

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 $p\text{-value} < 0,05$) 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.

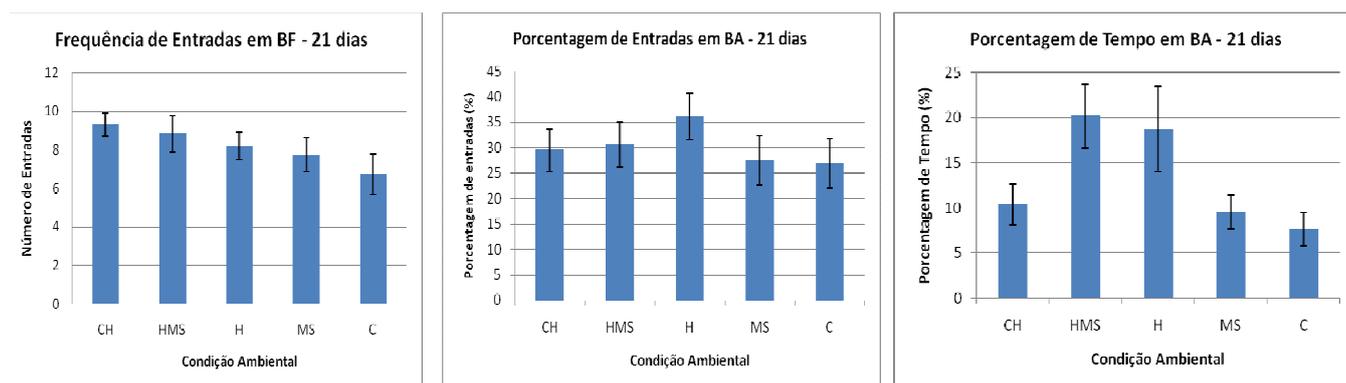


Figura 11 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE.

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.

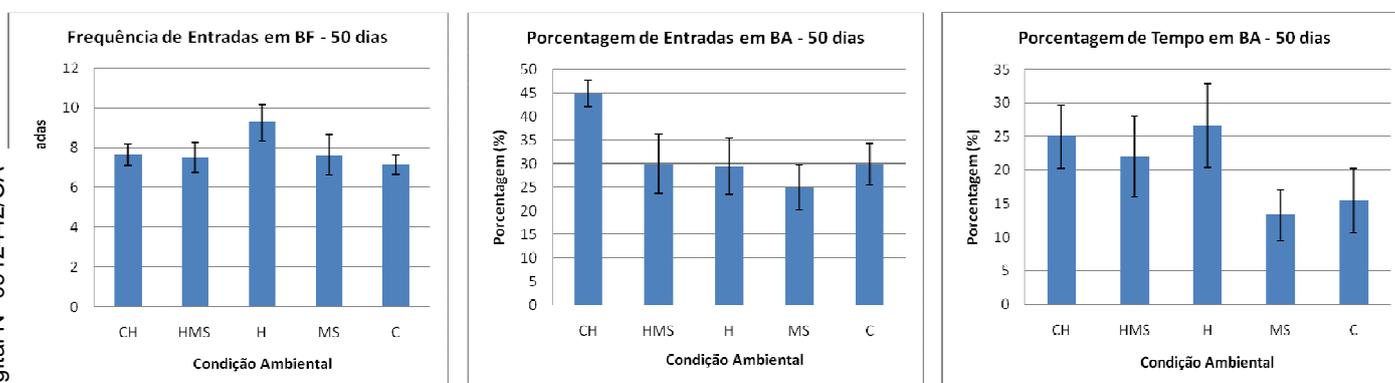


Figura 12 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos aos 50 dias de idade.

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.

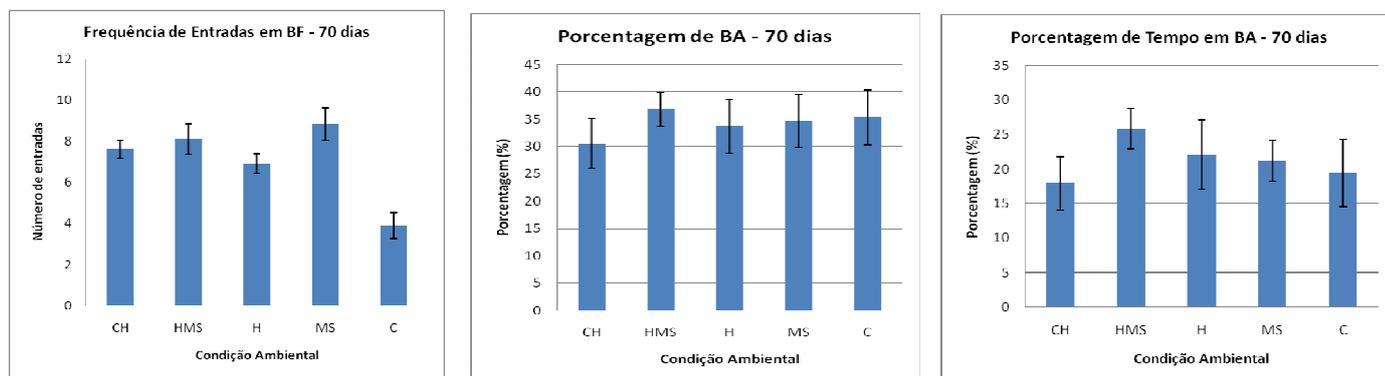


Figura 13 – a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos aos 70 dias de idade.

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.

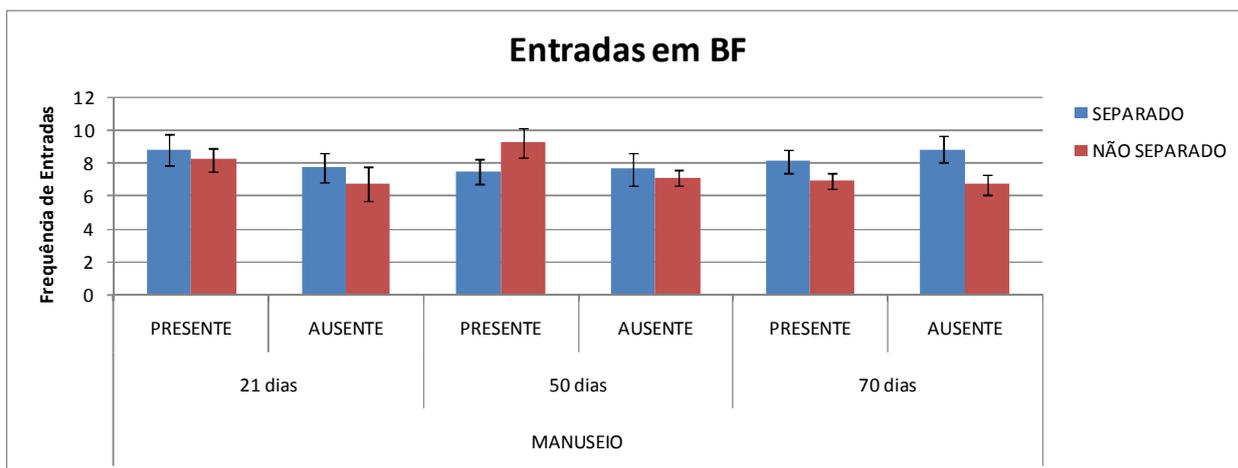


Figura 14 – Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias.

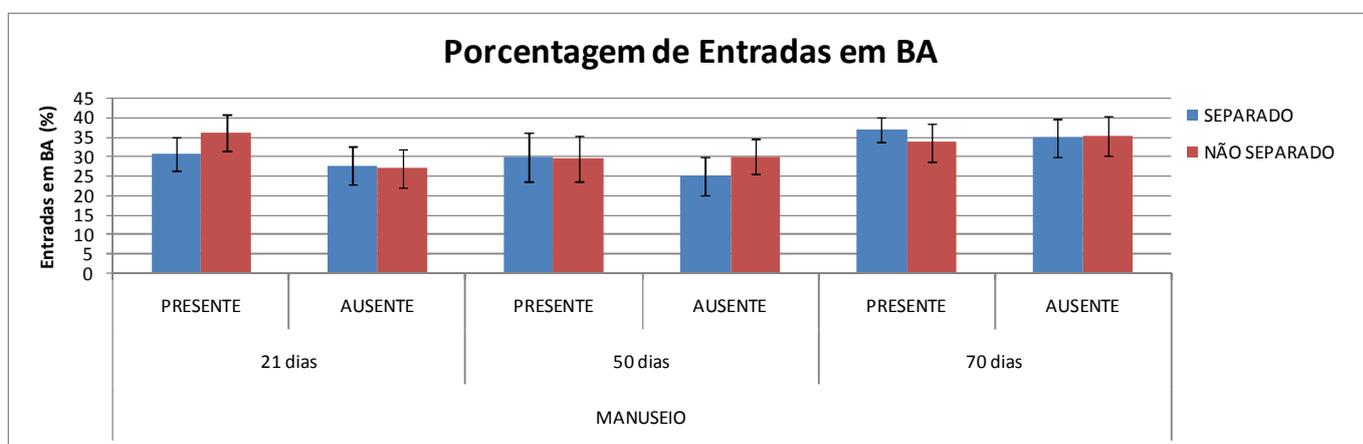


Figura 15 – Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias.

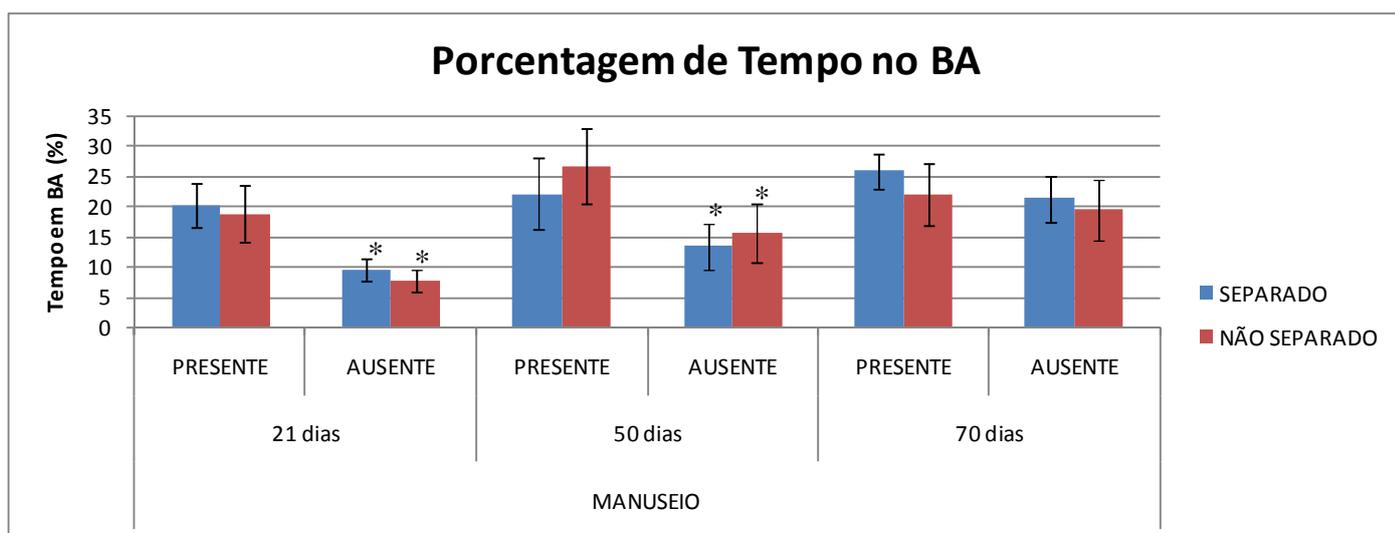


Figura 16 – Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE em ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21, 50 e 70 dias. *= $p < 0,05$.

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.

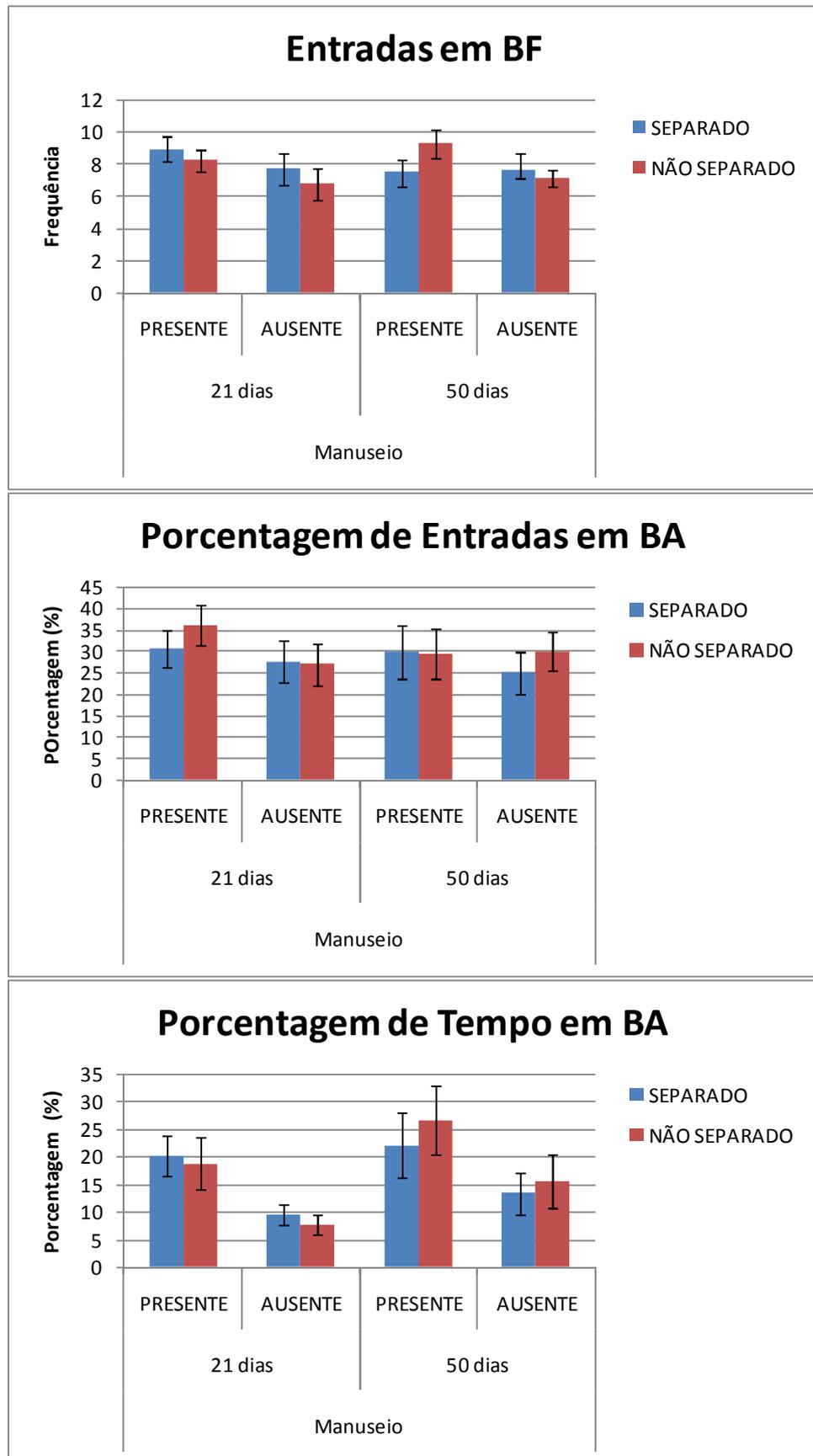


Figura 17- a) Frequência de Entradas em Braços Fechados (BF) no LCE. b) Porcentagem de Entradas em Braços Abertos (BA) no LCE. c) Porcentagem de Tempo em Braços Abertos (BA) no LCE. Avaliação de ratos separados e não separados na ausência e presença de Manuseio. Animais testados aos 21 e 50 dias. $*=p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