



Érica de Lana Meirelles

**Desenvolvimento e Emocionalidade
O impacto das experiências emocionais iniciais
no desenvolvimento de transtornos psicológicos**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psicologia Clínica da PUC-Rio como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Psicologia Clínica.

Orientador: Prof. Jesus Landeira-Fernandez

Co-orientadora: Profa. Luciene de Fátima Rocinholi

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2011



Érica de Lana Meirelles

**Desenvolvimento e emocionalidade:
o impacto das experiências emocionais iniciais
no desenvolvimento de transtornos psicológicos**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Psicologia Clínica do Departamento de Psicologia do Centro de Teologia e Ciências Humanas da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Jesus Landeira-Fernandez

Orientador

Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Profa. Helenice Charchat Fichman

Departamento de Psicologia - PUC-Rio

Profa. Patricia Franca Gardino

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - UFRJ

Profa. Denise Berruezo Portinari

Coordenadora Setorial de Pós-Graduação
e Pesquisa do Centro de Teologia
e Ciências Humanas – PUC-Rio

Rio de Janeiro, / /2011.

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do orientador.

Érica de Lana Meirelles

Graduou-se em Psicologia pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro em 2006. É Psicoterapeuta Cognitivo-Comportamental, com ampla experiência clínica. Concluiu o curso de Pós-Graduação *lato sensu* em Neuropsicologia pela Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro em 2010. Participa ativamente da divulgação científica da interface entre a psicologia clínica e as neurociências.

Ficha Catalográfica

Meirelles, Érica de Lana

Desenvolvimento e emocionalidade: o impacto das experiências emocionais iniciais no desenvolvimento de transtornos psicológicos / Érica de Lana Meirelles ; orientador: Jesus Landeira-Fernandez ; co-orientadora: Luciene de Fátima Rocinholi. – 2011.

127 f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Psicologia, 2011.

Inclui bibliografia

1. Psicologia – Teses. 2. Neurociência. 3. Desenvolvimento. 4. Emocionalidade. 5. Psicopatologia. I. Landeira-Fernandez, Jesus. II. Rocinholi, Luciene de Fátima. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Psicologia. IV. Título.

CDD: 150

Dedico este trabalho aos animais de laboratórios de pesquisa experimental, em especial aos ratos do Biotério da PUC-Rio, por doarem suas vidas a serviço da pesquisa e, assim, contribuírem para a evolução do conhecimento.

Agradecimentos

Meu primeiro e mais emocionado agradecimento é para Lana, minha mãe. Sinto muito orgulho de ser sua filha! Tenho certeza de que foi o seu exemplo de garra e evolução pessoal que me fez a mulher que sou hoje. Foram o seu amor e completa dedicação por mim e pela Evelin que nos tornaram capazes de buscar sempre mais, mais que o possível e que o provável.

Agradeço...

A CAPES, por ter financiado este projeto através de Bolsa de Mestrado durante os dois anos deste curso.

Aos meus Professores e Supervisores com quem tive a felicidade de conviver e aprender durante minha formação em Psicologia; e aos Clientes de Psicoterapia, por terem sido o início e o objetivo final deste trabalho.

Ao meu Orientador, o Professor Landeira, por ser uma pessoa de referência para mim e por me lembrar sempre que é com determinação e autonomia que se conseguem as coisas. Obrigada, sobretudo, por me desafiar sempre!

À minha coorientadora, amiga e meio-mãe Luciene Rocinholi, por me mostrar a ética e o cuidado detalhado de uma pesquisa, por me ensinar a ser grata aos meus animais, por respeitar meus limites e também por me mostrar que outros limites devem ser ultrapassados. E finalmente por ser a conselheira de todas as horas.

Às Professoras do Departamento de Psicologia da PUC-Rio, pelo conhecimento dividido, pelos elogios e sorrisos. Em especial à Professora Helenice Charchat Fichman, que além de minha Professora e Supervisora, foi também minha conselheira e incentivadora, tornando-se para mim um grande exemplo a ser seguido. Obrigada mais uma vez por me por à prova e por confiar em mim.

Aos funcionários do Departamento de Psicologia da PUC-Rio (Verinha, Marcica, Rogério e Chico), por seu bom humor e sua disposição em me ajudar em tantos pedidos!

Às professoras da Banca de Avaliação, Flávia Sollero, Helenice Charchat e Patricia Gardino, por terem todas recebido com um sorriso meu convite para participar deste momento especial comigo.

À minha amiga e irmã “Moreninha Linda” Flávia. Muito mais que a Bioterista, você é sem dúvida alguém especialmente importante para que todo este trabalho tenha sido realizado. Obrigada por ter uma memória espetacular, por ser inteligente, bem-humorada e por ser tão confiável e sensível. Em retribuição aos inúmeros fins de semana e feriados de um calendário incontrolável, este Mestrado também é seu!

Às Alunas de Iniciação Científica Michelle (Mi) e Carolina (Mocinha), que estiveram presentes durante todas as etapas da pesquisa experimental, aprendendo e ensinando.

Aos Amigos do Laboratório de Neurociências da PUC-Rio, por me mostrarem “a dor e a delícia” da convivência e por serem a parte leve quando as coisas ficavam pesadas.

Aos meus Amigos pessoais, por não me darem folga nos meus (muitos) momentos de ausência e por compreenderem esta fase de sacrifício, e por terem orgulho de mim.

À minha Irmã Evelin pelas conversas esclarecedoras. Pelo amor mesmo à distância. Por me fazer compreender o sentido disso tudo...

Finalmente e de modo especial agradeço ao meu querido companheiro Antonio, por ser muitas vezes a minha família, por me incentivar a crescer e pelo suporte em todos os momentos. Sem o seu apoio eu não teria conseguido. Sou pra sempre grata por isso.

Resumo

Meirelles, Érica de Lana; Landeira-Fernandez, Jesus. **Desenvolvimento e emocionalidade: o impacto das experiências emocionais iniciais no desenvolvimento de transtornos psicológicos.** Rio de Janeiro, 2011. 127p. Dissertação de Mestrado. Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A ocorrência de experiências infantis negativas (como o abuso, a negligência e o estabelecimento de vínculos inseguros) tem sido relacionada à alteração da emocionalidade, podendo ser compreendida como integrante para a etiologia multifatorial dos transtornos psicológicos. O impacto das experiências precoces no comportamento adulto encontra espaço na compreensão das características do desenvolvimento do SNC (Sistema Nervoso Central) e no conceito de neuroplasticidade, capacidade neural de se moldar de acordo com as influências do ambiente. De modo consistente, são encontrados trabalhos que apontam haver correlação entre estresse precoce e o desenvolvimento de psicopatologias. Este trabalho visa compreender a influência das experiências da infância no comportamento emocional, e justifica-se na constatação de que esta compreensão pode auxiliar a melhor entender o adoecimento mental e a desenvolver estratégias de avaliação e tratamento mais adaptadas e eficazes. Para tanto, foram realizados uma extensa revisão bibliográfica sobre o tema e a construção e avaliação de um modelo animal que pudesse mimetizar os efeitos das experiências precoces na emocionalidade. O levantamento da literatura traz dados consistentes sobre estes efeitos biocomportamentais, frequentemente valendo-se, para isto, de modelos animais em neurociência afetiva. A pesquisa experimental visou mais especificamente avaliar se diferentes condições ambientais durante a lactação de animais são capazes de alterar sua resposta emocional no LCE (Labirinto em Cruz Elevado), paradigma de avaliação comportamental de emocionalidade. Foram aplicados os procedimentos de *handling* (manipulação) e separação materna nas três primeiras semanas pós-natais, tendo sido avaliados no LCE um total de 154 animais. Foram encontrados resultados consistentes para o

procedimento de *handling* entre os diferentes grupos, entretanto o efeito parece não se estender aos animais adultos. Já o procedimento de separação materna utilizado não se mostrou capaz de alterar o comportamento emocional, dado que encontra reverberação na literatura, onde podem ser localizados resultados contraditórios. Foram pontos de limite para este trabalho o número grande de variáveis e o número pequeno de sujeitos por grupo experimental. Estudos mais detalhados e com paradigmas comportamentais diferentes dos aplicados podem ser de valia para aprofundar a discussão sobre os dados. Os resultados encontrados nesta pesquisa demonstram a grande complexidade da emocionalidade humana, que não pôde ser completamente modelada. São apresentadas perspectivas futuras sobre a investigação da etiologia de transtornos mentais levando-se em conta não somente aspectos ambientais, mas também os ligados à genética e a interação entre eles, atendidas pelo procedimento de *cross-fostering* ou adoção cruzada. A relevância clínica da investigação das experiências infantis está em saber de que maneira elas alteram a emocionalidade, levando ao desenvolvimento de doenças mentais. Parece haver consenso entre os estudos em relação à desregulação do eixo HPA ser repetidamente documentada como uma consequência psicobiológica das experiências iniciais aversivas, tendo sido proposta como o potencial mediador neurobiológico dos efeitos de longo prazo das experiências emocionais negativas.

Palavras-chave

Neurociência; Desenvolvimento; Emocionalidade; Psicopatologia.

ABSTRACT

Meirelles, Érica de Lana; Landeira-Fernandez, Jesus (advisor). **Development and emotionally: the impact of early emotional experience in the development of psychological disorders.** Rio de Janeiro, 2011. 127p. MSc. Dissertation - Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The occurrence of adverse childhood experiences (such as abuse, neglect and bonding unsafe) has been related to the change in emotionality, may be understood as integral to the multifactorial etiology of psychological disorders. The impact of early experiences on adult behavior finds room to understand the characteristics of the development of the CNS (Central Nervous System) and the concept of neuroplasticity, neural capacity to mold according to environmental influences. Consistently, papers and research works show correlation between stress and early development of psychopathology. This work aims to understand the influence of childhood experiences in emotional behavior, and is justified in finding that this understanding can help to better comprehend mental illness and develop strategies for assessment and treatment more suitable and effective. To this end, held out an extensive literature review on the subject construction and evaluation of an animal model that could mimic the effects of early experiences on emotional behavior. The literature provides consistent data on these biobehavioral effects, often with the assistance, for this, of animal models in affective neuroscience. The experimental research was aimed specifically to assess whether different environmental conditions during the lactation of animals are able to change their emotional response in the EPM (Elevated Plus Maze), a behavioral assessment paradigm of emotionality. The procedures of handling and maternal separation in the first three postnatal weeks were applied and were evaluated in the EPM a total of 154 animals. Our findings with the procedure of handling were consistent between the different groups, but the effect seems to not be extend to adult animals. On the other hand, the maternal separation procedure used was not able to alter the emotional behavior, as found in the literature, where can be found contradictory results. Limitations of this work were the large number of variables and the small number of subjects per experimental

group. More detailed studies and using behavioral paradigms that differ from those can be valuable for further discussion about the data. The findings of this study demonstrate the complexity of human emotionality, which could not be fully modeled. Future perspectives are presented on the investigation of the etiology of mental disorders taking into account not only environmental, but also those related to genetics and the interaction between them, attended by the procedure of cross-fostering. The clinical relevance of the research of childhood experiences is the knowledge about how they affect emotionality, leading to the development of mental illnesses. There seems to be consensus among studies regarding the deregulation of the HPA axis being repeatedly documented as a consequence of the initial experiences aversive psychobiological, having been proposed as a potential mediator of neurobiological long-term effects of negative emotional experiences.

Keywords

Neuroscience; Development; Emotionality; Psychopathology.

Sumário

1. Introdução	18
2. Neurodesenvolvimento e ambiente	19
2.1. Neurodesenvolvimento	19
2.2. Plasticidade Neuronal	21
2.3. Influência do ambiente no desenvolvimento de psicopatologias	24
2.4. Impactos neurobiológicos das experiências emocionais iniciais	26
3. Neurociência afetiva	29
3.1. Neurociência Afetiva	29
3.2. Modelos Animais em Neurociência Afetiva	35
4. Objetivo	42
5. Materiais e métodos	43
5.1. Animais	43
5.2. Instrumentos	45
5.3. Procedimentos	47
6. Análise estatística	51
6.1. Análises comparativas desempenhadas	51

7. Resultados	54
7.1. Resultados por análise	55
8. Discussão	71
8.1. Resultados por análise efetuada	71
8.2. Resultados relativos aos procedimento de separação materna	79
8.3. Considerações críticas	81
9. Conclusão	83
9.1. Pesquisa experimental em suma	83
9.2. Perspectivas Futuras	85
9.3. Reflexões sobre a aplicação deste conhecimento para a Clínica Psicológica	90
9.4. Considerações Finais	92
10. Referências Bibliográficas	94

Lista de tabelas

Tabela 1 - Categorias comportamentais analisadas e suas definições	50
Tabela 2 – Alocação das Condições Ambientais em função do Manuseio e da Separação materna	53
Tabela 3 – Distribuição dos animais por Grupo experimental, dentro das diferentes Condições Ambientais e Idades de Avaliação	54
Tabela 4 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos avaliados no LCE aos 21 dias de idade	57
Tabela 5 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos avaliados no LCE aos 50 dias de idade	58
Tabela 6 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos avaliados no LCE aos 70 dias de idade	59
Tabela 7 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental Controle (C) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade	60
Tabela 8 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental Controle do <i>Handling</i> (CH) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade	61

Tabela 9 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental <i>Handling</i> (H) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade	61
Tabela 10 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental <i>Handling+Maternal Separation</i> (HMS) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade	62
Tabela 11 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental <i>Maternal Separation</i> (MS) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade	63
Tabela 12 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos das Condições Ambientais avaliados no LCE, independente da idade da submissão ao teste comportamental	65
Tabela 13 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos das Condições Ambientais avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias, independente da Condição Ambiental	66
Tabela 14 – Alocação das Condições Ambientais em função do Manuseio e da Separação materna	67

Lista de figuras

Figura 1 – Neurodesenvolvimento Humano	23
Figura 2 – Esquemática do Eixo HPA (Hipotálamo-Hipófise-Adrenal)	25
Figura 3 – Sistema Límbico	30
Figura 4 – Composição dos 15 Grupos pela combinação entre as Condições Ambientais e as Idades de avaliação no LCE	45
Figura 5 – Caixa de Polipropileno usada para acondicionar os animais	46
Figura 6 – Ilustração do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)	47
Figura 7 - Procedimento de <i>Handling</i> ; os dois momentos indicam a direção da manipulação cabeça-cauda	48
Figura 8 - Procedimento de separação materna	48
Figura 9 – Rato explorando o LCE	49
Figura 10 - Detalhe do Centro do LCE	50
Figura 11 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos aos 21 dias de idade	57

Figura 12 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos aos 50 dias de idade	58
Figura 13 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos aos 70 dias de idade	59
Figura 14 – Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias	68
Figura 15 – Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias	68
Figura 16 – Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias	68
Figura 17- a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21 e 50 dias	70
Figura 18 – Modelo operacional de múltiplas influências	86
Figura 19 – Interação entre vulnerabilidade e estressores ambientais	88

1

Introdução

O presente trabalho relata e discute os temas trabalhados durante o curso de Mestrado em Psicologia Clínica na PUC-Rio e apresenta os resultados obtidos na pesquisa experimental realizada. O interesse geral deste estudo é a investigação das formas de influência das experiências precoces de vida no comportamento emocional.

Este trabalho buscou investigar como as experiências infantis podem influenciar o comportamento emocional posterior – ao longo do desenvolvimento. Para tanto, fora realizada uma extensa revisão da literatura sobre o tema, e uma investigação experimental com animais de laboratório. A pesquisa experimental teve como objetivo avaliar se os procedimentos de manipulação e separação materna durante a lactação de ratos é capaz de alterar sua resposta emocional, utilizando-se o paradigma de Labirinto em Cruz Elevado para avaliar ratos jovens e adultos.

Nas seções que se seguem, serão apresentados temas de importância para este estudo, como desenvolvimento emocional, neuroplasticidade e a atuação do ambiente inicial na emocionalidade, além de informações sobre como as interações com o ambiente podem ser determinantes para o surgimento de doenças mentais. Também serão apontados alguns modelos animais em Neurociência Afetiva, que buscam estabelecer exatamente uma explicação de como esta interação se dá no nível do Sistema Nervoso Central. Estes temas são trazidos à discussão como uma forma de expor a intenção desta pesquisa em contribuir para o aprimoramento do conhecimento na Psicologia.

2

Neurodesenvolvimento e Ambiente

2.1

Neurodesenvolvimento

A neuropsicologia do desenvolvimento tem como objetivo o estudo da integração entre áreas do cérebro e suas funções e o comportamento, tomando por foco os estudos do desenvolvimento humano (Mello et al., 2005). Assim, interessa-se pelas mudanças que ocorrem durante toda a vida – já que o desenvolvimento é um processo contínuo – porém especialmente voltado para as modificações que ocorrem nos estágios pré-natais, na infância e na adolescência. Este maior interesse se justifica por haver, nessas épocas, um cérebro em desenvolvimento.

O desenvolvimento pré-natal do que virá a ser o encéfalo é um processo que se dá em etapas: 1) indução – produção maciça das células que irão formar o tecido nervoso; 2) proliferação – sucessivas reproduções celulares (mitoses), o que multiplica o número de células; 3) migração – as células vão sendo posicionadas em sua área cerebral apropriada; 4) diferenciação – os neurônios vão se especializando, assumindo um tipo específico, de acordo com a função que irão desempenhar no futuro; 5) sinaptogênese – formação das primeiras sinapses (conexões entre os neurônios); 6) morte celular seletiva – as células nervosas alocadas em regiões erradas ou as que falharam em formar conexões sinápticas apropriadas são mortas (processo de apoptose – ou suicídio celular); e 7) validação funcional – fortalecimento das sinapses em uso (estimuladas) e enfraquecimento das sinapses não utilizadas (não estimuladas). Nesses estágios,

podem ser observadas as modificações das estruturas do SNC, bem como o crescimento das mesmas. Ao nascermos, temos cerca de 100 bilhões de neurônios. O desenvolvimento do cérebro se dá a uma incrível velocidade de 250.000 neurônios produzidos por minuto durante os nove meses de gestação (Cowan, 1979).

Apesar de toda a rápida e impressionante transformação do encéfalo durante o período pré-natal, sabe-se hoje que o desenvolvimento cerebral humano somente estará completo no final da adolescência ou início da vida adulta, culminando com a mielinização de toda a rede neuronal (Spear, 2000). Se for assim, então por que nascemos se nosso cérebro ainda não está pronto? Uma das primeiras respostas a esta pergunta está relacionada à questão anatômica: o nascimento irá implicar na passagem do crânio pelo canal vaginal, que seria estreito demais em relação volume ao do crânio de um adulto. Por isso, após o nascimento, o cérebro irá crescer muito, chegando a quatro vezes o tamanho ao nascer. Entretanto, este crescimento não se deve a um aumento do número de neurônios, mas sim a três outros fatores (Pinel, 2005): sinaptogênese, mielinização e aumento da ramificação dendrítica.

A formação de novas sinapses pode se dar de forma mais presente em determinadas áreas cerebrais. Isto ocorre em diferentes momentos do desenvolvimento e de modo variado em áreas diferentes, respondendo por distintos sistemas e funções. A mielinização consiste no processo de cobertura de muitos axônios de neurônios com um revestimento de mielina, substância que isola eletricamente os axônios, permitindo a transmissão do impulso nervoso. Quando um axônio recebe a bainha de mielina, passa a ser capaz de transmitir a informação com mais velocidade. Por fim, no processo de aumento na ramificação dendrítica, os neurônios mais e mais lançam seus dendritos – projeções para conectar-se a outros neurônios. Da mesma maneira que nos processos de indução, migração, proliferação e sinaptogênese, a ramificação dendrítica ocorre primeiro nos neurônios mais profundos, para depois chegar aos mais superficiais.

Entretanto, o desenvolvimento pós-natal não se dá num sentido único. Além do crescimento e enriquecimento de sistemas, existem também mudanças regressivas (Huttenlocher, 1994), que incluem a eliminação e perda de neurônios num processo denominado morte celular programada (apoptose). Em algumas

áreas do encéfalo, esse processo chega a eliminar 80% da população neuronal. Como outro exemplo, temos o processo de perda de sinapses quando a densidade destas atinge seu nível máximo. Da mesma maneira que no processo de sinaptogênese, esse processo regressivo se dá em diferentes momentos em áreas distintas do cérebro. Por exemplos, por volta dos três anos de idade, o número de sinapses no córtex visual primário se iguala ao do cérebro adulto, enquanto que no córtex pré-frontal tal igualdade numérica não se estabelecerá até a adolescência. Esse “caminho inverso” é determinante para o desenvolvimento, uma vez que é capital que alguns comportamentos desapareçam para que outros possam se desenvolver. É importante frisar que esse processo de perda de sinapses irá se definir pela estimulação ou não das mesmas. Isso significa que sinapses estimuladas tendem a ser mantidas, determinando assim os processos de aprendizagem ou fortalecimento de circuitos.

O neurodesenvolvimento ocorre a partir da interação entre os neurônios e o meio ambiente. Além dos elementos relacionados ao ambiente interno - como neurotrofinas e moléculas de adesão celular, que influenciam a migração, agregação e crescimento neuronal, outros fatores mais externos podem orientar o neurodesenvolvimento, como as experiências individuais de determinado organismo e os estímulos ambientais. A regra geral é: neurônios e sinapses que não são utilizados (ativados pela experiência) acabam por morrer. A propriedade de neuroplasticidade é muito mais presente nas etapas iniciais do desenvolvimento, o que torna essa fase especialmente importante.

2.2

Plasticidade Neuronal

Loos e Sant’ana (2007) defendem que os processos psíquicos formam-se a partir de relações de interdependência entre aspectos neuronais, sociais, cognitivos, afetivos e comportamentais. Para tratar desta interação é preciso um maior aprofundamento sobre o conceito de Plasticidade Neuronal.

Todos nós produzimos o mesmo sistema nervoso de acordo com a nossa organização filogenética; entretanto, variações específicas na transmissão do impulso nervoso, pela atividade sináptica, definem a atividade psicológica do

indivíduo e é exatamente isso que dá forma à sua personalidade e individualidade (Landeira-Fernandez e Cruz, 1998a). Esta capacidade plástica do sistema nervoso central (SNC) é chamada neuroplasticidade, e dá ao cérebro a propriedade de ter alteradas suas configurações morfo e fisiológica sob a influência dinâmica do ambiente (Lent, 2005, p. 614). A neuroplasticidade ocorre no nível dos neurônios (e suas projeções, como dendritos e axônio) e também no nível das sinapses (Leuner e Gould 2010), permitindo que o SNC esteja aberto a alterações provocadas pela interação do sujeito com seu meio (Davidson et al. 2000; Diamond 2001; Oliva et al. 2009).

Como o cérebro é extremamente plástico e está em constante modificação, a importância do ambiente na modificação neural se apresenta em nível estrutural e funcional (Landeira-Fernandez e Cruz 1998b; LeDoux, 2001; Martin e Morris 2002; Neves et al. 2008; Oliva et al. 2009). Desta maneira, fatores ambientais são fortemente capazes de modificar a progressão do desenvolvimento neurológico; um ambiente favorável, rico e amplo garante a realização plena das capacidades de desenvolvimento de um indivíduo. As oportunidades de convívio social, mesmo quando o indivíduo ainda é pequeno demais para socializar, favorecem o desenvolvimento de suas emoções e da organização de suas ideias (Sroufe et al., 1990; Lent 2008, p. 107).

Embora se saiba que estas alterações possam ocorrer ao longo de toda a vida (Leuner e Gould 2010), existem momentos em que o SNC está mais sensível ao ambiente, estando mais vulnerável às influências ambientais; estes momentos são chamados períodos críticos e são representados pelos períodos de neurodesenvolvimento embrionário e infantil, especialmente na primeira infância (De Bellis 2005).

A influência das relações sociais no desenvolvimento e organização de circuitos neuronais envolvidos nas mais diversas atividades mentais ocorre desde o nascimento do sujeito e existem períodos mais sensíveis para esta interação (Eisenberg, 2006), como os períodos de rápido crescimento cerebral, que são períodos específicos de maior vulnerabilidade cerebral (Morgane et al., 1993). Durante a infância, o impacto da experiência com o ambiente no tecido neural é extremamente mais forte em relação a idades mais avançadas (Landeira-Fernandez e Cruz, 1998a; Gunnar et al., 2007; Landeira-Fernandez e Callegaro,

2007, p. 860). A experiência durante os primeiros anos de vida tem efeito estruturante no desenvolvimento do indivíduo (Stern, 1992), pois estes anos iniciais representam um momento em que o sistema nervoso está sensível aos processos de aprendizagem que irão produzir modificações permanentes em algumas estruturas neurais (Jessell e Sanes 2000; Holmes et al. 2005).

Também é importante saber que a plasticidade se dá em diferentes momentos em diferentes estruturas/ regiões encefálicas, fazendo com que haja períodos em que determinada estrutura está mais sensível que outra. Na Figura 1, observamos uma ilustração gráfica que aponta essas diferenças, de acordo com a maturação das regiões do SNC e com os processos de neurodesenvolvimento. Observe-se que nos anos iniciais da infância existe uma maior amplitude das curvas, indicando que nestes anos a atividade é mais intensa. Interessante também notar a linha-seta que aponta que o desenvolvimento sináptico depende da atividade (*experience-dependent*) das células nervosas, valorizando a interação com o ambiente.

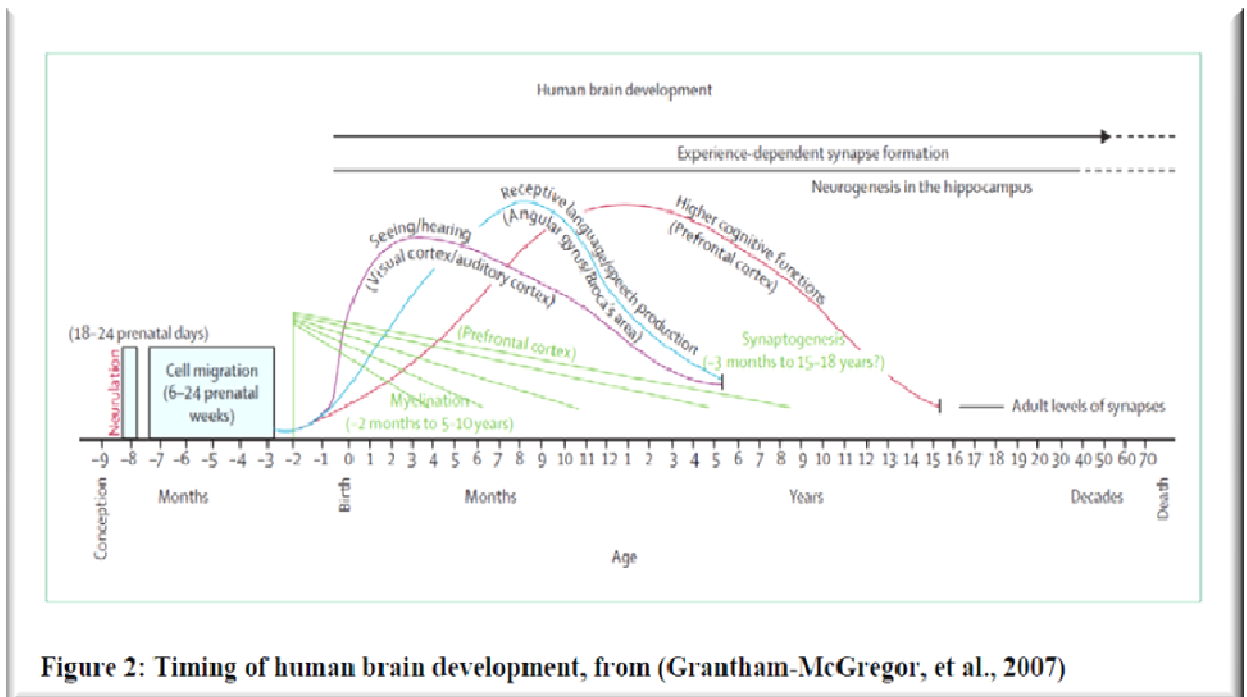


Figura 1 – Neurodesenvolvimento Humano (retirado de Fernald et al. 2009).

2.3

Influências do Ambiente no desenvolvimento de psicopatologias

Dada a possibilidade de o ambiente influenciar o SNC, é possível prever que as funções exercidas pelas estruturas encefálicas também serão afetadas. Além dos comportamentos motores e funções cognitivas (como linguagem e percepção, entre outras), o SNC também possui áreas que controlam o comportamento emocional, como áreas do lobo temporal medial, córtex pré-frontal e ínsula, por exemplo (LeDoux 1994; Davidson et al. 2000; Dalgleish 2004; Lent 2008). Desta maneira, impactos e transformações sofridos pelo SNC podem alterar funções emocionais, como reatividade emocional, humor, impulsividade etc. (Perry 1997; Davidson et al. 2000).

O conhecimento atual, em grande parte trazido por estudos de neuroimagem (Davidson et al. 2000; Vythilingam et al. 2002; De Bellis 2005; Buccheim et al. 2008; Rapoport e Gogtay 2008), tanto sobre a sintomatologia quanto sobre os modelos neurobiológicos das doenças mentais, aponta para uma forte correlação entre psicopatologias e disfunções de estruturas encefálicas. O que se discute é o quanto essas disfunções foram desenvolvidas ontologicamente.

Estudos têm demonstrado que um ambiente desfavorável, especialmente na infância, pode trazer implicações biológicas e comportamentais importantes, incluindo uma maior vulnerabilidade para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos (Lochner et al. 2002; Vythilingam et al. 2002; Gibb et al. 2006; Abramovitch et al. 2008; Heim et al. 2008). A exposição ao estresse nos períodos pré-natais e infantis tem impacto nas estruturas cerebrais envolvidas na cognição e na saúde mental (Lupien et al. 2009).

A ocorrência de trauma infantil (decorrente de abuso físico, emocional ou sexual e negligência) tem sido associada à maior ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (Davidson et al. 2000; Rutter & Maughan 1997; Sroufe et al. 1990; Kaufman et al. 2000; Gartside 2003; Gross e Hen 2004; Gunnar 2003, 2006, 2007; Heim & Nemeroff 1999, 2001; Heim et al. 2004, 2008; Kaufman 2000; Neigh et al. 2009; Bradley et al. 2010; Coplan et al. 2010). A maior ativação deste eixo está relacionada ao aumento da resposta emocional frente a estímulos estressores (Lent 2008; Mello et al. 2007). Eventos traumáticos ocorridos durante o período de maior plasticidade neuronal geram uma

supersensibilidade do sistema de resposta ao estresse, e de forma permanente (Penza et al. 2003). Abaixo, uma esquematização do eixo HPA (Figura 2).

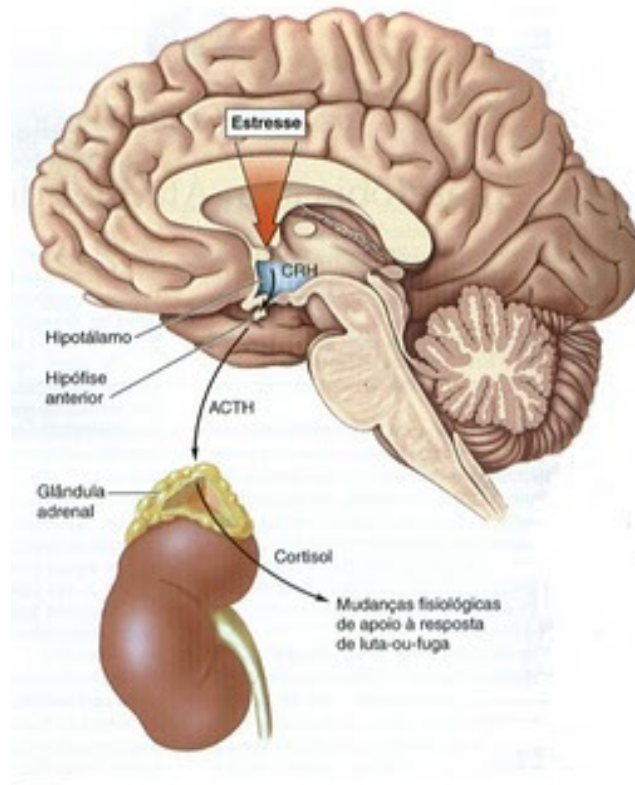


Figura 2 – Esquematização do Eixo HPA (Hipotálamo-Hipófise-Adrenal).

A literatura mostra que as experiências na vida precoce produzem uma série de efeitos na estrutura e no funcionamento do sistema nervoso central que se expressa de forma plena na idade adulta (Lehmann e Feldon 2000). Os primeiros anos de vida são um período de uma sensibilidade única durante o qual a experiência confere efeitos duradouros ao funcionamento do SNC, e, desta maneira, ao funcionamento individual global (Levine 2002; Newport et al. 2002; Gross e Hen 2004; Holmes et al. 2005; Bale et al. 2010).

Uma série de estudos tem demonstrando que eventos iniciais aversivos são associados à de incidência de doenças mentais na vida adulta (Stern, 1992; Rutter e Maughan, 1997; Kaufman, 2000; Gartside, 2003; Gunnar, 2003; Eppel, 2005; Eisenberg, 2006; Gunnar *et al.*, 2006, 2007; Winograd *et al.*, 2007, p. 418; Landeira-Fernandez e Callegaro, 2007; Bonomi et al. 2008; Neigh et al. 2009).

Aqui talvez seja importante citar que o aspecto genético deve ser considerado uma pré-condição necessária, mas não suficiente, para a ocorrência de psicopatologias específicas, porque é necessário também que haja a concorrência de determinados eventos traumáticos – fruto da interação ambiental (Gross e Hen, 2004; Winograd *et al.*, 2007, p. 420; Landeira-Fernandez e Callegaro, 2007; Young, 2008).

Investigar a participação das situações emocionais adversas nos períodos iniciais do desenvolvimento neurológico parece poder contribuir para enriquecer o conhecimento acerca da formação de Psicopatologias, bem como da própria Psicoterapia.

Este trabalho deseja ser útil ao aprimoramento do entendimento sobre as influências do ambiente inicial sobre as respostas comportamentais ligadas às emoções, compreendendo que esta influência se dá através dos reflexos diretos do ambiente sobre a o SNC, fundamento do conceito de neuroplasticidade.

2.4

Impactos neurobiológicos das experiências emocionais iniciais

Conhecer as bases psicobiológicas dos transtornos mentais é importante para o estabelecimento de tratamentos mais adequados (Capote 2008; Heim et al. 2004). Da mesma forma, é fundamental conhecer os mecanismos neurobiológicos pelos quais as experiências emocionais iniciais podem alterar o SNC e assim, de forma indireta, o comportamento emocional.

Alguns transtornos mentais podem estar relacionados com uma disfunção no córtex pré-frontal (Perry, 1997) e sua capacidade de modular estruturas límbicas tais como amígdala (Kaufman, 2000; Heinrichs e Gaab, 2008; Lent, 2008). Fatores que tenham levado ao estabelecimento de um hiperfuncionamento de estruturas pré-corticais (como estruturas límbicas), como o estresse precoce, por exemplo, podem estar relacionados à relativa incapacidade posterior das áreas corticais dos lobos frontais em mediar os impulsos e reações das áreas mediais do lobo temporal (Perry 1997).

A avaliação cerebral de crianças vítimas de abuso ou outra experiência emocional traumática apresentou alterações neurobiológicas semelhantes às encontradas em indivíduos que sofrem de transtornos mentais como a depressão:

as mudanças estruturais e funcionais se davam nas mesmas regiões cerebrais. Experiências de maus tratos infantis têm sido associadas a elevados níveis de depressão, ansiedade e outros transtornos mentais, em função das alterações, ocorridas em longo prazo, em sistemas de neurotransmissores ligados à etiologia da Depressão, como a Serotonina (Gould 1999; Heim et al. 2004).

Aliado a isso, alguns estudos (Anderson et al., 2004; Vythilingam et al. 2002) encontraram manifestações na morfologia cerebral de adultos que haviam sido vítimas de abuso sexual na infância. O estudo de Vythilingam e colegas (2002), por exemplo, demonstrou que mulheres deprimidas com história de abuso sexual infantil tinham o hipocampo esquerdo menor do que mulheres deprimidas sem história de abuso ou ainda mulheres sem diagnóstico psiquiátrico ou história de abuso.

Um estudo comparou as respostas de marcadores hormonais de resposta emocional (ACTH – Hormônio adrenocorticotrópico e CRF - Fator de liberação de corticotropina, além de concentração de cortisol) e taxa cardíaca em pacientes psiquiátricos e controles diante de uma tarefa ansiogênica. Os participantes foram designados em quatro grupos: pacientes deprimidos com ou sem história de abuso infantil e indivíduos sem diagnóstico psiquiátrico que sofreram e não sofreram este estresse precoce. As mais altas taxas de ACTH e cortisol e a maior frequência cardíaca foram encontradas nos pacientes com história de estresse precoce. Os níveis de ACTH nas mulheres deprimidas com história de abuso foi seis vezes maior do que nas controles (sem diagnóstico psiquiátrico e sem histórico de abuso infantil) evidenciam a hiper-reatividade do eixo HPA (Heim et al. 2008). A maior reatividade do eixo HPA neste grupo sugere que as experiências precoces aversivas produzem efeitos sensibilizatórios duradouros no eixo HPA. Além disso, as taxas cardíacas elevadas destes paciente apontam também para uma maior ativação autonômica.

Os efeitos profundos das experiências precoces negativas na reatividade destes dois sistemas podem constituir um importante elemento etiológico no desenvolvimento de doenças psiquiátricas na vida adulta, incluindo depressão e TEPT (Neigh et al. 2009). As anormalidades de funcionamento do eixo HPA encontrada em pacientes deprimidos com histórico de estresse precoce são uma consequência direta das experiências estressantes ocorridas durante as etapas infantis do desenvolvimento (Heim et al. 2004).

3

Neurociência afetiva

3.1

Neurociência Afetiva

Para que se possa melhor compreender como o ambiente inicial é capaz de contribuir para o desenvolvimento de doenças mentais em seres humanos, é necessário apontar conhecimentos atuais em Neurociência Afetiva. A simples avaliação da emocionalidade em momentos posteriores da vida pode trazer informações valiosas sobre esta influência, mas muitas vezes não é capaz de apresentar os processos subjacentes, de onde se possa extrair uma explicação de como esses fatores ambientais na infância chegam a produzir alterações comportamentais – muitas das vezes apenas visíveis e compreendidas como sintomas de psicopatologias na adolescência ou no início da vida adulta. Desta forma, esta seção busca trazer informações provenientes de vários estudos que procuram compreender esses mecanismos fundamentais encobertos.

Como será visto, muitas vezes o papel da memória será trazido como primordial, fazendo uma sobreposição entre aspectos mnemônicos e afetivos. Esta justaposição encontra justificativa dentro dos conhecimentos das neurociências, onde as estruturas neurais responsáveis pela função de memória estão intimamente encarregadas também do comportamento emocional, como é o caso de estruturas do sistema límbico (Figura 3), como por exemplo, a amígdala.



Figura 3 – Sistema Límbico.

Diante do exposto cabe um aprofundamento do papel especial de aprendizagens de conteúdos emocionais, o que Dalgleish (2004) denominaria como Neurociência Afetiva, que implica no estudo do estabelecimento de conexões entre memória e emoção.

Uma definição operacional de emoção a coloca como uma experiência subjetiva acompanhada de manifestações fisiológicas detectáveis. Inclui os três seguintes aspectos: 1) sentimento; 2) comportamento; e 3) ajustes fisiológicos correspondentes. Seu valor adaptativo é definido desde Charles Darwin (1809-1882): visa à sobrevivência do indivíduo, da espécie e à comunicação social (Lent, 2005, p. 653). As emoções nos fazem alterar nosso comportamento para aumentar as chances de sucesso (Lent, 2008, p.254).

Buscando um melhor entendimento sobre os processos relacionados à memória emocional, neurocientistas têm realizado uma série de estudos em que estruturas como o hipocampo, a amígdala e a substância cinzenta periaquedutal são relacionadas ao medo condicionado (Kim et al., 1993; Buckner et al., 1999; LeDoux, 2001; Da Cunha et al., 2003; Andrade et al., 2004; Lent, 2005, 2008; Almeida et al., 2006; Landeira-Fernandez et al., 2007; Sternberg, 2008), com papel de destaque para o hipocampo e amígdala (Sommer et al., 2008).

A amígdala parece ter função importante na consolidação de memórias, especialmente onde houver experiência emocional envolvida (Sternberg, 2008, p. 184) e na lembrança de eventos emocionalmente carregados. Esta estrutura é citada na literatura como o botão de disparo de toda experiência emocional (Lent, 2005, p. 659); é considerada a principal estrutura cerebral ativada na presença de estímulos inatos e aprendidos de medo. Formada por um complexo de núcleos que participa da fisiologia das emoções (Lent, 2005, p. 613), recebe informações de natureza emocional e as conecta com informações mnemônicas em processo de consolidação, fortalecendo ou enfraquecendo a retenção. A amígdala confere colorido emocional às lembranças (Sarter e Markowitski, 1985 *in* Andrade et al. 2004, p. 150) e também modula a facilitação de percepção de estímulos com significado emocional (Erka et al., 2003; Phelps, 2004; Sergerie et al., 2006).

Uma série de estudos tem elucidado e aprimorado o conhecimento sobre a participação da amígdala nos processos mnemônicos ligados à emoção (LeDoux, 2001; Amaral et al., 2003; Oliveira et al., 2004; Andrade et al., 2004; Lent, 2005, 2008; Habel et al., 2007; Kim et al., 2007; Landeira-Fernandez e Callegaro, 2007). Este complexo de núcleos nos faz reagir antes mesmo que tenhamos consciência plena do estímulo que causou medo e participa do condicionamento do medo mesmo quando os estímulos não são detectados conscientemente (Lent, 2008, p. 260).

Estaríamos, então, tratando da chamada memória implícita (Lent, 2005, 2008), processo através do qual recordamos algo mas não temos consciência de que estamos fazendo (Sternberg, 2008, p. 159). Um tipo de memória implícita é a memória de representação conceptual (conceitos) e outro, a memória de procedimentos, que inclui hábitos, habilidades e regras (Lent, 2005, p. 611). Neste mesmo sistema de taxonomia mais setorial de processos de memória, teríamos a memória declarativa – formada pela memória semântica (conhecimento geral sobre o mundo) e pela memória episódica (eventos e episódios experimentados pessoalmente) - e a memória autobiográfica – que contém elementos de memória episódica e de memória semântica (Landeira-Fernandez e Frank, 2006).

As neurociências nos mostram que as estruturas cerebrais ligadas à formação de memórias explícitas, como o hipocampo, por exemplo, não são funcionais durante os primeiros 24 meses de vida, explicando a amnésia específica em relação a dados da primeira infância. Porém, não lembrar conscientemente da maior parte dos fatos ocorridos na infância não significa que eles não tenham sido armazenados e não possam ter influência significativa sobre os comportamentos. As experiências afetivas têm papel fundamental na confecção das redes neuronais. Devido à neuroplasticidade, as sinapses estimuladas pelo ambiente tendem a permanecer, enquanto que as pouco estimuladas são eliminadas. Desta maneira, há a inscrição das primeiras experiências afetivas na estrutura neuronal, construindo um padrão de ativação sináptica que se revela como um padrão habitual e repetitivo de relacionamento interpessoal. Como este padrão é repetido de forma automática e não consciente, é codificado como uma memória implícita (Winograd et al. 2007), não-consciente.

3.1.1

Neurociência Afetiva e Psicopatologias

A emoção tem papel fundamental em como a memória pode ser modulada (enfraquecida ou fortalecida) por situações que dão contorno ao evento. Guardamos mais fatos emocionais (positivos e negativos) fortes (LeDoux, 2001; Lent, 2005, p. 613, 2008). Isso ocorre porque os hormônios de descarga natural afetam a disponibilidade de glicose no cérebro, sendo um fator fisiológico que afeta a função de memória pois esses hormônios são associados a eventos altamente excitantes (como traumas, conquistas, primeiras experiências – positivas ou negativas –, crises e outros momentos de pico) e cumprem papel importante na lembrança desses eventos. Quanto mais carregado um evento for emocionalmente, maior probabilidade de que venha a ser lembrado (Cahill et al., 1996, *in* Sternberg, 2008, p. 185; Erka et al., 2003; Quevedo et al., 2003; Heinrichs, 2007).

Entretanto, parece existir um efeito patológico neste processo de consolidação de memórias. Já há um certo consenso na participação do

hipocampo na formação e consolidação das memórias explícita; a amígdala participaria deste processo modulando as memórias explícitas em situações de alerta emocional. Entretanto, se o alerta for muito intenso, o estresse contínuo faz degenerar as células hipocampais, e, ao mesmo tempo, amplifica a contribuição da amígdala para o medo, aumentando a capacidade de estabelecer memórias implícitas sobre a situação traumática. Como não sabemos explicitamente o que armazenamos em nossa memória, aqueles estímulos ligados ao trauma podem, em ocasiões posteriores, nos levar a disparar respostas de medo que não compreendemos e que não controlamos facilmente, podendo levar ao surgimento de patologias (Lent, 2008, p. 260). Medos condicionados podem ser “implícitos” quando os indivíduos não podem descrever com precisão sua causa, porque não foram capazes de percebê-las conscientemente quando foram expostos a ela em associação a alguma situação ameaçadora ou simplesmente desagradável (Lent, 2005, p. 659-660).

Assim, através dos conteúdos da memória autobiográfica – que contém elementos de memória episódica e de memória semântica – podemos estabelecer uma conexão entre as memórias e a formação de crenças e esquemas (Landeira-Fernandez e Frank, 2006; Young 2003, 2008). O uso contínuo de informações de natureza episódica propicia sua integração a níveis mais gerais de abstração, transformando-as em memórias de natureza semântica (Landeira-Fernandez e Callegaro, 2007); neste nível se daria a formação de crenças conforme hoje entendidas pela Terapia Cognitiva (Rangé, 1995, 1998; Beck, 1997; McMullin, 2005, p. 31).

A formação das memórias de longo prazo pode estar ligada ao fenômeno de LTP (potenciação de longo prazo) (Landeira-Fernandez e Cruz, 1998a; Lent, 2008; Sternberg, 2008), podendo estar relacionada a um processo de fortalecimento sináptico. Assim, em situações da vida real a memória é construtiva, porque a experiência anterior afeta a forma como nós recordamos as coisas e aquilo que realmente recordamos de memória (Sternberger, 2008, p. 207), de maneira que as experiências ambientais de cada indivíduo determinarão as diferenças individuais ou sua estrutura de personalidade, ou seja, as células ou os padrões de comunicação sináptica de cada indivíduo respondem em função das

mais variadas fontes de estimulação e significados com que esse indivíduo se deparou (Landeira-Fernandes e Cruz, 1998b).

Este processo exemplificaria a influência de processos implícitos sobre a expressão de alguns transtornos mentais (Landeira-Fernandez e Callegaro, 2007). Estabelecendo uma relação com o conceito de esquemas de Young (2003, 2008), teríamos que estes são de natureza implícita, mas se expressam de forma explícita e sua ativação é mediada pelo complexo amigdalóide – e suas conexões com outras áreas ligadas à emocionalidade-memória, como o hipocampo e o córtex pré-frontal –, já que as memórias emocionais de experiências traumáticas permanecem armazenadas na amígdala, podendo ocorrer de maneira muito rápida e independentemente de avaliações racionais (Landeira-Fernandez e Callegaro, 2007, p. 863).

Há relatos de envolvimento da amígdala nas interações sociais ao se pesquisar como as tendências implícitas (não conscientes) ao racismo se refletem no grau de ativação da amígdala quando uma pessoa é exposta ao estímulo para o qual apresenta um preconceito (Lent, 2008, p. 216). Talvez este mesmo mecanismo neural funcione para os traumas.

Tendo sido explicitados os processos envolvidos na memória emocional e no funcionamento esquemático, pode-se buscar uma associação com a etiologia das Psicopatologias, embora esta não seja tarefa simples, visto que uma dificuldade para modelar doenças psiquiátricas tem sido as limitadas informações sobre sua origem (Quevedo et al., 2003; Eppel, 2005; Pergher et al., 2006; Landeira-Fernandez et al., 2008, p. 2). Alguns trabalhos têm demonstrado as relações de transtornos de personalidade (Barlow, 1999; Young, 2003, 2008; Caballo, 2008, p. 31) com a existência de experiências de forte conteúdo emocional (Rutter e Maughan, 1997; Eppel, 2005).

Um primeiro argumento seria a defesa de que patologias mentais podem estar relacionadas com uma disfunção no córtex pré-frontal e sua capacidade de modular estruturas corticais tais como a amígdala (Perry 1997; Lent, 2008, p. 267). Algumas explicações possíveis podem ter amparo junto aos processos de distorções de memória (vieses de recordação) e erros de monitoramento de fontes – acreditar que recordam, mas na verdade estão

imaginando – (Sternberg, 2008, p. 208 e 212). Pode-se adotar também o fato de que o medo condicionado, ao transformar estímulos inexpressivos em sinais de alerta, conduz o indivíduo a reconhecer pistas que indicam situações potencialmente perigosas com base em experiências do passado (Lent, 2008, p. 258). Num outro prisma, a escolha de comportamentos, ou seja, a tomada de decisões, leva em conta não somente avaliações racionais sobre futuro, mas também as antecipações emocionais, muitas vezes inconscientes, de futuro (Seymour et al., 2008; Lent, 2008, p. 264). Seria a hipótese do marcador somático (Damasio, 1998): estado corporal que inclui reações corporais autonômicas, constituído com base nas experiências anteriores análogas aquelas que simulamos mentalmente a cada momento (Lent, 2008, p. 265), estando a amígdala envolvida neste processo, ativada nas lembranças. Um exemplo disso seria o fato de que experiências passadas estressantes exercem um papel em certos tipos de ansiedade (Landeira-Fernandez et al., 2007, p. 253), como o Transtorno de Pânico e as Fobias, por exemplo; experiências estressoras do passado exercem um papel crucial no desenvolvimento de transtornos mentais (Heim e Nemeroff, 2001; Heim et al, 2004, 2008; Landeira-Fernandez et al., 2007, p. 254).

3.2

Modelos Animais em Neurociência Afetiva

Embora uma série de estudos clínicos tenha apontado a correlação entre experiências aversivas na infância e desenvolvimento de transtornos psiquiátricos como a ansiedade e a depressão, não se pode atribuir uma causalidade entre os dois aspectos. O desenvolvimento das psicopatologias, como pôde ser visto, apresenta-se como multifatorial, sendo as influências ambientais apenas um desses fatores. Seria preciso, então, que se manipulassem muitas condições durante o desenvolvimento de uma criança para que se pudesse inferir uma relação causal.

Conforme se sabe, os limites éticos apontam em outra direção, e, em função deles, se torna interessante e aconselhável tentar estabelecer um modelo

comparativo de desenvolvimento, com possibilidades maiores de controle, usando Modelos Animais.

O *continuum* de modelos animais utilizados em várias categorias de pesquisa psiquiátrica variam desde ensaios em animais a modelos homólogos (Newport et al. 2002). Ensaios em animais fornecem um meio pré-clínico fundamental no rastreamento de possíveis medicamentos psicotrópico; instituem-se específicas avaliações comportamentais após a administração de um composto de fármacos candidatos. Porque o comportamento animal-alvo não precisa ser semelhante a qualquer paralelo humano, os ensaios em animais têm limitada utilidade para o estudo da etiopatogenia de doenças. De modo diferente, modelos homólogos são baseados na convicção de que certos aspectos do comportamento e fisiologia animais são um espelho de suas contrapartes humanas, em virtude de uma ancestralidade evolutiva comum. Os comportamentos de animais de interesse não são simplesmente análogos (ou seja, imitando um comportamento humano), mas homólogos (isto é, se assemelha a um comportamento humano, porque eles desempenham uma função similar e são ativadas por semelhantes processos biológicos). Modelos homólogos, portanto, permitir testes de hipóteses sobre o comportamento humano em vários níveis dentro da ordem filogenética (Newport et al. 2002).

Para o estudo da emocionalidade, existem paradigmas animais que se valem do uso principalmente de roedores e primatas como modelos experimentais para a investigação de comportamentos emocionais. Os experimentos com animais em neurociência afetiva permitem que se estudem uma série de comportamentos, interações e influências, correlações e causalidades que não podem ser realizados experimentalmente em seres humanos, tanto por questões ligadas à conduta ética quanto pela própria inviabilidade temporal, passando ainda pela impossibilidade de serem controladas e isoladas as variáveis de interesse.

Mais especificamente, alguns modelos animais são desenhados para avaliar a influência das experiências infantis na emocionalidade, que é o escopo deste trabalho.

O experimento que influenciou fortemente o início deste campo de investigação foi o proposto por Seymour Levine e colegas, em 1956 (Levine,

2002), onde filhotes de ratos eram separados em três grupos: um deles recebia choques nas patas, o segundo, era manipulado diariamente e o último, não era manipulado. Levine concluiu que os ratos que recebiam choques e também os manipulados tinham melhores curvas de aprendizagem emocional em testes de ansiedade contextual.

Outro experimento clássico foi o publicado por Harry Harlow em 1958. Harlow (1958) sujeitou filhotes de macacos ao convívio com “mães” de arame, que forneciam ou não comida e/ou aconchego (estrutura forrada com material macio). Harlow concluiu que os animais passavam mais tempo com as mães forradas do que com as mães somente de arame, ainda que nestas estivesse disponível o alimento. Quando jovens, estes macacos ainda recorriam às “mães” substitutivas para conforto e segurança e, quando elas foram retiradas, os macacos frequentemente apresentavam comportamentos indicativos de medo, insatisfação e tristeza.

Desde então, muitos outros desenhos experimentais foram confeccionados, de forma que muitas variáveis independentes relacionadas ao ambiente inicial de criação foram testadas avaliando-se não apenas o comportamento, mas também uma série de parâmetros fisiológicos, como caracterização hormonal e de neurotransmissores no SNC. Uma gama de estudos pré-clínicos avaliou o impacto das experiências iniciais no desenvolvimento de transtornos mentais (Francis et al., 1999; Kaufman, 2000; Gartside, 2003; Neumann et al., 2005; Lippmann et al., 2007; Aisa et al., 2008). Em alguns deles, os animais foram submetidos a experiências iniciais negativas (privação de contato materno, isolamento, condicionamento de medo, etc.) ou positivas (estimulação, manipulação do experimentador, aumento do contato e do cuidado materno, etc.) e posteriormente, na vida adulta, eram alvo de avaliação comportamental, em tarefas que avaliavam traços ou estados relacionados à depressão e ansiedade.

De maneira similar, muitos paradigmas de avaliação comportamental (como o Labirinto em Cruz Elevado (LCE), o Campo Aberto, as Caixas de Condicionamento Contextual, o paradigma de Nado Forçado, as caixas de Esquiva Ativa, entre muitas outras) foram pensados como modelos avaliativos válidos para o estudo da relação entre características do desenvolvimento inicial e a emocionalidade.

Diante destas diversas possibilidades, são destacados alguns pontos de maior interesse nesta pesquisa: 1) o procedimento de separação materna; 2) o procedimento de manipulação (geralmente adotado na literatura internacional como *handling*) e 3) o uso do LCE como instrumento de avaliação. O

interesse é por trabalhos que busquem esclarecer os efeitos destas intervenções realizadas no início da vida de ratos, logo após o nascimento até o fim do período de lactação, no seu comportamento emocional, tendo esses três núcleos como norteadores.

Cabe neste trabalho trazer alguns exemplos de pesquisas nas quais foram utilizados os procedimentos de *Handling* e Separação Materna para o estudo dos aspectos comportamentais da emocionalidade.

Estudos sobre os efeitos da Manipulação (Handling) sobre a Emocionalidade

A estimulação ambiental em períodos precoces da vida leva a modificações morfológicas e neuroquímicas no SNC, assim resultando em consequências duradouras no que diz respeito à expressão comportamental. Uma das formas de administração de estímulo ambiental precoce é a manipulação dos filhotes, procedimento denominado na literatura de *handling* (Levine, 2002). Neste paradigma, os filhotes de roedores são removidos diariamente das suas gaiolas e manipulados brevemente pelos experimentadores; o procedimento consiste em efetuar uma estimulação tátil nos filhotes, nos primeiros dias de vida do animal. As respostas biocomportamentais de estresse de filhotes manipulados e não-manipulados são então analisadas para determinar os efeitos persistentes da exposição à manipulação (Newport et al. 2002).

A expectativa dos primeiros estudos de que a manipulação neonatal seria um estressor que iria aumentar a ansiedade e as medidas biológicas da responsividade do estresse em situações de novidade no futuro não foi confirmada; na verdade, na manipulação neonatal foi encontrado, paradoxalmente, redução dos comportamentos de ansiedade e da resposta de estresse biológico. Filhotes *handling* são resistentes ao estresse e têm menor perda da capacidade de aprendizagem advinda com o envelhecimento (Heim e Nemeroff 2001); ratos expostos à estimulação ambiental nos estágios iniciais pós-natais demonstram

menor ativação emocional em tarefas que despertam medo e são mais incitados à exploração de ambientes novos – que por si só trariam ansiedade (Ruil et al., 1999), apresentando níveis mais elevados de comportamento exploratório nestes ambientes (Cirulli et al. 2010); eles também demonstram uma ativação atenuada do circuito neuronal do medo em resposta ao estresse durante a idade adulta (Beaney et al. 2002).

Em avaliação comportamental posterior, esses ratos, quando adultos, tendem a explorar por mais tempo os braços abertos de um labirinto (Labirinto em Cruz Elevado; Cruz et al. 1997) do que ratos não estimulados (Ruil et al., 1999). Esta medida comportamental se refere à ansiedade – neste caso, a menor ansiedade. Assim, o *handling* é atualmente considerado um enriquecimento ambiental (Diamond 2001), reconhecido por promover alterações endócrinas e comportamentais em ratos.

Este simples procedimento vem se mostrando bastante capaz de exemplificar como experiências iniciais, especialmente nas primeiras semanas de vida, são importantes para moldar o comportamento adulto.

Estudos sobre os efeitos da Separação Materna sobre a Emocionalidade

Respostas de estresse desadaptativas na idade adulta têm sido associadas à ocorrência de eventos adversos no início da vida (Nemeroff 2004). Estas experiências podem predispor a doenças mentais, como transtornos ansiosos e depressão. Já está fortemente estabelecido que o estresse está relacionado com alterações a longo prazo no fator liberador de corticotropina (CRF) do SNC, e as respostas ao estresse são pensadas como contribuintes para essa vulnerabilidade para o adoecimento mental (Nemeroff 2004; Steckler e Dautzenberg 2006).

De uma forma bastante consistente, os resultados de estudos coletados sugeriram que os animais submetidos a experiências emocionais negativas na infância eram mais propensos a apresentar comportamentos análogos de depressão ou ansiedade na vida adulta. Alguns desses estudos também realizaram avaliações neuroanatômicas, encontrando atrofia em determinadas estruturas do SNC, além de correntes disfunções em áreas ligadas à emocionalidade, como uma

maior ativação do eixo HPA e liberação de hormônios ligados ao estresse nos animais submetidos a experiências precoces negativas (Moreira, 2003).

Um dos procedimentos que tem sido largamente utilizado na atualidade para simular a ocorrência de situações adversas na infância é o da Separação Materna (MS – *Maternal Separation*), um modelo bem estabelecido e validado de estresse precoce na vida (O'Mahony et al 2009; Plotsky e Meaney, 1993; Wigger e Neumann, 1999). A separação da mãe durante o período neonatal instiga mudanças cruciais no desenvolvimento do sistema nervoso central (Plotsky et al. 2005) que resultam em alterações na regulação do eixo HPA na idade adulta (Lippmann et al. 2007). Estudos demonstraram que ratos que sofreram separação materna quando filhotes apresentam, na idade adulta, um aumento da ansiedade e da defecação induzida por estresse no campo aberto (O'Malley et al. 2010).

A privação do cuidado materno (sistemática retirada do convívio do filhote com a mãe de forma temporária, conhecida como separação materna) tem se apresentado como eficiente em alterar o comportamento emocional do animal adulto, em testes de emocionalidade que avaliam comportamentos correlatos à ansiedade e à depressão. Esses dados nos levam ao interesse por pesquisas com indivíduos recém-nascidos e crianças pequenas, pois, como citado, as fases iniciais do desenvolvimento são especialmente relevantes.

3.2.1

Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

Handley e Mithani (1984) desenvolveram um labirinto em forma de cruz, que mais tarde foi validado por Pellow, Chopin, File e Briley (1985). Este paradigma de Labirinto em Cruz Elevado é um dos mais amplamente utilizados em modelos animais de farmacologia comportamental (Rodgers e Johnson, 1995); foi validado para ratos e é relatado como sensível às manipulações concebidas para influenciar as respostas de ansiedade.

Este paradigma bem estabelecido tem uma história longa e bem sucedida na avaliação de comportamentos similares à ansiedade em ratos. O teste baseia-se na aversão de roedores por espaços abertos e aproveita a tendência natural dos ratos para explorar novos ambientes. Isso resulta num conflito aproximação-

evitação onde o animal exibe comportamentos que têm sido correlacionados com o aumento nos indicadores de estresse fisiológico (Bailey e Crawley, 2009).

A validação do Labirinto é farmacológica: a administração de medicação ansiolítica provoca um aumento da frequência e permanência do animal em BA, enquanto que a administração de compostos ansiogênicos faz com que haja evitação dos BA, concomitantemente com a preferência pelos BF (Rodgers e Johnson, 1995). Uma análise etofarmacológica do comportamento do rato nesse modelo experimental demonstrou que certas categorias comportamentais têm uma maior sensibilidade para a quantificação de comportamentos de defesa, dentre elas os comportamentos de avaliação de risco (Cruz, Frei e Graeff, 1994); a administração de benzodiazepinas e outros tratamentos ansiolíticos resultaram em aumento da exploração dos braços abertos, sem afetar a motivação geral ou de locomoção (Bailey e Crawley, 2009).

O LCE é um modelo naturalístico de ansiedade animal, amplamente utilizado para investigar a emocionalidade, que se baseia no comportamento exploratório espontâneo. Os índices de ansiedade primária neste modelo são medidas espaço-temporais relacionadas com a frequência de visitas aos braços abertos (em relação ao total de entradas nos braços) e o montante de tempo gasto nestas áreas aversivas do aparelho (em relação à duração da sessão). A maior frequência de visitas e o maior tempo de exploração dos BA indicam maior comportamento exploratório ou menor ansiedade, já que o LCE explora o medo natural que os ratos apresentam de locais altos e abertos (Cruz et al., 1994; Roy & Chapillon, 2004; Dias 2009).

Como um exemplo de descrição e dimensões, pode-se citar o Labirinto existente no Laboratório de Neurociência Comportamental (LANEC) da PUC-Rio: o LCE é disposto a uma altura de 50 cm do chão; apresenta 4 braços dispostos em cruz, sendo 2 abertos (BA) e 2 fechados (BF) por paredes com 50cm de altura. Entre os braços, há uma plataforma central de 10x10cm.

4

Objetivo

Este projeto visa à melhor compreensão dos impactos das experiências emocionais iniciais na emocionalidade.

Diante disto, além do levantamento bibliográfico extensivo sobre o tema, esta pesquisa visou à avaliação de sujeitos em um modelo animal onde se pudesse investigar a ansiedade em ratos que tiveram diferentes experiências durante a vida precoce. Assim, de forma mais específica, este trabalho objetivou avaliar se os procedimentos de *handling* (manipulação) e/ou separação materna no período de lactação de ratos são capazes de alterar sua resposta comportamental de ansiedade no LCE.

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética da PUC-Rio (processo número *PSI.COMITÊ DE ÉTICA 03/2010* – vide Anexos).

5

Materiais e Métodos

Para atender aos objetivos propostos, foi utilizado o modelo animal como comparativo para o entendimento dos mesmos processos na população humana, com vistas à possibilidade de maior rigor científico junto à população de animais (Landeira-Fernandez e Cruz, 1998; Landeira-Fernandez e Cruz, 2007 in Landeira-Fernandez e Silva, 2007).

O desenho adotado nesta investigação foi o experimental, onde, neste caso, animais (Almeida et al., 2006; Landeira-Fernandez et al., 2006; Landeira-Fernandez et al., 2008) foram submetidos a experiências iniciais negativas (privação de contato materno) e/ou positivas (estimulação, manipulação do experimentador, aumento do contato e do cuidado materno, etc.) e posteriormente foram alvo de avaliação comportamental, na vida adulta (Francis et al., 1999; Kaufman, 2000; Gartside, 2003; Neumann et al., 2005; Lippmann et al., 2007; Aisa et al., 2008). A avaliação comportamental valeu-se do paradigma de LCE, já descrito anteriormente.

5.1

Animais

Para esta pesquisa, foram utilizados ratos (*ratus norvegicus*) Wistar provenientes de cruzamentos realizados do Laboratório de Neurociências da PUC-Rio.

No nascimento, as ninhadas foram reduzidas a oito animais por rata-mãe, sendo seis machos e duas fêmeas. As ninhadas foram designadas aleatoriamente a um dos grupos abaixo, representando as diferentes Condições Ambientais:

- H = *Handling* (manipulados) – filhotes que receberam a manipulação durante 3 minutos cada, diariamente (totalizando uma breve separação materna de 24 minutos);
- MS = *Maternal Separation* (separação materna) – filhotes separados de suas mães por 180 minutos, diariamente;
- HMS = *Handling + Maternal Separation* – animais manipulados por 3 minutos cada e, após todos terem sido manipulados, mantidos separados das mães por mais 180 minutos.
- C = Controle – filhotes mantidos todo o tempo com a ninhada e a rata-mãe, manipulados somente uma vez por semana para pesagem e limpeza da gaiola; e
- CH = Controle do *Handling* – filhotes que não foram manipulados, mas que foram separados das mães por 24 minutos (tempo de duração do procedimento de *handling*).

Todas as manipulações (*handling* e separação materna) foram sempre executadas no período diurno (entre 8h00 e 12h00).

Os filhotes destas ninhadas foram divididos em três subgrupos, testados independentemente aos 21, 50 e 70 dias de idade. Para avaliação dos animais foram utilizados 2 filhotes machos de cada ninhada formada para cada idade (2 filhotes avaliados aos 21 dias, 2 aos 50 e 2 aos 70) a fim de evitar efeitos de fatores genéticos sobre o comportamento desses filhotes no mesmo grupo experimental.

Todos os filhotes machos foram mantidos em conjunto até os 70 dias de idade para evitar alterações na condição de alojamento. As fêmeas foram utilizadas em cruzamentos para outros experimentos do laboratório.

Exemplo de divisão dos grupos, para que todos os animais machos da ninhada fossem utilizados:

- Controle = C
 - 6 machos
 - 2 machos testados aos 21 dias (C21)
 - 2 testados aos 50 dias (C50)
 - 2 testados aos 70 dias (C70)

Na Figura 4 podem ser observados os diferentes grupos da pesquisa, assim como as possibilidades de análise comparativa das diferenças diretas entre os mesmos (linhas conectoras). As linhas conectoras horizontais indicam a avaliação entre animais da mesma idade, porém de diferentes grupos experimentais. As linhas verticais representam a comparação dentro de um mesmo grupo experimental, avaliados em idades diferentes.

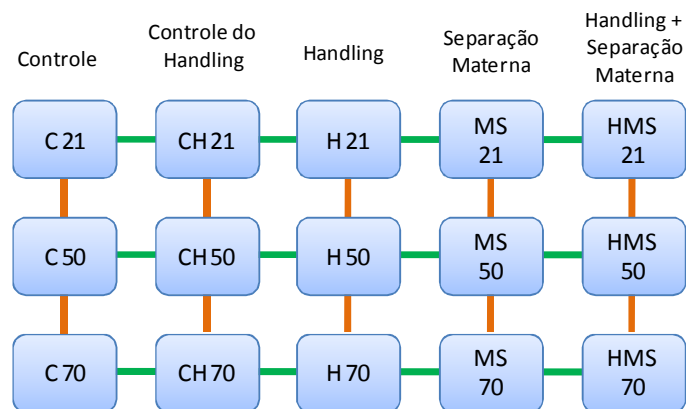


Figura 4 – Composição dos 15 Grupos pela combinação entre as Condições Ambientais e as Idades de avaliação no LCE.

5.2

Instrumentos

5.2.1. Manutenção dos animais

5.2.1.1. Cruzamento e Lactação

Durante o cruzamento, a lactação e até o dia das sessões dos testes comportamentais, os animais foram mantidos em caixas de Polipropileno (41x34x16 cm), com grade superior e garrafa d' água disponível (Figura 5).



Figura 5 – Caixa de Polipropileno usada para acondicionar os animais.

5.2.1.2. Manipulação e Separação Materna

Para a manipulação dos filhotes e separação das ninhadas da rata-mãe, foram usadas caixas de Polipropileno (30x19x13cm). Foram também utilizados algodão, lâmpadas (para manter aquecidos os filhotes que estavam sendo manipulados ou separados das ratas-mães) e termômetro para o controle da temperatura em torno de 25 graus Celsius.

5.2.2. Medida comportamental

Para a avaliação comportamental, foi utilizado o Labirinto em Cruz Elevado (LCE).

O LCE (ilustrado na Figura 6) do LANEC (Laboratório de Neurociência Comportamental) da PUC-Rio é feito de madeira e disposto a uma altura de 50 cm do chão; apresenta 4 braços dispostos em cruz, sendo 2 abertos (BA) e 2 fechados (BF) por paredes com 50cm de altura. Como citado anteriormente, o LCE é um modelo naturalístico de ansiedade animal que se baseia no comportamento exploratório espontâneo, sendo largamente utilizado para investigar a emocionalidade em ratos.



Figura 6 – Ilustração do Labirinto em Cruz Elevado (LCE).

5.3

Procedimentos

As manipulações foram realizadas desde o período neonatal até o fim da lactação (0-21 dias de idade); a avaliação comportamental foi efetuada nas idades de 21, 50 e 70 (± 1) dias (adulto jovem).

5.3.1. Cuidados com os animais:

As manipulações são de dois tipos: *handling* (manuseio) e *maternal separation* (separação materna).

a) *Handling* - Manipulações gentis e repetidas no dorso do animal – da cabeça para a cauda (Figura 7); realizadas do nascimento ao 21º dia de vida, diariamente, por 3 min em cada animal; procedimento positivo (Plostky & Meaney, 1993; Riul et al., 1998; McIntosh et al., 1999; Neumann et al., 2005; Aisa et al., 2007).



Figura 7 - Procedimento de *Handling*; os dois momentos indicam a direção da manipulação cabeça-cauda. Foto no LANEK – Laboratório de Neurociência Comportamental. Acervo pessoal.

b) *Maternal Separation* - Consiste em separar os filhotes da mãe (mas não de seus irmãos); feito do nascimento ao 14º dia de vida, diariamente, por 180 min (3 horas); adotado como um procedimento negativo (Ladd et al., 1996 e Plostky & Meaney, 1993 in Kaufman et al., 2000; Gartside et al., 2003; Ladd et al., 2005; Neumann et al., 2005; Aisa et al., 2007, 2008; Lee et al., 2007; Rees et al., 2008) – vide Figura 8, abaixo.



Figura 8 - Procedimento de separação materna. Observe a luminária usada para aquecer e o termômetro, para controle da temperatura. Foto no LANEK – Laboratório de Neurociência Comportamental. Acervo pessoal.

5.3.2. Avaliação Comportamental

Os animais foram testados aos 21, 50 ou 70 (± 1) dias. A testagem consistiu na colocação do animal com a cabeça voltada para um dos BF do LCE para livre exploração do aparato por 5 minutos.



Figura 9 – Rato explorando o LCE. Foto no LANEC – Laboratório de Neurociência Comportamental. Acervo pessoal.

Todas as sessões de vídeos foram gravadas para posterior avaliação das seguintes categorias comportamentais (vide Tabela 1), de acordo com a literatura (Cruz et al., 1994; Roy & Chapillon, 2004):

- Número de entradas e saídas de braços;
- Tempo de permanência no centro (quadrado central – vide Figuras 9 e 10) do LCE – tempo total de exploração do LCE enquanto no centro do mesmo.
- Porcentagem de entradas em braços abertos (divide-se o número de entradas em BA pelo número total de entradas – BA + BF);
- Porcentagem de tempo em braços abertos (divide-se o tempo total de exploração dos BA por 5 minutos, que é o tempo total de exploração do aparato); e
- Exploração de extremidades de braços abertos.



Figura 10 - Detalhe do Centro do LCE. Foto no LANEC – Laboratório de Neurociência Comportamental. Acervo pessoal.

Tabela 1 - Categorias comportamentais analisadas e suas definições.

Categoria Comportamental	Definição
BA	Entrada em BA (considerada pela entrada com as 4 patas)
BF	Entrada em BF
Total	Soma das entradas em BA e em BF
Porcentagem de BA (Porc_BA)	Divisão do número de entradas em BA pelo número total de entradas
Tempo Centro (T_Centro)	Tempo de exploração na plataforma central
Tempo BA (T_BA)	Tempo de permanência em BA
Tempo BF (T_BF)	Tempo de permanência em BF
Porcentagem de Tempo em BA (Porc_T_BA)	Divisão do Tempo BA pelo tempo total de exploração do aparato
End-exploration (End_expl)	Frequência de visitas às extremidades (último quarto) dos BA

6

Análise Estatística

Os dados resultantes das análises dos vídeos dos experimentos foram tabulados e posteriormente analisados utilizando o programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*).

Foram analisadas as diferenças entre as médias obtidas dos grupos (experimentais e controles). Nas análises, foram utilizadas ANOVAs (*Analysis of Variance*), de uma e duas vias. Quando encontradas diferenças significativas, foram efetuados testes estatísticos *post-Hoc* LSD. Para a significância estatística, foi adotado um *p-value* < 0,05.

Nos Anexos desta Dissertação constam algumas tabelas do *output* do SPSS, que serviram de base para a construção das Tabelas e Gráficos da seção seguinte: Resultados.

6.1

Análises comparativas desempenhadas

A seguir, são descritas todas as análises efetuadas, detalhando-se seu objetivo.

a) Análises em função da Condição Ambiental, fixadas as Idades de avaliação no LCE:

a.1) Grupos C21 x CH21 x H21 x HMS21 x MS21

a.2) Grupos C50 x CH50 x H50 x HMS50 x MS 50

a.3) Grupos C70 x CH70 x H70 x HMS70 x MS 70

Foram comparados animais avaliados na mesma idade, porém pertencentes a Condições Ambientais diversas. Estas comparações permitiram, através de ANOVAs Oneway, verificar o efeito das diferentes Condições ambientais a que os diferentes grupos de animais foram submetidos durante o período de lactação.

b) Análises em função da Idade, dentro de cada Condição Ambiental:

b.1) Grupo C: Grupos C21 x C50 x C70

b.2.) Grupo CH: Grupos CH21 x CH50 x CH70

b.3) Grupo H: Grupos H21 x H50 x H70

b.4) Grupo HMS: Grupos HMS21 x HMS50 x HMS70

b.5) Grupo MS: Grupos MS21 x MS50 x MS70

Com estas avaliações foi possível investigar, através da execução de cinco ANOVAs Oneway, o efeito da Idade de avaliação, em cada uma das diferentes Condições Ambientais.

c) Análises por Condição Ambiental

c.1) Grupos C x CH x H x HMS x MS

Nesta análise todos os animais de cada uma das diferentes Condições Ambientais foram analisados em conjunto. Esta medida buscou avaliar o efeito dos diferentes ambientes de criação durante a lactação no comportamento, independentemente da idade em que os animais foram submetidos ao LCE.

d) Análises por Idade

d.1) Idades 21 dias x 50 dias x 70 dias

Analisando os ratos pela Idade em que foram alvo da avaliação comportamental, buscou-se investigar o efeito isolado da variável idade sobre o comportamento. Foram comparados os grupos: (C+CH+H+HMS+MS) 21 x (C+CH+H+HMS+MS) 50 x (C+CH+H+HMS+MS) 70.

e) Análises em função da divisão dos grupos quanto à: idade, manuseio e separação materna de 3h de duração.

Com esta avaliação, foi possível verificar a interação entre três variáveis independentes deste estudo, a saber:

- Manuseio (*handling*): Realizado em dois níveis: ausência e presença.
- Separação Materna: Efetuada em dois níveis: ausência e presença.
- Idade de avaliação no LCE: Contando com três níveis: 21 dias, 50 dias e 70 dias.

Nesta avaliação, de forma diferente das anteriores, buscou-se conhecer o comportamento de uma variável em função da outra. Desta maneira, através de um recorte nos grupos (onde se excluiu o Grupo CH), foram analisados os grupos HMS, MS, H e C (Tabela 2).

Tabela 2 – Alocação das Condições Ambientais em função do Manuseio e da Separação materna.

		Manuseados (H)	
		Sim	Não
Separados por 3h (MS)	Sim	HMS	MS
	Não	H	C

Assim, os grupos anteriores passam a ter outra denominação:

HMS = Manuseado e Separado

H = Manuseado e Não separado

MS = Não manuseado e Separado

C = Não manuseado e Não separado

Outro recorte realizado foi a retirada também dos animais que foram analisados aos 70 dias de vida. Este recorte foi experimentado em vista dos resultados encontrados a respeito dos animais avaliados aos 21, 50 e 70, onde os efeitos comportamentais dos animais avaliados no LCE aos 21 e 50 dias mostraram-se interessantes, cabendo uma investigação mais detalhada. Estes resultados podem ser encontrados na seção Resultados, a seguir.

7

Resultados

Ao final dos experimentos, totalizou-se um número de 154 ratos machos avaliados, distribuídos conforma ilustra a Tabela 3, tendo-se um número mínimo de 8 e máximo de 14 por grupo, com uma média aproximada de 10 animais por grupo.

Tabela 3 – Distribuição dos animais por Grupo experimental, dentro das diferentes Condições Ambientais e Idades de Avaliação.

<i>Condição ambiental durante a lactação</i>						
<i>de de avaliação no labirinto</i>	<i>C</i>	<i>CH</i>	<i>H</i>	<i>HMS</i>	<i>MS</i>	<i>Total de Animais</i>
21 dias	C21 n = 12	CH21 n = 10	H21 n = 10	HMS21 n = 11	MS21 n = 12	n = 55
50 dias	C50 n = 8	CH50 n = 8	H50 n = 8	HMS50 n = 8	MS50 n = 8	n = 40
70 dias	C70 n = 9	CH70 n = 13	H70 n = 14	HMS70 n = 11	MS70 n = 12	n = 59
<i>Total de Animais</i>	n = 29	n = 31	n = 32	n = 30	n = 32	n = 154

As seguintes análises foram desempenhadas:

a) Análises em função da Condição Ambiental, fixadas as Idades de avaliação no LCE:

- a.1) Grupos C21 x CH21 x H21 x HMS21 x MS21
- a.2) Grupos C50 x CH50 x H50 x HMS50 x MS 50
- a.3) Grupos C70 x CH70 x H70 x HMS70 x MS 70

b) Análises em função da Idade, dentro de cada Condição Ambiental:

- b.1) Grupo C: Grupos C21 x C50 x C70
- b.2) Grupo CH: Grupos CH21 x CH50 x CH70
- b.3) Grupo H: Grupos H21 x H50 x H70
- b.4) Grupo HMS: Grupos HMS21 x HMS50 x HMS70
- b.5) Grupo MS: Grupos MS21 x MS50 x MS70

- c) Análises por Condição Ambiental
 - c.1) Condição Ambiental C x CH x H x HMS x MS
- d) Análises por Idade
 - d.1) Idades 21 dias x 50 dias x 70 dias
- e) Análises em função da divisão dos grupos quanto à idade, manuseio e separação materna de 3h de duração.

A seguir, constam as Tabelas e Gráficos com os dados obtidos, bem como a apresentação da avaliação das diferenças entre os grupos, apontando se estas foram significativas (obtendo-se um *p-value* < 0,05) ou não ($p > 0,05$). As tabelas de *output* do SPSS podem ser encontradas nos Anexos desta Dissertação.

Visando uma melhor compreensão e visualização, os dados foram separados de acordo com as diferentes análises realizadas.

7.1

Resultados por Análise

a) Análises em função da Condição Ambiental, fixadas as idades de avaliação no LCE:

Nesta categoria de análise, as Condições Ambientais são comparadas, entre ratos da mesma idade em que foram avaliados no LCE.

As Tabelas a seguir apresentam as médias e EPM (Erro Padrão da Média) em todas as categorias comportamentais avaliadas. Entretanto, os Gráficos ilustram apenas os resultados para as três categorias mais comumente avaliadas no Labirinto, com grande sensibilidade e especificidade: BF, Porcentagem BA e Porcentagem Tempo BA (Cruz, Frei e Graeff, 1994; Scarpelli et al. 2008).

a.1) Grupos C21 x CH21 x H21 x HMS21 x MS21

Ratos avaliados no Labirinto aos 21 dias de vida. As médias e EPM podem ser encontradas na Tabela 4.

Não houve diferenças significativas em relação à frequência de entradas em BF (Figura 11a) e Porcentagem de Entradas em BA (Figura 11b).

A ANOVA Oneway revelou a existência de diferenças significativas em algumas outras categorias comportamentais analisadas, que foram apuradas por testagem *post-hoc* (Tabela 4):

Tempo BA ($F=3,829$; $p<0,05$): o Grupo C21 despendeu significativamente menos tempo explorando os BA do que os Grupos H21 e HMS21.

Já o Grupo MS21 apresentou significativa diferença em relação aos Grupos H21 e HMS21, passando menos tempo que eles nos BA; entretanto, não apresentou diferença significativa em relação ao Grupo C21, embora os tenha explorado menos.

Outra diferença encontrada foi entre os Grupos CH21 e HMS21, onde o segundo explorou mais o BA que o primeiro.

Tempo BF ($F=3,245$; $p<0,05$): o Grupo C21 passou mais tempo explorando os BF que os Grupos H21 e HMS21 (em relação a este último, $p=0,066$); a diferença em relação ao grupo MS21 não foi significativa.

O Grupo MS21 explorou por mais tempo os BF que os Grupos H21 e HMS21, indicando que a manipulação (*handling*) foi capaz de alterar esta medida comportamental, mesmo que, em relação ao Grupo HMS21, tenha havido também separação materna.

Porcentagem Tempo BA ($F= 3,829$; $p<0,05$): o Grupo C21 apresentou menos tempo relativo de permanência em BA que os Grupos H21 e HMS21. Mais uma vez, não houve diferença significativa em relação aos animais do Grupo MS21.

O Grupo HMS21 apresentou diferença significativa em relação a todos os outros, em exceção ao Grupo H21, passando mais tempo relativo nos BA.

O Grupo MS21 passou menos tempo relativo nos BA que os Grupos H21 e HMS21.

Tabela 4 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos avaliados no LCE aos 21 dias de idade.

Grupo	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro (s)	Tempo BA (s)	Tempo BF (s)	Porcentagem de Tempo BA (%)	End-exploration
C21	3,00 ± 0,77	6,75 ± 1,03	9,75 ± 1,69	26,85 ± 4,81	54,42 ± 9,78	22,92 ± 5,53 ^a	222,67 ± 12,69 ^d	7,64 ± 1,84 ^a	0,33 ± 0,14
CH21	4,30 ± 0,82	9,30 ± 0,60	13,60 ± 1,12	29,50 ± 4,12	59,10 ± 6,98	31,10 ± 6,61 ^c	209,80 ± 9,47	10,37 ± 2,20	0,50 ± 0,34
H21	4,90 ± 0,87	8,20 ± 0,71	13,10 ± 1,02	36,09 ± 4,54	61,00 ± 7,87	56,00 ± 14,14	183,00 ± 14,22	18,67 ± 4,71	0,90 ± 0,43
HMS21	4,09 ± 0,78	8,82 ± 0,94	12,90 ± 1,21	30,63 ± 4,45	44,27 ± 6,00	60,45 ± 10,53	195,27 ± 7,65	20,15 ± 3,51 ^f	1,91 ± 0,76
MS21	3,17 ± 0,59	7,75 ± 0,89	10,92 ± 1,11	27,56 ± 4,85	42,33 ± 5,55	28,67 ± 5,60 ^b	229,00 ± 7,40 ^e	9,55 ± 1,87 ^d	0,83 ± 0,42

Notas: a C21 < H21 e HMS21; b MS21 < H21 e HMS21; c CH21 < HMS21; d C21 > H21; e MS21 > H21 e HMS21; f HMS21 > C21, CH21 e MS21 quando p < 0,05; valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

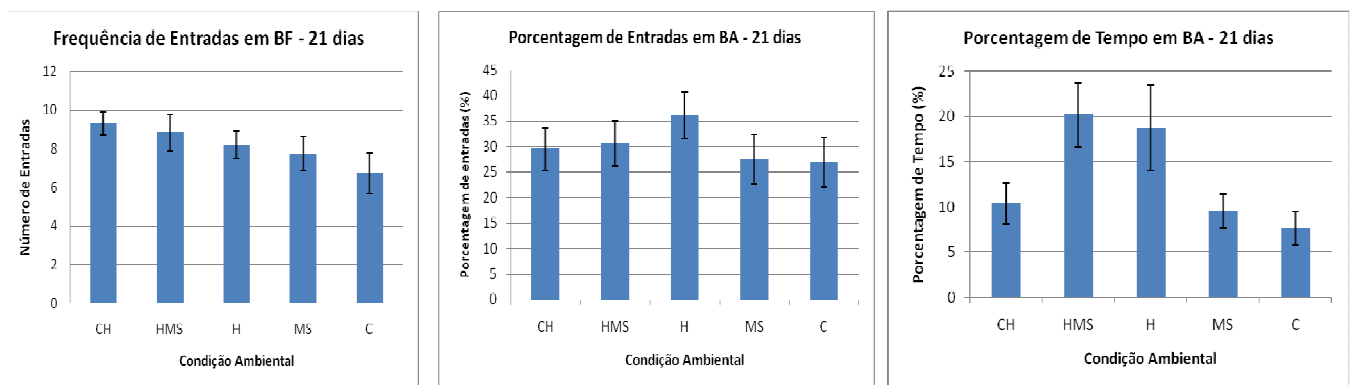


Figura 11 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE.

Avaliação de ratos aos 21 dias de idade. * = p < 0,05. *

*

a.2) Grupos C50 x CH50 x H50 x HMS50 x MS 50

Ratos avaliados no LCE aos 50 dias de vida. As médias e LCE estão expressas na Tabela 5. A ANOVA Oneway não foi capaz de revelar diferenças de médias entre os Grupos (vide Figura 12).

Tabela 5 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos avaliados no LCE aos 50 dias de idade.

Grupos	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
C50	3,50 ± 1,00	7,13 ± 0,48	10,63 ± 1,34	29,89 ± 4,42	29,12 ± 3,88	46,38 ± 14,54	224,50 ± 16,20	15,46 ± 4,85	1,12 ± 0,86
CH50	6,50 ± 0,94	7,63 ± 0,53	14,13 ± 1,29	44,82 ± 2,67	49,37 ± 8,13	75,00 ± 14,02	163,00 ± 25,24	25,00 ± 4,67	3,12 ± 1,17
H50	4,50 ± 1,19	9,25 ± 0,92	13,75 ± 1,76	29,42 ± 5,95	42,50 ± 5,00	79,87 ± 18,52	177,62 ± 21,45	26,62 ± 6,17	3,12 ± 1,26
HMS50	4,00 ± 1,07	7,50 ± 0,78	11,50 ± 1,51	29,87 ± 6,36	48,50 ± 9,85	66,12 ± 17,80	185,38 ± 22,23	22,04 ± 5,93	1,12 ± 0,44
MS50	2,62 ± 0,56	7,62 ± 1,02	10,25 ± 1,19	24,93 ± 4,87	50,00 ± 9,75	39,87 ± 11,32	210,13 ± 12,09	13,29 ± 3,77	0,75 ± 0,49

Notas: Valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

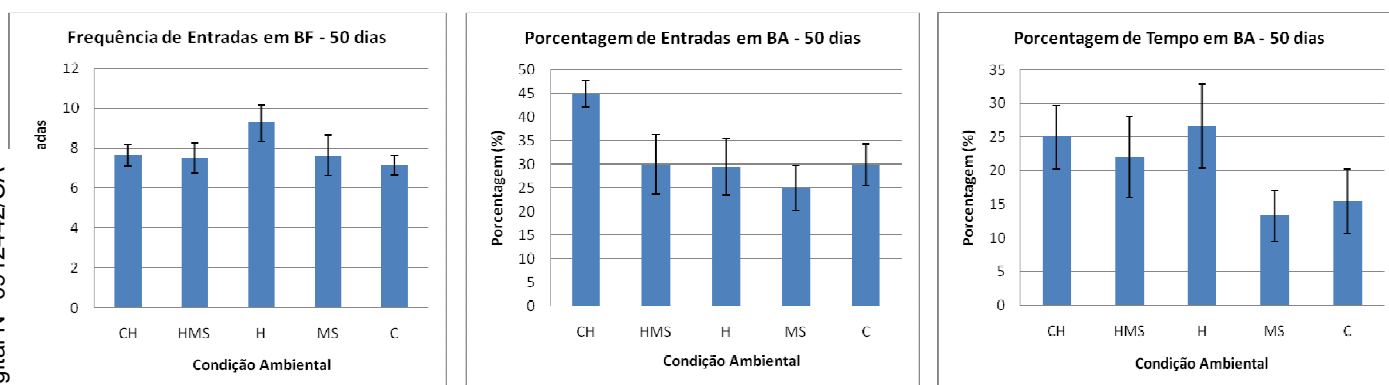


Figura 12 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos aos 50 dias de idade.

Uma observação importante a ser considerada é que a Figura 12c (Gráfico de Porcentagem de Tempo em BA – 50 dias), nos mostra a grande variação entre as médias dos Grupos H e HMS contra o Grupo MS – e C, em menor escala. Esta variação não pôde ser percebida pela ANOVA de uma via, o que gerou a necessidade de se efetuarem análises mais potentes, como será visto na análise “e” (ANOVA *two-way*).

a.3) Grupos C70 x CH70 x H70 x HMS70 x MS 70

Ratos avaliados do LCE aos 70 (±1) dias de vida. As médias e EPM estão indicados na Tabela 6.

A ANOVA Oneway não revelou diferença de médias entre os Grupos.

Tabela 6 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos avaliados no LCE aos 70 dias de idade.

Grupo	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
C70	3,89 ± 0,87	6,67 ± 0,64	10,56 ± 1,01	35,35 ± 5,03	56,89 ± 13,26	58,33 ± 14,72	184,44 ± 20,81	19,44 ± 4,90	2,78 ± 1,26
CH70	3,77 ± 0,78	7,61 ± 0,43	11,38 ± 0,86	30,47 ± 4,52	55,61 ± 5,15	53,77 ± 11,67	190,62 ± 12,41	17,92 ± 3,89	1,77 ± 0,66
H70	3,93 ± 0,76	6,92 ± 0,45	10,86 ± 0,74	33,64 ± 4,89	57,50 ± 6,69	66,14 ± 15,26	176,36 ± 16,84	22,05 ± 5,08	2,36 ± 0,89
HMS70	4,72 ± 0,62	8,09 ± 0,74	12,81 ± 1,07	36,81 ± 3,10	64,18 ± 3,96	77,45 ± 8,76	160,18 ± 9,97	25,82 ± 2,92	2,54 ± 0,75
MS70	5,00 ± 0,83	8,83 ± 0,80	13,83 ± 1,08	34,70 ± 4,83	58,50 ± 6,31	63,58 ± 11,20	177,92 ± 14,39	21,19 ± 3,74	2,92 ± 0,77

Notas: Valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

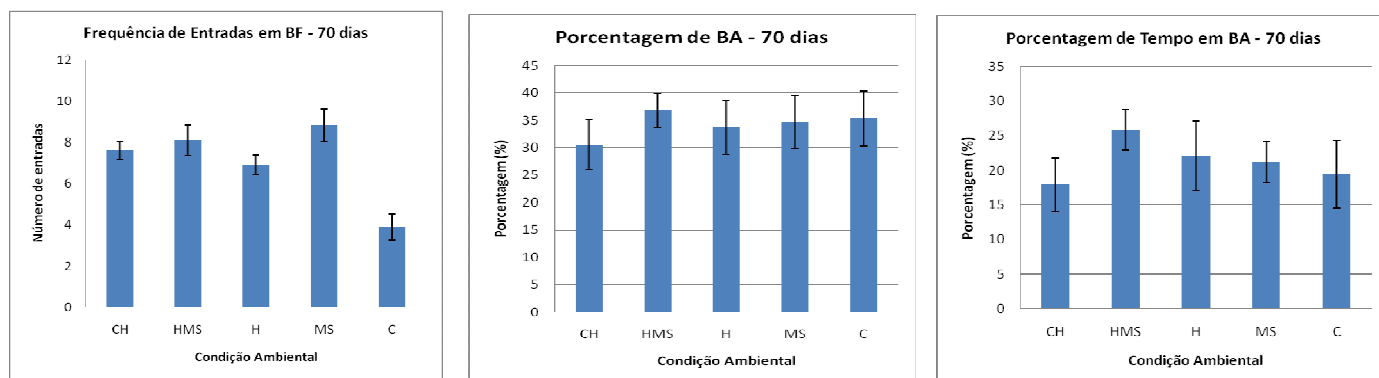


Figura 13 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos aos 70 dias de idade.

b) Análises em função da Idade, dentro de cada Condição Ambiental:

b.1) Condição Ambiental C: Grupos C21 x C50 x C70

Médias e EPM encontram-se na Tabela 7.

Mesmo que se possa observar aparente aumento das médias em BA e Porcentagem de BA à medida em que ocorre o envelhecimento dos ratos desta Condição Ambiental C e embora haja uma tendência ($F=2,829$; $p=0,077$) em relação às medidas de Tempo BA e Porcentagem Tempo BA, uma vez que os ratos do Grupo Controle mais velhos aumentaram sua permanência nos BA, a ANOVA Oneway não revelou diferença de médias nas categorias.

Tabela 7 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental Controle (C) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade.

Grupo	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
C21	3,00 ± 0,77	6,75 ± 1,03	9,75 ± 1,69	26,85 ± 4,81	54,42 ± 9,78	22,92 ± 5,53	222,67 ± 12,69	7,64 ± 1,84	0,33 ± 0,14
C50	3,50 ± 1,00	7,13 ± 0,48	10,63 ± 1,34	29,89 ± 4,42	29,12 ± 3,88	46,38 ± 14,54	224,50 ± 16,20	15,46 ± 4,85	1,12 ± 0,86
C70	3,89 ± 0,87	6,67 ± 0,64	10,56 ± 1,01	35,35 ± 5,03	56,89 ± 13,26	58,33 ± 14,72	184,44 ± 20,81	19,44 ± 4,90	2,78 ± 1,26

Notas: Valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

b.2.) Condição Ambiental CH: Grupos CH21 x CH50 x CH70

Os dados referentes às médias e EPM destes grupos encontram-se na Tabela 8.

A ANOVA revelou a existência de diferenças significativas nas categorias BF e Porcentagem BA e Tempo BA, que foram apuradas por testagem *post-hoc*:

BF ($F=3,478$; $p\leq 0,05$): o Grupo CH21 apresentou maior frequência de entradas em BF que os dois Grupos mais velhos, indicando que uma maior ativação motora foi encontrada em ratos do Grupo CH avaliados aos 21 dias de vida.

Porcentagem BA ($F=3,562$; $p\leq 0,05$): o Grupo CH50 apresentou mais entradas relativas em BA do que os Grupos CH21 e CH70.

Tempo BA ($F=3,342$; $p\leq 0,05$): o Grupo CH21 despendeu significativamente menos tempo explorando os BA do que o Grupo CH50.

Tabela 8 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental Controle do Handling (CH) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade.

Grupo	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
CH21	4,30 ± 0,82	9,30 ± 0,60 ^a	13,60 ± 1,12	29,50 ± 4,12	59,10 ± 6,98	31,10 ± 6,61	209,80 ± 9,47	10,37 ± 2,20 ^c	0,50 ± 0,34
CH50	6,50 ± 0,94	7,63 ± 0,53	14,13 ± 1,29 ^b	44,82 ± 2,67	49,37 ± 8,13	75,00 ± 14,02	163,00 ± 25,24	25,00 ± 4,67	3,12 ± 1,17
CH70	3,77 ± 0,78	7,61 ± 0,43	11,38 ± 0,86	30,47 ± 4,52	55,61 ± 5,15	53,77 ± 11,67	190,62 ± 12,41	17,92 ± 3,89	1,77 ± 0,66

Notas: a CH21 > CH50 e CH70; b CH50 > CH21 e CH70; c CH21 < CH50 quando $p < 0,05$; valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

b.3) Condição Ambiental H: Grupos H21 x H50 x H70

A ANOVA não apontou haver diferenças estatisticamente significativas entre as médias em relação às categorias comportamentais avaliadas. As médias e EPM encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9– Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental Handling (H) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade.

Grupo	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
H21	4,90 ± 0,87	8,20 ± 0,71	13,10 ± 1,02	36,09 ± 4,54	61,00 ± 7,87	56,00 ± 14,14	183,00 ± 14,22	18,67 ± 4,71	0,90 ± 0,43
H50	4,50 ± 1,19	9,25 ± 0,92	13,75 ± 1,76	29,42 ± 5,95	42,50 ± 5,00	79,87 ± 18,52	177,62 ± 21,45	26,62 ± 6,17	3,12 ± 1,26
H70	3,93 ± 0,76	6,92 ± 0,45	10,86 ± 0,74	33,64 ± 4,89	57,50 ± 6,69	66,14 ± 15,26	176,36 ± 16,84	22,05 ± 5,08	2,36 ± 0,89

Notas: Valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

Embora não tenha se configurado como diferença significativa, pode-se notar que em relação à categoria BF uma tendência de diferença entre os Grupos H50 e H70, que apresentou significância limítrofe ($F=3,199$; $p=0,56$).

b.4) Condição Ambiental HMS: Grupo HMS21 x HMS50 x HMS70

A ANOVA Oneway não revelou a existência de diferenças entre os grupos (médias e EPM expressos na Tabela 10).

Cabe considerar que o Tempo Centro apresenta uma tendência de aumento em função da idade em ratos do Grupo HMS, ainda que esta diferença não tenha alcançado significância estatística ($F=2,88$; $p=0,073$).

Tabela 10 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental Handling+Maternal Separation (HMS) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade.

Grupo	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
HMS21	4,09 ± 0,78	8,82 ± 0,94	12,90 ± 1,21	30,63 ± 4,45	44,27 ± 6,00	60,45 ± 10,53	195,27 ± 7,65	20,15 ± 3,51	1,91 ± 0,76
HMS50	4,00 ± 1,07	7,50 ± 0,78	11,50 ± 1,51	29,87 ± 6,36	48,50 ± 9,85	66,12 ± 17,80	185,38 ± 22,23	22,04 ± 5,93	1,12 ± 0,44
HMS70	4,72 ± 0,62	8,09 ± 0,74	12,81 ± 1,07	36,81 ± 3,10	64,18 ± 3,96	77,45 ± 8,76	160,18 ± 9,97	25,82 ± 2,92	2,54 ± 0,75

Notas: Valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

b.5) Condição Ambiental MS: Grupos MS21 x MS50 x MS70

Analisando as médias e EPM (Tabela 11) dos grupos, encontrou-se que eles divergiram em função de Tempo BA, Tempo BF e Porcentagem Tempo BA; os *post-hoc tests* indicam diferenças entre:

Tempo BA ($F=3,925$; $p \leq 0,05$): o Grupo MS21 permaneceu menos tempo no BA que o Grupo MS70, indicando que esta medida de emocionalidade foi alterada pela idade; quando os ratos que sofreram separação materna no período de lactação ficaram mais velhos, passaram a permanecer mais tempo nos BA.

Tempo BF ($F=5,402$; $p \leq 0,05$): o Grupo MS70 passou menos tempo da exploração dentro dos BF que os Grupos MS21 e MS50, não havendo diferenças entre esses dois. Esta medida pode ser compreendida como complementar à anterior, observando-se que não houve variação significativa no Tempo Centro.

A ANOVA demonstrou ainda haver diferença significativa em relação à frequência de exploração do último quarto dos BA (End-exploration). O teste *post-hoc* revelou que os ratos do Grupo MS70 efetuaram mais este comportamento que os ratos MS21 e MS50 ($F=4,201$ $p \leq 0,05$), mais uma vez não havendo diferença entre estes. A diferença entre os Grupos em relação a BA atingiu $p=0,060$ (OneWay ANOVA, $F=3,110$).

Tabela 11 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos da Condição Ambiental Maternal Separation (MS) avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias de idade.

Grupo	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
MS21	3,17 ± 0,59	7,75 ± 0,89	10,92 ± 1,11	27,56 ± 4,85	42,33 ± 5,55	28,67 ± 5,60 ^a	229,00 ± 7,40	9,55 ± 1,87	0,83 ± 0,42
MS50	2,62 ± 0,56	7,62 ± 1,02	10,25 ± 1,19	24,93 ± 4,87	50,00 ± 9,75	39,87 ± 11,32	210,13 ± 12,09	13,29 ± 3,77	0,75 ± 0,49
MS70	5,00 ± 0,83	8,83 ± 0,80	13,83 ± 1,08	34,70 ± 4,83	58,50 ± 6,31	63,58 ± 11,20	177,92 ± 14,39 ^b	21,19 ± 3,74	2,92 ± 0,77 ^c

Notas: a MS21<MS70; b MS70>MS21 e MS50; c MS70>MS21 e MS50 quando $p < 0,05$; valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

Outras análises realizadas

Sabe-se que o aumento do número de variáveis do projeto aumenta dramaticamente o número de fontes de variação no mesmo. Com muitas Variáveis Independentes (VI's) – como é o caso deste projeto –, são testados muitos efeitos diferentes, contra muitas hipóteses nulas diferentes, o que aumenta a probabilidade de se cometerem erros do Tipo 1¹. Por isso é importante utilizar o bom senso ao analisar dados de pesquisas com muitas variáveis (Dancey e Reidy, 2008; p. 333-4). Por esta razão, os grupos foram divididos em função: da Condição Ambiental durante a lactação; e da idade em que foram avaliados no LCE.

¹ Um erro de Tipo I (ou Falso Positivo) consiste em rejeitar uma hipótese nula que é verdadeira, ou seja, chegar a um resultado que tem significância estatística quando na verdade a diferença pode ser devida ao acaso. (Dancey e Reidy, 2008).

c) Análises por Condição Ambiental

Além das análises dentro de grupos de mesma Idade ou mesma Condição Ambiental, também foram efetuadas análises entre ratos de diferentes Condições Ambientais, agrupados em função de sua pertença a um dos cinco grupos: C, CH, H, HMS ou MS.

Esta análise visou à compreensão dos efeitos das manipulações no período de lactação dos ratos, independente da idade em que foram avaliados.

c.1) Condições Ambientais C x CH x H x HMS x MS

A ANOVA Oneway revelou a existência de diferenças significativas em todas as categorias comportamentais avaliadas, exceto no tempo de centro, que foram apuradas por testagem *post-hoc*:

Tempo BA ($F=2,988$; $p\leq 0,05$): o Grupo C despendeu significativamente menos tempo explorando os BA do que os Grupos H e HMS, representando comportamento mais indicativo de ansiedade, quando evita os BA. Não houve diferença significativa em comparação com o Grupo MS.

Já o Grupo MS apresentou significativa diferença em relação aos Grupos H e HMS, passando menos tempo que eles nos BA. Este dado pode traduzir uma possível redução da ansiedade provocada pela manipulação recebida pelos animais H e HMS no período de lactação.

Tempo BF ($F=2,737$; $p\leq 0,05$): as análises *post-hoc* revelaram haver diferenças entre Grupos de maneira idêntica ao item anterior, tendo os animais do Grupo C passado mais tempo que os do H e HMS nos BF, e o Grupo MS, diferindo dos ratos dos Grupos H e HMS, estes últimos apresentando menor tempo de permanência no BF que os ratos MS, porém sem diferença entre si.

Porcentagem Tempo BA ($F=2,989$; $p\leq 0,05$): as análises de *post-hoc* revelaram haver diferenças entre Grupos de maneira idêntica aos itens anteriores.

Podemos atentar para a comparação, nesta categoria, entre os Grupos MS e HMS, onde o procedimento de *handling* foi capaz de alterar respostas emocionais de ratos avaliados no LCE.

Tabela 12 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos das Condições Ambientais avaliados no LCE, independente da idade da submissão ao teste comportamental.

Condição Ambiental	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
C	3,41 ± 0,49	6,83 ± 0,48	10,24 ± 0,83	30,33 ± 2,79	48,21 ± 6,10	40,38 ± 6,87 ^a	211,31 ± 9,71 ^a	13,46 ± 2,29 ^a	1,31 ± 0,48
CH	4,64 ± 0,51	8,16 ± 0,32	12,80 ± 0,63	33,86 ± 2,62	55,13 ± 3,69	51,94 ± 6,94	189,68 ± 9,13	17,31 ± 2,31	1,71 ± 0,45
H	4,37 ± 0,51	7,90 ± 0,40	12,28 ± 0,65	33,35 ± 2,90	54,84 ± 4,12	66,41 ± 9,10	178,75 ± 9,83	22,14 ± 3,03	2,09 ± 0,52
HMS	4,30 ± 0,45	8,20 ± 0,48	12,50 ± 0,70	32,69 ± 2,58	52,70 ± 3,94	68,20 ± 6,78	179,77 ± 7,74	22,73 ± 2,26	1,93 ± 0,41
MS	3,72 ± 0,43	8,12 ± 0,50	11,84 ± 0,69	29,58 ± 2,85	50,31 ± 4,02	44,56 ± 5,98 ^b	205,12 ± 7,69 ^b	14,85 ± 1,99 ^b	1,59 ± 0,39

Notas: a C<H e HMS; b MS<H e HMS quando $p < 0,05$; valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

d) Análises por Idade

Os dados também foram avaliados em função das idades em que os animais foram apresentados ao LCE. Os testes comportamentais foram efetuados quando os ratos tinham 21, 50 e 70 (± 1) dias de vida. As comparações a seguir buscam compreender se o fator idade de avaliação pode representar uma variável importante no estudo da emocionalidade.

d.1) Idades 21 dias x 50 dias x 70 dias

As seguintes categorias comportamentais apresentaram diferença significativa (vide médias e EPM na Tabela 13) em relação à idade de avaliação no LCE. Os testes *post-hoc* foram administrados.

Tempo Centro ($F=4,475$; $p \leq 0,05$): os ratos avaliados aos 50 dias apresentaram menor tempo de exploração e permanência do centro do LCE que os ratos mais velhos.

Tempo BA ($F=6,275$; $p \leq 0,05$): os ratos do Grupo 21 passaram menos tempo explorando os BA do que os ratos mais velhos, não havendo diferenças entre os Grupos 50 e 70.

Tempo BF ($F=5,736$; $p \leq 0,05$): os ratos do Grupo 21 despenderam mais tempo dentro dos BF que os ratos do Grupo 70 dias.

Esta medida, em conjunto com a anterior, pode indicar que o LCE é mais aversivo para os ratos mais jovens.

Porcentagem Tempo BA ($F=6,275$; $p\leq 0,05$): os ratos avaliados no Labirinto aos 21 dias passaram menos tempo relativo nos BA que os Grupos 50 e 70 dias, não havendo, porém, diferença entre estes. Esta medida vai ao encontro das anteriores, apontando que os ratos mais jovens evitam mais os BA que os mais velhos.

End-exploration ($F=5,881$; $p\leq 0,05$): os ratos avaliados no Labirinto aos 21 apresentaram menos visitas às extremidades dos BA que os ratos do Grupo 70, porém não existindo diferença em relação aos ratos avaliados com 50 dias.

Tabela 13 – Dados comportamentais nas diferentes categorias analisadas de ratos das Condições Ambientais avaliados no LCE aos 21, 50 e 70 dias, independente da Condição Ambiental.

Idade de avaliação no LCE	BA	BF	Total (BA + BF)	Porcentagem BA (BA/Total) (%)	Tempo Centro	Tempo BA	Tempo BF	Porcentagem de Tempo BA (%)	Frequência de End Exploration
21 dias	3,84 ± 0,34	8,11 ± 0,39	11,95 ± 0,59	29,92 ± 2,03	51,80 ± 3,37	39,18 ± 4,31 ^b	209,02 ± 5,09 ^c	13,06 ± 1,44 ^b	0,89 ± 0,21 ^c
50 dias	4,23 ± 0,46	7,83 ± 0,35	12,05 ± 0,66	31,79 ± 2,39	43,90 ± 3,51 ^a	61,45 ± 7,02	192,12 ± 9,19	20,48 ± 2,34	1,85 ± 0,42
70 dias	4,25 ± 0,34	7,64 ± 0,28	11,90 ± 0,44	34,01 ± 2,01	58,44 ± 3,08	63,81 ± 5,62	178,03 ± 6,65	21,27 ± 1,87	2,44 ± 0,37

Notas: a 50 dias < 70 dias; b 21 dias < 50 e 70 dias; c 21 dias > 70 dias quando $p < 0,05$; valores expressos em Média ± EPM. BA: Braços Abertos; BF: Braços Fechados; LCE: Labirinto em Cruz Elevado.

e) Análises em função da divisão dos grupos quanto à: idade, manuseio e separação materna de 3h de duração.

Nesta avaliação, diferente das anteriores, buscou-se conhecer o comportamento de uma variável em função da outra. Desta maneira, através de um recorte nos grupos (onde se excluiu o Grupo CH, em função das indicações de resultados obtidos pelas ANOVAs de uma via, anteriores), foram analisados os grupos HMS, MS, H e C (Tabela 14).

Tabela 14 – Alocação das Condições Ambientais em função do Manuseio e da Separação materna.

		Manuseados (H)	
		Sim	Não
Separados por 3h (MS)	Sim	HMS	MS
	Não	H	C

Assim, os grupos anteriores passam a ter outra denominação:

HMS = Manuseado e Separado

H = Manuseado e Não separado

MS = Não manuseado e Separado

C = Não manuseado e Não separado

Para esta análise, a partir do que foi encontrado nas ANOVAs de uma via, somente três categorias comportamentais foram analisadas: BF, Porcentagem BA e Porcentagem Tempo BA. Esta escolha foi baseada no fato de que estas categorias são bastante sedimentadas na literatura do estudo da emocionalidade no LCE (Cruz, Frei e Graeff, 1994; Scarpelli et al. 2008).

Nesta análise, a ANOVA de duas vias demonstrou não haver diferenças significativas entre os grupos na categoria que indica as entradas em BF (Figura 14). Em relação à categoria Porcentagem de entradas em BA (divisão do número de entradas em BA pelo número total de entradas em BA e BF), também não foi encontrada diferença significativa entre os grupos (Figura 15).

Já no que tange à avaliação da Porcentagem de Tempo em BA (divisão do tempo absoluto em BA pelo tempo total de sessão, que é de 300 segundos, ou 5 minutos), diferenças significativas puderam ser observadas entre os animais avaliados no LCE aos 21 dias e aos 50 dias de vida.

A ANOVA *two-way* revelou que os animais que receberam manuseio no período de lactação despenderam mais do tempo total explorando os BA do que os animais que não foram manuseados ($F=2,142$; $p<0,05$), independente da ocorrência do procedimento de separação materna (Figura 16). Este padrão pôde ser observado fortemente nas idades de 21 e 50 dias. A ANOVA revelou ainda efeitos em relação à idade ($F=4,273$; $p=0,016$) e à manipulação ($F=11,034$; $p=0,001$). Não houve qualquer efeito da separação materna.

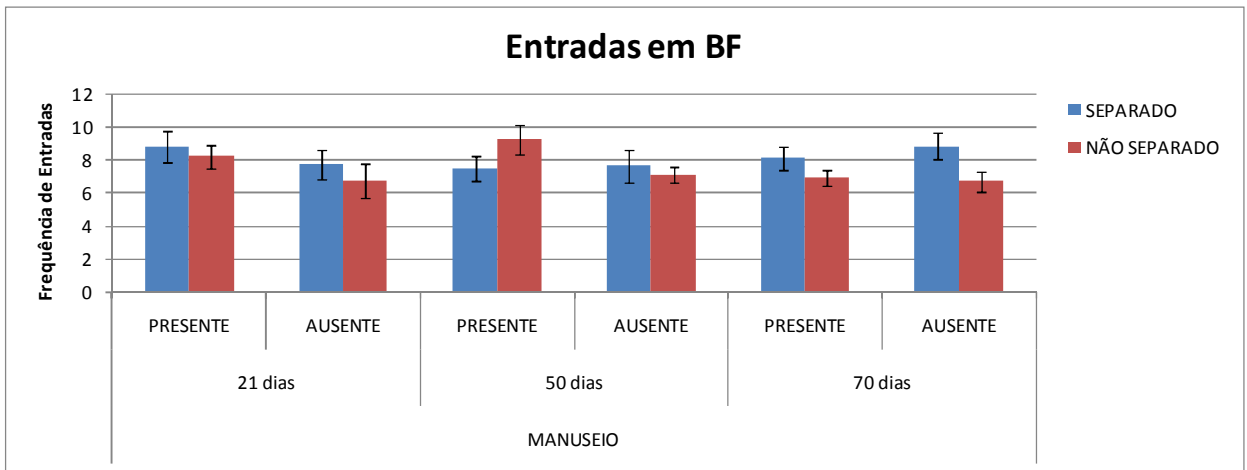


Figura 14 – Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias.

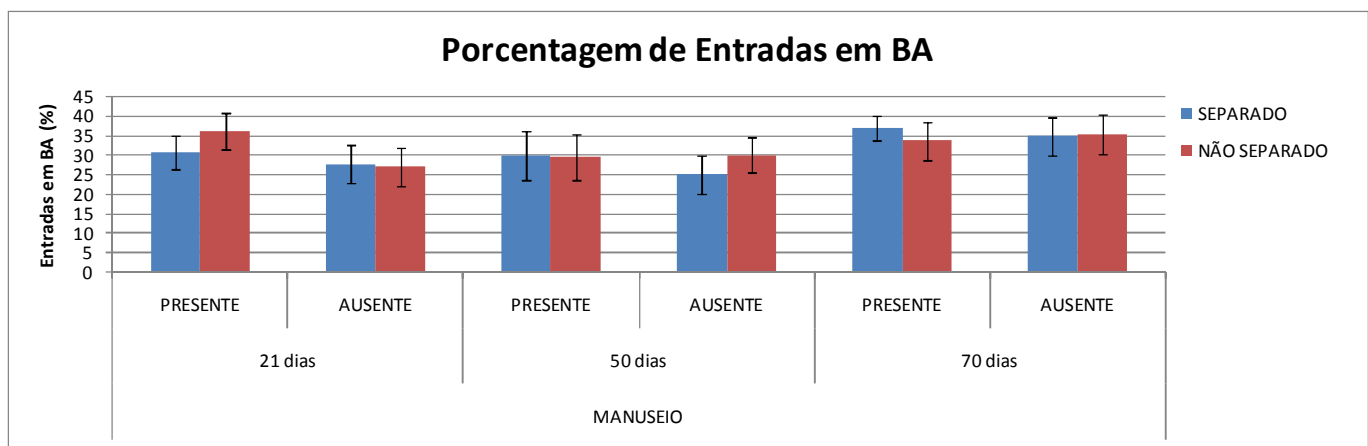


Figura 15 – Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias.

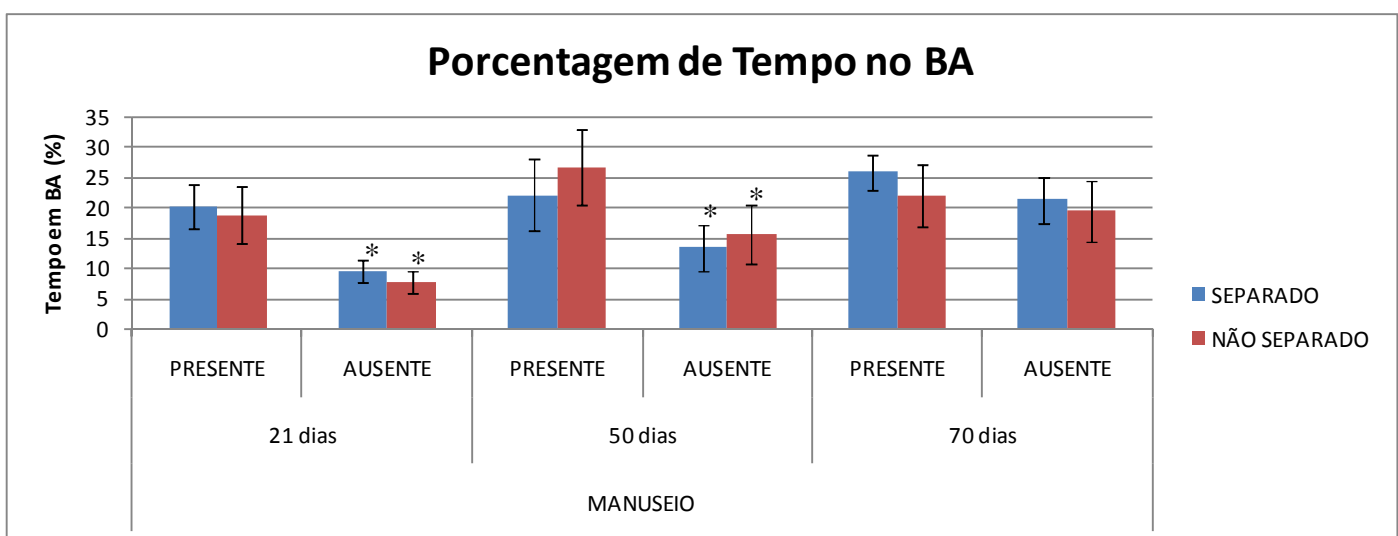


Figura 16 – Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias. *=p<0,05.

Outro recorte realizado foi o executado promovendo-se a retirada dos animais que foram analisados aos 70 dias de vida. Este recorte foi experimentado em vista dos resultados encontrados a respeito dos animais avaliados aos 21, 50 e 70, onde os efeitos comportamentais dos animais avaliados no LCE aos 21 e 50 dias mostraram-se interessantes (Figuras 15 e 16), cabendo uma investigação mais detalhada, uma vez que as ANOVAs de uma via nem sempre puderam ter força para demonstrar estatisticamente os efeitos encontrados.

Desta maneira, mantendo-se mais especificamente os animais avaliados aos 21 e 50 dias, e novamente realizando uma ANOVA de duas vias, foi possível investigar as interações e padrões em função da condição ambiental durante a lactação e as idades de avaliação no LCE.

Mais uma vez, não houve diferença significativa entre os grupos em relação à frequência de entradas em BF (Figura 17a). O mesmo ocorreu com a variável Porcentagem de entradas em BA (Figura 17b).

Entretanto, mantendo o mesmo padrão observado na análise anterior, em relação à Porcentagem de Tempo em BA (Figura 17c), os animais manuseados, de 21 e 50 dias, mostraram padrão comportamental significativamente diferente daqueles que não foram manuseados durante a lactação ($F=2,684$; $p<0,05$). Ficou claro o forte efeito de manipulação ($F=13,246$; $p<0,01$) e foi limítrofe o efeito idade ($F=3,515$; $p=0,065$). Mais uma vez, não houve efeito da separação materna que fosse estatisticamente significativo.

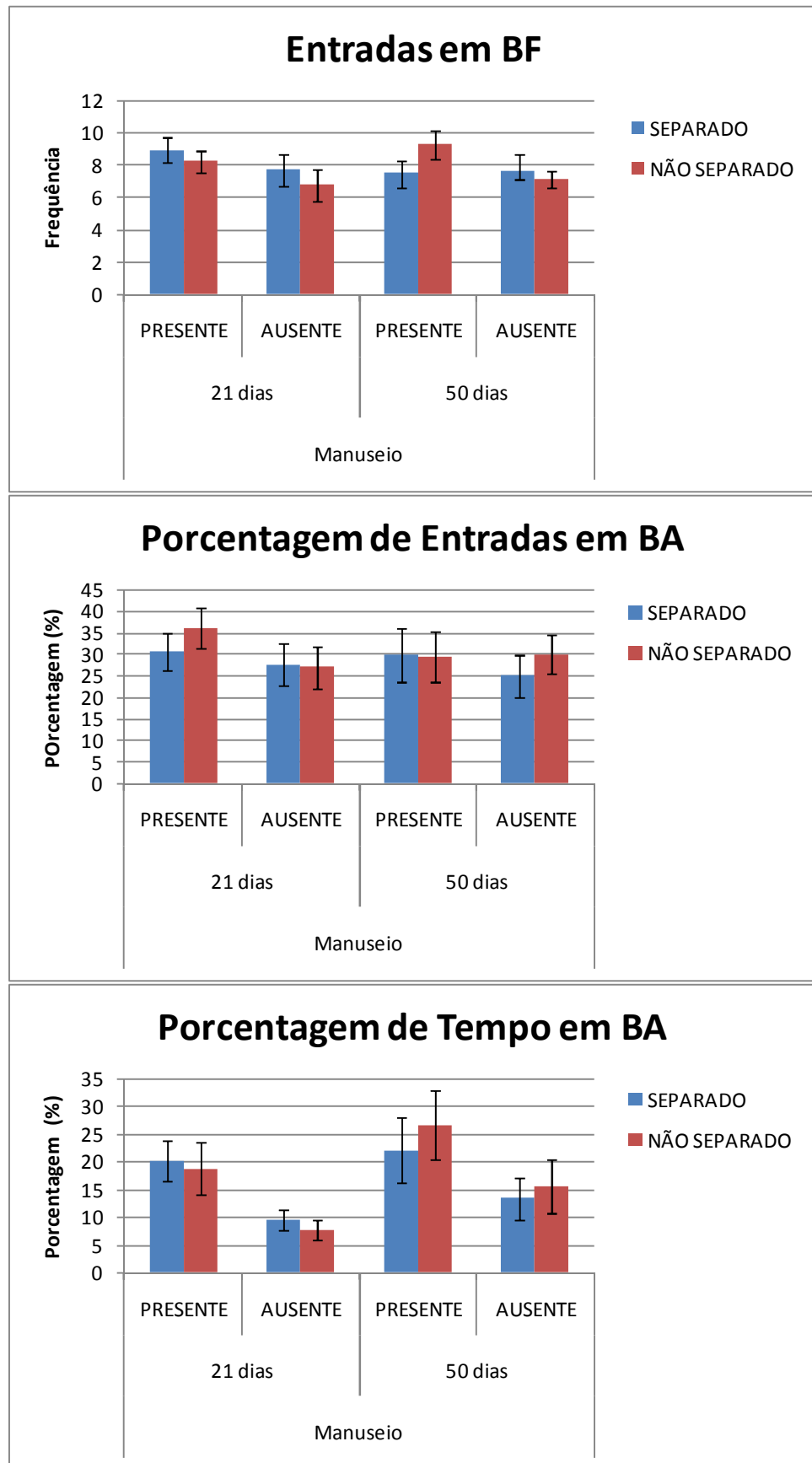


Figura 17- a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21 e 50 dias. $*=p<0,05$.

8

Discussão

Uma série de trabalhos aponta os efeitos de manipulações realizadas durante fases iniciais do desenvolvimento, como no período da lactação, por exemplo, na emocionalidade e em outras funções cognitivas; porém há ainda insuficiente informação sobre como esses efeitos podem interagir de acordo com diferentes períodos do desenvolvimento (Rocinho e Landeira-Fernandez, 2010).

Neste sentido, para esta pesquisa, foi pensado um desenho experimental que desse conta de investigar esta interação com a idade, ao menos nas primeiras 10 semanas de vida dos animais. As análises realizadas dentro de cada uma das cinco Condições Ambientais e as que investigaram os efeitos de interação puderam mostrar diferenças comportamentais, como foi visto na seção anterior e será mais detalhadamente interpretado e discutido a seguir, com comentários sobre os resultados obtidos nas diferentes análises realizadas.

8.1

Resultados por Análise efetuada

a) Análises em função da Condição Ambiental, fixadas as idades de avaliação no LCE:

a.1) Gupos C21 x CH21 x H21 x HMS21 x MS21

O Grupo C21 despendeu significativamente menos tempo explorando os BA do que os Grupos H21 e HMS21, representando comportamento mais indicativo de ansiedade, quando evita os BA. Já o Grupo MS21 apresentou significativa diferença em relação aos Grupos H21 e HMS21, passando menos tempo que eles nos BA; entretanto, não apresentou diferença significativa em relação ao Grupo C21, embora tenha explorado menos os braços abertos do Labirinto. Outra diferença encontrada foi entre os Grupos CH21 e HMS21, onde o segundo explorou mais o BA que o primeiro.

O Grupo C21 passou mais tempo explorando os BF que os Grupos H21 e HMS21 (em relação a este último, $p=0,066$); a diferença em relação ao grupo MS21 não foi significativa. O Grupo MS21 explorou por mais tempo os BF que os Grupos H21 e HMS21, indicando que a manipulação (*handling*) foi capaz de alterar esta medida comportamental, mesmo que, em relação ao Grupo HMS21, tenha havido também separação materna.

O Grupo C21 apresentou menos tempo relativo de permanência em BA que os Grupos H21 e HMS21. Mais uma vez, não houve diferença significativa em relação aos animais do Grupo MS21. O Grupo HMS21 apresentou diferença significativa em relação a todos os outros, em exceção ao Grupo H21, passando mais tempo relativo nos BA. O Grupo MS21 passou menos tempo relativo nos BA que os Grupos H21 e HMS21.

Aos 21 dias, não houve diferença entre os grupos CH e H. Isto pode significar que o fato de ter recebido o procedimento de *handling* não promoveu alterações comportamentais em comparação com o simples fato de ter sido manipulado na lactação, sem que se tenha recebido o procedimento. No entanto, nas categorias comportamentais indicativas de menor ansiedade, este Grupo (CH), não se mostrou diferente do Grupo C, nas avaliações por Grupo levando em conta a sessão integral.

De um modo geral, os resultados relativos aos Grupos H21 e HMS21 indicam que o *handling* foi capaz de alterar esta medida comportamental relacionada com a ansiedade (Plotsky e Meaney, 1993): animais menos ansiosos (pelo conflito causado por este aparato naturalístico) tendem a explorar mais os BA, seja em termos absolutos ou relativos.

Este resultado está coerente com o encontrado em muitos estudos anteriores, especialmente os que se referem aos elevados níveis de comportamento exploratório em novos ambientes, com menor ansiedade (Ruil et al. 1999; Diamond 2001; Beaney et al. 2002; Cirulli et al. 2010).

a.2) Grupos C50 x CH50 x H50 x HMS50 x MS 50

Não houve diferença significativa entre os Grupos, avaliados com 50 dias de vida através de uma ANOVA de uma via. Em virtude de os Gráficos (Figuras 10a, b, c) referentes aos animais de 50 dias mostrarem desenhos gráficos indicativos de uma tendência – no que tange especificamente a medida Porcentagem de Tempo de BA –, estas análises foram refeitas por ANOVAS de duas vias, buscando a investigação da interação entre os fatores manuseio, separação materna e idade, como será visto em momento posterior desta Discussão.

a.3) Grupos C70 x CH70 x H70 x HMS70 x MS 70

Não houve diferença significativa entre os Grupos, avaliados com 70 dias de vida.

Comparando as análises “a.1” e “a.3” as diferenças percebidas aos 21 dias não se mantiveram ao longo do tempo, indicando que as manipulações efetuadas na lactação não configuraram um efeito de longo prazo no comportamento emocional destes ratos.

Esta informação é bastante relevante quando a proposta deste trabalho é avaliar uma forma de Modelagem Animal para o estudo das influências que as experiências infantis podem exercer sobre a emocionalidade na vida adulta. No modelo animal aplicado, pareceu haver um efeito apenas inicial (nas idades tenras), que diminuiu ao longo do tempo, cessadas as manipulações. Como os ratos são avaliados apenas com 50 e 70 dias, não foi possível, neste trabalho, observar exatamente quando as experiências iniciais deixaram de influenciar o comportamento.

Aqui é importante mencionar que numa análise clínica com seres humanos jovens e adultos é bastante explícito que as experiências emocionais, sejam elas positivas (como suporte social, estabelecimento de apego seguro, estimulação ambiental) ou negativas (abuso, negligência, entre outras) não cessam após o término da primeira infância. Se isto ocorrer, em raros casos se dá de forma estanque e repentina, como é o que acontece neste desenho experimental.

A influência mais forte das experiências iniciais na emotividade de seres humanos, como amplamente apresentado nesta Dissertação, do que a percebida através dos dados deste trabalho com animais (roedores) demonstra a grande complexidade do aparato cognitivo-emocional humano, que não pode ser completamente modelado.

b) Análises em função da Idade, dentro de cada Condição Ambiental:

b.1) Grupo C: Grupos C21 x C50 x C70

Foi observada uma tendência de variação entre os ratos Controle de diferentes idades quanto ao BA (número absoluto e relativo de entradas, tempo de permanência, absoluto e relativo), porém sem significância estatística (talvez pelo número pequeno do n neste grupo). Esta tendência pode também ser explicada pelo resultado da análise por Idade, independente do grupo experimental (ver análise no item d.1, na seção Resultados).

b.2.) Grupo CH: Grupos CH21 x CH50 x CH70

O comportamento dos ratos do Grupo CH pode estar refletindo apenas a maior ativação motora de ratos jovens e sua posição em relação aos BA, o que pode ser visualizado na análise por Idade.

b.3) Grupo H: Grupos H21 x H50 x H70

O Grupo H não apresentou diferença significativa ao longo do tempo.

b.4) Grupo HMS: Grupos HMS21 x HMS50 x HMS70

Sem diferenças significativas para o Grupo HMS em diferentes idades.

b.5) Grupo MS: Grupos MS21 x MS50 x MS70

As diferenças significativas encontradas no Grupo MS podem estar traduzindo o comportamento de ratos de diferentes idades. Porém, como essas diferenças não foram encontradas nos Grupos H e HMS, podemos sugerir que o *handling* foi capaz de mediar a influência da idade: em ratos de todos os grupos, analisados por Idade, os mais jovens tiveram uma tendência maior a evitar os BA e preferir os BF, comportando-se de maneira díspare em relação aos mais velhos, e esta diferença entre idades não foi confirmada para os grupos que receberam a manipulação *handling*. Esta sugestão deve ser investigada em estudos futuros, para que seja ou não refutada.

c) Análises por Condição Ambiental (sem que se separassem em diferentes idades de avaliação no LCE)

c.1) Grupos C x CH x H x HMS x MS

O Grupo C despendeu significativamente menos tempo (absoluto e relativo) explorando os BA do que os Grupos H e HMS, representando comportamento mais indicativo de ansiedade, quando evita os BA. Já o Grupo MS apresentou significativa diferença em relação aos Grupos H e HMS, passando menos tempo (absoluto e relativo) que eles nos BA. Este dado pode traduzir uma possível redução da ansiedade provocada pela manipulação recebida pelos animais H e HMS no período de lactação. Ao mesmo tempo, como não houve diferença significativa na comparação dos Grupos C e MS, podemos inferir que o procedimento de separação materna não foi capaz de modelar uma experiência aversiva na infância que pudesse elevar os níveis de ansiedade.

Esta observação é também de suma importância para este estudo. A relevância clínica da investigação das experiências infantis negativas (como o abuso, a negligência e o estabelecimento de vínculos inseguros) está em saber de que maneira elas alteram a emocionalidade, levando ao desenvolvimento de

doenças mentais. O protocolo de separação materna utilizado neste estudo não mostrou grande validade na tentativa de construção de um modelo animal para representar a influência de experiências negativas no comportamento emocional. Este resultado está de acordo com a literatura, que aponta existirem muitos modelos diferentes de separação materna e, além disso, muitos resultados incoerentes entre os trabalhos efetuados usando este paradigma (Lehman e Feldon, 2000).

Podemos atentar para a comparação, nas categorias referentes aos BA, entre os Grupos MS e HMS, onde o procedimento de *handling* foi capaz de alterar respostas emocionais de ratos avaliados no LCE. Os grupos HMS exploraram mais os BA que os ratos MS, indicando que o *handling* alterou medidas relacionadas à ansiedade (Ruil et al. 1999; Diamond 2001; Beaney et al. 2002; Cirulli et al. 2010).

Os animais do Grupo C passaram mais tempo que os do H e HMS nos BF. O Grupo MS diferiu dos ratos dos Grupos H e HMS, que apresentaram menor tempo de permanência no BF que os ratos MS, porém sem diferença entre si. Estes dados apontam no sentido de que o *handling* também foi capaz de alterar medidas de locomoção, quando realizada esta análise entre todos os animais das cinco Condições Ambientais, independente da idade de avaliação no LCE. Sabe-se, entretanto, que é importante que se façam análises de interação, o que foi atendido pela análise “e”, apresentada em momento posterior.

d) Análises por Idade (sem que se separassem em Condições Ambientais)

d.1) Idades 21 dias x 50 dias x 70 dias

Os resultados em BA e BF indicam que o LCE foi mais aversivo para os ratos mais jovens. Os ratos avaliados no Labirinto aos 21 dias passaram menos tempo relativo nos BA que os Grupos 50 e 70 dias, não havendo, porém, diferença entre estes. Esta medida vai ao encontro das anteriores, apontando que os ratos mais jovens evitam mais os BA que os mais velhos.

e) Análises em função da divisão dos grupos quanto à idade, manuseio e separação materna de 3h de duração.

Nestas análises, que funcionaram como um recorte possível dentro dos grupos e variáveis comportamentais analisadas, os dados estão se referindo apenas as modalidades comportamentais frequência de entradas em BF, porcentagem de entradas e de tempo em BA.

e.1) Manuseio X Separação Materna X Idades (Grupos HMS, H, MS e C, de todas as idades)

Analisando animais das três idades, diante dos resultados referentes aos BF, não houve alteração do comportamento motor que possa ser devido às Condições Ambientais durante a lactação: os procedimentos efetuados (manipulação e separação materna) não promoveram efeitos na ambulação dos animais.

Em relação às medidas de emocionalidade, somente foram encontradas variações significativas na medida Porcentagem de Tempo nos BA. Este resultado será discutido a seguir.

e.2) Manuseio X Separação Materna X Idades de 21 e 50 dias (Grupos HMS, H, MS e C, nas Idades 21 e 50 dias)

Nesta análise ficou novamente explícita a ausência de efeito motor ou de ambulação, uma vez que não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos analisados a respeito do número de entradas em BF.

Da mesma maneira, o procedimento de separação materna mostrou-se ineficaz para promover alterações comportamentais nos ratos destes grupos, independente da ocorrência simultânea de manuseio durante a lactação.

De forma intrigante, o manuseio foi capaz de alterar seletivamente apenas uma das duas medidas relacionadas à ansiedade: a porcentagem de tempo nos BA. A literatura correlata à investigação da emocionalidade de ratos no LCE nos traz muitos exemplos de alta taxa de ocorrência de comportamento alterado em ambas as medidas (Porcentagem de entradas e Porcentagem de Tempo em BA), em

diversas linhas de pesquisa diferentes, com diferentes VI's² manipuladas e ratos avaliados em idades diversas (Scarpelli et al. 2008; Cruz et al. 1994, entre outros).

Entretanto, também podem ser encontrados trabalhos em que o padrão de diferenças foi semelhante ao encontrado nesta pesquisa: as diferenças entre os grupos ocorreram apenas na Porcentagem de Tempo de BA, sem extensão dos efeitos para a Porcentagem de Entradas em BA (Liebsh et al. 1998; Holmes et al., 2003; Bailey e Crawley, 2009; Matsuto et al., 2009.). Por exemplo, o estudo de Liebsch e colegas (1998) verificou que ratos das Linhagens LAB (*Low-anxiety behavior*) e HAB (*High-anxiety behavior*), com administração ou não de Diazepam (uma medicação ansiolítica) comportaram-se de maneiras diferentes nas duas categorias comportamentais citadas acima. Os ratos LAB que receberam a medicação apresentaram uma diferença comportamental em relação aos ratos LAB sem medicação apenas na Porcentagem de Tempo em BA. Os autores se posicionam em relação a esta variabilidade defendendo que a resposta de ansiedade e a própria resposta à medicação ansiolítica são extremamente complexas, inclusive dependentes de padrões genéticos determinantes dos níveis basais de ansiedade; apontam que são necessários mais estudos para examinar estes padrões díspares entre as duas medidas.

Matsuto e colegas (2009), também analisando comportamentos de animais de diferentes linhagens, encontraram as variações de respostas no LCE: não houve efeito entre os grupos na porcentagem de entradas em BA, mas houve na porcentagem de tempo de exploração dos BA. Como neste estudo outros paradigmas de avaliação da ansiedade foram aplicados, foi possível uma melhor discussão sobre estes efeitos: como não foram encontradas diferenças em relação a outras medidas de emocionalidade indicativas de menor ansiedade (como a exploração do centro do campo aberto e das áreas claras do paradigma claro-escuro), estes autores concluíram que as diferenças comportamentais entre as linhagens estudadas podem sugerir diminuição da ansiedade como uma consequência, embora o efeito seja sutil, se houver.

Um ponto a ser considerado para ampliar a discussão sobre esta diferença é o fato de o *handling* afeta o comportamento exploratório dos animais

² VI: Variável Independente

(Denenberg 1999), o que pode trazer um dado a mais sobre o comportamento dos animais manipulados no LCE.

Nesta análise, ficou bastante claro o efeito do procedimento de *handling* (manipulação) na emocionalidade dos animais, quando testados no LCE. O resultado de rebaixamento do comportamento ansioso encontrado está de acordo com o documentado em trabalhos anteriores (Plotsky e Meaney 1993; Ladd et al. 2000; Francis et al. 1999; Caldji et al. 1999), indicando que o *handling* é capaz de reduzir reações de medo em ambientes novos.

O efeito redutor de ansiedade do *handling* pode ser observado em várias das análises anteriores, sugerindo que uma manipulação durante o desenvolvimento pode provocar alterações no comportamento emocional de ratos. Estes efeitos comportamentais são acompanhados por efeitos neurobiológicos correspondentes (Kaufman et al 2000), que estiveram, neste momento, à parte dos objetivos desta pesquisa.

A questão de reversibilidade ou interação que buscou ser acessada com o grupo HMS (manipulado e separado) ainda está em discussão (Francis et al. 2002; Pryce et al. 2001; Heim e Nemeroff 2001). Os dados encontrados nesta pesquisa de Mestrado – em especial os das análises “a” dos animais de 21 e 50 dias – revelaram dados curiosos sobre este grupo. Como pôde ser visto nas Figuras 11b, 11c e 12c e na Tabela 4, os ratos HMS21 diferiram dos ratos MS21 e H21³, comportamento que sugere ser resultante da aplicação das duas manipulações de forma simultânea. Estudos mais detalhados sobre este grupo seriam interessante para contribuir nesta discussão.

8.2

Resultados relativos ao procedimento de separação materna

O protocolo de separação materna utilizado (separação por 3 horas diárias nas primeiras duas semanas de vida dos animais MS e HMS) não se mostrou capaz de

³ Diferença significativa em: H21 e HMS21 > MS21 no Tempo de BA; H21 e HMS21 < MS21 no Tempo de BF; HMS21 > MS na Porcentagem Tempo BA; (p<0,05); diferença indicativa de tendência em Porcentagem Tempo BA (50 dias) e Porcentagem Entradas BA (21 dias).

alterar – negativamente – o comportamento emocional dos animais avaliados: os animais MS e HMS não se mostraram mais ansiosos que os outros quando avaliados no LCE, nas três idades avaliadas.

Embora o procedimento de *maternal separation* seja largamente apontado como influente para alterações morfofuncionais no SNC – em especial alterando a função do eixo HPA – os efeitos comportamentais não puderam ser observados nesta pesquisa.

Desta maneira, conclui-se que o protocolo adotado neste procedimento experimental não foi suficientemente bom para servir como um modelo animal da associação entre negligência e doença mental nestes animais estudados.

É preciso indicar, entretanto, que os efeitos comportamentais da separação materna freqüentemente apresentam-se como contraditórios (Lehmann e Feldon 2000), e que muitas vezes o comportamento emocional avaliado é o referente à depressão (como o uso do paradigma de Nado forçado, por exemplo – Aisa et al. 2007). Nesta pesquisa, o comportamento estudado foi o relativo à ansiedade.

Além disso, os resultados não significativos obtidos com os animais em relação ao procedimento de separação materna encontra espaço na literatura da área, que demonstra haver grande inconsistência de resultados em relação a este procedimento, no que tange aos efeitos sobre a emocionalidade (Newport et al. 2002); enquanto alguns trabalhos apontam que o procedimento de separação materna é capaz de promover alterações comportamentais posteriores à lactação (Heim e Nemeroff 2001; Ladd et al. 2000; Aisa et al. 2007; Lippmann et al. 2007; Lee et al. 2007), outros argumentam que ela se mostra ineficaz (Caldji et al. 1999; McIntosh et al. 1999; Marais et al. 2008; Aisa et al. 2008⁴; Cirulli et al. 2010).

Em relação aos estudos que apontam a crítica à validade e aplicabilidade deste modelo para o estudo das implicações da infância para a emocionalidade, pode-se destacar o trabalho de Lehmann e Feldon (2000), que, ao promover uma extensa revisão sobre os efeitos biocomportamentais da separação materna, apontam para a grande inconsistência de protocolos e resultados. Estes autores defendem, entre outros pontos, que o termo “separação materna” mostra-se como

⁴ Neste estudo, os resultados referem-se ao Labirinto em Cruz Elevado; foi encontrada diferença significativa no paradigma de nado forçado, modelo animal para o estudo da Depressão.

um termo coletivo para uma variedade de manipulações experimentais extremamente diferentes umas das outras.

Um outro ponto que pode ser considerado nesta discussão é que uma experiência estressante não pode ser considerada como sendo necessariamente negativa, uma vez que representa uma resposta fisiológica adaptativa aos perigos aos quais todos os indivíduos são expostos (Lupien et al. 2009; Cirulli et al. 2010), aumentando a regulação excitatória e gerando resiliência (Lyons et al. 2010).

8.3

Considerações críticas

Algumas considerações críticas podem ser feitas ao desenho experimental utilizado e às análises estatísticas efetuadas para analisar os dados.

O desenho experimental deste projeto é complexo e inclui muitos grupos e níveis diferentes de variáveis independentes. Como foi explicitado anteriormente, esta característica aumenta o número de fontes de variação no mesmo, o que aumenta a probabilidade de se cometerem erros na interpretação dos dados. Por esta razão, diferentes análises foram executadas, desde as análises com uma só variável até as análises de interação (ANOVA *two-way*).

Devido às características do desenho experimental, e à existência de diversas variáveis dependentes, muitos recortes podem ser feitos nestes dados⁵, o que tornou extensas a análise dos dados e a interpretação dos resultados alcançados.

Em função dos dados obtidos com o procedimento de separação materna não terem sido capazes de mostrar alterações comportamentais provocadas por esta manipulação, outros paradigmas de avaliação comportamental poderiam ter sido utilizados, como por exemplo os que simulam situações que geram respostas

⁵ Estes recortes foram feitos também durante a realização desta pesquisa, ao longo dos meses, resultando em diferentes trabalhos apresentados em Congressos da área; os Resumos destes trabalhos estão nos Anexos desta Dissertação.

similares à depressão, como o nado forçado (Newport et al. 2002; Aisa et al. 2007, 2008).

Um outro ponto que cabe consideração é a respeito do número de animais; ainda que o número total de animais efetivamente avaliados no LCE tenha sido expressivo, contando com 154 ratos ao fim da pesquisa, o n por grupo foi pequeno (média de aproximadamente 10 por grupo). O número de sujeitos avaliados é um fator que tem relação direta com os resultados obtidos. O número de *outliers* nos grupos (ver Anexos) foi expressivo, e somente um aumento considerável do n por grupo poderia dizer se os resultados obtidos se alterariam ou não.

9

Conclusão

9.1

Pesquisa experimental em suma

O levantamento bibliográfico apresentou-se bastante consistente na descrição de correlação entre a ocorrência de experiências infantis negativas e o desenvolvimento de doenças mentais, em especial a depressão, os transtornos de ansiedade e personalidade. Com a descrição dos modelos neurobiológicos das diferentes psicopatologias, fica claro que estas apresentam efetivas alterações funcionais ou anatômicas em regiões específicas do SNC. Analisando o impacto neurobiológico que as experiências negativas precoces têm no tecido cerebral, é possível compreender como esta correlação se dá.

Muitos estudos pré-clínicos são pensados e aplicados no intuito de melhor entender como todo este processo ocorre nos níveis comportamental e neural. Estes trabalhos têm certamente contribuído enormemente para o desenvolvimento do conhecimento principalmente sobre os mecanismos neurobiológicos e neuropsicológicos envolvidos. Alguns destes trabalhos se concentraram nas relações entre experiências precoces e emocionalidade, e foram aqui aproveitados.

Mesmo que haja vários trabalhos apontando os efeitos comportamentais, emocionais e cognitivos das manipulações realizadas durante as primeiras fases do desenvolvimento, ainda não há informação suficiente sobre como esses efeitos podem interagir com diferentes períodos do desenvolvimento (Rocinholi e

Ladeira-Fernandez, 2010). Isso motivou o desenho experimental desta pesquisa com os animais, buscando-se investigar esta interação com a idade, ao menos nos primeiros 70 dias de vida.

As diversas análises efetuadas puderam mostrar diferenças comportamentais entre os animais de diferentes grupos, especialmente as referentes aos efeitos do *handling*. Já em relação à separação materna, os efeitos não foram observados.

O procedimento de *handling* mostrou-se como eficaz para promover alterações no comportamento emocional (Levine et al. 2002; Cirulli et al. 2010), representando um bom modelo para simular a influência das experiências precoces na emocionalidade e expressando como o SNC responde aos *inputs* ambientais (Diamond, 2001; Beane et al. 2002).

Já no que tange aos efeitos observados com o protocolo de separação materna, tem-se que são de grande importância para este estudo. A proeminência clínica da investigação sobre as sequelas das experiências infantis negativas (como o abuso, a negligência e a criação de vínculos inseguros) para a vida está em compreender *como* elas modificam a emocionalidade, levando ao desenvolvimento de psicopatologias. O protocolo de separação materna empregado neste estudo não mostrou grande validade na tentativa de construção de um modelo animal para simular a influência de experiências negativas no desempenho emocional. Os estudos sobre abuso e negligência e doença mental não foram passíveis de modelação pelo procedimento experimental aplicado nesta pesquisa, muito embora haja a possibilidade de que isto tenha se devido ao paradigma de avaliação comportamental utilizado ser sensível à ansiedade, e os trabalhos com separação materna apontarem efeitos mais consistentes em paradigmas de avaliação emocional correlatos à estados depressivos.

Em relação aos efeitos terem sido mais fortes nas idades iniciais (animais testados no LCE aos 21 dias de vida), considera-se esta informação de grande importância para este estudo, uma vez que sua proposta é justamente avaliar a aplicabilidade de um tipo de Modelagem Animal para estudar como as experiências infantis exercem influencia no comportamento emocional adulto.

Neste modelo animal aplicado os efeitos diminuíram ao longo do tempo, uma vez que as manipulações cessaram.

Neste ponto, pode ser pensado que, recorrendo a uma analogia, uma avaliação clínica com seres humanos irá apontar que as experiências emocionais, sejam elas positivas (como suporte social, estabelecimento de apego seguro, estimulação ambiental) ou negativas (abuso, negligência, entre outras) não cessam após o término da primeira infância. Se isto ocorrer, em raros casos se dá de forma estanque e repentina, como é o que acontece neste desenho experimental.

Os trabalhos citados nesta Dissertação apontam para uma expressiva influência das experiências iniciais na emotividade de seres humanos adultos. Esta influência de modo geral não pode ser tão amplamente percebida através dos dados deste trabalho com animais (roedores). Isto demonstra a grande complexidade do aparato cognitivo-emocional humano, que não pôde ser completamente modelado.

9.2

Perspectivas Futuras

Muitos dos trabalhos encontrados na literatura apontados nesta Dissertação sugerem a existência de múltiplas interações entre estresse precoce e genótipo na determinação da vulnerabilidade ao estresse e doenças como a depressão (Kaufman et al. 2000; Heim et al. 2008; Gatt et al. 2010a) e os transtornos de ansiedade e de personalidade (Buccheim et al. 2008). As causas, desenvolvimento e sintomatologia dos transtornos psiquiátricos são determinados pela relação de fatores psicológicos, sociais e culturais com a bioquímica e a fisiologia. Bioquímica e fisiologia não estão desconectados nem são diferentes do resto de nossas experiências e eventos da vida (Soussumi 2006; Juruena et al. 2007). O esquema a seguir (Figura 18) reproduz um bom modelo operacional trazido pelas neurociências para a compreensão do relacionamento destas variáveis com o SNC.

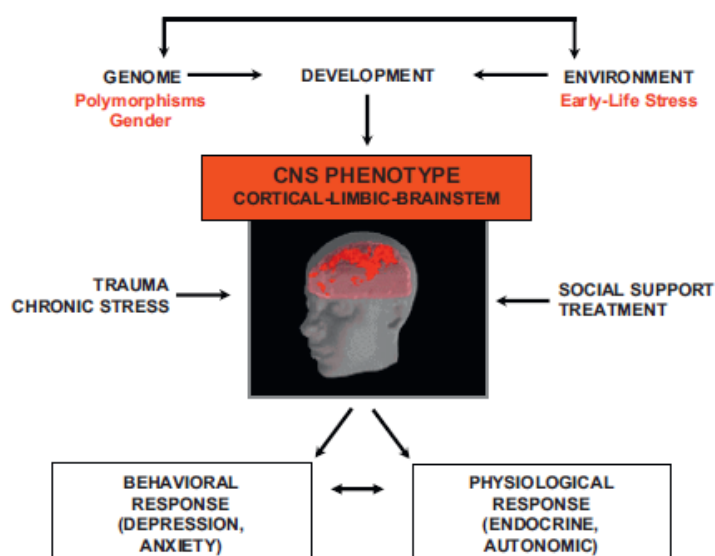


Figure 6 A working model. Genetic disposition and early-life stress interact in shaping a vulnerable phenotype with changes in cortical–limbic–brainstem circuits. Upon stress or trauma, maladaptation in these circuits leads to increased endocrine–autonomic and behavioral–emotional responses. Social support and successful treatments modify the stress responses system in different components.

Figura 18 – Modelo operacional de múltiplas influências – Heim et al. 2008, p. 704.

A tendência atual, com contribuições importantes das neurociências, defende que a circuitaria cerebral emerge e é modelada pela combinação de influências ambientais e genéticas. O debate antigo entre herdado e adquirido, como dicotômicos e até antagônicos, tem sido substituído pela investigação de como ambos interagem e contribuem para a construção da rede cerebral (Oliva et al. 2009).

Achados das neurociências apontam para a existência de janelas desenvolvimentais durante as quais a microcircuitaria geneticamente determinada de estruturas ligadas à emocionalidade no SNC está suscetível às influências do ambiente precoce. Essas influências modelam de forma poderosa a responsividade individual a fatores estressores psicossociais e também a resiliência ou vulnerabilidade a várias formas de psicopatologia na vida adulta (Mayes et al. 2005).

Desenhos experimentais que envolvam aspectos genéticos podem ser úteis para testar o quanto fatores hereditários contribuem para a associação entre fatores de risco do meio ambiente e fenótipos saudáveis (Dias et al. 2009; Rice et al. 2010). Um dos pontos a serem explorados é o conceito de epigenética (ou

transmissão epigenética) (Gartside et al. 2003; Holmes et al. 2005; Dias 2009; Neigh et al. 2009; Bale et al. 2010), uma forma de transmissão intergeracional de caracteres adquiridos, de forma diferente da genética mendeliana tradicional (Francis et al. 1999). Daí, o estudo destas interações no nível do SNC é uma importante área para estudos futuros.

A disposição genética pareada com estresse precoce em fases críticas do desenvolvimento pode resultar num fenótipo neurobiologicamente vulnerável ao estresse e assim aumentar o risco de desenvolver depressão ou ansiedade diante de uma futura exposição ao estresse (Heim e Nemeroff 1999, 2001). Este modelo fisiopatológico proporciona uma nova forma de pensar a prevenção e o tratamento de psicopatologias, de modo especial aquelas associadas à existência de estresse precoce.

A fim de avaliar o efeito das manipulações realizadas nesta pesquisa experimental, os procedimentos podem ser replicados em sujeitos com conhecida carga genética para ansiedade, como é o caso dos ratos Cariocas (CAC – Cariocas de Alto Congelamento), linhagem desenvolvida pelo grupo de pesquisa do Prof. J. Landeira-Fernandez na PUC-Rio (Gomes e Landeira-Fernandez, 2008), no intuito de verificar se os mesmos resultados seriam encontrados nestes ratos.

O debate Genética X Ambiente

A contribuição relativa dos fatores Genética e Ambiente para o desenvolvimento de desordens psiquiátricas tem sido há muito debatido (Heim e Nemeroff 1999, 2001; Oliva et al. 2009). Dentro desta discussão, surge a indagação sobre a mediação dessas influências ambientais pelo fator genético (Gross e Hen 2004). Alguns estudos apontam que o estresse precoce será determinante para o desenvolvimento de doenças mentais se houver uma maior vulnerabilidade genética (Mello et al. 2007; Bradley et al. 2010; Lupien et al. 2009; Neigh et al. 2009; Ressler et al. 2009; Coplan et al. 2010; Gatt et al. 2010ab), como ilustrado pela Figura 19.

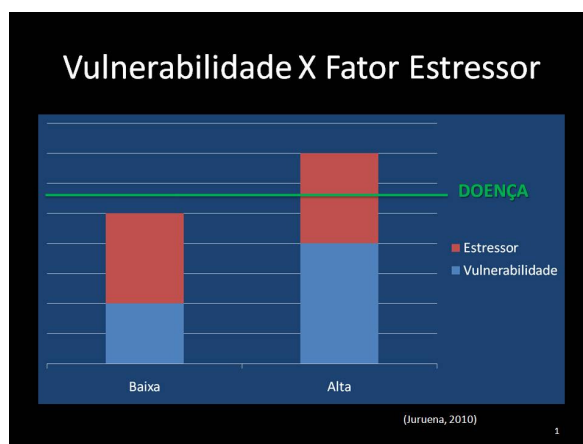


Figura 19 – Interação entre vulnerabilidade e estressores ambientais (adaptado de Juruena 2009⁶).

As disposições genéticas são compreendidas como fatores de risco (Heim et al. 2008; Bradley et al. 2010) que, juntamente com o estresse ambiental, aumentam a vulnerabilidade para o desenvolvimento de doenças mentais; ao mesmo tempo, no entanto, podem servir como fator de proteção (Neigh et al. 2007; Gatt et al. 2010b).

Trabalhos recentes visam compreender melhor a interação entre aspectos genéticos e ambientais para a expressão de fenótipos psiquiátricos, como ansiosos e depressivos. Muito se tem evoluído neste campo, com o conhecimento atual sobre a necessária existência de determinados genes ou polimorfismos (Mello et al. 2007; Ressler et al. 2009; Bradley et al. 2010; Coplan et al. 2010) para o desenvolvimento de determinadas doenças, incluindo as psicológicas.

Cross-fostering

Um dos modelos mais importantes e reconhecidamente válidos para este estudo é o procedimento de *cross-fostering* (adoção cruzada), realizado entre indivíduos de diferentes endogênótipos. É possível aplicar este procedimento na modelagem experimental, usando animais de diferentes linhagens: filhotes de uma linhagem são criados por mães pertencentes à outra linhagem (Landgraf e Wigger 2002; Uchida et al. 2010). Neste modelo, é possível isolar determinados fatores (como

⁶ Apresentação durante Seminário na APERJ, Setembro de 2010.

herança genética e ambiente de criação, por exemplo) e estudar a interação entre eles (Bartolomucci et al. 2004; Holmes et al. 2005; Dias 2009).

Este modelo de estudo tem apontado interessantes interações entre genética e ambiente, e tem sido largamente aplicado para o estudo da emocionalidade (Francis et al. 1999; Landgraf e Wigger 2002; Dias 2009; Rice et al. 2010; Uchida et al. 2010): num dos estudos realizados com ratos *High/Low Anxiety Behavior* (HAB/LAB) (Landgraf e Wigger 2002), o paradigma de *cross-fostering* revelou que as diferenças comportamentais referentes a emocionalidade dos dois grupos é devida a fatores genéticos. Estes resultados foram compreendidos como um indício de que a ansiedade é um traço (e não um estado), onde faz sentido uma maior herdabilidade. Entretanto, estes autores frisam que os aspectos não-genéticos têm importância crucial para a clínica dos transtornos ansiosos; num outro estudo, os resultados encontrados apontaram tanto para a influência de fatores genéticos quanto para o ambiente (fatores maternos) na emocionalidade (Uchida et al. 2010), em especial na vulnerabilidade ao estresse; outro estudo apontou que o paradigma de *cross-fostering* para o estudo de comportamentos ansiosos demonstrou que o fator mais importante para este comportamento foi o ambiente de criação, especialmente para os ratos machos (Curley et al. 2010); de modo similar, Holmes et al. (2005) encontraram uma importante influência do ambiente social durante o período crítico do neurodesenvolvimento, e apontaram de que maneira os fatores genéticos determinam como as experiências iniciais podem moldar o SNC e o comportamento ao longo da vida.

Como pôde ser visto, um dos mais frequentes usos do procedimento de *cross-fostering* é o que visa determinar a contribuição relativa da genética e fatores ambientais iniciais na modelagem dos traços fenotípicos característicos (Bartolomucci et al. 2004). A pergunta-chave que este procedimento procura responder é se variações no comportamento materno e/ou outros elementos do ambiente inicial de desenvolvimento podem alterar o desenvolvimento das diferenças individuais comportamentais e fisiológicas na vida adulta (Bartolomucci et al. 2004; Holmes et al. 2005).

Uma extensão natural deste trabalho de Mestrado será a execução do procedimento de *cross-fostering* com os ratos Carioca CAC (Gomes e Landeira-

Fernandez, 2008; Dias, 2009; Dias et al. 2009). Esta continuidade se dará ainda na busca por um melhor entendimento de como fatores ambientais podem ser determinantes para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos.

9.3

Reflexões sobre a aplicação deste conhecimento para a clínica psicológica

Em Psicoterapia muito se têm trazido à discussão o papel das crenças e dos esquemas na etiologia e manutenção das psicopatologias (como depressão e transtornos de personalidade, entre outros). Importante pontuar que estas crenças são, em sua maioria, desenvolvidas na infância, nas relações com cuidadores e pares (Young, 2003, 2008). Experiências inseguras com um cuidador abusador ou negligente no início da vida podem levar os indivíduos a formar modelos internos de funcionamento (Rozenel 2006) de retração e ansiedade, que, embora sejam adaptativos na relação com o cuidador primário, podem interferir com outros relacionamentos (Bögels e Brechaman-Toussaint 2006).

As experiências de vinculação e convívio com adultos e pares significativos são capazes de formar as bases cognitivas (Rozenel 2006) e, como foi visto, neurobiológicas do comportamento emocional. Uma vez que a emocionalidade pode ser alterada por experiências emocionais negativas, o comportamento sintomático dos pacientes (como a diminuição da experimentação de prazer na depressão, a impulsividade no transtorno de personalidade *borderline*, a hipersensibilidade fisiológica nos transtornos de ansiedade, entre outras), que em última análise é o que caracteriza sua patologia, pode estar sendo, em muitos casos, determinado por estas alterações no SNC.

Como pôde ser visto, as emoções envolvem uma série de alterações morfofuncionais no sistema nervoso. Assim também é com a psicoterapia: ela exerce efeitos duradouros sobre o funcionamento do sistema neural (Kim e Hamann, 2007; Landeira-Fernandez e Cruz, 1998b). Se as relações sociais têm o poder de alterar o funcionamento neural, de acordo com sua importância biológica, então quanto mais forte for o significado biológico das intervenções em

psicoterapia, maior será a possibilidade de que esta atinja seus objetivos através de alterações neuronais e, assim, padrões de comunicações sinápticas (Landeira-Fernandez e Cruz, 1998a).

A psicoterapia funciona como fator de alívio, a partir do apoio social que estabelece (Fonagy 2000, 2003; Lyons-Ruth, 2008), para as sequelas negativas da interação entre a predisposição genética e experiências infantis negativas, interação esta que se traduziu no transtorno mental (Winograd et al., 2007; Young, 2008). Nesse ponto, uma vez que memórias emocionais são memórias implícitas (Lent, 2008, p. 260), os processos implícitos são importantes no trabalho de psicoterapia, pois muitas vezes são responsáveis por determinar a expressão de sintomas sem que haja qualquer processo consciente por parte do paciente (Landeira-Fernandez e Callegaro, 2007, p. 861 e 869). Os processos implícitos, não conscientes, são funções superaprendidas por repetição (Sternberg, 2010). Permitem que se respondam aos estímulos ambientais de modo automático e independente do processamento consciente dos mesmos. O paciente pode desempenhar-se de modo automático sem ter consciência tanto do estímulo que deflagrou sua reação quanto de seu próprio comportamento, neste caso, patológico.

Além disso, foram encontradas modificações no funcionamento cerebral de pacientes como efeitos da psicoterapia, exatamente em áreas límbicas (Fumark et al., 2002; Sakai et al. 2006; Schenell e Herpertz, 2007). Curiosamente, tem-se evidência de que a psicoterapia age usando exatamente as mesmas bases de construção dos problemas emocionais (LeDoux, 2001, p. 242), isto é, as novas aprendizagens, muitas delas implícitas, o que serviria para defender a posição de que se pratiquem diferentes modelos de psicoterapia, que pode (e, diante das evidências, deve) ser ampliada por intermédio de um trabalho mais voltado para os aspectos não racionais da cognição (Beck, 1995; Young, 2003, 2008; McMullin, 2005; Vasconcellos e Machado, 2006). Uma proposta seria a aplicação de técnicas experienciais, voltadas à experiência emocional (Beck, 1995).

O impacto das experiências negativas precoces não está apenas na etiologia das doenças, mas também em alterar os padrões de curso da doença e de responsividade ao tratamento. Pacientes com histórico de sofrimento infantil respondem de modo pior à terapia psicológica e medicamentosa (Nemeroff et al. 2003; Heim et al. 2004).

Uma melhor compreensão dos impactos das experiências emocionais iniciais na emocionalidade, investigando a participação das situações emocionais adversas nos períodos iniciais do desenvolvimento neurológico, parece poder contribuir para enriquecer o conhecimento acerca da formação de transtornos mentais, bem como da própria psicoterapia.

9.4

Considerações finais

A relevância clínica da investigação das experiências infantis negativas (como o abuso, a negligência e o estabelecimento de vínculos inseguros) está em saber de que maneira elas alteram a emocionalidade, levando ao desenvolvimento de doenças mentais. Parece haver consenso entre os estudos em relação à desregulação do eixo HPA ser repetidamente documentada como uma consequência psicobiológica das experiências iniciais aversivas, tendo sido proposta como o potencial mediador dos efeitos de longo prazo das experiências emocionais negativas (Neigh et al. 2009).

Embora os estudos citados indiquem uma ligação forte entre eventos traumáticos e adoecimento psíquico, é importante lembrar que é necessária a interação entre fatores genéticos e experiências posteriores (ambiente) como co-ocorrentes tanto para a vulnerabilidade a transtornos psiquiátricos como para a reversão de quadros disfuncionais (Heim et al., 2008), corroborando a existência de um modelo explicativo multifatorial para o adoecimento mental, onde fatores de diferentes naturezas interagem entre si, desviando da ideia de que apenas a carga genética ou os acontecimentos ambientais, isoladamente, podem ser suficientes para o surgimento de uma psicopatologia.

É importante considerar que há a possibilidade de que seja o comportamento disruptivo de algumas crianças (possivelmente afetadas por alguma psicopatologia) o que de fato determina, ao incitar, uma atitude violenta, abusiva ou negligente por parte dos cuidadores ou pares, ou, por outro lado, é o ambiente violento que expõe as crianças ao adoecimento mental (Abramovitch 2008). Este é um ponto de discussão no qual ainda não se obteve um consenso. O

questionamento é “Será que as crianças adoecem porque estão em alto risco para desenvolver um grupo específico de doenças mentais [como transtornos afetivos ou de ansiedade] ou, por conta de já apresentarem de fato os diagnósticos, estão mais susceptíveis a abusos?” (Abramovitch 2008, p.163).

Indivíduos que experienciam estresse na vida precoce parecem ser mais propensos ao desenvolvimento de alterações patológicas no SNC que aumentam sua vulnerabilidade ao estresse em fases posteriores da vida, predispondo-os ao adoecimento físico e mental. Entretanto, uma vez que nem todas as crianças expostas a situações de abuso e negligência acabam por desenvolver doenças mentais quando adultas, é provável que aqueles indivíduos que adoecem possuam vulnerabilidade genética (preexistente) que, em interação com as experiências aversivas precoces, aumentam o risco de se desenvolverem patologias relacionadas ao estresse (Neigh et al. 2009).

Além disto, os efeitos deletérios das experiências emocionais aversivas como abuso e negligência podem reverberar através de gerações, através de efeitos adversos para o feto durante a gestação, efeitos sobre o comportamento materno e também efeitos epigenéticos (Neigh et al. 2009).

O tratamento para doenças físicas e mentais de pacientes que sobreviveram a situações negativas na infância deve ser diferenciado, respeitando as características distintas desta população, sobretudo no que tange a maior necessidade do estabelecimento de uma relação terapêutica forte e estável.

Dados os impactos imediatos ou em longo prazo para as vítimas – e gerações seguintes – serem negativos e ainda não se conhecerem curas, a prevenção do abuso é a melhor estratégia de ação. Informar aos pais, professores e profissionais de saúde e ao público geral sobre o possível impacto negativo das experiências infantis pode ajudar a reduzir a subestimação do impacto da negligência e abusos contra as crianças, e também levar a uma observação e diagnóstico mais acurados, contribuindo ainda para que se construam intervenções adequadas, no intuito de prevenir adoecimento em longo prazo.

10

Referências Bibliográficas

ABRAMOVICHTH S, MAIA MC, CHENIAUX E. Transtornos de déficit de atenção e do comportamento disruptivo: associação com abuso físico na infância. **Rev Psiq Clín.**; 35(4):159-64. 2008

AISA B, TORDERA R, LASHERAS B, DEL RIO J, RAMIRES MJ. Effects of maternal separation on hypothalamic-pituitary-adrenal responses, cognition and vulnerability to stress in adult female rats. **Neuroscience** 154 1218-1226. 2008.

AISA B, TORDERA R, LASHERAS B, DEL RIO J, RAMIREZ MJ. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. **Psychoneuroendocrinology**; 32:256-266. 2007.

ALMEIDA RMM, GIOVENARDI M, SILVA SP *ET AL.* Efeito sobre o comportamento materno agressivo de ratos da microinjeção do agonista seletivo de receptores 5-HT_{2a/2c} no núcleo central da amígdala e na área pré-óptica medial. **Rev. Bras. Psiquiatr.** vol.28, no.2, p.130-134. 2006.

AMARAL DG, BAUMAN MD, CAPITANIO JP, LAVENEX P, MASON WA, MAULDIN-JOURDAIN ML, MENDOZA SP The amygdala: is it an essential component of the neural network for social cognition? **Neuropsychologia**;41(4):517-22. 2003.

ANDERSON MC, OCHSNER KN, KUHL B, COOPER J, ROBERTSON E, GABRIELI SW, GLOVER GH, GABRIELI JDE. Neural Systems Underlying the Suppression of Unwanted Memories. **Science**. 303: 232-235; 2004.

ANDRADE VM, SANTOS FH, BUENO OFA. (orgs.). **Neuropsicologia Hoje**. Porto Alegre: Artes Médicas, 2004.

ANDREASEN NC. **Admirável cérebro novo**. Porto Alegre: ArtMed. 2005.

ATKINSON RL, ATKINSON RC, SMITH EC, BEM DJ. **Introdução à Psicologia**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1995.

BAILEY KR, CRAWLEY JN Anxiety-Related Behaviors in Mice. In: Jerry J Buccafusco (Ed.). **Methods of Behavior Analysis in Neuroscience** - Frontiers in Neuroscience - 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press, 2009.

BALE TL, BARAM TZ, BROWN AS, GOLDSTEIN JM, INSEL TR, MCCARTHY MM, NEMEROFF CB, REYES TM, SIMERLY RB, SUSSER ES, NESTLER EJ. Early life programming and neurodevelopmental disorders. **Biol Psychiatry**; 68(4):314-9. 2010

BANDEIRA M, DEL PRETTE ZAP, DEL PRETTE A. (orgs.). **Estudos sobre habilidades sociais e relacionamento interpessoal**. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2006.

BARLOW DH. **Manual clínico dos transtornos psicológicos**. Porto Alegre: ArtMed; 1999.

BARTOLOMUCCI A, GIOIOSA L, CHIRIELEISON A, CERESINI G, PARMIGIANI S, PALANZA P. Cross fostering in mice: behavioral and physiological carry-over effects in adulthood. **Genes Brain Behav**. Apr;3(2):115-22. 2004.

BEANE ML, COLE MA, SPENCER RL, RUDY JW. Neonatal handling enhances contextual fear conditioning and alters corticosterone stress response in young rats. **Hormones and behaviour**; 41: 33-40. 2002.

BEAR MF (e cols.) **Neurociência - Desvendando o Sistema Nervoso**. Porto Alegre: Editora Artmed, 2002.

BECK JS. **Terapia cognitiva: teoria e prática**. Porto Alegre: Artes Médicas; 1997.

BEE H. **A criança em desenvolvimento**. Porto Alegre: Artes Médicas; 1996.

BENSON DF. **The neurology of thinking**. Oxford University Press, 1994.

BOGELS SM, BRECHMAN-TOUSSAINT ML. Family issues in child anxiety: attachment, family functioning, parental rearing and beliefs. **Clinical Psychology Review**; 26: 834-856. 2006.

BONOMI AE, CANNON EA, ANDERSON ML, RIVARA FP, THOMPSON RS. Association between self-reported health and physical and/or sexual abuse experienced before age 18. **Child Abuse & Neglect**; 32: 693-701. 2008.

BOWLBY J. **Apego – A natureza do vínculo**. São Paulo: Martins Fontes; 2002.

_____. Psicanálise e cuidados com a criança. In: **Formação e rompimento dos laços afetivos**. São Paulo: Martins Fontes; 1982/2006.

BRADLEY RG, BINDER EB, EPSTEIN MP, TANG Y, NAIR HP, LIU W, GILLESPIE CF, BERG T, EVCES M, NEWPORT DJ, STOWE ZN, HEIM CM, NEMEROFF CB, SCHWARTZ A, CUBELLS JF, RESSLER KJ. Influence of child abuse on adult depression: moderation by the

corticotropin-releasing hormone receptor gene. **Arch Gen Psychiatry**; 65(2):190-200. 2008.

Brandão ML. **As bases biológicas do comportamento: introdução à Neurociência**. São Paulo: EPU. 2004.

BRENDEL GR, STERN E, SILBERSWIEG DA. Defining the neurocircuitry of borderline personality disorder: Functional neuroimaging approaches. **Development and Psychopathology**; 17, 1197–1206. 2005.

BUCHEIM A, ERK S, GEORGE C, KACHELE H, KIRCHER T, MARTIUS P, POKORNY D, RUCHSOW M, SPITZER M, WALTER H. Neural correlates of attachment trauma in borderline personality disorder: a functional magnetic resonance imaging study. **Psychiatry Research: Neuroimaging**; 163: 223-235. 2008.

BUCKNER RL, KELLEY WM, PETERSEN SE. Frontal cortex contributes to human memory formation. **Nature Neuroscience**; 2, 311 – 314, 1999.

CABALLO VE. **Manual de transtornos de personalidade: descrição, avaliação e tratamento**. São Paulo: Editora Santos; 2008.

CALDJI C, FRANCIS D, SHARMA S, PLOTSKY PM, MEANEY MJ. The effects of early rearing environmental on the development os GABA_A and central benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in the rat. **Neuropharmacology**; 22(3): 219-229. 1999.

CAPOTE HA. Neuroimaging in Psychiatry. **Neurol Clin**; 27: 237–249. 2008.

CIRULLI F, BERRY A, BONSIGNORE LT, CAPONE F, DANDREA I, ALOE L, BRANCHI I, ALLEVA E. Early life influences on emotional reactivity. **Neuroscience and biobehavior reviews**; 34: 808-820. 2010.

COPLAN JD, ABDALLAH CG, KAUFMAN J, GELERNTER J, SMITH EL, PERERA TD, DWORK AJ, KAFFMAN A, GORMAN JM, ROSENBLUM LA, OWENS MJ, NEMEROFF CB. Early-life stress, corticotropin-releasing factor, and serotonin transporter gene: A pilot study. **Psychoneuroendocrinology**. 2010. [in press].

COWAN, A. **Stages Of Brain Development**. Disponível em <http://www.learningdiscoveries.com>. Acesso em Abril de 2009.

CRUZ APM, FREI F, GRAEFF FG. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**; 49: 171-176. 1994.

CRUZ APM, ZAGROSSI H, GRAEFF FG, LANDEIRA-FERNANDEZ J. Modelos Animais de Ansiedade: Implicações Para a Seleção de Drogas Ansiolíticas. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**.; 13 (3):269-278. Set-Dez 1997.

CURLEY JP, ROCK V, MOYNIHAN AM, BATESON P, KEVERNE EB, Champagne FA. Developmental shifts in the behavioral phenotypes of inbred mice: the role of postnatal and juvenile social experiences. **Behav Genet**.;40(2):220-32. 2010 Mar.

DA CUNHA C, WIETZIKOSKI S, WIETZIKOSKI EC, MIYOSHI E, FERRO MM, ANSELMO-FRANCI JA, CANTERAS NS. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. **Neurobiology of Learning and Memory** ; 79 (3): 236-242. 2003.

DALGLEISH T. The emotional brain. **Nature Reviews Neuroscience**; 5: 583-589. 2004.

DAMASIO AR, ADOLPHS R, TRANEL D. The human amygdala in social judgment. **Nature**; 393(6684):470-4. 1998 Jun 4.

DANCEY C, REIDY F. **Estatística sem matemática para psicologia – para SPSS**. Porto Alegre, ArtMed. 2008

DARWICH RA. Razão e emoção: uma leitura analítico-comportamental de avanços recentes nas neurociências. **Estud. psicol. (Natal)**; 10(2): 215-222. maio/ago. 2005.

DAVIDSON RJ, JACKSON DC, KALIN NH. Emotion, plasticity, context, and regulation : Perspectives from affective neuroscience. **Psychological bulletin**: 126 (6): 890-909. 2000.

DE BELLIS M. The psychobiology of neglect. **Child Maltreatment**; 10 (2): 150-172. 2005.

DENEMBERG V. Commentary: Is maternal stimulation the mediator of the handling effect on infancy? **Dev Psychobiol**; 34:1-3. 1999.

DIAMOND MC. Response of the brain to enrichment. **An. Acad. Bras. Cienc.**; 73 (2): 211-20. 2001.

DIAS GP, BEVILAQUIA MCN, SILVEIRA ACD, LANDEIRA-FERNANDEZ J, GARDINO PF. Behavioral profile and dorsal hippocampal cells in carioca high-conditioned freezing rats. **Behavioural Brain Research**; 205: 342-348. 2009.

DIAS GP. **Proliferação celular e caracterização comportamental e cognitiva num modelo animal de transtorno de ansiedade generalizada**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biofísica. UFRJ, Rio de Janeiro. 2009.

EDELMAN GM. **Biologia da consciência: as raízes do pensamento**. Lisboa: Instituto Piaget. 1995.

EISENBERG N. *Handbook of child psychology: vol. 3. Social, Emotional and Personality Development*. 6th edition; p. 226-299. New York: Wiley. 2006.

EISENBERGER NI, JARCHO JM, LIEBERMAN MD, NALIBOFF BD. An experimental study of shared sensitivity to physical pain and social rejection. **Pain.**;126(1-3):132-8. 2006.

EISENBERGER NI, LIEBERMAN MD, WILLIAMS KD. Does rejection hurt? An fMRI study of social exclusion. **Science**. 10;302(5643):290-2. 2003 Oct.

EISENBERGER NI, LIEBERMAN MD. Why rejection hurts: a common neural alarm system for physical and social pain. **Trends in Cognitive Sciences**; 8 (7): 294-300. 2004.

ELKIS ET AL. Neuroimagem estrutural e psicopatologia: sintomas positivos e negativos e dilatação ventricular na esquizofrenia. **Rev Bras Psiquiatr**;23(Supl I):19-23. 2001.

EPPEL AB. Uma visão psicobiológica da personalidade limítrofe. **Rev. psiquiatr. Rio Gd. Sul**; 27 (3): 262-268, set./dez. 2005.

ERKA S, KIEFERA M, GROTHEA JO, WUNDERLICHB AP, SPITZERA M, WALTER H. Emotional context modulates subsequent memory effect. **NeuroImage**: 18 (2): 439-447. 2003.

FERNALD LCH, KARIGER P, ENGLE P, RAIKES A. **Examining Early Child Development in Low-Income Countries: A Toolkit for the Assessment of Children in the First Five Years of Life.** (World Bank). 2009

FERRARI ET AL. Structural magnetic resonance imaging in anxiety disorders: an update of research findings. **Rev Bras Psiquiatr.**; 30(3):251-64. 2008.

FONAGY P. Apegos patológicos y acción terapéutica. **Aperturas Psicoanalíticas**; 04. 2000.

FONAGY P. Persistencias transgeneracionales del apego: una nueva teoría. **Aperturas Psicoanalíticas**. 03; 1999.

FRANCIS D, DIORIO J, LIU D, MEANEY MJ. Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress response in the rat. **Science**; 286:1155-1158. 1999.

FRANCIS DD, DIORIO J, PLOTSKY PM, MEANEY MJ. Environmental enrichment reverses the effects of maternal separation on stress reactivity. **The Journal of Neuroscience**; 22(18): 7840-7843. 2002.

FRANK J, LANDEIRA-FERNANDEZ J. Rememoração, subjetividade e as bases neurais da memória autobiográfica. **Psic Clin, Rio de Janeiro**, vol. 18, N. 1, p.35-47, 2006.

FREUD S. **Artigos sobre técnica – A dinâmica da transferência.** Edição Standard das Obras Psicológicas Completas de Sigmund Freud. Rio de Janeiro: Imago Editora. Volume XII. 1912/1990.

_____. **Análise terminável e interminável.** Edição Standard das Obras Psicológicas Completas de Sigmund Freud. Rio de Janeiro: Imago Editora. Volume XXIII. 1937/1990.

FURMARK T, TILLFORS M, MARTEINSDOTTIR I, FISCHER H, PISSIOTA A, LANGSTROM B, et al. Common changes in cerebral blood flow in patients with social phobia treated with citalopram or cognitive-behavioral therapy. **Arch Gen Psychiatry**.;59:425-33. 2002.

GARTSIDE SE, JOHNSON DA, LEITCH MM, TROAKES C, INGRAM CD. Early life adversity programs changes in central 5-HT neuronal

function in adulthood. **European Journal of Neuroscience**.; 17(11):2401 – 2408. Published Online: 18 Jun 2003. 2001.

GATT JM, NEMEROFF CB, SCHOFIELD PR, PAUL RH, CLARK CR, GORDON E, WILLIAMS LM. Early Life Stress Combined with Serotonin 3A Receptor and Brain-Derived Neurotrophic Factor Valine 66 to Methionine Genotypes Impacts Emotional Brain and Arousal Correlates of Risk for Depression. **Biol Psychiatry**. 2010a Aug 20. [*in press*].

GATT JM, WILLIAMS LM, SCHOFIELD PR, DOBSON-STONE C, PAUL RH, GRIEVE SM, CLARK CR, GORDON E, NEMEROFF CB. Impact of the HTR3A gene with early life trauma on emotional brain networks and depressed mood. **Depress Anxiety**. Aug; 27(8):752-9. 2010b.

GIBB BE, CHELMINSKI I, ZIMMERMAN M. Childhood emotional, physical, and sexual abuse, and diagnoses of depressive and anxiety disorders in adult psychiatric outpatients. **Depression and anxiety**; 24:256-263. 2006.

GLEITMAN IL. **Psicologia**. Lisboa: Fundação Caboste Gülkenkian. 1993.

GOMES VC, LANDEIRA-FERNANDEZ J. Amygdaloid lesions produce similar contextual fear conditioning disruption in the Carioca high – and low-conditioned freezing rats. **Brain Research**; 1233: 137-145. 2008.

GOULD E. Serotonin and hippocampal neurogenesis. **Neuropsychopharmacology**; 21: 46S–51S. 1999.

GROSS C, HEN R. The developmental origins of anxiety. **Nature**.; 5:545-552. 2004.

GUNNAR MR, FISHER PA. Bringing basic research on early experience and stress neurobiology to bear on preventive interventions for neglected and maltreated children. **Dev Psychopathol**.;18(3):651-77. Summer 2006.

GUNNAR MR, QUEVEDO K. The neurobiology of stress and development. **Annu Rev Psychol**.;58:145-73. 2007.

GUNNAR MR. Integrating neuroscience and psychological approaches in the study of early experiences. **Ann N Y Acad Sci**.;1008:238-47. 2003 Dec.

GUYTON AC: **Neurociência Básica: anatomia e fisiologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1997.

HABEL U, WINDISCHBERGER C, DERNTL B, ROBINSON S, KRYSPIN-EXNER I, GUR RC, MOSER E. Amygdala activation and facial expressions: explicit emotion discrimination versus implicit emotion processing. **Neuropsychologia**.;45(10):2369-77. 2007 Jun 11.

HAMARTA E, DENIZ ME, SALTALI N. Attachment Styles as a Predictor of Emotional Intelligence. **Educational Sciences: Theory and Practice**; 9 (1): 213-229. 2009.

HANDLEY SL, MITHANI S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**; 327, 1-5. 1984.

HARLOW H. The nature of love. **American Psychologist**; 13, 673-685. 1958.

HEIM C, NEMEROFF CB. The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. **Biol Psychiatry**.;46(11):1509-22. 1999 Dec 1.

HEIM C, NEMEROFF CB. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. **Biol Psychiatry**. 49; 1023-1039. 2001.

HEIM C, NEWPORT DJ, MLETZKO T, MILLER AH, NEMEROFF CB. The link between childhood trauma and depression: insights from HPA axis studies in humans. **Psychoneuroendocrinology**; 33: 693-710. 2008.

HEIM C, PLOTSKY PM, NEMEROFF CB. Importance of studying the contributions of early adverse experience to neurobiological findings in depression. **Neuropsychopharmacology**; 29: 641-648. 2004.

HEINRICHS M, GAAB J. Neuroendocrine mechanisms of stress and social interaction: implications for mental disorders. **Curr Opin Psychiatry**.;20(2):158-62. 2007 Mar.

HOLMES A, KINNEY JW, WRENN CC ET AL. Galanin GAL-R1 Receptor Null Mutant Mice Display Increased Anxiety-Like Behavior Specific to the Elevated Plus-Maze. **Neuropsychopharmacology**; 28: 1031-1044. 2003.

HUTTENLOCHER PR. Synaptogenesis, synapse elimination, and neural plasticity in human cortex. In: CA Nelson (ed.), **Threats to optimal development: The Minnesota Symposium on child psychology**. Vol. 27: 35-54. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum; 1994.

JESSEL TM, SANES JR. Development: the decade of the developing brain. **Current Opinion in Neurobiology**; 10:599-611. 2000.

JURUENA MF, MARQUES AH, MELLO AF, MELLO MF. A paradigm to understanding and treating psychiatric illness. **Rev Bras Psiquiatr**.; 29 (Supl I):s1-2. 2007.

KANDEL ER. **Fundamentos de Neurociência do Comportamento**. Editora Guanabara. 2002.

KANDEL ER. The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses. **Nobel lecture. Bioscience Reports**; 21(5):565-611. 2002.

KAUFMAN J, PLOTSKY PM, NEMEROFF CB, CHARNEY DS. Effects of early adverse experiences on brain structure and function: clinical implications. **Biol Psychiatry**., 48; 778-790. 2000.

KENDLER KS, KUHN JW, PRESCOTT CA. Childhood sexual abuse, stressful life events and risk for major depression in women. **Psychol Med.**; 34 (8): 1475-82. 2004 Nov.

KIM JJ, RISON RA, FANSELOW MS. Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short- and long-term contextual fear. **Behavioral**; 107 (6): 1093-1098; 1993.

KIM SH, HAMANN S. Neural correlates of positive and negative emotion regulation. **J Cogn Neurosci.**; 19(5):776-98. 2007 May.

KOLB, WHISHAW. **Neurociência do Comportamento**. São Paulo: Editora Manole, 2002.

LADD C, HUOT RL, PLOTSKY PM. Differential neuroendocrine responses to chronic variable stress in adult Long Evans rats exposed to handling-maternal separation as neonates. **Psychoneuroendocrinology**; 30: 520-533. 2000.

LANDEIRA-FERNANDEZ J, BRANDAO ML, ZANOVELI JM, RUIZ-MARTINEZ RC, OLIVEIRA LC. Different patterns of freezing behavior organized in the periaqueductal grays of rats: association with different types of anxiety. **Behavioural Brain Research**,; 188: 1-13. 2008.

LANDEIRA-FERNANDEZ J, CALLEGARO MM. Pesquisas em neurociência e suas implicações na prática psicoterápica. In: Cordioli A. V. (org.). **Psicoterapias: abordagens atuais**. p. 851-872. 2 ed... Porto Alegre: ArtMed. 2007.

LANDEIRA-FERNANDEZ J, CRUZ APM, BRANDÃO ML. Padrões de respostas defensivas de congelamento associado a diferentes transtornos de ansiedade. **Psicologia USP**; 17 (4): 175-192. , 2006.

LANDEIRA-FERNANDEZ J, CRUZ APM. A interpretação psicobiológica da clínica psicológica. Por que a terapia funciona? Por que os psicoterapeutas devem ter o direito de prescrever drogas psicotrópicas? **Cadernos de Psicologia**,; 9: 120-145. 1998a.

LANDEIRA-FERNANDEZ J, CRUZ APM. Da filosofia à neurobiologia: o que o psicólogo precisa saber sobre os efeitos da psicoterapia no sistema nervoso. **Temas em Psicologia (Ribeirão Preto)**, 1998b.

LANDEIRA-FERNANDEZ J, FRANK J. Rememoração, subjetividade e as bases neurais da memória autobiográfica. **Psic Clin, Rio de Janeiro**, vol. 18, N. 1, p.35-47, 2006.

LANDEIRA-FERNANDEZ J, OLIVEIRA LC, BROIZ AC, MACEDO CE, BRANDÃO ML. 5-HT2 receptor mechanisms of the dorsal periaqueductal gray in conditioned and unconditioned fear in rats. **Psychopharmacology (Berl)**,; 191: 253-262. 2007.

LANDEIRA-FERNANDEZ J, SILVA MTA. (orgs.). **Intersecções entre psicologia e neurociências**. Rio de Janeiro: MedBook. 2007.

LANDGRAF R, WIGGER A. High vs low anxiety-related behavior rats: an animal model of extremes in trait anxiety. **Behav Genet**. Sep;32(5):301-14. 2002.

LEDOUX J. Emotion, Memory and the Brain: the neural routes underlying the formation of memories about primitive emotional experiences, such as fear, have been traced. **Scientific American**; -:32-39. June 1994.

_____. **O cérebro emocional: os misteriosos alicerces de nossa vida emocional**. Rio de Janeiro: Objetiva; 2001.

LEE JH, KIM HJ, KIM JG, RYU V, KIM BT, KANG DW, JAHNG JW. Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. **Neuroscience Research**; 58: 32-39. 2007.

LEHMANN J, FELDON J. Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: consistent or confusing? **Reviews in the Neurosciences**; 11:383-408; 2000.

LENT R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência**. São Paulo: Ed. Atheneu; 2005.

_____. **Neurociência da mente e do comportamento**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.

LEUNER B, GOULD E. Structural plasticity and hippocampal function. **Annu. Rev. Psychol.**; 61:111-40. 2010.

LEVINE S. Enduring effects of early experience on adult behavior. In: **Hormones, Brain and Behavior**. Edited by Donald W. Pfaff; Arthur P. Arnold; Anne E. Elgen; Susan E. Fahrback; Robert T. Rubin. Amsterdam: Academic Press, pp.535-542. 2002.

LIEBSH G, LINTHORST ACE, NEUMANN ID, REUL JMHM, HOLSBOER F, LANDGRAF R. Behavioral, physiological and neuroendocrine stress response and differential sensitivity to diazepam in two wistar rat lines selectively bred for high- and low-anxiety-related behavior. **Neuropsychopharmacology**; 19(5):381-396. 1998.

LIPPMANN M, BRESS A, NEMEROFF CB, PLOTSKY PM, MONTEGGIA LM. Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. **Eur J Neurosci**; 25:3091–3098. 2007.

LIU et alli. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. **Nature neuroscience.**; 3 (8): 799-806. 2000.

LOCHNER C, DU TOIT PL, ZUNGU-DIRWAYI N, MARAIS A, VAN KRADENBURG J, SEEDAT S, NIEHAUS DJH, STEIN DJ. Childhood trauma in obsessive-compulsive disorder, thicotillomania, and controls. **Depression and anxiety**; 15:66-68. 2002.

LOOS H, SANT'ANA RS. Cognição, afeto e desenvolvimento humano: a emoção de viver e a razão de existir. **Educ. Rev.**; 30: 165-182. 2007.

LUPIEN SJ, MCEWEN BS, GUNNAR MR, HEIM C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. **Nat Rev Neurosci.**;10(6):434-45. 2009 Jun.

LYONS DM, PARKER KJ, SCHATZBERG AF. Animal models of early life stress: implications for understanding resilience. **Dev Psychobiol**; 52: 402-410. 2010.

LYONS-RUTH K. La interfaz entre el apego y la intersubjetividad: perspectiva desde el estudio longitudinal de apego desorganizado. **Aperturas Psicoanalíticas**.; 29. 2008.

LYRA CES. O que é metapsicologia científica?. **Rev. psiquiatr. Rio Gd. Sul**.; 28 (3):322-329. set./dez. 2006.

MACDONALD G, LEARY MR. Why Does Social Exclusion Hurt? The Relationship Between Social and Physical Pain. **Psychological Bulletin**; 131 (2): 202-223. 2005.

MACHADO-VIEIRA R, BRESSAN RA, FREY B, SOARES JC. As bases neurobiológicas do transtorno bipolar. **Rev. Psiq. Clín.**; 32 (supl 1): 28-33. 2005.

MAIN M. Las categorías organizadas del apego en el infante, en el niño, y en el adulto; atención flexible versus inflexible bajo estrés relacionado con apego. **Aperturas Psicoanalíticas**.; 08. 2001.

MARAIS L, VAN RENSBURG SJ, VAN ZYL JM, STEIN DJ, DANIELS WMU. Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. **Neuroscience Research**; 61: 106-112. 2008.

MARTIN SJ, MORRIS RG. New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. **Hippocampus**.; 12(5): 609-36. 2002.

MATLIN MW. **Psicologia Cognitiva**. Rio de Janeiro: Editora LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2004.

MATSUO N, TANDA K et al. Comprehensive behavior phenotyping of ryanodine receptor type 3(RyR3) knockout mice: decreased social contact duration in two social interaction tests. **Frontiers in behavioral neuroscience**; 3:1-13. 2009.

MAYES LC, SWAIN JE, LECKMAN JF. Parental attachment systems: neural circuits, genes, and experiential contributions to parent engagement. **Clinica Neuroscience Research**; 4: 301-313. 2005.

MCINTOSH J, ANISMAN H, MERALI Z. Short- and long-periods of neonatal separation differentially affect anxiety and feeding on adult rats. **Developmental Brain Research**; 113: 97-106. 1999.

MCMULLIN RE. **Manual de técnicas em terapia cognitiva**. Porto Alegre: ArtMed, 2005.

MELLO AF, JURUENA MF, PARIANTE CM, TYRKA AR, PRICE LH, CARPENTER LL, DEL PORTO JA. Depression and stress: is there an endophenotype? **Rev Bras Psiquiatr.**; 29 Suppl 1:S13-8. 2007 May.

MELLO CB, MIRANDA MC, MUSZKAT M. **Neuropsicologia do desenvolvimento**. São Paulo: Memnon; 2005.

- MOREIRA, MS. **Psiconeuroimunologia**. Rio de Janeiro: Ed. Medsi; 2003.
- MORGANE P, AUSTIN-LAFRANCE RJ, BRONZINO J, TONKISS J, DIAZ-CINTRA S, CINTRA L, KEMPER T, GALLER JR. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosci Biobehav Rev**;17:91-128. 1993.
- NEIGH GN, GILLESPIE CF, NEMEROFF CB. The neurobiological toll of child abuse and neglect. **Trauma Violence Abuse**.;10(4):389-410. 2009 Oct.
- NEMEROFF CB. Early-life adversity, CRF dysregulation, and vulnerability to mood and anxiety disorders. **Psychopharmacol Bull**; 38(Suppl 1):14–20. 2004.
- NEMEROFF CB. Neurobiological consequences of childhood trauma. **J Clin Psychiatry**; 65(Suppl 1):18–28; 2003.
- NEUMANN ID, WIGGER A, KRÖMER S, FRANK E, LANDGRAF R, BOSCH OJ. Differential effects of periodic maternal separation on adult stress coping in a rat model of extremes in trait anxiety. **Neuroscience**; 132: 867-877; 2005.
- NEVES G, COOKE SF, BLISS TV. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. **Nat Rev Neurosci**.; 9(1):65-75. 2008 Jan.
- NEVES LMMF. **Vinculação, episódios emocionais e compreensão emocional nas perturbações alimentares**. Tese de Doutorado em Psicologia. Universidade do Minho – Portugal. (2008). Disponível em <http://hdl.handle.net/1822/9031>. Acesso em Agosto de 2009.
- NEWPORT DJ, STOWE ZN, NEMEROFF CB. Parental depression: animal models of an adverse life event. **Am J Psychiatry**; 159:1265-1283. 2002.
- O'MAHONY SM, MARCHESI JR, SCULLY P, CODLING C, CEOLHO AM, QUIGLEY EM, CRYAN JF, DINAN TG. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. **Biol Psychiatry**; 65:263–267. 2009.
- O'MALLEY D, DINAN TG, CRYAN JF. Neonatal maternal separation in the rat impacts on the stress responsivity of central corticotropin-releasing factor receptors in adulthood. **Psychopharmacology**. Publicado on line em 25/05/2010. Disponível em <http://www.springerlink.com/content/484n18127t545762/>. 2010.
- O'MALLEY D, JULIO-PIEPER M, GIBNEY SM, DINAN TG, CRYAN JF. Distinct alterations in colonic morphology and physiology in two rat models of enhanced stress-induced anxiety- and depression-like behavior. **Stress**; 13:114–122. 2010.
- OLIVA AD, DIAS GP, REIS RAM. Plasticidade sináptica: natureza e cultura moldando moldando o self. **Psicologia: Reflexão e Crítica**; 22(1): 128-135. 2009.

OLIVA AD, OTTA E, RIBEIRO FL *et al.* Razão, emoção e ação em cena: a mente humana sob um olhar evolucionista. **Psic.: Teor. e Pesq.**; 22 (1): 53-61. jan./abr. 2006.

OLIVEIRA LC, NOBRE MJ, BRANDÃO ML, LANDEIRA-FERNANDEZ J. Role of amygdala in conditioned and unconditioned fear generated in the periaqueductal gray. **Neuroreport**;15(14):2281-5. 2004 Oct 5.

PAPALIA, DE; OLDS, SW. **Desenvolvimento Humano**. Porto Alegre: ArtMed; 2000.

PELLOW S, CHOPIN P, FILE SE, BRILEY M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Neurosci Methods**; 14(3):149-67. 1985 Aug.

PENZA KM, HEIM C, NEMEROFF CB. Neurobiological effects of childhood abuse: implications for the pathophysiology of depression and anxiety. **Arch Women Ment Health**; 6: 15-22. 2003.

PERES JFP, NASELLO AG. Achados da neuroimagem em transtorno de estresse pós-traumático e suas implicações clínicas. **Rev. Psiq. Clín.** 32 (4); 189-201, 2005.

PERGER GK, GRASSI-OLIVEIRA R, ÁVILA LM *et al.* Memória, humor e emoção. **Rev. psiquiatr. Rio Gd. Sul**; 28 (1): 61-68. jan./abr. 2006.

PERRY BD. Incubated in terror: Neurodevelopmental factor in the 'cycle of violence'. In: **Children, Youth and Violence: The Search for Solutions** (J Osofsky, Ed.). Guilford Press, New York, pp. 124-148, 1997.

PHELPS EA. Human emotion and memory: interactions of the amygdala and hippocampal complex. **Curr Opin Neurobiol.** 2004 Apr;14(2):198-202.

PINEL JPJ. **Biopsicologia**. Porto Alegre: ArtMed; 2005.

PLOTSKY PM, MEANEY MJ. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. **Brain Res. Mol. Brain Res**; 8: 195-200. .1993.

PLOTSKY PM, THRIVIKRAMAN KV, NEMEROFF CB, CALDJI C, SHARMA S, MEANEY MJ. Long-term consequences of neonatal rearing on central corticotropin-releasing factor systems in adult male rat offspring. **Neuropsychopharmacology**; 30(12):2192-204. 2005.

PRYCE CR, BETTSCHEN D, FELDON J. Comparison of the effect of early deprivation on maternal care in the rat. **Dev Psychobiol**; 38: 239-251. 2001.

QUEVEDO J, FEIER G, AGOSTINHO FR *et al.* Consolidação da memória e estresse pós-traumático. **Rev. Bras. Psiquiatr.**; 25 (supl.1):25-30. jun. 2003.

RANGÉ B. (org.). **Psicoterapia comportamental e cognitiva de transtornos psiquiátricos**. Campinas: Editorial Psy II. 1995.

_____. (org.). **Psicoterapia comportamental e cognitiva: pesquisa, prática, aplicações e problemas**. São Paulo: Editorial Psy II. 1998.

RAPOPORT JL, GOGTAY N. Brain neuroplasticity in healthy, hyperactive and psychotic children: insights from neuroimaging. **Neuropsychopharmacology**; 33:181-197. 2008.

RESSLER KJ, BRADLEY B, MERCER KB, DEVEAU TC, SMITH AK, GILLESPIE CF, NEMEROFF CB, CUBELLS JF, BINDER EB. Polymorphisms in CRHR1 and the serotonin transporter loci: gene x gene x environment interactions on depressive symptoms. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.**;153B(3):812-24. 2010 Apr 5.

RICE F, HAROLD GT, BOIVIN J, VAN DEN BREE M, HAY DF, THAPAR A. The links between prenatal stress and offspring development and psychopathology: disentangling environmental and inherited influences. **Psychol Med.**;40(2):335-45. 2010 Feb.

RIUL TR, CARVALHO AF, ALMEIDA PS, DE-OLIVEIRA LM, ALMEIDA SS. Ethological analysis of mother-pup interactions and other behavioral reactions in rats: effects of malnutrition and tactile stimulation of the pups. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**; 32:975-983. 1999.

ROCINHOLI LF, LANDEIRA-FERNANDEZ J. Anxiety-like behavior in weanling and young adult male and female malnourished rats. **Physiology and behavior** 2010. [In press].

RODGERS RJ, JOHNSON NTJ. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacology biochemistry and behavior**; 52(2):297-303. 1995.

ROY V, CHAPILLON P. Further evidence that risk assessment and object exploration behaviours are useful to evaluate emotional reactivity in rodents. **Behavioural Brain Research**; 154: 439-448. 2004.

ROZENEL V. Los Modelos Operativos Internos (IWM) dentro de la teoría del apego. **Aperturas Psicoanalíticas**; 23. 2006.

RUTTER M, MAUGHAN B. Psychosocial adversities in childhood and adult psychopathology; **Journal of personality disorders.**, vol. 11, no 1 (104 p.) (3 p.3/4), pp. 4-18. 1997.

SAKAI Y, KUMANO H, NISHIKAWA M, SAKANO Y, KAIYA H, IMABAYASHI E, et al. Changes in cerebral glucose utilization in patients with panic disorder treated with cognitive-behavioral therapy. **Neuroimage.**;33(1):218-26. 2006 Oct 15.

SANTANA SM, ROAZZI A, DIAS MGBB. Paradigmas do desenvolvimento cognitivo: uma breve retrospectiva. **Estud. psicol. (Natal)**, vol.11, no.1, p.71-78, jan./abr. 2006.

SCARPELLI G, ALVES SH, LANDEIRA-FERNANDEZ J, CRUZ APM. Effects of two selective 5-HT receptor-acting compounds into the ventral hippocampus of rats exposed to the elevated plus-maze. **Psychology and neuroscience**; 1(1): 87-96. 2008.

SCHECHTER DS, WILLHEIM E. Disturbances of attachment and parental psychopathology in early childhood. **Child Adolesc Psychiatric Clin N Am**; 18: 665-686. 2009.

SCHNELL K, HERPERTZ SC. Effects of dialectic-behavioral-therapy on the neural correlates of affective hyperarousal in borderline personality disorder. **J Psychiatr Res.**;41(10):837-47. 2007 Nov.

SERGERIE K, LEPAGE M, ARMONY JL. A process-specific functional dissociation of the amygdala in emotional memory. **J Cogn Neurosci.**; 18(8):1359-67. 2006 Aug.

SEYMOUR B, DOLAN R. Emotion, decision making, and the amygdala. **Neuron.**; 58(5):662-71. 2008 Jun 12.

SOMMER T, GLÄSCHER J, MORITZ S, BÜCHEL C. Emotional enhancement effect of memory: removing the influence of cognitive factors. **Learn Mem.** 15(8):569-73. 2008 Aug 6.

SOUSSUMI Y. Tentativa de integração entre algumas concepções básicas da psicanálise e da neurociência. **Psicol. clin**;18(1):63-82, 2006.

SPEAR LP. Neurobehavioral changes in adolescence. **Current Directions in Psychology Science.**; 9 (4): 111-114. 2000 Aug.

SPINHOVEN P, ELZINGA BM, HOVENS JGFM, ROELOFS K, ZITMAN FG, VAN OPPEN P, PENNINX BWJH. The specificity of childhood adversities and negative life events across the life span to anxiety and depressive disorders. **Journal of Affective Disorders.**; 126 (1-2): 103-112. 2010.

SPRINGER S P, DEUTSCH G. **Cérebro esquerdo, cérebro direito: perspectivas da neurociência cognitiva.** São Paulo: Editora Santos. 2008.

SROUFE LA, EGELAND B, KREUTZER T. The fate of early experience following developmental change: longitudinal approaches to individual adaptation in childhood. **Child Dev.**;61(5):1363-73. 1990 Oct.

STECKLER T, DAUTZENBERG FM. Corticotropin-releasing factor receptor antagonists in affective disorders and drug dependence—an update. **CNS Neurol Disord Drug Targets**; 5:147–165. 2006.

STERN D. **O mundo interpessoal do bebê.** Porto Alegre: ArtMed; 1992.

STERNBERG RJ. **Psicologia Cognitiva.** Porto Alegre: Artmed. 2008.

STEVENS JH, BAKEMAN R. A factor analytic study oh the HOME scale for infants. **Developmental Psychology.**; 21 (6): 1106-1203. 1985.

THOMPSON RF. **O cérebro – uma introdução a neurociência.** São Paulo: Editora Santos; 2005.

UCHIDA S, HARA K, KOBAYASHI A, OTSUKI K, HOBARA T, YAMAGATA H, WATANABE Y. Maternal and genetic factors in stress-resilient and -vulnerable rats: a cross-fostering study. **Brain Res.** Feb 26;1316:43-50. 2010.

VASCONCELLOS SJL, MACHADO SS. Construtivismo, psicologia experimental e neurociência. **Psicol. Clin**; 18 (1):83-94, 2006.

VASIC N. et al. Gray matter reduction associated with psychopathology and cognitive dysfunction in unipolar depression: A voxel-based morphometry study. **Journal of Affective Disorders**; 109:107–116. 2008.

VYTHILINGAM M, HEIM C, NEWPORT J, MILLER AH, ANDERSON E, BRONER R, BRUMMER M, STAIB L, VERMETTEN E, CHARNEY DS, NEMEROFF CB, BREMMER JD. Childhood trauma associated with smaller hippocampal volume in women with major depression. **Am J Psychiatry**; 159:2072-2080. 2002.

WIGGER A, NEUMANN ID. Periodic maternal deprivation induces gender-dependent alterations in behavioral and neuroendocrine responses to emotional stress in adult rats. **Physiol Behav** 66:293–302; 1999.

WINOGRAD M, COIMBRA CAQ, LANDEIRA-FERNANDEZ J. O que se traz para a vida e o que a vida nos traz: uma análise da equação etiológica proposta por Freud à luz das neurociências. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, 20 (2), 414-424, 2007.

WINOGRAD M, SOLERO-DE-CAMPOS F, LANDEIRA-FERNANDEZ J. Resenha: um diálogo entre a psicanálise e a neurociência. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**; 21 (1): -.2005.

YOUNG JE, KLOSKO JS, WEISHAAR ME. **Terapia do Esquema: guia de técnicas cognitivo-comportamentais inovadoras**. Porto Alegre: ArtMed; 2008.

YOUNG JE. **Terapia cognitiva para transtornos de personalidade: uma abordagem focada no esquema**. Porto Alegre: Artmed; 2003.

ANEXOS

Lista de Anexos:

Anexo 1 – Documento do Comitê de Ética em Pesquisa – PUC-Rio

Anexo 2 – Tabelas do SPSS

Anexo 1 – Documento do Comitê de Ética em Pesquisa – PUC-Rio



PSI.COMITÊ DE ÉTICA: 03/2010

DECLARAÇÃO


Declaramos, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa de Mestrado desenvolvido pela aluna **Érica de Lana Meirelles**, sob a orientação do Prof. J. Landeira - Fernandez, intitulado *"Desenvolvimento e emocionalidade: o impacto das experiências emocionais iniciais no desenvolvimento de transtornos psicológicos"* foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Departamento de Psicologia.

Rio de Janeiro, 16 de março de 2010.

Comitê de Ética em Pesquisa do Departamento de Psicologia


Prof. Carlos Augusto Peixoto Junior


Profa. Carolina Lampreia


Prof. Jesus Landeira Fernandez


Profa. Silvia Maria Abu-Jamra Zornig

Anexo 2 – Tabelas do SPSS

**ANALISE DE MEDIAS – TODOS OS SUBGRUPOS – TODAS VD'S
SESSAO INTEIRA**

Report

subgrupo		lat	ba	bf	total	PORC_BA	t_centro	t_ba	t_bf	PORC_T_BA	end_expl	PORC_END
c21	Mean	3,3333	3,0000	6,7500	9,7500	26,8517	54,4167	22,9167	2,2267 E2	7,6392	,3333	5,0100
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	1,15689	,76871	1,03078	1,69279	4,81239	9,77974	5,53290	1,26888 E1	1,84449	,14213	2,97737
c50	Mean	1,8750	3,5000	7,1250	10,6250	29,8888	29,1250	46,3750	2,2450 E2	15,4575	1,1250	15,0000
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	,58056	1,00000	,47949	1,33547	4,41509	3,88421	1,45393 E1	1,61963 E1	4,84683	,87500	10,00000
c70	Mean	4,3333	3,8889	6,6667	10,5556	35,3489	56,8889	58,3333	1,8444 E2	19,4456	2,7778	53,1489
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	Std. Error of Mean	1,92931	,87312	,64550	1,01531	5,02662	1,32575 E1	1,47158 E1	2,08141 E1	4,90569	1,25585	14,90318
ch21	Mean	4,5000	4,3000	9,3000	13,6000	29,4950	59,1000	31,1000	2,0980 E2	10,3660	,5000	6,5080
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Std. Error of Mean	1,40831	,81718	,59722	1,11754	4,11842	6,98164	6,60547	9,47019	2,20200	,34157	4,60334
ch50	Mean	3,8750	6,5000	7,6250	14,1250	44,8175	49,3750	75,0000	1,6300 E2	25,0013	3,1250	43,2588
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	1,48128	,94491	,53243	1,28782	2,67543	8,13049	1,40166 E1	2,52445 E1	4,67200	1,17165	15,45555
ch70	Mean	4,6923	3,7692	7,6154	11,3846	30,4662	55,6154	53,7692	1,9062 E2	17,9223	1,7692	35,9285
	N	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
	Std. Error of Mean	1,72606	,77752	,43173	,85888	4,51900	5,14973	1,16757 E1	1,24115 E1	3,89171	,66172	11,03218
h21	Mean	7,5000	4,9000	8,2000	13,1000	36,0890	61,0000	56,0000	1,8300 E2	18,6660	,9000	14,4690
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Std. Error of Mean	1,80278	,87496	,71181	1,01598	4,54539	7,86977	1,41429 E1	1,42150 E1	4,71418	,43333	6,20432
h50	Mean	3,3750	4,5000	9,2500	13,7500	29,4200	42,5000	79,8750	1,7762 E2	26,6250	3,1250	46,2312
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	1,13291	1,19523	,92099	1,76017	5,94725	5,00714	1,85236 E1	2,14501 E1	6,17444	1,25978	15,59465
h70	Mean	5,2143	3,9286	6,9286	10,8571	33,6407	57,5000	66,1429	1,7636 E2	22,0486	2,3571	37,5850
	N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
	Std. Error of Mean	,72003	,75930	,45045	,74019	4,89323	6,89570	1,52592 E1	1,68414 E1	5,08601	,88707	10,37598
hms21	Mean	4,0909	4,0909	8,8182	12,9091	30,6300	44,2727	60,4545	1,9527 E2	20,1527	1,9091	39,0900
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Std. Error of Mean	,66680	,77991	,94213	1,20947	4,45352	5,99559	1,05342 E1	7,65398	3,51122	,75624	11,18333
hms50	Mean	7,1250	4,0000	7,5000	11,5000	29,8725	48,5000	66,1250	1,8538 E2	22,0400	1,1250	20,0000
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	4,12500	1,06904	,77919	1,51186	6,36355	9,85248	1,77979 E1	2,22317 E1	5,93248	,44068	7,79194
hms70	Mean	5,9091	4,7273	8,0909	12,8182	36,8136	64,1818	77,4545	1,6018 E2	25,8182	2,5455	45,4800
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Std. Error of Mean	1,42990	,61925	,74412	1,06871	3,10605	3,96076	8,75979	9,97526	2,91960	,75515	9,55083
ms21	Mean	2,0000	3,1667	7,7500	10,9167	27,5567	42,3333	28,6667	2,2900 E2	9,5542	,8333	23,2633
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	,57735	,58818	,88869	1,11095	4,84914	5,54914	5,59942	7,39574	1,86861	,42343	9,58765
ms50	Mean	1,7500	2,6250	7,6250	10,2500	24,9325	50,0000	39,8750	2,1013 E2	13,2900	,7500	19,1662
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	,90139	,56497	1,01660	1,19149	4,86650	9,74679	1,13160 E1	1,20866 E1	3,77199	,49099	12,37230
ms70	Mean	2,2500	5,0000	8,8333	13,8333	34,7017	58,5000	63,5833	1,7792 E2	21,1933	2,9167	47,0267
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	,71906	,82572	,79614	1,07895	4,82859	6,31197	1,12070 E1	1,43919 E1	3,73603	,77321	9,10854
Total	Mean	4,1429	4,0974	7,8571	11,9545	31,9718	52,2922	54,4026	1,9276 E2	18,1340	1,7338	30,2889
	N	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154
	Std. Error of Mean	,38601	,21504	,19919	,31666	1,22666	1,95916	3,32222	4,05442	1,10741	,20144	2,82979

ANALISE DE MEDIAS – 5 GRUPOS – TODAS VD'S – SESSAO INTEIRA

Report

GRUPO		lat	ba	bf	total	PORC_BA	t_centro	t_ba	t_bf	PORC_T_BA	end_expl	PORC_END
C	Mean	3,2414	3,4138	6,8276	10,2414	30,3266	48,2069	40,3793	2,1131 E2	13,4600	1,3103	22,7055
	N	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Std. Error of Mean	,77627	,48757	,47620	,82846	2,79454	6,09639	6,86955	9,71073	2,29003	,48399	6,59671
CH	Mean	4,4194	4,6452	8,1613	12,8065	33,8565	55,1290	51,9355	1,8968 E2	17,3116	1,7097	28,3297
	N	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31
	Std. Error of Mean	,90965	,51127	,32161	,62805	2,62615	3,68833	6,94339	9,13135	2,31445	,44768	6,68542
H	Mean	5,4687	4,3750	7,9062	12,2812	33,3506	54,8438	66,4062	1,7875 E2	22,1356	2,0937	32,5228
	N	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	Std. Error of Mean	,73504	,51146	,40000	,64949	2,90953	4,11946	9,09901	9,82939	3,03286	,52433	6,49124
HMS	Mean	5,5667	4,3000	8,2000	12,5000	32,6953	52,7000	68,2000	1,7977 E2	22,7333	1,9333	36,3423
	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	Std. Error of Mean	1,20886	,45016	,48042	,69934	2,58375	3,93749	6,78257	7,74473	2,26072	,40947	5,90436
MS	Mean	2,0312	3,7188	8,1250	11,8438	29,5800	50,3125	44,5625	2,0512 E2	14,8528	1,5937	31,1503
	N	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	Std. Error of Mean	,40031	,43356	,50750	,69141	2,84768	4,04272	5,97693	7,69016	1,99242	,38849	6,07227
Total	Mean	4,1429	4,0974	7,8571	11,9545	31,9718	52,2922	54,4026	1,9276 E2	18,1340	1,7338	30,2889
	N	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154
	Std. Error of Mean	,38601	,21504	,19919	,31666	1,22666	1,95916	3,32222	4,05442	1,10741	,20144	2,82979

ANALISE DE MEDIAS – 3 IDADES (21, 50 E 70 DIAS) – TODAS VD'S – SESSAO INTEIRA

Report

Idade		lat	ba	bf	total	PORC_BA	t_centro	t_ba	t_bf	PORC_T_BA	end_expl	PORC_END
21	Mean	4,1636	3,8364	8,1091	11,9455	29,9213	51,8000	39,1818	2,0802 E2	13,0604	,8909	17,8007
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
	Std. Error of Mean	,55582	,34207	,39498	,58857	2,03476	3,37174	4,31411	5,09357	1,43806	,21189	3,72118
50	Mean	3,6000	4,2250	7,8250	12,0500	31,7862	43,9000	61,4500	1,9212 E2	20,4828	1,8500	28,7312
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
	Std. Error of Mean	,93493	,46339	,34878	,65823	2,38912	3,50600	7,01947	9,19212	2,33986	,42146	5,74883
70	Mean	4,4915	4,2542	7,6441	11,8983	34,0092	58,4407	63,8136	1,7803 E2	21,2712	2,4407	42,9864
	N	59	59	59	59	59	59	59	59	59	59	59
	Std. Error of Mean	,59482	,34240	,28375	,43830	2,00635	3,07877	5,61686	6,64504	1,87225	,37317	4,76839
Total	Mean	4,1429	4,0974	7,8571	11,9545	31,9718	52,2922	54,4026	1,9276 E2	18,1340	1,7338	30,2889
	N	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154
	Std. Error of Mean	,38601	,21504	,19919	,31666	1,22666	1,95916	3,32222	4,05442	1,10741	,20144	2,82979

ANALISE DE MEDIAS – MANIPULADOS X NÃO-MANIPULADOS – TODAS
VD'S – SESSAO INTEIRA

Report

manip		lat	ba	bf	total	PORC_BA	t_centro	t_ba	t_bf	PORC_T_BA	end_expl	PORC_END
s	Mean	5,5161	4,3387	8,0484	12,3871	33,0335	53,8065	67,2742	1,7924 E2	22,4248	2,0161	34,3710
	N	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62
	Std. Error of Mean	,69132	,33949	,30889	,47260	1,93852	2,83486	5,68433	6,25653	1,89468	,33284	4,37393
n	Mean	3,2174	3,9348	7,7283	11,6630	31,2563	51,2717	45,7283	2,0187 E2	15,2423	1,5435	27,5379
	N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
	Std. Error of Mean	,42436	,27813	,26098	,42308	1,58846	2,67275	3,79636	5,12985	1,26550	,25133	3,69969
Total	Mean	4,1429	4,0974	7,8571	11,9545	31,9718	52,2922	54,4026	1,9276 E2	18,1340	1,7338	30,2889
	N	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154
	Std. Error of Mean	,38601	,21504	,19919	,31666	1,22666	1,95916	3,32222	4,05442	1,10741	,20144	2,82979

ANALISE DE MEDIAS – SEPARADOS (POR 3H) X NÃO-SEPARADOS –
TODAS VD'S – SESSAO INTEIRA

Report

sep_3h		lat	ba	bf	total	PORC_BA	t_centro	t_ba	t_bf	PORC_T_BA	end_expl	PORC_END
s	Mean	3,7419	4,0000	8,1613	12,1613	31,0874	51,4677	56,0000	1,9285 E2	18,6660	1,7581	33,6626
	N	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62
	Std. Error of Mean	,65526	,31193	,34738	,48955	1,92417	2,80653	4,71594	5,65175	1,57200	,28041	4,21915
n	Mean	4,4130	4,1630	7,6522	11,8152	32,5678	52,8478	53,3261	1,9270 E2	17,7754	1,7174	28,0153
	N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
	Std. Error of Mean	,47265	,29337	,23665	,41644	1,59766	2,68994	4,58086	5,64215	1,52694	,28049	3,78867
Total	Mean	4,1429	4,0974	7,8571	11,9545	31,9718	52,2922	54,4026	1,9276 E2	18,1340	1,7338	30,2889
	N	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154	154
	Std. Error of Mean	,38601	,21504	,19919	,31666	1,22666	1,95916	3,32222	4,05442	1,10741	,20144	2,82979

TESTE T DE STUDENT – GRUPOS MANIPULADOS (H, HMS) X NÃO
MANIPULADOS (C, CH, MS)
TODAS AS VD'S – SESSÃO INTEIRA

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
lat	Equal variances assumed Equal variances not assumed	1,883	,172	2,996	152	,003	2,29874	,76736	,78267	3,81481	
ba	Equal variances assumed Equal variances not assumed	,002	,967	,921	152	,359	,40393	,43869	-,46280	1,27065	
bf	Equal variances assumed Equal variances not assumed	,026	,873	,787	152	,432	,32013	,40667	-,48332	1,12357	
total	Equal variances assumed Equal variances not assumed	,133	,716	1,122	152	,264	,72405	,64515	-,55056	1,98867	
PORC_BA	Equal variances assumed Equal variances not assumed	,035	,853	,709	152	,479	1,77724	2,50530	-,317246	6,72695	
t_centro	Equal variances assumed Equal variances not assumed	,698	,405	,633	152	,528	2,53471	4,00269	-,537337	10,44280	
t_ba	Equal variances assumed Equal variances not assumed	3,561	,061	3,280	152	,001	21,54593	6,56794	8,56870	34,52217	
t_bf	Equal variances assumed Equal variances not assumed	,027	,870	-,2797	152	,006	-,22,62763	8,08877	-,38,60857	-,6,64669	
PORC_T_BA	Equal variances assumed Equal variances not assumed	3,558	,061	3,281	152	,001	7,18256	2,18930	2,85717	11,50794	
end_expl	Equal variances assumed Equal variances not assumed	,401	,527	1,152	152	,251	,47265	,41031	-,33799	1,28329	
PORC_END	Equal variances assumed Equal variances not assumed	,301	,584	1,133	123,483	,259	,47265	,41707	-,35289	1,29819	
				1,193	152	,238	6,83303	5,76247	-,4,55185	18,21792	
				1,193	133,651	,235	6,83303	5,72878	-,4,49777	18,16384	

TESTE T DE STUDENT – GRUPOS SEPARADOS POR 3H (MS, HMS) X NÃO SEPARADOS (C, CH, H)
TODAS AS VD'S – SESSÃO INTEIRA

	Levene's Test for Equality of Variances		Independent Samples Test						95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
										t-test for Equality of Means
lat	,064	,801	-,852	152	,396	-,67111	,78781	-2,22758	,88536	
ba	3,694	,056	-,371	152	,711	-,16304	,43972	-1,03179	,70570	
bf	5,458	,021	1,256	152	,211	,50912	,40540	-,29182	1,31006	
total	,026	,871	,535	152	,594	,34607	,64721	-,93261	1,62476	
PORC_BA	,048	,827	-,591	152	,556	-,148041	2,50657	-6,43262	3,47181	
t_centro	1,116	,292	-,344	152	,731	-,138008	4,00640	-9,29551	6,53534	
t_ba	,946	,332	-,355	143,420	,723	-,138008	3,88747	-9,06422	6,30405	
t_bf	1,613	,206	,019	152	,985	,15919	8,29437	-16,22795	16,54632	
PORC_T_BA	,946	,332	,393	152	,695	,89053	2,26434	-3,58310	5,36417	
end_expl	1,446	,231	,099	152	,922	,04067	,41208	-,77347	,85482	
PORC_END	,879	,350	,103	146,096	,918	,04067	,39661	-,74317	,82451	
			,979	152	,329	5,64725	5,77092	-5,75431	17,04882	
			,996	138,620	,321	5,64725	5,67056	-5,56472	16,85923	

ANOVA (ONEWAY) – GRUPOS (C, CH, H, HMS, MS) – TODAS AS VD'S –
SESSÃO INTEIRA (5 minutos)

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
lat	Between Groups	285,694	4	71,424	3,300	,013
	Within Groups	3225,163	149	21,645		
	Total	3510,857	153			
ba	Between Groups	31,139	4	7,785	1,096	,361
	Within Groups	1058,400	149	7,103		
	Total	1089,539	153			
bf	Between Groups	39,507	4	9,877	1,644	,166
	Within Groups	895,350	149	6,009		
	Total	934,857	153			
total	Between Groups	120,345	4	30,086	1,999	,098
	Within Groups	2242,337	149	15,049		
	Total	2362,682	153			
PORC_BA	Between Groups	448,212	4	112,053	,477	,753
	Within Groups	35005,172	149	234,934		
	Total	35453,384	153			
t_centro	Between Groups	1072,214	4	268,054	,447	,775
	Within Groups	89365,636	149	599,769		
	Total	90437,851	153			
t_ba	Between Groups	19311,947	4	4827,987	2,988	,021
	Within Groups	240745,092	149	1615,739		
	Total	260057,039	153			
t_bf	Between Groups	26512,263	4	6628,066	2,737	,031
	Within Groups	360807,848	149	2421,529		
	Total	387320,110	153			
PORC_T_BA	Between Groups	2146,058	4	536,515	2,989	,021
	Within Groups	26749,159	149	179,525		
	Total	28895,217	153			
end_expl	Between Groups	11,186	4	2,797	,441	,779
	Within Groups	944,898	149	6,342		
	Total	956,084	153			
PORC_END	Between Groups	3069,477	4	767,369	,616	,652
	Within Groups	185607,718	149	1245,689		
	Total	188677,195	153			

ANOVA (ONEWAY) – IDADES (Avaliação no EPM: 21, 50 e 70 dias) – TODAS
AS VD'S – SESSÃO INTEIRA (5 minutos)

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
lat	Between Groups	18,984	2	9,492	,410	,664
	Within Groups	3491,873	151	23,125		
	Total	3510,857	153			
ba	Between Groups	5,850	2	2,925	,408	,666
	Within Groups	1083,689	151	7,177		
	Total	1089,539	153			
bf	Between Groups	6,211	2	3,106	,505	,605
	Within Groups	928,646	151	6,150		
	Total	934,857	153			
total	Between Groups	,556	2	,278	,018	,982
	Within Groups	2362,126	151	15,643		
	Total	2362,682	153			
PORC_BA	Between Groups	477,531	2	238,766	1,031	,359
	Within Groups	34975,853	151	231,628		
	Total	35453,384	153			
t_centro	Between Groups	5060,908	2	2530,454	4,475	,013
	Within Groups	85376,942	151	565,410		
	Total	90437,851	153			
t_ba	Between Groups	19954,008	2	9977,004	6,275	,002
	Within Groups	240103,031	151	1590,086		
	Total	260057,039	153			
t_bf	Between Groups	27348,821	2	13674,411	5,736	,004
	Within Groups	359971,289	151	2383,916		
	Total	387320,110	153			
PORC_T_BA	Between Groups	2217,138	2	1108,569	6,275	,002
	Within Groups	26678,080	151	176,676		
	Total	28895,217	153			
end_expl	Between Groups	69,097	2	34,548	5,881	,003
	Within Groups	886,988	151	5,874		
	Total	956,084	153			
PORC_END	Between Groups	18186,971	2	9093,485	8,054	,000
	Within Groups	170490,224	151	1129,074		
	Total	188677,195	153			

ANALISE DE MEDIAS – GRUPOS: 21 dias – TODAS VD’S – SESSAO INTEIRA
(Comparando C21 CH 21 H 21 HMS21 e MS21)

Report

GRUPO		LAT	BA	BF	TOTAL	PORC_BA	CENTRO	T_BA	T_BF	PORC_T_BA	END_EXPL	PORC_END
C21	Mean	3,3333	3,0000	6,7500	9,7500	26,8517	54,4167	22,9167	2,2267 E2	7,6392	,3333	5,0100
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	1,15689	,76871	1,03078	1,69279	4,81239	9,77974	5,53290	1,26888 E1	1,84449	,14213	2,97737
CH21	Mean	4,5000	4,3000	9,3000	13,6000	29,4950	59,1000	31,1000	2,0980 E2	10,3660	,5000	6,5080
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Std. Error of Mean	1,40831	,81718	,59722	1,11754	4,11842	6,98164	6,60547	9,47019	2,20200	,34157	4,60334
H21	Mean	7,5000	4,9000	8,2000	13,1000	36,0890	61,0000	56,0000	1,8300 E2	18,6660	,9000	14,4690
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Std. Error of Mean	1,80278	,87496	,71181	1,01598	4,54539	7,86977	1,41429 E1	1,42150 E1	4,71418	,43333	6,20432
HMS21	Mean	4,0909	4,0909	8,8182	12,9091	30,6300	44,2727	60,4545	1,9527 E2	20,1527	1,9091	39,0900
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Std. Error of Mean	,66680	,77991	,94213	1,20947	4,45352	5,99559	1,05342 E1	7,65398	3,51122	,75624	11,18333
MS21	Mean	2,0000	3,1667	7,7500	10,9167	27,5567	42,3333	28,6667	2,2900 E2	9,5542	,8333	23,2633
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	,57735	,58818	,88869	1,11095	4,84914	5,54914	5,59942	7,39574	1,86661	,42343	9,58765
Total	Mean	4,1636	3,8364	8,1091	11,9455	29,9213	51,8000	39,1818	2,0902 E2	13,0604	,8909	17,8007
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
	Std. Error of Mean	,55582	,34207	,39498	,58857	2,03476	3,37174	4,31411	5,09357	1,43806	,21189	3,72118

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LAT	Between Groups	176,952	4	44,238	2,987	,027
	Within Groups	740,576	50	14,812		
	Total	917,527	54			
BA	Between Groups	27,952	4	6,988	1,093	,370
	Within Groups	319,576	50	6,392		
	Total	347,527	54			
BF	Between Groups	43,509	4	10,877	1,295	,285
	Within Groups	419,836	50	8,397		
	Total	463,345	54			
TOTAL	Between Groups	121,461	4	30,365	1,673	,171
	Within Groups	907,376	50	18,148		
	Total	1028,836	54			
PORC_BA	Between Groups	567,917	4	141,979	,605	,661
	Within Groups	11728,565	50	234,571		
	Total	12296,482	54			
CENTRO	Between Groups	3160,135	4	790,034	1,291	,286
	Within Groups	30604,665	50	612,093		
	Total	33764,800	54			
T_BA	Between Groups	12960,971	4	3240,243	3,829	,009
	Within Groups	42315,211	50	846,304		
	Total	55276,182	54			
T_BF	Between Groups	15880,533	4	3970,133	3,245	,019
	Within Groups	61174,448	50	1223,489		
	Total	77054,982	54			
PORC_T_BA	Between Groups	1440,339	4	360,085	3,829	,009
	Within Groups	4701,668	50	94,033		
	Total	6142,007	54			
END_EXPL	Between Groups	16,703	4	4,176	1,790	,146
	Within Groups	116,642	50	2,333		
	Total	133,345	54			
PORC_END	Between Groups	8693,139	4	2173,285	3,350	,017
	Within Groups	32432,921	50	648,658		
	Total	41126,060	54			

ANALISE DE MEDIAS – GRUPOS: 50 dias – TODAS VD’S – SESSAO INTEIRA
(Comparando C50 CH50 H50 HMS50 MS50)

Report

GRUPO		LAT	BA	BF	TOTAL	PORC_BA	CENTRO	T_BA	T_BF	PORC_T_BA	END_EXP	PORC_END
C50	Mean	1,8750	3,5000	7,1250	10,6250	29,8887	29,1250	46,3750	2,2450 E2	15,4575	1,1250	15,0000
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	,58056	1,00000	,47949	1,33547	4,41509	3,88421	1,45393 E1	1,61963 E1	4,84683	,87500	10,00000
CH50	Mean	3,8750	6,5000	7,6250	14,1250	44,8175	49,3750	75,0000	1,6300 E2	25,0012	3,1250	43,2588
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	1,48128	,94491	,53243	1,28782	2,67543	8,13049	1,40166 E1	2,52445 E1	4,67200	1,17165	15,45555
H50	Mean	3,3750	4,5000	9,2500	13,7500	29,4200	42,5000	79,8750	1,7762 E2	26,6250	3,1250	46,2312
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	1,13291	1,19523	,92099	1,76017	5,94725	5,00714	1,85236 E1	2,14501 E1	6,17444	1,25978	15,59465
HMS50	Mean	7,1250	4,0000	7,5000	11,5000	29,8725	48,5000	66,1250	1,8538 E2	22,0400	1,1250	20,0000
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	4,12500	1,06904	,77919	1,51186	6,36355	9,85248	1,77979 E1	2,22317 E1	5,93248	,44068	7,79194
MS50	Mean	1,7500	2,6250	7,6250	10,2500	24,9325	50,0000	39,8750	2,1013 E2	13,2900	,7500	19,1662
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	,90139	,56497	1,01660	1,19149	4,86650	9,74679	1,13160 E1	1,20866 E1	3,77199	,49099	12,37230
Total	Mean	3,6000	4,2250	7,8250	12,0500	31,7862	43,9000	61,4500	1,9213 E2	20,4828	1,8500	28,7313
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
	Std. Error of Mean	,93493	,46339	,34878	,65823	2,38912	3,50600	7,01947	9,19212	2,33986	,42146	5,74883

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LAT	Between Groups	151,600	4	37,900	1,094	,374
	Within Groups	1212,000	35	34,629		
	Total	1363,600	39			
BA	Between Groups	67,100	4	16,775	2,192	,090
	Within Groups	267,875	35	7,654		
	Total	334,975	39			
BF	Between Groups	21,650	4	5,413	1,127	,360
	Within Groups	168,125	35	4,804		
	Total	189,775	39			
TOTAL	Between Groups	102,150	4	25,537	1,558	,207
	Within Groups	573,750	35	16,393		
	Total	675,900	39			
PORC_BA	Between Groups	1837,196	4	459,299	2,275	,081
	Within Groups	7067,107	35	201,917		
	Total	8904,302	39			
CENTRO	Between Groups	2468,850	4	617,213	1,293	,292
	Within Groups	16706,750	35	477,336		
	Total	19175,600	39			
T_BA	Between Groups	9901,400	4	2475,350	1,294	,291
	Within Groups	66964,500	35	1913,271		
	Total	76865,900	39			
T_BF	Between Groups	19809,750	4	4952,438	1,548	,210
	Within Groups	112002,625	35	3200,075		
	Total	131812,375	39			
PORC_T_BA	Between Groups	1100,463	4	275,116	1,294	,291
	Within Groups	7440,455	35	212,584		
	Total	8540,918	39			
END_EXP	Between Groups	44,100	4	11,025	1,656	,182
	Within Groups	233,000	35	6,657		
	Total	277,100	39			
PORC_END	Between Groups	6988,555	4	1747,139	1,372	,264
	Within Groups	44567,878	35	1273,368		
	Total	51556,433	39			

ANALISE DE MEDIAS – GRUPOS: 70 (± 1) dias – TODAS VD'S – SESSAO INTEIRA
(Comparando C70 CH70 H70 HMS70 MS70)

Report

GRUPO		LAT	BA	BF	TOTAL	PORC_BA	CENTRO	T_BA	T_BF	PORC_T_BA	END_EXPL	PORC_END
C70	Mean	4,3333	3,8889	6,6667	10,5556	35,3489	56,8889	58,3333	1,8444 E2	19,4456	2,7778	53,1489
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	Std. Error of Mean	1,92931	,87312	,64550	1,01531	5,02662	13,25754	1,47158 E1	2,08141 E1	4,90569	1,25585	14,90318
CH70	Mean	4,6923	3,7692	7,6154	11,3846	30,4662	55,6154	53,7692	1,9062 E2	17,9223	1,7692	35,9285
	N	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
	Std. Error of Mean	1,72606	,77752	,43173	,85888	4,51900	5,14973	1,16757 E1	1,24115 E1	3,89171	,66172	11,03218
H70	Mean	5,2143	3,9286	6,9286	10,8571	33,6407	57,5000	66,1429	1,7636 E2	22,0486	2,3571	37,5850
	N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
	Std. Error of Mean	,72003	,75930	,45045	,74019	4,89323	6,69570	1,52592 E1	1,68414 E1	5,08601	,88707	10,37598
HMS70	Mean	5,9091	4,7273	8,0909	12,8182	36,8136	64,1818	77,4545	1,6018 E2	25,8182	2,5455	45,4800
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Std. Error of Mean	1,42990	,61925	,74412	1,06871	3,10605	3,96076	8,75979	9,97526	2,91960	,75515	9,55083
MS70	Mean	2,2500	5,0000	8,8333	13,8333	34,7017	58,5000	63,5833	1,7792 E2	21,1933	2,9167	47,0267
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	,71906	,82572	,79614	1,07895	4,82859	6,31197	1,12070 E1	1,43919 E1	3,73603	,77321	9,10854
Total	Mean	4,4915	4,2542	7,6441	11,8983	34,0092	58,4407	63,8136	1,7803 E2	21,2712	2,4407	42,9864
	N	59	59	59	59	59	59	59	59	59	59	59
	Std. Error of Mean	,59482	,34240	,28375	,43830	2,00635	3,07877	5,61686	6,64504	1,87225	,37317	4,76839

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LAT	Between Groups	90,460	4	22,615	1,090	,371
	Within Groups	1120,285	54	20,746		
	Total	1210,746	58			
BA	Between Groups	14,879	4	3,720	,520	,721
	Within Groups	386,307	54	7,154		
	Total	401,186	58			
BF	Between Groups	34,944	4	8,736	1,961	,114
	Within Groups	240,581	54	4,455		
	Total	275,525	58			
TOTAL	Between Groups	89,073	4	22,268	2,116	,091
	Within Groups	568,316	54	10,524		
	Total	657,390	58			
PORC_BA	Between Groups	273,513	4	68,378	,273	,894
	Within Groups	13501,557	54	250,029		
	Total	13775,069	58			
CENTRO	Between Groups	500,440	4	125,110	,212	,931
	Within Groups	31936,102	54	591,409		
	Total	32436,542	58			
T_BA	Between Groups	3705,283	4	926,321	,480	,750
	Within Groups	104255,666	54	1930,660		
	Total	107960,949	58			
T_BF	Between Groups	5972,866	4	1493,216	,556	,696
	Within Groups	145131,066	54	2687,612		
	Total	151103,932	58			
PORC_T_BA	Between Groups	411,751	4	102,938	,480	,750
	Within Groups	11583,403	54	214,507		
	Total	11995,155	58			
END_EXPL	Between Groups	9,821	4	2,455	,284	,887
	Within Groups	466,721	54	8,643		
	Total	476,542	58			
PORC_END	Between Groups	2249,809	4	562,452	,402	,806
	Within Groups	75557,921	54	1399,221		
	Total	77807,730	58			

ANALISE DE MEDIAS – GRUPOS POR IDADE – GRUPO C – TODAS VD’S –
SESSAO INTEIRA
(Comparando C21, C50, C70)

Report

grupo		BA	BF	TOTAL	PORC_BA	TEM_CENTRO	TEMP_BA	TEMP_BF	PORC_T_BA	END_EXPL	PORC_END
C21	Mean	3,0000	6,7500	9,7500	26,8517	54,4167	22,9167	222,6667	7,6392	,3333	5,0100
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	,76871	1,03078	1,69279	4,81239	9,77974	5,53290	12,68878	1,84449	,14213	2,97737
C50	Mean	3,5000	7,1250	10,6250	29,8887	29,1250	46,3750	224,5000	15,4575	1,1250	15,0000
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	1,00000	,47949	1,33547	4,41509	3,88421	14,53928	16,19634	4,84683	,87500	10,00000
C70	Mean	3,8889	6,6667	10,5556	35,3489	56,8889	58,3333	184,4444	19,4456	2,7778	53,1489
	N	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	Std. Error of Mean	,87312	,64550	1,01531	5,02662	13,25754	14,71583	20,81407	4,90569	1,25585	14,90318
Total	Mean	3,4138	6,8276	10,2414	30,3266	48,2069	40,3793	211,3103	13,4600	1,3103	22,7055
	N	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Std. Error of Mean	,48757	,47620	,82846	2,79454	6,09639	6,86955	9,71073	2,29003	,48399	6,59671

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BA	Between Groups	4,146	2	2,073	,285	,754
	Within Groups	188,889	26	7,265		
	Total	193,034	28			
BF	Between Groups	1,013	2	,506	,072	,931
	Within Groups	183,125	26	7,043		
	Total	184,138	28			
TOTAL	Between Groups	4,963	2	2,482	,117	,890
	Within Groups	552,347	26	21,244		
	Total	557,310	28			
PORC_BA	Between Groups	373,446	2	186,723	,813	,454
	Within Groups	5967,827	26	229,532		
	Total	6341,273	28			
TEM_CENTRO	Between Groups	4054,078	2	2027,039	2,017	,153
	Within Groups	26124,681	26	1004,795		
	Total	30178,759	28			
TEMP_BA	Between Groups	6848,036	2	3424,018	2,829	,077
	Within Groups	31470,792	26	1210,415		
	Total	38318,828	28			
TEMP_BF	Between Groups	9435,318	2	4717,659	1,827	,181
	Within Groups	67134,889	26	2582,111		
	Total	76570,207	28			
PORC_T_BA	Between Groups	760,947	2	380,474	2,829	,077
	Within Groups	3497,359	26	134,514		
	Total	4258,306	28			
END_EXPL	Between Groups	31,110	2	15,555	2,542	,098
	Within Groups	159,097	26	6,119		
	Total	190,207	28			
PORC_END	Between Groups	12573,766	2	6286,883	7,181	,003
	Within Groups	22761,680	26	875,449		
	Total	35335,446	28			

ANALISE DE MEDIAS – GRUPOS POR IDADE – GRUPO CH – TODAS VD'S –
SESSAO INTEIRA
(Comparando CH21, CH50, CH70)

Report

GRUPO		LATENCIA	BA	BF	TOTAL	PORC_BA	CENTRO	T_BA	T_BF	PORC_T_BA	END_EXPL	PORC_END
CH21	Mean	4,5000	4,3000	9,3000	13,6000	29,4950	59,1000	31,1000	2,0980 E2	10,3660	,5000	6,5080
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Std. Error of Mean	1,40831	,81718	,59722	1,11754	4,11842	6,98164	6,60547	9,47019	2,20200	,34157	4,60334
CH50	Mean	3,8750	6,5000	7,6250	14,1250	44,8175	49,3750	75,0000	1,6300 E2	25,0012	3,1250	43,2588
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	1,48128	,94491	,53243	1,28782	2,67543	8,13049	1,40166 E1	2,52445 E1	4,67200	1,17165	15,45555
CH70	Mean	4,6923	3,7692	7,6154	11,3846	30,4662	55,6154	53,7692	1,9062 E2	17,9223	1,7692	35,9285
	N	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
	Std. Error of Mean	1,72606	,77752	,43173	,85888	4,51900	5,14973	1,16757 E1	1,24115 E1	3,89171	,66172	11,03218
Total	Mean	4,4194	4,6452	8,1613	12,8065	33,8565	55,1290	51,9355	1,8968 E2	17,3116	1,7097	28,3297
	N	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31
	Std. Error of Mean	,90965	,51127	,32161	,62805	2,62615	3,68833	6,94339	9,13135	2,31445	,44768	6,68542

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LATENCIA	Between Groups	3,404	2	1,702	,062	,940
	Within Groups	766,144	28	27,362		
	Total	769,548	30			
BA	Between Groups	38,689	2	19,345	2,650	,088
	Within Groups	204,408	28	7,300		
	Total	243,097	30			
BF	Between Groups	19,142	2	9,571	3,478	,045
	Within Groups	77,052	28	2,752		
	Total	96,194	30			
TOTAL	Between Groups	46,487	2	23,243	2,032	,150
	Within Groups	320,352	28	11,441		
	Total	366,839	30			
PORC_BA	Between Groups	1300,803	2	650,401	3,562	,042
	Within Groups	5113,105	28	182,611		
	Total	6413,907	30			
CENTRO	Between Groups	425,632	2	212,816	,487	,619
	Within Groups	12225,852	28	436,638		
	Total	12651,484	30			
T_BA	Between Groups	8640,663	2	4320,332	3,342	,050
	Within Groups	36195,208	28	1292,686		
	Total	44835,871	30			
T_BF	Between Groups	9754,097	2	4877,049	2,014	,152
	Within Groups	67790,677	28	2421,096		
	Total	77544,774	30			
PORC_T_BA	Between Groups	960,308	2	480,154	3,343	,050
	Within Groups	4021,418	28	143,622		
	Total	4981,726	30			
END_EXPL	Between Groups	30,704	2	15,352	2,761	,080
	Within Groups	155,683	28	5,560		
	Total	186,387	30			
PORC_END	Between Groups	7295,513	2	3647,757	2,980	,067
	Within Groups	34270,710	28	1223,954		
	Total	41566,224	30			

ANALISE DE MEDIAS – GRUPOS POR IDADE – GRUPO H – TODAS VD'S –
 SESSAO INTEIRA
 (Comparando H21, H50, H70)

Report

grupo		LATENCIA	BA	BF	TOTAL	PORC_BA	TEM CENTRO	TEMP_BA	TEMP_BF	PORC_T_BA	END_EXPL	PORC_END
H21	Mean	7,5000	4,9000	8,2000	13,1000	36,0890	61,0000	56,0000	183,0000	18,6660	,9000	14,4690
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Std. Error of Mean	1,80278	,87496	,71181	1,01598	4,54539	7,86977	14,14292	14,21502	4,71418	,43333	6,20432
H50	Mean	3,3750	4,5000	9,2500	13,7500	29,4200	42,5000	79,8750	177,6250	26,6250	3,1250	46,2312
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	1,13291	1,19523	,92099	1,76017	5,94725	5,00714	18,52357	21,45006	6,17444	1,25978	15,59465
H70	Mean	5,2143	3,9286	6,9286	10,8571	33,6407	57,5000	66,1429	176,3571	22,0486	2,3571	37,5850
	N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
	Std. Error of Mean	,72003	,75930	,45045	,74019	4,89323	6,69570	15,25925	16,84141	5,08601	,88707	10,37598
Total	Mean	5,4687	4,3750	7,9062	12,2813	33,3506	54,8438	66,4062	178,7500	22,1356	2,0938	32,5228
	N	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	Std. Error of Mean	,73504	,51146	,40000	,64949	2,90953	4,11946	9,09901	9,82939	3,03286	,52433	6,49124

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LATENCIA	Between Groups	77,237	2	38,618	2,441	,105
	Within Groups	458,732	29	15,818		
	Total	535,969	31			
BA	Between Groups	5,671	2	2,836	,324	,726
	Within Groups	253,829	29	8,753		
	Total	259,500	31			
BF	Between Groups	28,690	2	14,345	3,199	,056
	Within Groups	130,029	29	4,484		
	Total	158,719	31			
TOTAL	Between Groups	52,354	2	26,177	2,074	,144
	Within Groups	366,114	29	12,625		
	Total	418,469	31			
PORC_BA	Between Groups	199,764	2	99,882	,353	,705
	Within Groups	8197,906	29	282,686		
	Total	8397,670	31			
TEM_CENTRO	Between Groups	1696,719	2	848,359	1,625	,214
	Within Groups	15137,500	29	521,983		
	Total	16834,219	31			
TEMP_BA	Between Groups	2535,129	2	1267,565	,462	,635
	Within Groups	79594,589	29	2744,641		
	Total	82129,719	31			
TEMP_BF	Between Groups	270,911	2	135,455	,041	,960
	Within Groups	95573,089	29	3295,624		
	Total	95844,000	31			
PORC_T_BA	Between Groups	281,725	2	140,862	,462	,635
	Within Groups	8842,942	29	304,929		
	Total	9124,667	31			
END_EXPL	Between Groups	23,729	2	11,865	1,382	,267
	Within Groups	248,989	29	8,586		
	Total	272,719	31			
PORC_END	Between Groups	5121,532	2	2560,766	2,025	,150
	Within Groups	36677,535	29	1264,743		
	Total	41799,067	31			

**ANALISE DE MEDIAS – GRUPOS POR IDADE – GRUPO HMS – TODAS VD'S
– SESSAO INTEIRA
(Comparando HMS21, HMS50, HMS70)**

Report

subgrupo HMS		LATENCIA	BA	BF	TOTAL	PORC_BA	TEM_CENTRO	TEMP_BA	TEMP_BF	PORC_T_BA	END_EXPL	PORC_END
hms21	Mean	4,0909	4,0909	8,8182	12,9091	30,6300	44,2727	60,4545	195,2727	20,1527	1,9091	39,0900
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Std. Error of Mean	,66680	,77991	,94213	1,20947	4,45352	5,99559	10,53424	7,65398	3,51122	,75624	11,18333
hms50	Mean	7,1250	4,0000	7,5000	11,5000	29,8725	48,5000	66,1250	185,3750	22,0400	1,1250	20,0000
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	4,12500	1,06904	,77919	1,51186	6,36355	9,85248	17,79791	22,23168	5,93248	,44068	7,79194
hms70	Mean	5,9091	4,7273	8,0909	12,8182	36,8136	64,1818	77,4545	160,1818	25,8182	2,5455	45,4800
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Std. Error of Mean	1,42990	,61925	,74412	1,06871	3,10605	3,96076	8,75979	9,97526	2,91960	,75515	9,55083
Total	Mean	5,5667	4,3000	8,2000	12,5000	32,6953	52,7000	68,2000	179,7667	22,7333	1,9333	36,3423
	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	Std. Error of Mean	1,20886	,45016	,48042	,69934	2,58375	3,93749	6,78257	7,74473	2,26072	,40947	5,90436

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LATENCIA	Between Groups	44,673	2	22,337	,492	,617
	Within Groups	1226,693	27	45,433		
	Total	1271,367	29			
BA	Between Groups	3,209	2	1,605	,250	,780
	Within Groups	173,091	27	6,411		
	Total	176,300	29			
BF	Between Groups	8,255	2	4,127	,579	,567
	Within Groups	192,545	27	7,131		
	Total	200,800	29			
TOTAL	Between Groups	10,955	2	5,477	,357	,703
	Within Groups	414,545	27	15,354		
	Total	425,500	29			
PORC_BA	Between Groups	297,233	2	148,617	,728	,492
	Within Groups	5510,664	27	204,099		
	Total	5807,897	29			
TEM_CENTRO	Between Groups	2372,482	2	1186,241	2,881	,073
	Within Groups	11115,818	27	411,697		
	Total	13488,300	29			
TEMP_BA	Between Groups	1636,470	2	818,235	,576	,569
	Within Groups	38386,330	27	1421,716		
	Total	40022,800	29			
TEMP_BF	Between Groups	7115,673	2	3557,837	2,131	,138
	Within Groups	45067,693	27	1669,174		
	Total	52183,367	29			
PORC_T_BA	Between Groups	181,780	2	90,890	,575	,569
	Within Groups	4264,683	27	157,951		
	Total	4446,462	29			
END_EXPL	Between Groups	9,355	2	4,678	,925	,409
	Within Groups	136,511	27	5,056		
	Total	145,867	29			
PORC_END	Between Groups	3138,088	2	1569,044	1,558	,229
	Within Groups	27191,379	27	1007,088		
	Total	30329,467	29			

ANALISE DE MEDIAS – GRUPOS POR IDADE – GRUPO MS – TODAS VD'S –
SESSAO INTEIRA
(Comparando MS21, MS50, MS70)

Report

subgrupo_MS		LATENCIA	BA	BF	TOTAL	PORC_BA	TEM_CENTRO	TEMP_BA	TEMP_BF	PORC_T_BA	END_EXPL	PORC_END
MS21	Mean	2,0000	3,1667	7,7500	10,9167	27,5567	42,3333	28,6667	229,0000	9,5542	,8333	23,2633
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	,57735	,58818	,88869	1,11095	4,84914	5,54914	5,59942	7,39574	1,86661	,42343	9,58765
MS50	Mean	1,7500	2,6250	7,6250	10,2500	24,9325	50,0000	39,8750	210,1250	13,2900	,7500	19,1662
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Std. Error of Mean	,90139	,56497	1,01660	1,19149	4,86650	9,74679	11,31598	12,08665	3,77199	,49099	12,37230
MS70	Mean	2,2500	5,0000	8,8333	13,8333	34,7017	58,5000	63,5833	177,9167	21,1933	2,9167	47,0267
	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Std. Error of Mean	,71906	,82572	,79614	1,07895	4,82859	6,31197	11,20704	14,39195	3,73603	,77321	9,10854
Total	Mean	2,0312	3,7188	8,1250	11,8437	29,5800	50,3125	44,5625	205,1250	14,8528	1,5938	31,1503
	N	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	Std. Error of Mean	,40031	,43356	,50750	,69141	2,84768	4,04272	5,97693	7,69016	1,99242	,38849	6,07227

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LATENCIA	Between Groups	1,219	2	,609	,112	,894
	Within Groups	157,750	29	5,440		
	Total	158,969	31			
BA	Between Groups	32,927	2	16,464	3,110	,060
	Within Groups	153,542	29	5,295		
	Total	186,469	31			
BF	Between Groups	9,708	2	4,854	,573	,570
	Within Groups	245,792	29	8,476		
	Total	255,500	31			
TOTAL	Between Groups	78,135	2	39,068	2,860	,073
	Within Groups	396,083	29	13,658		
	Total	474,219	31			
PORC_BA	Between Groups	536,698	2	268,349	1,037	,367
	Within Groups	7507,726	29	258,887		
	Total	8044,424	31			
TEM_CENTRO	Between Groups	1569,208	2	784,604	1,554	,229
	Within Groups	14643,667	29	504,954		
	Total	16212,875	31			
TEMP_BA	Between Groups	7549,417	2	3774,708	3,925	,031
	Within Groups	27888,458	29	961,671		
	Total	35437,875	31			
TEMP_BF	Between Groups	15923,708	2	7961,854	5,402	,010
	Within Groups	42741,792	29	1473,855		
	Total	58665,500	31			
PORC_T_BA	Between Groups	838,873	2	419,437	3,925	,031
	Within Groups	3099,125	29	106,866		
	Total	3937,998	31			
END_EXPL	Between Groups	33,635	2	16,818	4,201	,025
	Within Groups	116,083	29	4,003		
	Total	149,719	31			
PORC_END	Between Groups	4920,099	2	2460,049	2,254	,123
	Within Groups	31657,415	29	1091,635		
	Total	36577,514	31			