



ORIGINAL

## Comportamento de ratos imobilizados na posição de 90° do tornozelo e submetidos à estimulação elétrica muscular

*Behavior of rats with ankle immobilized at 90°  
submitted to electric muscle stimulation*

Carlos Alberto da SILVA<sup>1</sup>  
Rinaldo Roberto de Jesus GUIRRO<sup>2</sup>  
Reinaldo MACEDO JUNIOR<sup>3</sup>  
Juliana LIBARDI<sup>3</sup>

### RESUMO

#### Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas comportamentais em ratos submetidos a cinco dias de imobilização articular por meio de órtese de resina acrílica e estimulados eletricamente.

#### Métodos

Avaliou-se o comportamento de deslocamento no teste de campo aberto e no labirinto em cruz elevado. Utilizaram-se oito ratos Wistar de três meses, alimentados com ração e água *ad libitum* sob ciclo de 12 horas claro/escuro e divididos em quatro grupos: controle, imobilizado, estimulado eletricamente e imobilizado estimulado eletricamente. Na avaliação estatística, utilizaram-se ANOVA e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Para amostragem, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/Kg/ip), o sangue foi coletado da veia renal e o plasma foi isolado para avaliação da concentração plasmática de corticosterona por meio de ELISA.

<sup>1</sup> Universidade Metodista de Piracicaba, Faculdade de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia. Rod. do Açúcar, Km 156, Campus Taquaral, 13400-901, Piracicaba, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: C.A. SILVA. E-mail: <casilva@unimep.br>.

<sup>2</sup> Universidade de São Paulo, Faculdade de Ribeirão Preto, Curso de Fisioterapia, Departamento Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor. Ribeirão Preto, SP, Brasil.

<sup>3</sup> Fisioterapeutas. Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Apoio: Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (processo nº 2008/50533-7).

### Resultado

O grupo-controle apresentou redução no campo aberto e baixa concentração de concentração plasmática de corticosterona; o grupo imobilizado mostrou redução no campo aberto e elevação na concentração plasmática de corticosterona. O grupo estimulado eletricamente não se diferenciou do controle, e o grupo imobilizado estimulado eletricamente apresentou aumento na atividade no campo aberto quando comparado ao imobilizado. No labirinto em cruz elevado, foi observado que a imobilização aumentou a ansiedade, efeito que ocorreu em menor intensidade no grupo imobilizado estimulado eletricamente.

### Conclusão

Os resultados mostram que a limitação funcional induzida pela imobilização reduz as respostas comportamentais no campo aberto e gera ansiedade e que a estimulação elétrica promoveu elevação nas respostas comportamentais e menor ansiedade, o que pode estar relacionado à melhora nas condições metabólicas da musculatura.

**Termos de indexação:** Comportamento. Imobilização. Labirinto em cruz elevado. Ratos.

## ABSTRACT

### Objective

*The objective of this study was to evaluate the behavior (exploratory activity in open field) and anxiety indexes (elevated plus maze) of rats submitted to 5 days of immobilization with an acrylic resin orthosis and session of electric stimulation.*

### Methods

*Three-month-old Wistar rats obtained from the Methodist University of Piracicaba animal facility, were kept under controlled laboratory conditions, with water and rodent chow ad libitum and a 12h light/dark cycle and divided into 4 groups: control, immobilized, electrically stimulated, and immobilized and electrically stimulated, n=8. Statistical analysis was done by ANOVA and the Tukey test ( $p<0.05$ ). The rats were anesthetized (sodium pentobarbital 50mg/kg, ip), a blood sample was collected and the plasma separated in order to evaluate plasmatic concentration of corticosterone by the ELISA method.*

### Results

*The control group demonstrated a reduction in exploratory activity in the open field test and a low concentration of plasmatic corticosterone, while the immobilized group displayed reduced exploratory activity in the open field and elevated plasmatic concentration of corticosterone. In this sense, the electrically stimulated group was not different from the control, while the immobilized and electrically stimulated groups demonstrated an increase in exploratory activity in the open field in comparison with the immobilized group. In the elevated plus maze analysis, the immobilized group showed an elevation in anxiety indexes, which was less intense in the immobilized and electrically stimulated group.*

### Conclusion

*The results illustrate that immobilization reduces exploratory activity in the open field and generates anxiety, while electrical stimulation improved exploratory activity in the open field and reduced anxiety. This can be related to improvement in the metabolic conditions of the musculature.*

**Index terms:** Behavior. Immobilization. Plus maze. Rats.

## INTRODUÇÃO

Os modelos animais são fundamentais para a pesquisa, pois mimetizam algumas características elementares de um estado patológico específico, favorecem sua compreensão e o desenvolvimento de terapias eficazes, fornecem uma aproximação simplificada dos complexos fatores relacionados à patologia, reduzindo o número de variáveis cujo controle é inacessível, e permitem, assim, maior grau de controle experimental e manipulações que seriam impossíveis em outras circunstâncias<sup>1</sup>.

Diversos fatores ambientais podem determinar adaptações bem como implementar comportamentos específicos; assim, embora haja uma pequena variação de uma espécie para outra, os comportamentos emocionais, como evitação e imobilismo, permanecem os mesmos e constituem a base para a classificação dos comportamentos ao longo da evolução biológica. Com base nisso, emoções como medo e expectativa são representadas por redes neurais inatas que coordenam as estratégias comportamentais, permitindo aos animais interagirem com mudanças contínuas no ambiente<sup>2</sup>.

Têm sido desenvolvidos diferentes métodos que permitem quantificar a atividade locomotora de ratos. Nesse sentido, os parâmetros que quantificam o padrão de movimentação no campo aberto estão relacionados com a frequência de amostragem, a resolução espacial, a relação entre o tamanho do animal e a área do aparato experimental, a distância do deslocamento, o tempo de permanência em cada região do campo e a velocidade do movimento<sup>3</sup>.

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) faz parte do rol de testes indicados na avaliação do comportamento de ratos, sendo útil na pesquisa de comportamento animal<sup>4</sup>. O LCE se baseia na medida de todas as categorias comportamentais que refletem o conflito resultante da tendência de os animais explorarem ambientes desconhecidos e evitarem situações potencialmente perigosas, sendo um dos testes mais empregados no estudo da ansiedade<sup>5</sup>.

Diferentes fatores podem propiciar a prescrição de imobilização durante um processo de

reabilitação, merecendo destaque as entorses, as lesões nos membros inferiores, fraturas ósseas, rupturas ligamentares ou doenças degenerativas das articulações. Em tais circunstâncias, é inevitável a diminuição da amplitude de movimentos das articulações e o aparecimento de hipotrofia<sup>5</sup>.

Recentemente foi desenvolvido um modelo de órtese de metacrilato de etila aplicado para ratos no estudo de fenômenos ligados à imobilização muscular e verificaram-se alterações quimiometabólicas e histológicas de caráter diferenciado e de acordo com a posição articular e o período de desuso<sup>6</sup>.

A Estimulação Elétrica (EE) funcional dos músculos é um recurso frequentemente utilizado na atividade fisioterapêutica. Tem sido verificado que inúmeros sistemas celulares são ativados em decorrência da terapia, destacando-se a integração entre as vias sinalizadoras celulares e as dinâmicas metabólicas, ativação ou inibição de vias específicas, mantendo o músculo um tanto mais ativo e saudável<sup>7</sup>. Segundo Vanderthommen & Crielaard<sup>8</sup>, a EE é frequentemente usada para fortalecer o músculo normal, mas na área médica vários pesquisadores têm ressaltado o seu valor no tratamento da hipotrofia. Apesar de essa técnica não substituir a ação fisiológica dos fatores neurotróficos, ela é uma estratégia com ação aditiva na recuperação sensorio-motora devido a efeitos como aumento de força e volume muscular, redução da espasticidade e rigidez, melhora da circulação sanguínea e plasticidade neural. A EE é, portanto, indicada em casos de fraqueza muscular, distensão muscular, incontinência, elevação ou perda do tônus muscular<sup>9-11</sup>.

Em virtude da frequência com que a EE é utilizada na prática clínica, há uma grande importância no desenvolvimento de trabalhos que determinem a influência desse procedimento na recuperação das condições energéticas comprometidas pelo desuso. Modelos experimentais têm sido desenvolvidos com o intuito de estudar a adaptação muscular durante a imobilização, havendo sugestões de que as alterações mais relevantes da atrofia ocorram nos dias iniciais da imobilização<sup>12-14</sup>.

A proposta deste trabalho foi avaliar, por meio dos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado, o comportamento de ratos submetidos à imobilização articular na posição de 90° do tornozelo e à EE.

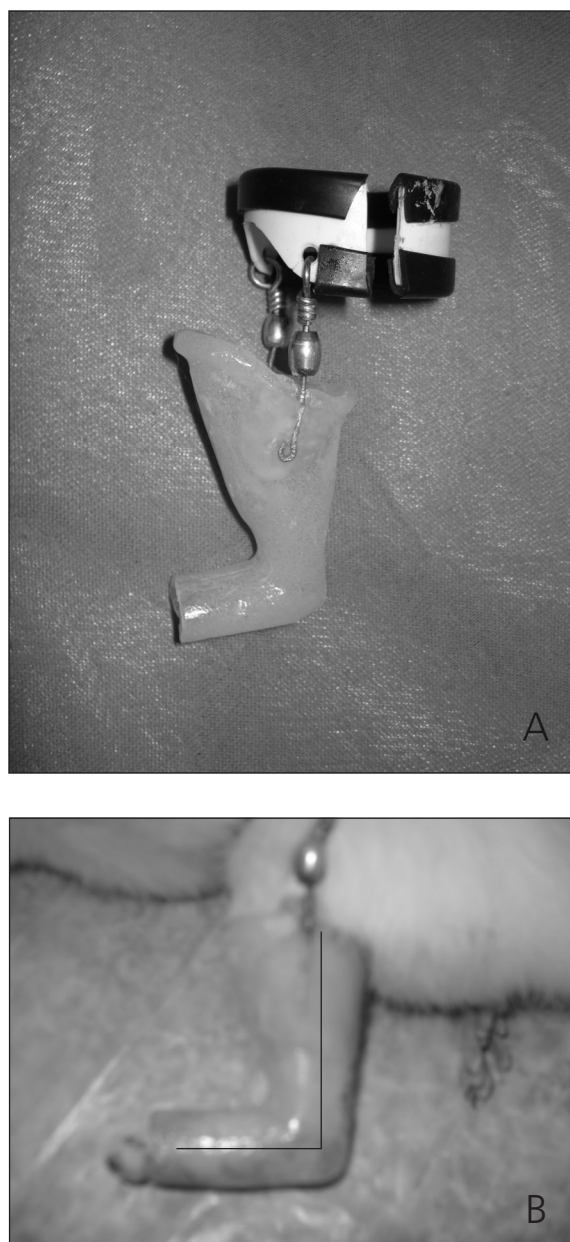
## MÉTODOS

Foram utilizados oito ratos albinos *Wistar* com três meses de idade, adquiridos da empresa ANILAB®, alimentados com ração (Purina® para roedores) e água *ad libitum*, submetidos a ciclos fotoperiódicos de 12 horas claro/escuro e distribuídos em quatro grupos experimentais: controle (C), imobilizados durante cinco dias (I), estimulados eletricamente durante cinco dias (E) e imobilizados e estimulados eletricamente durante cinco dias (IE). O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da UFSCar (protocolo 015/2006).

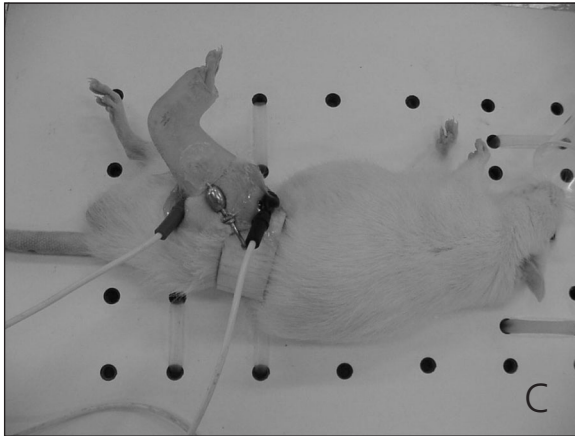
Após anestesia com pentobarbital sódico (50mg/kg, i.p), a pata posterior esquerda dos animais foi tricotomizada e imobilizada com o modelo de órtese de resina acrílica<sup>6</sup> (Figura 1).

Nos protocolos de avaliação comportamental, os animais foram diariamente expostos ao campo aberto sempre no início da noite, período de maior atividade da espécie, permaneceram no ambiente durante três minutos e foram filmados e posteriormente avaliados. No teste do labirinto em cruz elevado, os animais foram expostos ao teste somente no fim do período experimental, e observados durante cinco minutos, conforme o modelo descrito por Pellow *et al.*<sup>5</sup>. No protocolo de EE, o membro inferior esquerdo foi tricotomizado para garantir maior efetividade da estimulação, e os eletrodos foram posicionados na região anterior e posterior da coxa, estimulando os músculos sóleo e gastrocnêmio (Figura 2). A sessão de EE teve início logo após a imobilização, obedecendo os seguintes parâmetros: estimulação elétrica diária de 20 minutos, na frequência de 10Hz, largura de fase de 0,4ms, intensidade da corrente padronizada em 5,0mA a partir da visuali-

zação da contração muscular<sup>11</sup>. A cada cinco minutos o aparelho foi ajustado acrescentando 1,0mA à corrente para minimizar a acomodação. O equipamento utilizado para a estimulação elétrica neuromuscular foi o Dualpex 961 (QUARK®) com eletrodos de silicone-carbono de 1cm<sup>2</sup> cada um (Figura 2).



**Figura 1.** A) Modelo de órtese utilizado na imobilização, B) Adaptação da órtese no membro posterior do animal mantendo a articulação do tornozelo em 90°.



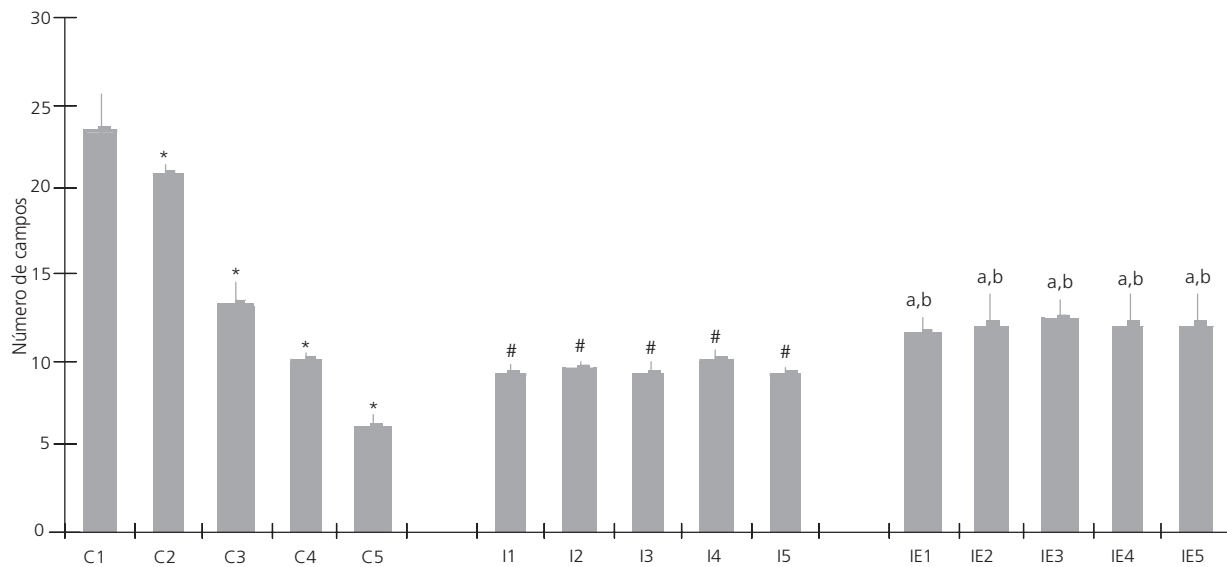
**Figura 2.** Posicionamento de eletrodos durante a sessão de estimulação elétrica.

Para amostragem, os animais foram anestesiados, uma alíquota de sangue coletada da veia renal foi centrifugada e o plasma foi encaminhado para análise da concentração plasmática de corticosterona por ELISA (BIORAD - diagnósticos) e da glicemia pelo método enzimático calorimétrico

(CELM - reactoclin). Na avaliação estatística foram utilizados ANOVA e teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

**RESULTADOS**

Foi observado que os ratos do grupo-controle apresentaram redução progressiva no deslocamento exploratório, atingindo 25% no índice de deambulação na transição do 1º para o 2º dia, redução de 36% no 3º, 4º e 5º dia, ocasião em que o índice de deslocamento manteve-se constante, indicando adaptação. Cabe ressaltar que o grupo submetido à estimulação elétrica não diferiu do controle. Já o grupo submetido à imobilização manifestou redução no índice de deslocamento, não sendo verificada diferença nesse parâmetro nos cinco dias de análise; porém, quando comparado ao grupo-controle, foi observada uma expressiva redução, atingindo 68,9%, 55,2%, 54%, 61,5%, 63,8%, respectivamente, do 1º ao 5º dia de análise, fato que mostra inibição no comportamento exploratório (Figura 3).



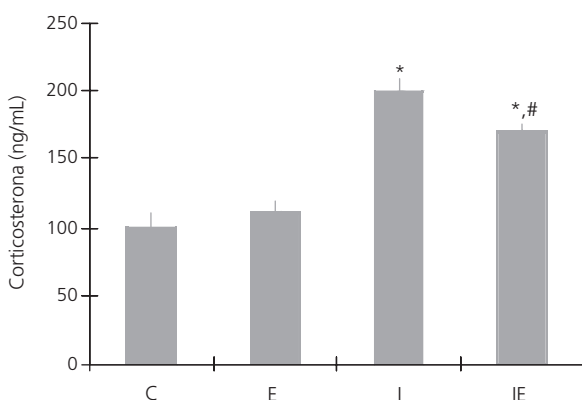
**Figura 3.** Número de campos deslocados no campo aberto dos grupos-controle (C), imobilizado (I) e imobilizado estimulado eletricamente (E). Os valores correspondem à média ± epm, n=6.

Nota: \* $p < 0,05$  se comparado ao dia antecedente no grupo-controle; # $p < 0,05$  na comparação do grupo imobilizado com o controle; a: difere do grupo-controle; b: difere do grupo imobilizado.

**Tabela 1.** Comportamento dos ratos do grupo-controle (C), imobilizados (I), estimulados eletricamente (E) e imobilizados estimulados eletricamente (IE) submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado (LCE) durante 5 dias consecutivos.

Movimentação no LCE	C		I		E		IE	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
Tempo no braço aberto (%)	24,2	1,1	9,70	1,30*	23,20	1,40	32,50	6,60
Entrada no braço aberto (%)	3,39	0,09	1,13	0,05*	3,19	0,10	2,56	0,10
Entrada no braço fechado (n)	3,18	0,09	4,28	0,10	2,85	0,20*	1,36	0,10 <sup>#</sup>
Idas ao final do braço aberto (n)	3,46	0,10	3,02	0,40	3,52	0,20	1,16	0,01 <sup>#</sup>
Avaliação de risco	4,01	0,08	2,22	0,07*	3,95	0,20	2,52	0,02 <sup>#</sup>

Os valores correspondem à média±epm, n=6, \*p<0,05 se comparados ao controle e <sup>#</sup>p<0,05 se comparados ao imobilizado.



**Figura 4.** Concentração plasmática de corticosterona (ng/mL) dos ratos do grupo-controle (C), estimulados eletricamente (E), imobilizados (I) e imobilizados estimulados eletricamente (IE) após o teste de campo aberto durante 5 dias consecutivos.

Nota: Os valores correspondem à média±epm, n=6, \*p<0,05 se comparados ao controle e <sup>#</sup>p<0,05 se comparados ao imobilizado.

O mesmo perfil de análise foi realizado no grupo imobilizado submetido à estimulação elétrica e verificou-se que o índice de deslocamento exploratório nesse grupo foi em média 38% maior do que o do grupo imobilizado, mas não se atingiram os valores observados no grupo-controle, persistindo a limitação no comportamento.

Com relação à concentração plasmática de corticosterona, o grupo estimulado eletricamente não diferiu do controle; os grupos imobilizado e imobilizado estimulado eletricamente diferem entre si e apresentam, respectivamente, concentrações médias 100% e 70% maiores que a do controle (Figura 4).

Foi avaliado o comportamento dos ratos submetidos ao LCE (Tabela 1). Os dados referentes à exploração dos braços abertos no LCE mostram que o grupo imobilizado apresentou redução de 135% na porcentagem de tempo de permanência no braço aberto, efeito também observado na porcentagem de entrada no braço aberto, que teve redução de 66,6% (p<0,05). A mesma tabela apresenta o efeito da imobilização sobre o número de entradas no braço fechado: foi observada elevação de 34,5%, acompanhada de elevação de 45% (p<0,05) na avaliação de risco. Cabe salientar que não houve diferença nas idas ao final do braço aberto.

A mesma análise, agora direcionada ao comportamento dos ratos imobilizados e estimulados eletricamente, mostrou elevação de 34% na porcentagem de tempo no braço aberto, 126% na porcentagem de entrada no braço aberto e 13% na avaliação de risco. Esse comportamento foi acompanhado de redução de 68% no número de entrada no braço fechado e 61% no número de idas ao final do braço aberto (p<0,05).

## DISCUSSÃO

Várias teorias acerca de índices comportamentais de animais têm sido construídas, sendo considerada como comportamento exploratório a expressão da curiosidade espontânea nos animais<sup>2</sup>. Neste estudo, o comportamento de ratos-controle submetidos ao campo aberto apresentou grande atividade exploratória nos dias iniciais da exposição ao meio, seguida de uma adaptação progressiva, representada pela redução na atividade ao longo



dos cinco dias de avaliação. Nesse sentido, sabe-se que o substrato neural de tal comportamento é representado por redes neurais inatas que coordenam as estratégias comportamentais, permitindo aos animais interagirem com mudanças contínuas no ambiente e aprendizagem topográfica independentemente de recompensa<sup>3</sup>.

Muitas teorias foram propostas para explicar o comportamento exploratório dos ratos; dentre elas há referências que partem de conceitos simplistas ligados à existência de um impulso exploratório nato da espécie até teorias homeostáticas que se fundamentam no fato de os ratos explorarem buscando atingir níveis de gasto energético adequado à sobrevivência, e, para isso, diferentes sensações são desencadeadas no intuito de obter maiores informações acerca do ambiente<sup>15</sup>. Cabe ressaltar que os parâmetros comportamentais de animais de laboratório merecem maiores estudos para determinação de um padrão.

A adaptação diante da exposição constante ao campo aberto está relacionada com a ativação da função do sistema septo-hipocampal, que compara os dados sensoriais que o hipocampo recebe do córtex entorrinal com as previsões geradas no circuito de PAPEZ, que desempenhava um papel importante na elaboração comportamental<sup>16</sup>.

O grupo imobilizado submetido à EE apresentou índices menores - que indicam medo e ansiedade - quando comparado ao grupo somente imobilizado. Isso sugere que a terapia, ao ter induzido uma melhora nas condições energéticas da musculatura, possa ter propiciado mudanças comportamentais, uma vez que o animal manifestou aumento na capacidade de locomoção. Para essa proposta, trabalhos demonstraram melhora nas condições metabólicas associadas à EE<sup>11,13</sup>. Outro fator relacionado à redução da ansiedade é o aumento do desempenho cognitivo.

O LCE é considerado um instrumento útil e válido para medir ansiedade, investigações de aspectos comportamentais, fisiológicos e farmacológicos<sup>17,18</sup>. Foi observado que o comportamento do grupo imobilizado submetido ao campo aberto apresentou redução significativa no comportamento

exploratório, podendo haver relação com o sistema de inibição comportamental constituído pela formação septo-hipocampal, associado a outras estruturas cerebrais, como os córtices pré-frontal e cingulado, tálamo anteroventral e corpos mamilares. Esse sistema responde a estímulos novos através da supressão do comportamento<sup>18</sup>. A ativação desses sistemas resulta na inibição de qualquer atividade que o animal esteja exercendo, levando, no extremo, à imobilidade tensa ou congelamento. Tal inibição comportamental é acompanhada do aumento de vigilância e da atenção para perigos potenciais. Esse estado foi identificado nos animais imobilizados e em menor escala no grupo imobilizado estimulado eletricamente.

O perfil endócrino do grupo imobilizado mostrou elevação significativa na concentração plasmática de corticosterona, indicando elevação na atividade do eixo-hipotálamo-hipófise-adrenal, que pode servir de medida objetiva de ansiedade e medo<sup>19,20</sup>. Temos, assim, que o aumento na concentração plasmática do hormônio adrenocorticotrófico induz a liberação de corticosterona das adrenais. Tanto o hormônio adrenocorticotrófico quanto os corticoides atuam no sistema nervoso central, modulando o comportamento emocional<sup>19,21</sup>.

Nesse sentido, os resultados deste estudo são expressivos, pois revelam que ratos imobilizados expostos ao LCE apresentam elevação na concentração plasmática de corticosterona similar àqueles expostos uma única vez, indicando que se trata principalmente de uma alteração no estado emocional do animal em vez de uma simples habituação. Esses dados contrastam com outros modelos animais, que indicam habituação após a reexposição<sup>22</sup>.

É importante, finalmente, considerar que os ratos imobilizados manifestaram redução na porcentagem de tempo nos braços abertos e na entrada nesses braços, indicando ansiedade a fatores que acompanharam elevação no número de entradas no braço fechado e na avaliação de risco. Esses dados refletem dois sistemas neurais que medeiam a reação dos animais: o sistema cerebral de defesa, acionado em situações de conflito ou de perigo iminente, e o sistema de inibição comportamental<sup>22</sup>. Por fim, foi observado que o grupo de ratos imobilizados e subme-

tidos à EE apresentou alterações nos parâmetros comportamentais em menor instância do que aqueles imobilizados e não estimulados, fato indicativo da existência de relações funcionais entre os ajustes neuroquímicos e a modulação do comportamento.

## CONCLUSÃO

Os resultados sugerem a existência de alterações fisiológicas e comportamentais ligadas à imobilização muscular e caracterizadas pela redução da atividade exploratória e pelo desenvolvimento de ansiedade, o que pode acompanhar a limitação imposta pelo desuso. A EE, no entanto, promoveu melhora nos parâmetros comportamentais, podendo estar relacionada à melhora nas condições metabólicas da musculatura.

## REFERÊNCIAS

- Andersen ML, D'Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJF, Magalhães LE, *et al.* Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo: Unifesp; 2004.
- Zangrossi HJR, File SE. Behavioral consequences in animal tests of anxiety and exploration of exposure to cat odor. *Brain Res Bull.* 1992; 29(3-4):381-8.
- Rousseau JBI, Gispen WH, Spruijt BM. A comparison of various analysis parameters of locomotion patterns of rats in an open field. *Proceeding of the 2nd. International Conference on Methods and Techniques in Behavioral Research*; 1998; Gainingen, Netherlands; 1998. p.1-2.
- Schmitt U, Hiemke C. Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. *Pharmacol Biochem Behav.* 1998; 59 (4):807-11.
- Pellow S, Chopin P, File S, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rats. *J Neurosci Methods.* 1985, 14:49-67.
- Silva CA, Guirro RRJ, Polacow MLO, Durigan JLQ. Proposal for rat hindlimb joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. *Braz J Med Biol Res.* 2006; 39:979-85.
- Robinson AJ, Snyder-Mackler L. *Eletrofisiologia clínica.* 2a. ed. Porto Alegre: Artmed; 2001.
- Vanderthommen M, Crielaard JM. Électromyostimulation en médecine du sport. *Rev Med Liege.* 2001; 56(5): 391-5.
- Mela V, Veltink PH, Huijting PA. Excessive reflexes in spinal cord injury triggered by electrical stimulation. *Arch Physiol Biochem.* 2001; 4:309-15.
- Sköld C. Effects of functional electrical stimulation training for six months on body composition and spasticity in motor complete tetraplegic spinal cord injury. *J Rehabil Med.* 2002; 34:25-32.
- Guirro RRJ, Silva CA, Forti F. Análise do músculo esquelético desnervado tratado com metformina e/ou estimulação elétrica de baixa frequência. *Rev Bras Fisioter.* 2004; 8:21-27.
- Guirro RRJ, Dias CKN, Silva CA. Imobilização altera o conteúdo de glicogênio e peso muscular de acordo com o período e a posição articular. *Rev Bras Fisioter.* 2005; 9(2):173-9.
- Forti F, Guirro RRJ, Silva CA. Efeitos da glutamina e da estimulação elétrica sobre o perfil metabólico de músculos desnervados. *Rev Bras Edu Fis Esp.* 2004; 18(3):273-81.
- Qin L, Appell HJ, Chan KM, Maffulli N. Electrical stimulation prevents immobilization atrophy in skeletal muscle of rabbits. *Arch Phys Med Rehabil.* 1997; 78:512-7.
- Renner MJ, Seltzer CP. Characteristics of exploratory and investigatory behavior in the rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Physiol.* 1991; 1051:326-39.
- Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol Psychiatr.* 1937; 38:725-43.
- Anseloni VZ, Brandão ML. Ethopharmacological analysis of behavior of rats using variations of the elevated plus-maze. *Behav Pharmacol.* 1997; 8:533-40.
- Graeff FG. Neuroanatomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. *Braz J Med Biol Res.* 1994; 27(4):811-29.
- Pauli JR, Gomes RJ, Luciano E. Eje hipotálamo-pituitario: efectos del entrenamiento físico en ratas Wistar con administración de dexametasona. *Rev Neurol.* 2006; 42:325-31.
- Treit D, Menard J, Royan C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993, 44:463-9.
- File SE, Johnston AL, Baldwin HA. Anxiolytic and anxiogenic drugs: change in behaviors and endocrine responses. *Stress Med.* 1988; 4:221-30.
- File SE, Peet LA. Sensitivity of the rat corticosterone response to environmental manipulation and to chronic clordiazepoxide treatment. *Physiol Behav.* 1980, 25:753-8.

Recebido em: 5/2/2009

Versão final reapresentada em: 23/2/2010

Aprovado em: 8/3/2010