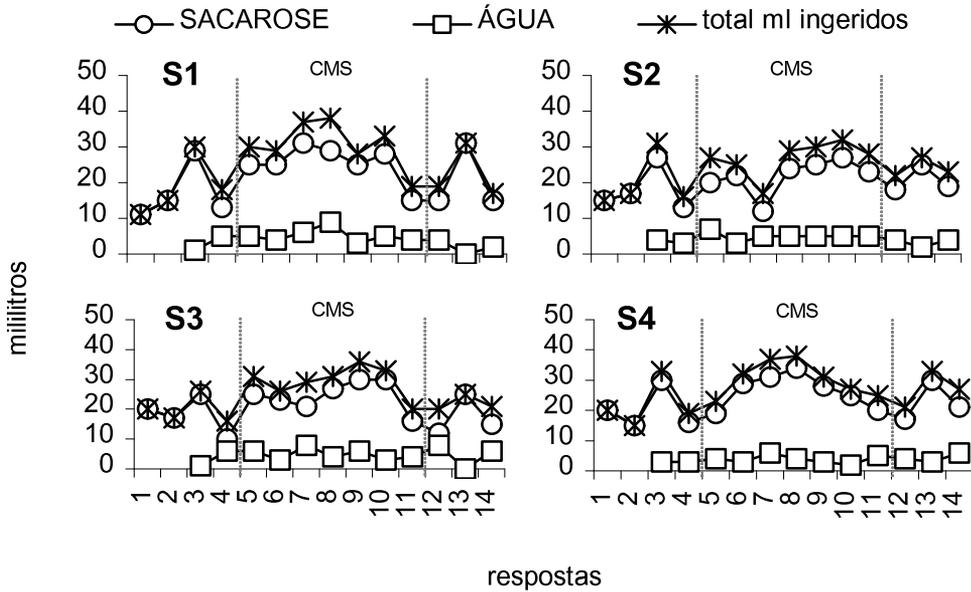


Figura 4. Ingestão de água e solução de sacarose apresentada pelos sujeitos nos testes de consumo e preferência de líquidos antes, durante e depois do CMS.

estresse do que nas outras duas fases do experimento. Durante a exposição ao CMS, os sujeitos S1, S2, S3 e S4 apresentaram redução no consumo de solução de sacarose bem próximo ao término do protocolo.

Frequência de resposta de pressão à barra e número de reforços obtidos em esquema concorrente de intervalo variável

A Figura 5 mostra a frequência de respostas sobre o número de reforços obtidos (água e solução de sacarose) em cada uma das barras antes, durante e depois do protocolo de estresse. Observa-se que todos os sujeitos apresentaram maior frequência de resposta emitida por cada reforço obtido na barra correspondente à sacarose nas primeiras 10 sessões (VI 2, 5 e 10 s), antes da exposição ao protocolo. Quando houve diferença nas frequências entre as barras durante (sujeitos S1 e S2) e após a submissão aos estressores

(todos os sujeitos), a frequência de resposta emitida para cada liberação de reforço na barra correspondente à água foi maior do que na correspondente à sacarose. Os reforços produzidos pelos sujeitos antes da submissão aos estressores e com esquemas *conc* VI VI de menor valor (até por volta da 10^a sessão) foram mais frequentes na barra que fornecia sacarose. Em intervalos maiores, as diferenças observadas são quase inexistentes, e quando ocorreram deveram-se à distribuição dos reforços programada pelo computador. Pode ser notado, também, que S1 produziu menos reforços em ambas as barras durante a submissão ao protocolo do que em períodos anteriores e posteriores a ele, e que S3 e S4 nas primeiras sessões pós-submissão aos estressores produziram menos reforçadores, voltando aos níveis observados em períodos pré-submissão ao CMS imediatamente nas sessões seguintes.

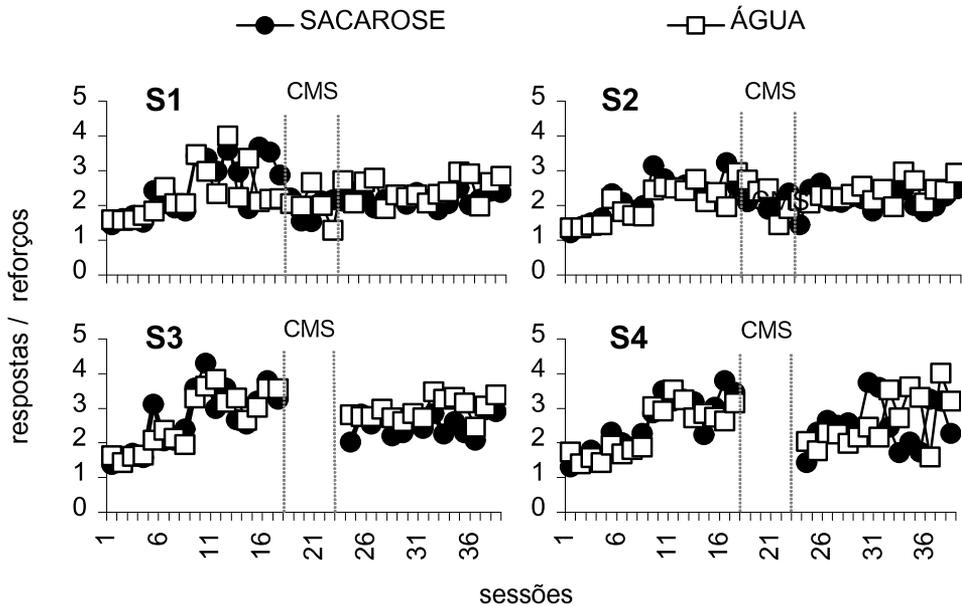


Figura 5. Frequência de respostas sobre o número de reforços obtidos nas sessões operantes em esquema concorrente de intervalo variável, antes, durante e depois do CMS.

DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do esquema concorrente com componente de intervalo variável sobre o desenvolvimento de anedonia em ratos submetidos ao estresse crônico moderado. As medidas utilizadas para avaliar essa relação (desempenho em esquemas concorrentes VI VI e efeitos da exposição ao CMS) foram: o peso corporal; o consumo diário de ração e água; o consumo e a preferência de líquidos; a frequência de respostas emitidas em cada barra; e a frequência de reforços obtidos nelas quando submetidos ao esquema concorrente.

A perda de peso corporal durante a exposição ao protocolo de estresse tem sido considerada uma característica importante para se investigar anedonia no modelo de depressão discutido neste artigo (*e.g.*, Willner, 2005). Estudos mostram que a redução no peso

corporal pode ser superior a 20% (Dolabela, 2004; Forbes, Stewart, Matthews, & Reid, 1996; Matthews, Forbes, & Reid, 1995). Segundo Willner (1997), a perda de peso durante o CMS pode estar associada aos períodos de privação de água e ração em que os sujeitos são submetidos nessa fase. Há, também, a hipótese de que os sujeitos poderiam diminuir a ingestão de líquidos e de ração como efeito decorrente da exposição aos estímulos estressores. Para Rodrigues (2005), a perda de peso parece estar associada ao conjunto de eventos aversivos e incontroláveis aos quais os sujeitos são submetidos, e não especificamente à privação de água e comida que ocorre durante o CMS, visto que em seu estudo os sujeitos não apresentaram alteração no consumo de água e ração nesse período.

Diferentemente desses estudos, na presente pesquisa, todos os sujeitos submetidos às sessões operantes apresentaram estabilidade

no peso corporal durante o CMS. Além disso, durante o CMS houve aumento no consumo diário de água e ração. A estabilidade do peso nessa fase pode estar relacionada ao aumento no consumo de água e ração. O aumento no consumo de água e ração pode estar associado a um comportamento compulsivo alimentar episódico, geralmente associado à privação intermitente e à apresentação de estímulos aversivos (Boggiano *et al.*, 2007).

Boggiano *et al.* (2007) mostraram que ratos submetidos a estímulo aversivo severo após período de privação de alimento apresentaram aumento no consumo de ração. Para os autores, o comportamento compulsivo alimentar, ou *binge*, pode ser induzido por associação entre a apresentação de estímulo aversivo e a privação intermitente de ração. Os autores ressaltam que o acréscimo na ingestão de alimento não aumentou o peso corporal dos sujeitos.

Considerando essa discussão, a estabilidade do peso e o aumento no consumo de água e ração durante a exposição ao protocolo de estresse podem ter ocorrido em decorrência da exposição ao conjunto de estímulos aversivos e da privação intermitente de água e ração composta no protocolo. Talvez seja por essa razão que Thomaz (2001), Dolabela (2004) e Rodrigues (2005) não observaram o aumento no consumo de água e ração. Nos três estudos, a privação de água durante o protocolo de estresse não se diferenciou da realizada antes e depois do CMS. Os sujeitos ficavam privados de água a fim de manter o peso corporal a 85% *ad lib* durante todo o experimento. Durante o CMS, os sujeitos foram submetidos à restrição de ração, durante três períodos na semana (ver Tabela 1), conforme proposto no protocolo. Já no presente estudo, tanto a privação de água quanto a de

alimento foram realizadas de acordo com o protocolo proposto por Willner *et al.* (1987). Assim, parece que o aumento episódico no consumo de água e ração durante o CMS pode estar associado à combinação de privação de água e ração apresentada aos sujeitos de forma intermitente.

Depois do CMS, os sujeitos apresentaram aumento no peso corporal. Esse resultado é semelhante aos encontrados nos estudos de Thomaz (2001), Dolabela (2004) e Rodrigues (2005), que submeteram os sujeitos às sessões operantes em esquema concorrente de razão fixa. Esses autores atribuíram a recuperação do peso à situação de controlabilidade em que os sujeitos foram submetidos. Dolabela (2004) ressalta que a recuperação foi mais rápida entre os sujeitos submetidos às sessões operantes durante as três fases do experimento (antes, durante e depois do CMS). Comparando os resultados desta pesquisa com as realizadas por Thomaz (2001), Dolabela (2004) e Rodrigues (2005), parece que a submissão dos sujeitos ao esquema concorrente com componentes de intervalo variável promoveria estabilidade no peso corporal durante o CMS, diferente dos sujeitos submetidos ao esquema concorrente com componentes de razão fixa. No esquema de razão fixa, os sujeitos perderam peso durante o protocolo de estresse.

Entretanto, a estabilidade do peso durante o CMS e o aumento após a suspensão do protocolo também podem estar associados ao consumo de solução de sacarose durante as sessões operantes. Neste estudo não houve um grupo de sujeitos que tivesse sido submetido ao CMS e recebido solução de sacarose sem a exposição às sessões operantes. Além disso, até onde se pode observar, na literatura não há um estudo que tenha realizado tal pro-

cedimento. Em um próximo estudo, poderia ser acrescentado um grupo de sujeitos que fosse submetido ao CMS e que recebesse a mesma quantidade (em mililitros por quilograma) de solução de sacarose que os sujeitos submetidos às sessões operantes receberiam durante esse procedimento, controlando o peso corporal individualmente. Desse modo, a única diferença entre esses dois grupos seria em relação ao realizado nas sessões operantes.

Além do peso corporal, outra variável importante para medir os efeitos produzidos pela exposição aos estímulos aversivos nos estudos com CMS é o consumo de água e solução de sacarose apresentado nos testes de consumo e preferência de líquidos.

Nos testes de consumo e preferência de líquidos, observou-se que a ingestão de água e solução de sacarose oscilou durante todo o experimento para os sujeitos submetidos às sessões operantes, apresentando diminuição no consumo de solução de sacarose apenas próximo ao término do CMS. Durante o CMS, os sujeitos apresentaram aumento no consumo total de líquidos e uma menor oscilação na preferência por sacarose, comparado com o consumo antes e depois da exposição ao protocolo de estresse, embora tenham apresentado uma redução no final da exposição ao CMS. Nos estudos realizados por Willner *et al.* (1987), durante o CMS ocorre uma redução no consumo de sacarose. Tal redução indica a característica de anedonia desenvolvida pela exposição aos estímulos estressores. Parece que a exposição às sessões operantes em intervalo variável interferiu nesse efeito, impedindo a observação de anedonia medida pelos testes de consumo e de preferência de líquidos.

Os resultados obtidos por Thomaz (2001), Dolabela (2004) e Rodrigues (2005) mostra-

ram que a submissão dos sujeitos a uma situação de controlabilidade atenuaria ou retardaria os efeitos de anedonia proposta por Willner *et al.* (1987) em decorrência da exposição ao CMS. Entretanto, parece que a exposição dos sujeitos a um esquema de intervalo variável antes da exposição ao CMS, além de atrasar a diminuição no consumo de líquidos, também pode provocar aumento no consumo durante essa fase. A submissão dos sujeitos a uma situação de controlabilidade em esquema de intervalo parece dificultar o aparecimento de anedonia (diminuição no consumo) com as características descritas nos estudos realizados por Willner *et al.* (Willner, 1997; Willner *et al.*, 1987). Além disso, o aumento no consumo de líquidos durante o CMS é diferente do que é observado nos estudos que utilizaram esquema de razão fixa (Dolabela, 2004; Rodrigues, 2005). Nos estudos com razão fixa, os sujeitos, mesmo tardiamente (próximo ao término do protocolo), tiveram uma redução do consumo de água e solução de sacarose. Nesses dois estudos, o consumo de água e solução de sacarose foi menor durante o CMS do que nos outros dois períodos de avaliação.

Em relação aos resultados obtidos em esquema concorrente, observou-se que o número de reforços obtidos em ambas as magnitudes (solução de sacarose ou água pura) foi semelhante durante todo o experimento. Durante e depois do CMS, houve um discreto aumento nas respostas de pressão na barra por reforço obtido correspondente à água em detrimento da correspondente à sacarose, diferentemente dos resultados obtidos pelos sujeitos submetidos ao esquema de razão fixa (FR) nos estudos de Dolabela (2004) e Rodrigues (2005). Essa diferença pode ter ocorrido em decorrência das caracte-

terísticas dos esquemas. O esquema de razão fixa pode ter produzido uma maior taxa de resposta por uma das alternativas, já que o custo de resposta era o mesmo em ambas. Assim, o próprio esquema pode ter determinado a permanência (sequência de respostas) maior no esquema alocado à solução de sacarose. Todos os sujeitos desta pesquisa apresentaram maior frequência de respostas na barra correspondente a sacarose quando o valor do intervalo era dois e cinco segundos, antes da exposição ao CMS. Ainda no período de avaliação, quando o intervalo variável foi aumentado para 10 segundos, os sujeitos apresentaram oscilação na frequência de respostas entre a barra correspondente à sacarose e a correspondente à água. Entretanto, as taxas de respostas foram maiores na barra correspondente à sacarose. Quando avaliada a preferência do sujeito durante e depois da exposição ao protocolo de estresse, a oscilação na taxa de resposta em ambas as barras mostra que não houve uma preferência com as características apresentadas nos estudos com FR. Esse resultado mostra que o tipo de esquema de reforçamento empregado pode interferir quando se pretende analisar a resposta operante sob o CMS.

Parece que a submissão dos sujeitos ao CMS provoca alteração na preferência por sacarose quando medida pela taxa de resposta. Nos estudos com CMS, a anedonia tem sido avaliada pelo consumo de líquidos. Entretanto, poderia também ser investigada pela taxa de resposta. Além disso, parece que, para retardar ou reduzir os efeitos do CMS, não basta submeter os sujeitos a uma situação de controlabilidade. A maneira pela qual o reforço é liberado pode fazer com que essa seja a variável crítica para “imunizar” os sujeitos contra

os efeitos dos estímulos aversivos. Durante o protocolo de estresse, os sujeitos da pesquisa de Dolabela (2004) e Rodrigues (2005) apresentaram redução no número de respostas emitidas na barra correspondente à sacarose, mas em nenhum momento foi menor do que na correspondente à água. A redução no número de resposta chegou a 24% no estudo de Dolabela e 33% no estudo de Rodrigues. Antes do protocolo, a taxa de resposta era de 100% na barra correspondente à sacarose.

REFERÊNCIAS

- Banaco, R. A. (1988). *A igualação como resultado da escolha (do experimentador)*. (Tese de doutorado). Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Boggiano, M. N., Artiga, A. I., Pritchett, C. E., Chandler-Laney, P. C., Smith, M. L., & Eldridge, A. J. (2007). High intake of palatable food predicts binge-eating independent of susceptibility to obesity: An animal model of lean vs. obese binge-eating and obesity with and without binge-eating. *International Journal of Obesity*, *31*, 1357-1367.
- Di Chiara, G., Loddo, P., & Tanda, G. (1999). Reciprocal changes in prefrontal and limbic dopamine responsiveness to aversive and rewarding stimuli after chronic mild stress: implications for the psychobiology of depression. *Bio Psychiatry*, *15*, 1624-1633.
- Dolabela, A. C. F. O. (2004). *Um estudo sobre as possíveis interações entre o chronic mild stress e o desempenho operante*. (Dissertação de mestrado). Programa de estudos Pós-graduados em Psicologia Experimental: Análise do comportamento, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Forbes, N. F., Stewart, C. A., Matthews, K., & Reid, I. C. (1996). Chronic mild stress and sucrose

- consumption: Validity as a model of depression. *Physiology and Behavior*, *60*, 1481-1484.
- Gamaro, G. D., Manoli, L. P., Toerres, I. L., Silveira, R., & Dalmaç, C. (2003). Effects of chronic variate stress on feeding behavior and monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochemistry International*, *42*, 107-114.
- Heyman, G. M. (1997). Preference for saccharin-sweetened alcohol relative to isocaloric sucrose. *Psychopharmacology*, *129*, 72-78.
- Matthews, K., Forbes, N., & Reid, I. (1995). Sucrose consumption as anhedonic measure following chronic unpredictable mild stress. *Physiology and Behavior*, *57*, 241-248.
- Millenson, J. R. (1967). *Princípios da análise do comportamento*. Brasília: Editora da Universidade de Brasília.
- Muscat, R., Papp, M., & Willner, P. (1992). Reversal of stress-induced anhedonia by the atypical antidepressants, fluoxetine and maprotiline. *Psychopharmacology*, *109*, 433-438.
- Rodrigues, M. B. (2005). *Interações entre o chronic mild stress e o desempenho operante: uma replicação de Dolabela (2004)*. (Dissertação de mestrado). Programa de estudos Pós-graduados em Psicologia Experimental: Análise do comportamento, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Samson, H. H., Pfeffer, A. O., & Tolliver, G. (1988). Oral ethanol self-administration in rat: Models of alcohol-seeking behavior. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *12*, 591-598.
- Samson, H. H., Roehrs, T., & Tolliver, G. (1982). Ethanol reinforced responding in the rat: A concurrent analysis using sucrose as the alternate choice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *17*, 333-339.
- Strelakova, T., Spanagel, R., Bartsch, D., Henn, F., & Glass, P. (2004). Stress-induced anhedonia in mice is associated deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology*, *29*, 2007-2017.
- Tannenbaum, B., Tannenbaum, G. S., Sudom, K., & Anisman, H. (2002). Neurochemical and behavioral alterations elicited by a chronic intermittent stressor regimen: Implications for allostatic load. *Brain Research*, *953*, 82-92.
- Thomaz, C. R. C. (2001). *Efeitos da submissão ao chronic mild stress sobre o valor reforçador do estímulo*. (Dissertação de mestrado). Programa de estudos Pós-graduados em Psicologia Experimental: Análise do comportamento, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Tomanari, G. Y., Amaral, V. L. A. R., Ramos, K. P., Sabino, N. M., Geremias, M. C. G., Sanches, L. C., & Albino, A. B. (2007). Parâmetros generalizados de operações de privação por restrições hídrica e alimentar em ratos machos Wistar. *Acta Comportamental*, *15*, 131-145.
- Tomanari, G. Y., Pine, A. S., & Silva, M. T. A. (2003). Ratos Wistar sob regimes rotineiros de restrição hídrica e alimentar. *Revista Brasileira de Terapia Comportamental e Cognitiva*, *5*, 57-71.
- Weiss, J. M. (1997). Does decreased sucrose intake indicate loss of preference in CMS model? *Psychopharmacology*, *134*, 368-370.
- Willner, P. (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, *83*, 1-16.
- Willner, P. (1997). Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evolution. *Psychopharmacology*, *134*, 319-329.
- Willner, P. (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: Consistency and behavioral-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, *52*, 90-110.
- Willner, P., Tower, D., Sampson, S., Sophokleous S., & Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoring by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, *93*, 358-364.