

Ansiedade em ratos submetidos à restrição de espaço no Labirinto em Cruz Elevado

Anxiety in rats submitted to space restriction in the high cross labyrinth

Iran Johnathan Silva Oliveira¹, Jéssica Soares Peixoto², Ingridyara Nunes Maciel Castelo Branco³, Wellington de Souza Moura⁴, Marcus Antonio de Araujo Caminha⁵, Jaqueline de Paula e Silva⁶, Maria Eliza Alves Teixeira⁷, Gabriella Gomes de Azevedo Coelho Santana⁸.

RESUMO

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) é um modelo de instrumento utilizado para mensurar a ansiedade, a qual se constitui de uma antecipação emocional frente a uma situação ou ambiente ameaçador, dessa forma, o LCE, reproduz essas situações e ambientes, a fim de se possibilitar um estudo, de modo a observar as mudanças de comportamento do sujeito, perante essas mudanças, chegando ao resultado desejado. O presente trabalho tem como objetivo medir o nível de ansiedade dos roedores Wistar, quando expostos aos braços abertos do LCE, fazendo com que estes explorem o ambiente. Trata-se de um estudo experimental laboratorial, o qual utilizou-se, no primeiro momento, sem restrição de espaço; e, no segundo e terceiro, com restrição de espaço, com intuito de verificar os comportamentos de exploração dos braços abertos e fechados. Foram escolhidos 30 sujeitos experimentais (ratos machos, com três meses de idade), com o limite de tempo de 5 minutos, em cada sessão. Com a experimentação, observou-se que não houve exploração dos braços abertos pelo Grupo Controle, mas pelo Grupo Restrição de Espaço 1 ocorreu um aumento no movimento exploratório; e no Grupo Restrição de espaço 2, a última fase do experimento, obteve-se resultados de um maior nível de exploração dos braços abertos, do que nos outros grupos. Constatando-se que os objetivos apresentados a princípio por essa pesquisa foram alcançados, havendo maior exploração no Grupo Restrição de Espaço 2

Palavras-chave: ansiedade, comportamento ansioso, labirinto em cruz elevado.

ABSTRACT

The Elevated Cross Labyrinth (LCE) is an instrument model used to measure anxiety, which is an emotional anticipation of a threatening situation or environment, in this way, the LCE reproduces these situations and environments in order to if a study is made possible, in order to observe the changes in the subject's behavior, in the face of these changes, reaching the desired result. The present work aims to measure the anxiety level of Wistar rodents, when exposed to the open arms of the ECL, making them explore the environment. This is an experimental laboratory study, which was used, at first, without space restrictions; and, in the second and third, with space restriction, in order to verify the behavior of exploration of the open and closed arms. Thirty experimental subjects (male rats, three months old) were chosen, with a time limit of 5 minutes in each session. With the experimentation, it was observed that there was no exploration of the open arms by the Control Group, but by the Space Restriction Group 1 there was an increase in the exploratory movement; and in Space Restriction Group 2, the last phase of the experiment, results of a higher level of exploration of the open arms were obtained, than in the other groups. Noting that the objectives presented at first by this research were achieved, with further exploration in the Space Restriction Group 2

Keywords: Anxiety. Anxious behavior. Maze in crosselevated.

¹ Psicólogo. Docente da Universidade de Gurupi - UnirG. Mestre em Psicologia pela PUC-GO. Doutor em psicologia pela PUC-GO. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0879-096X>.

E-mail:

iranjsoliveira@hotmail.com

² Psicóloga. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8489-1477>.

³ Psicóloga. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6441-1031>.

⁴ Doutorando em Biotecnologia, Rede Norte - UFT. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6441-1031>.

⁵ Acadêmico de Medicina da Universidade de Gurupi - UnirG. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5369-2712>.

⁶ Acadêmica de Medicina da Universidade de Gurupi - UnirG. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2378-6793>.

⁷ Acadêmica de Medicina da Universidade de Gurupi - UnirG. ORCID: <https://orcid.org/0000-002-0411-9864>.

⁸ Acadêmica de Medicina da Universidade de Gurupi - UnirG. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5838-616X>.

1. INTRODUÇÃO

A teoria da evolução possibilitou a utilização de animais inferiores no estudo do comportamento, como exemplo há os ratos da raça *Wistar*, sujeitos experimentais que serão utilizados em laboratórios. Essa teoria enfatiza o homem como uma espécie animal, sendo apenas parte do reino animal. O homem deixava de ser superior, senhor exclusivo da natureza, e passava a ser encarado como uma espécie animal, sujeito aos mesmos princípios de comportamentos que regem as demais espécies¹. Com isso, por meio dessa pesquisa, podemos observar como os sujeitos experimentais lidam com a questão da ansiedade perante o ambiente novo (LCE) e se a mudança ambiental influencia ou não no comportamento.

A ansiedade pode ser definida pelas mudanças dos estados corporais em função da presença de um estímulo aversivo condicionado (estímulo neutro emparelhado com estímulo aversivo) alterando o comportamento emocional de um organismo². É necessário que se entenda os efeitos da ansiedade por meio de análise do comportamento³, compreendendo alguns aspectos e tendo em vista a análise funcional, que tem como finalidade descrever e entender quais variáveis que influenciam determinado comportamento. Foi desenvolvido, então, um teste de interação social que tem como fundamentação o fato de o “novo” desencadear ansiedade⁴. Diante do exposto, o teste visa estabelecer um conjunto de respostas comportamentais que representam uma reação de medo frente ao perigo, desencadeando assim a ansiedade⁵.

É fundamental que, no estudo sobre o que é ansiedade, sejam compreendidas as circunstâncias e as repercussões que envolvem a utilização desse termo⁶. A operação que provoca ansiedade envolve a disposição de um estímulo neutro que em algum momento passa a ser seguido por um estímulo aversivo primário. A partir da repetição dessa operação, o estímulo neutro passa a exercer a função de estímulo aversivo condicionado uma vez que houve o pareamento dos estímulos. Dessa forma, a ansiedade são as repercussões comportamentais dessa operação e que, para ser classificada como tal, é necessário que haja um intervalo de tempo entre os dois estímulos de modo que torne possível as mudanças comportamentais. Além disso, se o estímulo aversivo que segue o estímulo neutro for evitável, o comportamento torna-se,

então, de esquiva, não de ansiedade. Isto é, a inviabilidade da fuga particulariza a ansiedade e ajuda a diferenciá-la de outras operações⁷.

As manifestações de ansiedade envolvem tanto reações operantes quanto respondentes, estas caracterizadas como alterações de ordem fisiológica. Como exemplo há as que podem ser controladas pelo sistema nervoso autônomo: aumento da pressão sanguínea e da frequência de batimentos do pulso, parada de digestão, alteração na frequência de micção e defecção. Além disso, há também a alteração do ritmo respiratório que se apresenta de forma mais rápida, as pupilas dilatam-se, a transpiração aumenta e a salivação diminui. De modo geral, o que se observa durante a ocorrência da ansiedade é um aumento gradativo da atividade motora, frequentemente relatado como agitação ou considerável rigidez muscular⁷. Cabe ainda mencionar que nem todas as pessoas reagem da mesma forma em situação de ansiedade.

Diante disso, destaca-se que a ansiedade patológica é a intensificação da ansiedade normal já relatada, a qual gera uma experimentação de angústia, sendo esse processo natural, uma vez que a ansiedade se desenvolve a partir de um condicionamento usual⁸. Além disso, na ansiedade também há a possibilidade de generalização para outros estímulos além dos envolvidos no condicionamento original. Os aspectos da ansiedade, tais como incubação e a generalização inviabilizam a identificação dos estímulos que originaram a resposta de ansiedade⁹.

O Labirinto em forma de “Y” é proveniente de estudos⁹ realizados nos anos 50. Ele subsequentemente foi aprimorado¹⁰, mas somente houve o surgimento do Labirinto em Cruz Elevado (LCE), através de estudos posteriores¹¹. Foi apenas após esses estudos que esse modelo foi aceito farmacologicamente, fisiologicamente e comportamental, como modelo de estudo animal. O comportamento de congelamento e defecação, frente aos braços abertos, são considerados padrões previstos de defesa do sujeito durante a exposição no LCE, causando maior nível de ansiedade do que a exposição frente aos braços fechados trazem que a maior exploração nos braços abertos se relaciona ao evento da diminuição dos níveis de ansiedade.

O teste tem como objetivo colocar o animal em um labirinto elevado do solo¹¹, composto por dois braços abertos e dois fechados. Deve ser observado a frequência de entradas e o tempo gasto em cada tipo de braço, e outros comportamentos como deslocamento, levantar-se, esticar-se; o comportamento é exploratório nos dois tipos de

braços, mas a permanência por mais tempo é prevista no braço fechado. O LCE tem a capacidade de representar uma situação semelhante à encontrada no habitat natural dos ratos, sem haver a necessidade de outros modelos de testes antecedentes ao mesmo¹².

O Campo Aberto consiste em uma arena circular¹³, com uma marca no chão para que sejam registradas as atividades locomotoras e o estímulo aversivo, e constitui-se da apresentação de luz e som. São medidos nesse teste, a locomoção, o levantar, e os bolos fecais no decorrer do tempo de 3 minutos, tornou-se um teste comum por sua facilidade e rapidez¹⁴. Os testes Campo Abertos receberam várias críticas que deixaram a dúvida se ele seria um modelo eficaz para estudo da ansiedade¹⁵. São trazidos como indício de ansiedade a diminuição da locomoção e o aumento da defecção. A ingestão de alimentos e drogas causa mudança no comportamento do sujeito experimental.

Esse teste traz que há diminuição de certos comportamentos devido à exposição ao “novo” causar ansiedade⁴. Os ratos são colocados em uma arena, onde é feita a combinação de luminosidade sendo ela baixa ou alta e a familiaridade com a arena, obtendo-se respostas de aversão a alta iluminação e a área que seria um ambiente onde o sujeito não está familiarizado. Propondo obter o alívio da ansiedade através das manipulações que aumentam a interação social sem haver a locomoção.

São vários os fatores para que haja uma exploração assertiva dos braços abertos tais como tempo, peso, isolamento social, idade¹⁶. Sua validade baseia-se em sua sensibilidade a diversos agentes ansiolíticos e ansiogênicos, assim como em tratamentos estressores sendo esses: nados forçados, isolamento social, e choques, dentre outros¹⁷. Há os modelos etológicos, os quais têm como base o comportamento exploratório ou comportamento social e que usa como base a aversão natural do animal¹⁸. Pode não haver necessidade de punições como choque ou privação de água e alimento para que se obtenha uma resposta¹⁹. O sexo e a idade são fatores influenciadores²⁰. Os fatores ambientais influenciam no desempenho do rato nos braços aberto, a luminosidade, clima, sendo que eles têm sensibilidade a esses fatores²¹. Outro fator relevante é o ciclo hormonal (ciclo estral)¹¹ das ratas.

A presente pesquisa teve como objetivo analisar os efeitos comportamentais da ansiedade dos ratos albinos testados no Labirinto em Cruz Elevado (LCE); observar os efeitos da ansiedade em ratos no LCE na atividade de exploração dos braços abertos e

fechados. Além disso, examinou-se também os efeitos da ansiedade em ratos albinos quando testados no LCE com restrição de espaço na primeira fase de intervenção. E, por último, verificou os efeitos da ansiedade em ratos albinos quando testados no LCE com restrição de espaço na segunda fase de intervenção.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental laboratorial, cujos ratos *Wistar* usados nesta pesquisa foram cedidos pelo biotério do Centro Universitário UnirG. As cobaias foram identificadas por códigos, de conhecimento dos pesquisadores, e distribuídos aleatoriamente em 3 grupos, com n=10 por grupo e desta forma seriam 30 cobaias no total, todas as cobaias do gênero masculino com idade de 3 meses e aproximadamente de 200g. Os animais estavam alojados em gaiolas-viveiro (40x33x17 cm) de polietileno com livre acesso a alimento e água e as camas trocadas a cada dois dias, e permaneceram no biotério do laboratório de Psicologia (Centro Universitário UnirG, Campus 2) com temperatura controlada.

Os animais permaneceram sob essas condições durante 72 horas antes do início das sessões experimentais, sendo que a intervenção transcorrerá por sete dias. Os animais ficaram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos: Grupo Controle (GC); Grupo Restrição de Espaço 1 (GRE1); Grupo Restrição de Espaço 2 (GRE2). Foram incluídos os ratos da raça *Wistar*, virgem de experimento no LCE, macho, adulto sendo de 90 dias de nascido, proveniente do biotério da UNIRG. Os ratos que já tenham participado de experimentos, que não tenham controle do ciclo circadiano, que tenham sofrido restrição alimentar ou hídrica e que não sejam adultos, foram excluídos da pesquisa.

As sessões filmadas no LCE foram reproduzidas em tela de computador. Com o auxílio do programa PLusMZ, programa específico para estudos comportamentais no departamento de Psicobiologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP-Ribeirão Preto, a análise foram feitas por dois observadores diferentes fizeram a análise repetitiva (duas vezes) com o mesmo animal dos tempos de permanência mensurados nos braços, simultaneamente com as frequências de entrada nos braços abertos e fechados. Os dados, em porcentagem, foram expressos como média \pm desvio padrão e submetidos ao ANOVA seguido de Dunnett²².

Este teste, ajusta-se a comparações múltiplas no qual apenas um tratamento adequa-se de referência, ou seja, pretende apenas relacionar todos com apenas um. Por exemplo, o tratamento padrão (pode ser chamado de controle, tradicional) não tendo como interesse a comparação além dos tratamentos entre si, para comparações múltiplas e valores de probabilidade $p < 0,05$ levando em consideração os significativos. Para efetivação do teste²², utilizou-se o software ASSISTAT²³.

Conforme visto na Figura 1, o labirinto em cruz elevado (LCE)¹³, consistiu em dois braços abertos e opostos (50×10 cm cada um), e outros dois braços opostos dos mesmos tamanhos fechados com paredes laterais de 40 cm de altura. Os braços abertos e fechados, elevados 50 cm do solo, cruzam-se perpendicularmente formando uma cruz, delimitada por uma área central de 10×10 cm. Nas laterais dos braços abertos foi fixada uma pequena borda de madeira (1 cm de altura) para evitar a queda dos animais.

Figura 1: Labirinto em Cruz Elevado



Fonte: Autoria própria

Ocorreu a aplicação de um procedimento de Intervenção de Restrição de Espaço, verificando os comportamentos de exploração dos braços abertos e fechados, nas fases de intervenções (GRE1 e GRE2). Os sujeitos (ratos machos com 3 meses de idade) foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos: Grupo Controle (GC), Grupo Restrição de Espaço 1 (GRE1) e Grupo Restrição de Espaço 2 (GRE2), com $n=10$ por grupo, totalizando 30 sujeitos, estes ficaram alojados no biotério do Laboratório Experimental de Psicologia, pelo tempo em que durou o experimento, ainda, não houve privação de água e comida, e ao término da pesquisa foram disponibilizados ao biotério da UnirG, e cada sujeito participou de uma única sessão de cinco minutos.

Na Fase de Linha de Base I, Grupo Controle (GC), os ratos foram colocados no centro do labirinto em cruz elevado, com o focinho voltado para frente de um dos braços fechados, havendo certificação na folha de registro simultaneamente os comportamentos

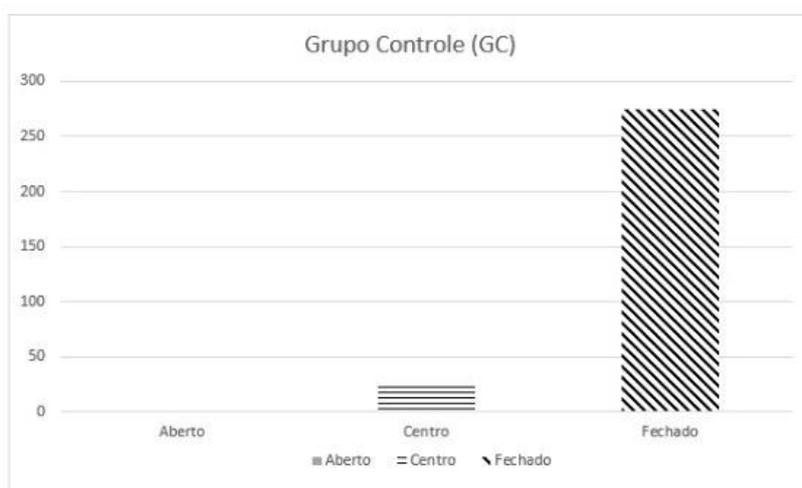
de entrada emitidos pelos ratos tanto nos braços fechados quanto nos braços abertos. A topografia de entrada nos braços do labirinto foi registrada quando todas as quatro patas estavam no interior de um dos braços. Esta fase se concretizou em 10 sessões de 5 minutos, sendo que cada sujeito foi submetido apenas uma vez ao experimento. Para melhor controle de mensuração todas as sessões foram filmadas.

Na Fase de Intervenção I, Grupo Restrição de Espaço 1 (GRE1), foram colocados no centro do labirinto em cruz elevado o rato com o focinho voltado para frente de um dos braços fechados. Nesta fase, os braços fechados do labirinto em cruz elevado sofreram modificações, em vez de 50 x 10 x 40 cm ficou 40 x 10 x 40 cm nas sessões. Esta fase se concretizou em 10 sessões de 5 minutos, sendo que cada sujeito foi submetido apenas uma vez ao experimento. Para melhor controle de mensuração todas as sessões foram filmadas.

Na Fase de Intervenção II, Grupo Restrição de Espaço 2 (GRE2), foram colocados no centro do labirinto em cruz elevado o rato com o focinho voltado para frente de um dos braços fechados. Nesta fase, os braços fechados do labirinto em cruz elevado sofreram outra modificação, em vez de 40 x 10 x 40 cm (que são as medidas do LCE para a primeira fase de intervenção), ficou 30 x 10 x 40 cm. Nesta fase, a ocorrência do comportamento de entrada dos ratos nos braços abertos foi certificada nas folhas de registro. Esta fase se concretizou em 10 sessões de 5 minutos, sendo que cada sujeito foi submetido apenas uma vez ao experimento. Para melhor controle de mensuração todas as sessões foram filmadas. Essa pesquisa teve aprovação pela Comissão de Ética do Centro Universitário UnirG sendo aprovado atendendo as exigências da lei Federal 11.794.

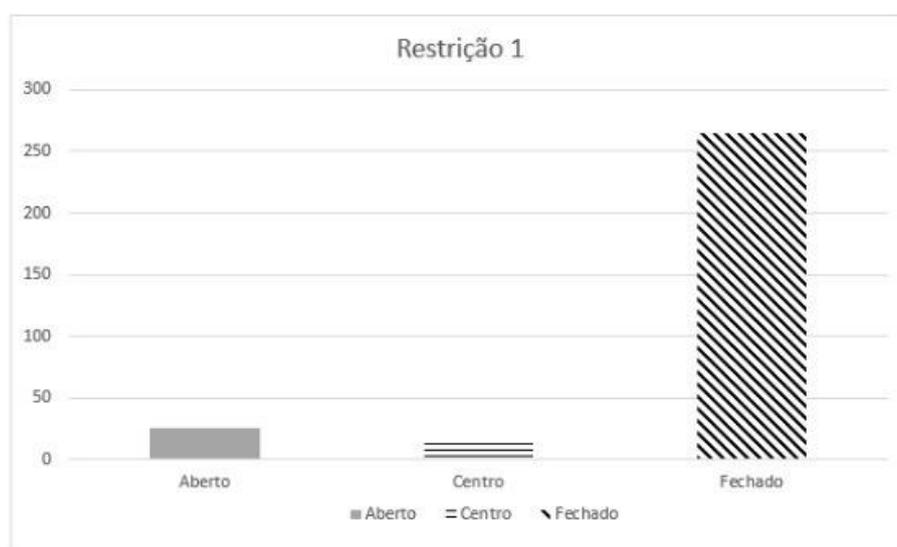
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 2: Média do comportamento exploratório dos sujeitos no LCE do grupo controle (GC).



Na Figura 2 percebe-se que o nível de exploração foi superior nos braços fechados. Tendo em vista o movimento exploratório nos braços abertos e no centro, este resultado se dá pelo pressuposto **Fonte:** Dados coletados pelos pesquisadores que houve elevados níveis de ansiedade, desencadeando o comportamento ansiogênico. É natural que os animais tenham aversão aos braços abertos¹¹.

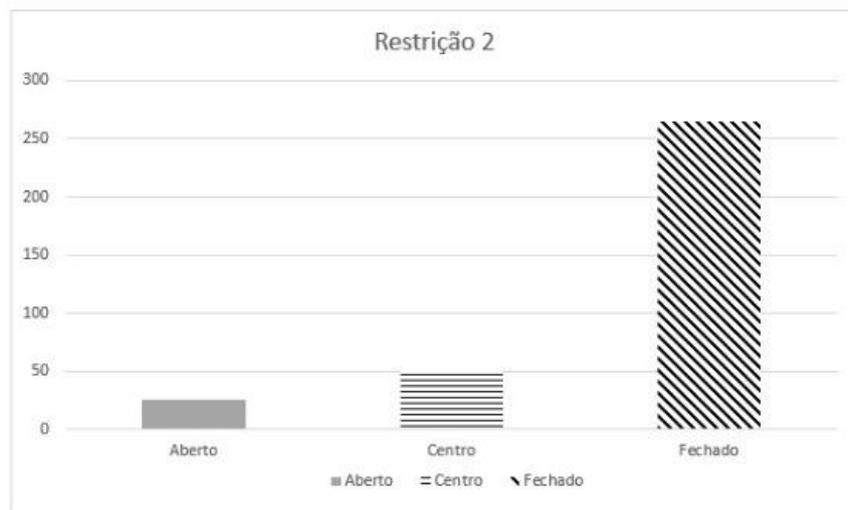
Figura 3: Média do comportamento exploratório dos sujeitos no LCE na fase restrição de espaço 1 (GRE1).



Fonte: Dados coletados pelos pesquisadores

Na Figura 3, a qual traz em gráfico o local de exploração dos roedores pelo tempo em que eles permaneceram, pode-se perceber que o nível de exploração dos braços fechados, ainda foram maiores, indicando que, apesar da diminuição do espaço exploratório dos braços fechados, os ratos ainda os preferem. Tendo em vista os braços abertos e centro, em contrapartida, a exploração dos braços abertos se mostraram maiores nesta fase de intervenção se relacionando ao Grupo Controle (GC), sugerindo que a diminuição da área dos braços fechados, força uma maior exploração dos braços abertos, pelos roedores.

Figura 4: Média de comportamento exploratório dos sujeitos no LCE na fase restrição de espaço 2 (GRE2)



Fonte: Dados coletados pelos pesquisadores

Na Figura 4 nota-se que houve maior exploração nos braços fechados, porém bem menos elevados que no GRE1, e percebe-se que havendo uma maior restrição do espaço, houve um maior nível de exploração no centro e nos braços abertos do que no GC e no GRE1.

Os dados foram submetidos ao teste ANOVA onde se obteve os seguintes resultados, o GC não houve exploração dos braços abertos, no entanto, a média de permanência nos braços fechados foram maiores nos dois grupos (GRE1 e GRE2), sendo o valor de $P < 0,0803$, assim como nos braços abertos os níveis de explorações não foram significativos, sendo o valor de $P < 0,5566$, porém no centro houve interação altamente significativa sendo $P < 0,0005$, se comparado o GRE1 e GRE2, os sujeitos continuaram permanecendo maior parte do tempo nos braços fechados, porém exploraram os braços abertos no GRE1 e no GRE2, havendo uma maior exploração braços abertos no GRE2 mesmo havendo um espaço de 30 cm nos braços fechados, se comparado ao GC e o GRE1.

Os sujeitos experimentais foram expostos ao estímulo aversivo, aumentando seu comportamento ansiogênico, porém por conta da mudança ambiental causada pela restrição de espaço dos braços fechados, pode-se, assim, obter o resultado esperado que seria provocar o sujeito a explorar mais os braços abertos aumentando assim seu movimento exploratório dos braços abertos. No GRE2 utilizou-se²³ o mesmo procedimento de análise usando de 10 sessões de 5 minutos, porém restringiu o espaço a

10x10x40 cm, obtendo, assim, que a média de permanência nos braços fechados foram maiores no GC, no GRE2 houve maior exploração dos braços abertos. Resultados semelhantes foram obtidos em outra pesquisa¹⁶, na qual foi apresentado sobre o papel da luminosidade do biotério no comportamento do rato no LCE, onde o movimento de exploração do ambiente foi estimulado pela luminosidade, provocando assim o movimento exploratório.

Em outra pesquisa²³ com ratos em isolamento social e o fator determinante para a exploração ou não dos braços abertos seria o isolamento social em diferentes períodos de tempo 30, 60, 120 e 240 minutos, e com uma variação de tempo 1, 3, 7 dias de alojamento, sendo o Grupo Controle (GC) alojados em uma gaiola de PVC com 6 ratos por gaiola, e 2 animais foram alojados individualmente por gaiola separados por uma tela de arame utilizando da mesma quantidade de tempo do GC, a análise dos dados sobre a exploração dos braços abertos pode trazer que não houve diferença estatística entre os grupos alojados em diferentes período de tempo, porém a quantidade de animais alojados por gaiola causaram alterações na frequência de entradas, em animais alojados individualmente apresentaram descrédito do comportamento exploratório dos braços abertos se comparado ao GC.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o decorrer da pesquisa, observa-se que o sujeito experimental, sendo exposto a um ambiente novo, desenvolve comportamento ansiogênico, sendo confirmado por meio dos dados alcançados na pesquisa, onde, no Grupo Controle, não houve comportamento exploratório, porém, alterando o ambiente, no GRE2, desencadeia, como consequência, maior quantidade de comportamento exploratório. Dessa forma, pode-se deduzir que os objetivos propostos foram alcançados e confirmados através da pesquisa, uma vez que, no GRE2, o sujeito explorou mais os braços abertos que no GRE1 e no GC.

O estudo experimental auxilia na compreensão do fenômeno da ansiedade, permitindo uma maior clareza dos seus efeitos no organismo humano e em sujeitos experimentais não-humanos, a fim de contribuir para o desenvolvimento de medicamentos, vacinas e intervenções comportamentais e diretrizes terapêuticas. Nesse sentido, pode-se deduzir que os objetivos propostos foram alcançados e confirmados através da pesquisa, uma vez que, no GRE2, o sujeito explorou mais os braços abertos

que no GRE1 e no GC. No entanto, recomenda-se que sejam feitas mais pesquisas, fazendo o uso do Labirinto em Cruz Elevado (LCE), porém usando ratos de diferentes espécies e sexo, objetivando entender o que esses fatores influenciam no comportamento exploratório.

REFERÊNCIAS

- 1 Darwin C. On the Origin of Species by Means of Natural Selection. London, 1859.
- 2 Oliveira, IJS. Avaliação funcional e intervenção em respostas emocionais de ansiedade. [Tese de doutorado não publicada]. Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2022.
- 3 Amaral AAG. Considerações sobre os transtornos ansiosos na infância em uma visão comportamental. 2011. 64 f. Monografia (Especialização em Análise Comportamental Clínica) - Instituto Brasiliense de Análise do Comportamento, Brasília. 2011.
- 4 File SE. The use of social interaction as a method of detecting anxiolytic activity of chlordiazepoxide - like drugs. J. Neurosci. Meth. v.2, p.219-238, 1980.
- 5 Araújo TF. Análise cienciométrica sobre o uso do Labirinto em Cruz Elevado como modelo experimental para estudo da ansiedade. Scientometric analysis on the use of the elevated plus maze as an experimental model for the study of anxiety. 2017.
- 6 Britto IAGS. Analytical-Behavioral Approach to the Study of the Anxiety Phenomenon and its Implications. Revista Fragmentos de Cultura - Revista Interdisciplinar de Ciências Humanas, Goiânia, v. 28, p. 90-100, jun. 2018. ISSN 1983-7828.
- 7 Lundin RB. Personalidade: uma análise do comportamento. 2ª ed. São Paulo, EPU, 1977.
- 8 Souza C, Wurlitzer BR, Moreira V. Revisitando a ansiedade na obra de Rollo May: diálogos com a fenomenologia clínica. Psic. em Rev. 2021 ago, v. 27, n.2, p. 453-467.
- 9 Montgomery KC, Monkman JA. The relation between fear and exploratory behavior. Journal of comparative and physiological psychology. n.48, p. 254-260. 1955.
- 10 Handley SL, Mithani S. Effects of α_2 -adrenoceptor agonists and antagonists in a maze exploration model of fear motivated behaviour. Naunyn-Schmiedberg's Arch. Pharmacol, v. 327, p. 1-5, 1984.
- 11 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. J Neurosci Methods. n. 14, v.3, p.149-167. 1985.

-
- 12 Morato S. O Papel Da Visão Na Aversão Aos Espaços Abertos No Labirinto Em Cruz Elevado. *Psicologia USP*, v. 17, n. L, p. 159–174, 2006.
- 13 Masur I. A técnica do "open field" como medida da "reatividade emocional" de rats. *Revista de psicologia normal e patológica*, v.3, n.4, p.195-220, 1970.
- 14 Walsh RN, cummins RA. The open-field test: a critical review. *Psychol Bull.* v.83, p. 482-504, 1976.
- 15 Lister RG. Ethologically-based animal models of anxiety of disorders. *Pharmacol Ther.*, v.46, p.321-340,1990.
- 16 Martinez R, Garcia AMB, Morato S. Papel da luminosidade do biotério no comportamento do rato no labirinto em cruz elevado. *Estudos de Psicologia (Natal)*, v. 10, n. 2, p. 239–245, 2005.
- 17 Hogg S. A Review of the Variability and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* v.54, p.21-30. 1996.
- 18 File SE. Behavioural detection of anxiolytic action. in: ELLIOT, J. M.; HEAL D. J.; MARSDEN, C. A. *Experimental approaches to anxiety and repression*. New York, John Wiley e sons. v.3, p. 25-44, 1992.
- 19 Sanger DJ. Animal models of anxiety and the screening and development of novel anxiolytic drugs. in: Boutton, A.; BAKER, G.; Martin-Iverson, M. *Neuromethods*. The humana press inc. New York. v.19, p.147-198. 1991.
- 20 Imhof JT, Coelho ZMI, Schmitt ML, Morato GS, Carobrez AP. Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus-maze apparatus. *Behavioral Brain Research*, v.56, p.177-180.1993.
- 21 Chagas DAB. Comportamento Exploratório de Ratos no Labirinto em Cruz Elevado, Ingestão de Açúcar e Manuseio. Tese [doutorado em psicobiologia]. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/ Universidade de São Paulo. 2007.
- 22 Silva FAS, Azevedo CAV. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. In: WORLD. CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- 23 Neres MAC, Pinheiro PM, Oliveira IJS. Estudos comportamentais do efeito da ansiedade em ratos albinos submetidos a restrição de espaço no Labirinto em Cruz Elevado. Dez, 2015.
- 24 Vidal, EP. Avaliação dos Efeitos Comportamentais no Labirinto em Cruz Elevado de Ratos Alojados Individualmente por Diferentes Períodos de Tempo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n.2, p.501-508, mar-abr, 2006.