

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO EM COMPORTAMENTOS RELACIONADOS COM A ANSIEDADE EM RATOS



ARTIGO ORIGINAL
ORIGINAL ARTICLE
ARTÍCULO ORIGINAL

EFFECTS OF PHYSICAL EXERCISE ON ANXIETY-RELATED BEHAVIORS IN RATS

EFFECTOS DEL EJERCICIO SOBRE LOS COMPORTAMIENTOS RELACIONADOS CON LA ANSIEDAD EN RATAS

Daniel Fernandes Barbosa¹
(Psicólogo)
Carleuza Francisca de Lima¹
(Educador Físico)

1. Universidade Católica de Brasília
(UCB), Brasília, DF, Brasil.

Correspondência:

SCN Quadra 06 Conj. A, Blocos B e C,
Entrada Norte 2, 2º Subsolo, Sala 28,
Asa Norte, Centrais Elétricas do Norte
do Brasil S/A, Brasília,
DF, Brasil. 70.716-901.
Carleuza.lima@eletronorte.gov.br

RESUMO

Introdução: Os efeitos do exercício físico são associados à redução da ansiedade e à manutenção desse estado por diversas horas. Contudo, poucos trabalhos têm investigado os efeitos do exercício agudo sobre a ansiedade. **Objetivo:** Investigar o efeito agudo da intensidade do exercício físico sobre comportamento relacionado com a ansiedade em modelos animais. **Métodos:** Cinquenta e seis ratos Wistar machos foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos: controle, 0%, 5% e 50% de carga correspondente ao peso corporal dos animais. Os grupos foram submetidos a um protocolo de natação que consistiu na realização de 30 minutos de exercício para os grupos 0% e 5% e dez sessões de dez saltos intercalados por um minuto de descanso para o grupo 50%. Após a natação, os animais foram expostos aos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado. Os dados foram avaliados estatisticamente pela One-way ANOVA e teste *post hoc* de Bonferroni, adotando-se $P < 0,05$. **Resultados:** Na análise dos dados no teste de campo aberto foram encontradas diferenças significativas nas medidas de cruzamento ($F_{(3,20)} = 9,60$; $p < 0,01$), ocorrendo um aumento de cruzamentos do grupo 5% ($81,2 \pm 14,8$) com relação ao grupo controle ($45,0 \pm 8,7$). Foi encontrada diferença significativa no percentual de entrada nos braços abertos ($F_{(3,28)} = 5,63$; $p < 0,01$), havendo uma diminuição no grupo 50% ($25,4 \pm 17,0$) com relação ao grupo controle ($46,8 \pm 9,1$). **Conclusão:** A prática de exercício físico na intensidade de 5% apresentou efeitos ansiolíticos, enquanto na intensidade de 50%, apresentou efeitos ansiogênicos.

Descritores: exercício, ansiedade, ratos Wistar, comportamento animal.

ABSTRACT

Introduction: The effects of physical exercise are associated with reduced anxiety and maintaining this state for several hours. However, few studies have investigated the effects of acute exercise on anxiety. **Objective:** To investigate the acute effect of exercise intensity on behavior related to anxiety in animal models. **Methods:** Fifty-six male Wistar rats were randomly divided in eight groups: control, 0%, 5%, and 50% of the load corresponding to the weight of the animals. The groups were submitted to a swimming protocol that consisted of 30 minutes of exercise for groups 0% and 5% and ten sessions of ten jumps interspersed with one minute of rest for the 50% group. After swimming the animals were exposed to the open field test and the elevated plus-maze test. Data were statistically analyzed by One-way ANOVA test and *post hoc* Bonferroni test, using $P < 0.05$. **Results:** Data analysis in the open field test found significant differences for crossing measures ($F_{(3,20)} = 9.60$, $p < 0.01$), with an increase of crossings in group 5% (81.2 ± 14.8) compared to the control group (45.0 ± 8.7). A significant difference was found in the input percentage in the open arms ($F_{(3,28)} = 5.63$, $p < 0.01$), with a decrease in group 50% (25.4 ± 17.0) in respect to the control group (46.8 ± 9.1). **Conclusion:** The practice of exercise at intensity of 5% showed anxiolytic effects while at the intensity of 50% elicited anxiogenic effects.

Keywords: exercise, anxiety, rats, Wistar, behavior, animal.

RESUMEN

Introducción: Los efectos del ejercicio físico están asociados con una reducción de la ansiedad y el mantenimiento de este estado durante varias horas. Sin embargo, pocos estudios han investigado los efectos del ejercicio agudo sobre la ansiedad. **Objetivo:** Investigar el efecto agudo de la intensidad del ejercicio sobre el comportamiento relacionado con la ansiedad en modelos animales. **Métodos:** Cincuenta y seis ratos macho Wistar fueron divididas aleatoriamente en ocho grupos: control, 0%, 5% y 50% de la carga correspondiente al peso corporal de los animales. Los grupos fueron sometidos a un protocolo de natación que consistió en 30 minutos de ejercicio para los grupos 0% y 5% y diez sesiones de diez saltos intercalados con un minuto de descanso para el grupo 50%. Tras la natación, los animales fueron expuestos a la prueba de campo abierto y del laberinto en cruz elevado. Los datos fueron evaluados estadísticamente mediante ANOVA de una vía y por la prueba *post hoc* de Bonferroni, usándose $P < 0,05$. **Resultados:** En el análisis de los datos, en la prueba de campo abierto, fueron encontradas diferencias significativas en las medidas de cruce ($F_{(3,20)} = 9,60$; $p < 0,01$), ocurriendo un aumento de cruces del grupo 5% ($81,2 \pm 14,8$) con relación al grupo

control ($45,0 \pm 8,7$). Se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de entrada en brazos abiertos ($F_{(3,28)} = 5,63$; $p < 0,01$), con una disminución en el grupo 50% ($25,4 \pm 17,0$) con respecto al grupo control ($46,8 \pm 9,1$). Conclusión: El ejercicio físico en intensidad 5% mostró efectos ansiolíticos, mientras que en intensidad 50% tuvo efectos ansiogénicos.

Descriptor: ejercicio, ansiedad, ratas Wistar, conducta animal.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a crescente contingência de pressões sociais tem exigido uma maior capacidade de adaptação física e mental. A edificação deste cenário tem contribuído de modo negativo para o aumento de fatores relacionados aos transtornos de ansiedade¹. Nessa direção, é crescente o tratamento dos transtornos de ansiedade com base na utilização de fármacos^{2,3}.

O exercício físico surge como alternativa não farmacológica para o tratamento da ansiedade, particularmente o exercício aeróbio pode contribuir para a redução da mesma⁴⁻⁷. O exercício físico torna-se reconhecido cada vez mais como um meio pelo qual é possível reduzir a ansiedade, proporcionando uma melhoria na habilidade em lidar com o stress⁸.

Os efeitos agudos do exercício físico são associados à redução da ansiedade e à manutenção deste estado por diversas horas^{9,10}. Entretanto, a compreensão dos mecanismos psicobiológicos associados aos efeitos ansiolíticos da atividade física ainda são desconhecidos^{4,9,11-13}.

Os modelos animais de ansiedade são muito úteis como ferramenta para a identificação de compostos ansiolíticos e dos aspectos envolvidos na etiologia dos distúrbios psiquiátricos. Os mais utilizados são labirinto em cruz elevado (LCE) e o teste de campo aberto (TCA). Esses modelos podem ser influenciados não apenas pelo cunho emocional, mas também por outras características não emocionais como a atividade locomotora¹⁴.

Os trabalhos realizados têm investigado os efeitos agudos e crônicos do exercício físico sobre o comportamento relacionado à ansiedade em modelo animal^{4,8,9,13} e os resultados são bastante contraditórios^{9,13}. Essas contradições parecem decorrentes da diversidade metodológica entre os trabalhos, incluindo a atividade física circadiana voluntária versus exercício forçado, a dimensão da carga de estresse físico e os paradigmas utilizados para a avaliação comportamental^{4,11}.

Considerando que a configuração do protocolo de treinamento físico tem sido apontada como um dos fatores responsáveis pelos resultados divergentes sobre o comportamento de ansiedade em modelo animal, é importante utilizar parâmetros que assegure a confiabilidade dos dados levantados.

Dessa forma, foram utilizados nesse estudo os Testes de Campo Aberto para investigar os efeitos agudos da intensidade do exercício sobre a atividade motora dos animais. A avaliação indireta da atividade neuromuscular foi importante para a padronização do tempo mínimo de descanso entre o término do exercício e a exposição ao paradigma de ansiedade¹⁵, e o Teste de Labirinto em Cruz Elevado para a investigação do comportamento de ansiedade dos animais submetidos a diferentes cargas de estresse físico^{16,17}.

MÉTODOS

Sujeitos

Foram utilizados 56 ratos (*Rattus norvegicus* albino, raça Wistar heterogênica), machos, com 60 dias de vida, experimentalmente ingênuos com um peso entre 162 à 232gr. Os animais foram randomicamente alocados em oito grupos. Todos os animais foram mantidos em um ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso a comida e água.

Instrumentos

Trata-se de um delineamento experimental com grupos não pareados. Onde os animais após realização do exercício físico, foram submetidos aos testes comportamentais, sendo que para cada teste foi utilizado grupos diferentes. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Estudo em Educação Física e Saúde – LEEFS e no Laboratório de Processos Básicos em Psicologia – LPBP da Universidade Católica de Brasília – UCB. No experimento foi utilizado animais de pequeno porte, portanto não foi submetido ao comitê de Ética Animal.

Este artigo é parte de uma dissertação de mestrado iniciado em 2005 e defendida em 2007.

Protocolo de natação

Para a realização da natação, foi utilizado tanque de amianto com 100 cm de diâmetro e 63 cm de profundidade. A altura da coluna de água para a sessão de natação foi de 45 cm¹⁸.

O grupo Controle não realizou natação, os grupos 0% e 5% de carga em relação ao seu peso corporal foram submetidos a duas sessões de adaptação ao meio líquido individualmente com intervalo de 24 horas entre as sessões por um período de 15 minutos com nível de água 10 cm a 31° C, e o grupo 50% realizou duas sessões de adaptação ao meio líquido realizando saltos, a primeira sessão composta de quatro séries de oito saltos com sobrecarga de 20% do seu peso corporal, a segunda sessão cinco séries de nove saltos com 30% do seu peso corporal.

A pesagem dos animais foi realizada vinte e quatro horas antes da exposição à natação. Para a confecção das cargas foram utilizados fita de velcro, esparadrapo e jumbo. Para a pesagem dos animais foi utilizada uma balança eletrônica da marca Filizola, modelo BP06 e para o preparo das cargas equivalentes a 5% e 50% do peso corporal do animal foi utilizada uma balança de precisão da marca Digimed, modelo KN500. A sobrecarga foi acoplada a região ventro-torácica por uma fita velcro.

Decorrido 24 horas após a fase de adaptação os grupos 0% e 5% de carga foram submetidos ao exercício realizando trinta minutos de natação com profundidade de 45 cm com temperatura da água em 31° C. O grupo com 50% de carga realizou dez séries de dez saltos com sobrecarga de 50% do peso corporal, tendo um minuto de intervalo entre as séries, o nível da água foi calculado com base na medida de 150% do comprimento corporal do animal, medido desde as narinas até a inserção caudal. Os animais foram enxutos e colocados em uma caixa individual forrada com maravalha tendo acesso à água e ração ad libitum durante 30 minutos. Após o protocolo de natação os animais foram submetidos aos testes comportamentais de acordo com o grupo que esse participava.

Testes comportamentais

Para medir a atividade motora foi utilizado o Testes de Campo Aberto –TCA constituído por uma arena circular de acrílico com 60 cm de diâmetro e 50cm de altura, colocado sobre uma plataforma de acrílico branco, subdividida em doze secções concêntricas. Os resultados sobre o número de secções cruzadas foram utilizados como índice de

locomoção espontânea¹⁵. Os animais foram expostos individualmente no centro do aparelho e observados por 5 minutos. Para as observações foram computadas as frequências de locomoção e levantar dos animais. A frequência de locomoção foi definida como o número de secções que o animal cruzou com as quatro patas e a de levantar pelo número de vezes que o animal ergueu a parte frontal do corpo apoiado apenas nas pernas traseiras

Para medir os comportamentos relacionados à ansiedade foi utilizado o Labirinto em Cruz Elevado–LCE de acordo com as especificações de Pellow et al.¹⁷ constituído por dois braços abertos e dois braços fechados (perpendiculares aos outros dois), ambos de madeira e de iguais dimensões, elevado a 50 cm de solo. Os braços fechados possuem paredes de madeira com altura aproximada de 40 cm, unidos por um quadrado central de 10 cm. Os animais foram expostos individualmente no centro do aparelho com a narina direcionada para um dos braços fechados e observados por 5 minutos. Para as observações foram computadas as frequências de entradas nos braços fechados e abertos, o tempo de permanência nos braços fechados e abertos. A frequência de cruzamentos foi definida como o número de entradas que o animal cruzou com as quatro patas para os braços do labirinto.

Tratamento estatístico

Para a análise dos dados foi utilizado a Análise de Variância One-Way (ANOVA) para verificar diferenças significativas entre os grupos, seguido da aplicação do teste post-hoc com ajustamento Bonferroni quando apropriado (diferenças significativas encontradas na ANOVA; $\alpha=0,05$), os dados estatísticos foram gerados utilizando o programa SPSS versão 8.0, e apresentados através das médias e desvio padrão por tabelas.

Foi realizado a análise do poder da amostra post hoc através do software G*Power 3.0.10¹⁹ com um nível de significância (α) de 0.05 e Power ($1-\beta$) de 0,80.

RESULTADOS

Teste de Campo Aberto – TCA

Os resultados das médias e desvios padrões encontram-se representados na tabela 1. A análise de variância (ANOVA) não verificou diferenças significativas sobre os levantamentos totais, $F(3,20) = 1,61$; $p = 0,22$. Em relação aos cruzamentos houve diferenças significativas, $F(3,20) = 9,60$; $p < 0,01$. Testes de comparações múltiplas com ajustamento de Bonferroni revelaram diferenças significativas entre os grupos Controle versus 5% ($p = 0,01$), 0% versus 50% ($p < 0,01$), 5% versus 50% ($p < 0,01$).

Tabela 1. Médias e desvios padrões para o Teste de Campo Aberto.

Medidas do teste de campo aberto	Controle (n=6)	0% (n=6)	5% (n=6)	50% (n=6)
	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$
Cruzamento $F_{(3,20)} = 9,60$; $p < 0,01$	45,0 \pm 8,7	73,2 \pm 31,0	81,2 \pm 14,8*	32,8 \pm 7,4
Levantamento $F_{(3,20)} = 1,61$; $p = 0,22$	14,2 \pm 5,5	8,5 \pm 1,9	13,0 \pm 4,2	12,8 \pm 6,4

$\bar{x} \pm DP$ - Média e desvio padrão; (*) - diferença significativa teste de Bonferroni ($p=0,01$).

Labirinto em Cruz Elevado – LCE

Os resultados das médias, desvios padrões e as estatísticas d (magnitude do efeito) encontram-se representados na tabela 2. A análise de variância (ANOVA) revelou diferenças significativas sobre o percentual de entradas para os braços abertos, $F(3,28) = 5,63$; $p < 0,01$. Os testes de comparações múltiplas com ajustamento de Bonferroni revelaram diferenças significativas entre o grupo de 50% versus Controle ($p < 0,05$), 50% versus 0% ($p < 0,01$) e 50% versus 5% ($p < 0,05$). Houve diferença

Tabela 2. Médias, desvios padrões e estatísticas d para o Teste de Labirinto em Cruz Elevado.

Medidas do teste de labirinto em cruz elevado	Controle (n=8)	0% (n=8)	5% (n=8)	50% (n=8)
	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	d'	$\bar{x} \pm DP$
Entrada nos braços fechados $F_{(3,28)} = 1,64$; $p < 0,20$	3,3 \pm 0,9	5,3 \pm 2,4	1,2	4,6 \pm 1,9
Percentual de entradas nos braços abertos $F_{(3,28)} = 5,63$; $p < 0,01$	46,8 \pm 9,1	49,3 \pm 16,1	0,2	45,2 \pm 7,5
Percentual de tempo nos braços abertos (seg.) $F_{(3,28)} = 5,33$; $p < 0,01$	30,8 \pm 26,7	45,0 \pm 19,8	0,6	42,8 \pm 14,2

$\bar{x} \pm DP$ - Média e desvio padrão; d' - A magnitude do efeito "effect size" foi calculada como a razão entre as diferenças das médias pela média do desvio padrão; (*) - diferença significativa teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

significativa sobre o percentual de tempo nos braços abertos, $F(3,28) = 5,33$; $p < 0,01$. Bonferroni revelaram diferenças significativas entre os grupos de 50% versus 0% ($p < 0,01$) e 50% versus 5% ($p < 0,01$). Não foi encontrada diferença significativa na media dos grupos para entradas nos braços fechados $F(3,28) = 1,64$; $p=0,20$.

DISCUSSÃO

A prática de exercício físico vem sendo pesquisada como uma forte aliada na redução da ansiedade. A correlação de diferentes intensidades de exercício físico tem sugerido uma significativa redução no estado de ansiedade em humanos^{4,9,11,13,20}.

Nossos resultados levantados no TCA sugerem que, após a realização do exercício físico individual não houve comprometimento na mobilidade, ou seja, achados relacionados a ansiedade caso alterados por fatores ansiogênicos ou ansiolíticos, não estão relacionados ao comprometimento da mobilidade em nenhuma das intensidades utilizadas, caracterizando uma melhora na mobilidade após o exercício.

É de suma importância constatar que a manipulação experimental dos animais no nosso estudo não prejudicou a mobilidade, garantindo a fidedignidade dos dados adquiridos por meio da aplicação dos testes, mostrando que os comportamentos apresentados pelos mesmos não foram reflexos de comprometimento da mobilidade e sim respondentes relacionados à ansiedade.

No nosso estudo, além de não ter sido identificado um prejuízo na mobilidade dos animais, foi encontrado um aumento do número de cruzamentos no TCA no grupo 5%, esse aumento está relacionado com a exploração, o que sugere um efeito ansiolítico, pois essa medida é característica de redução de ansiedade¹⁵.

Nossos dados colaboram com o estudo realizado por Dishman et al.¹³, utilizando o exercício de corrida na esteira e as medidas de cruzamentos no mesmo modelo apontam para um aumento de 45% na atividade motora dos animais.

Quando comparado os dados do TCA com os dados do LCE confirmamos que realmente não houve comprometimento da mobilidade dos animais, uma vez que não houve diferença significativa no número de cruzamentos nos braços fechados, sendo esta medida amplamente utilizada para relacionar efeitos na locomoção^{4,13,21-23}.

Embora a intensidade dos exercícios para os animais expostos aos paradigmas comportamentais tenha sido baseada a partir do peso corporal do animal, os resultados dos trabalhos de Voltarelli et al.²⁴ e Gobatto et al.²⁵ sugerem que as cargas entre 5% a 6% do peso corporal correspondem ao limiar de lactato sanguíneo (AT). Portanto, os animais que se exercitaram com 0 ou 50%, seguramente se inserem nas categorias de intensidade leve e intensa, respectivamente.

Os resultados do LCE mostram que o grupo 50% apresentou um

menor percentual de entradas nos braços abertos, ou seja, de acordo com os dados de validação do LCE¹⁷, o exercício realizado com maior intensidade eliciu efeitos relacionados com aumento de ansiedade. Estudo realizado por Raglin e Wilson⁹, sugere que em seres humanos a intensidade do exercício modifica condições de ansiedade, dentre outros aspectos e essa condição resulta em distintas respostas fisiológicas e psicológicas frente ao esforço agudo ou crônico.

CONCLUSÃO

Em conjunto, nossos resultados sugerem que os efeitos agudos do exercício físico proporcionam alterações sobre o comportamentos

relacionados a ansiedade. Estas alterações parecem obedecer a uma relação intensidade-resposta, podendo produzir efeitos ansiolítico ou ansiogênico dependendo da intensidade do exercício. Novos trabalhos devem ser conduzidos para a investigação de potenciais efeitos de interação entre a duração e intensidade do exercício em ratos, utilizando variações da metodologia apresentada neste estudo, uma vez que se mostrou viável na investigação de efeitos relacionados à ansiedade.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES: Ambos os autores contribuíram ativamente na redação do manuscrito, e na realização dos experimentos. DFB (0000-0002-8251-0105)* avaliou os dados da análise estatística. CFL (0000-0001-5714-7722)* realizou a pesquisa bibliográfica. Ambos os autores contribuíram na discussão e com o conceito intelectual do estudo. *Número ORCID (*Open Researcher and Contributor ID*).

REFERÊNCIAS

1. Araújo SR, de Mello MT, Leite JR. Anxiety disorders and physical exercise. *Rev Bras Psiquiatr.* 2007;29(2):164-71.
2. Belzung C, Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behav Brain Res.* 2001;125(1-2):141-9.
3. Andreatini R, Boengen-Lacerda R, Zorzetto Filho D. Tratamento farmacológico da ansiedade generalizada: perspectivas futuras. *Rev Bras Psiquiatr.* 2001;23(4): 233-42.
4. Fulk LJ, Stock HS, Lynn A, Marshall J, Wilson MA, Hand GA. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. *Int J Sports Med.* 2004;25(1):78-82.
5. Peluso MA, Guerra de Andrade LH. Physical activity and mental health: the association between exercise and mood. *Clinics (Sao Paulo).* 2005;60(1):61-70.
6. Scully D, Kremer J, Meade MM, Graham R, Dudgeon K. Physical exercise and psychological well being: a critical review. *Br J Sports Med.* 1998;32(2):111-20.
7. Petruzzello SJ, Landers DM, Hatfield BD, Kubitz KA, Salazar W. A meta-analysis on the anxiety-reducing effects of acute and chronic exercise. Outcomes and mechanisms. *Sports Med.* 1991;11(3):143-82.
8. Chaouloff F. Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiol Scand.* 1989;137(1):1-13.
9. Raglin JS, Wilson M. State anxiety following 20 minutes of bicycle ergometer exercise at selected intensities. *Int J Sports Med.* 1996;17(6):467-71.
10. Morgan WP. Affective beneficence of vigorous physical activity. *Med Sci Sports Exerc.* 1985;17(1):94-100.
11. Burghardt PR, Fulk LJ, Hand GA, Wilson MA. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res.* 2004;1019(1-2):84-96.
12. Salmon P. Effects of physical exercise on anxiety, depression, and sensitivity to stress: a unifying theory. *Clin Psychol Rev.* 2001;21(1):33-61.
13. Dishman RK, Dunn AL, Youngstedt SD, Davis JM, Burgess ML, Wilson SP, et al. Increased open field locomotion and decreased striatal GABA binding after activity wheel running. *Physiol Behav.* 1996;60(3):699-705.
14. Finn DA, Rutledge-Gorman MT, Crabbe JC. Genetic animal models of anxiety. *Neurogenetics.* 2003;4(3):109-35.
15. Royce JR. On the construct validity of open-field measures. *Psychol Bull.* 1977; 84(6):1098-106.
16. Handley SL, Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of fear-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1984;327(1):1-5.
17. 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.* 1985;14(3):149-67.
18. Jonsdottir IH, Asea A, Hoffmann P, Dahlgren UI, Andersson B, Hellstrand K, et al. Voluntary chronic exercise augments in vivo natural immunity in rats. *J Appl Physiol (1985).* 1996;80(5):1799-803.
19. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* 2007;39(2):175-91.
20. Mello MT, Boscolo RA, Esteves AM. Physical exercise and the psychobiological aspects. *Rev Bras Med Esporte.* 2005;11(3):195e-9.
21. Cruz AP, Frei F, Graeff FG. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1994;49(1):171-6.
22. Alves SH, Pinheiro G, Motta V, Landeira-Fernandez J, Cruz AP. Anxiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT(2C) agonists into ventral but not dorsal hippocampus. *Behav Pharmacol.* 2004;15(1):37-43.
23. Setem J, Pinheiro AP, Motta VA, Morato S, Cruz AP. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1999;62(3):515-21.
24. Voltarelli FA, Gobatto CA, de Mello MA. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res.* 2002;35(11):1389-94.
25. Gobatto CA, de Mello MA, Sibuya CY, de Azevedo JR, dos Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2001;130(1):21-7.