

**PENURUNNYA KECEMASAN TIKUS OVARIKTOMI SETELAH  
LATIHAN INTERVAL DENGAN INTENSITAS TINGGI**  
*Diminished of Anxiety in Ovariectomized Rats after High-Intensity Interval Exercise*

**Saidah Rauf<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Keperawatan Masohi Poltekkes Kemenkes Maluku, Jalan Trans Seram, Letwaru, Kota  
Masohi, Kabupaten Maluku Tengah, Maluku  
E-mail: ayi\_rauf@yahoo.co.id

**ABSTRACT**

It is well established that a decrease of estrogen during natural or surgical menopause (ovariectomy) could influence female anxiety behaviour both in human and animal experiments. Several studies have proved that exercise act as a potential therapy to reduce depression and anxiety behaviours. The current study analyzed the effects of High-Intensity Interval Exercise (HIIE) to anxiety-related behaviours of rats after long-term ovaries removal. Fifteen Sprague-Dawley rats (twelve weeks old) were used in this study. All rats were divided into sham-operated, ovariectomy, and ovariectomy with HIIE (OVX HIIE). The HIIE group was treated for 7 weeks of interval exercise that started after twelve weeks of ovariectomized using treadmill. Anxiety related behaviour were represented by frequencies to entrances centre arena, freezing and grooming duration on open field test. A significant decrease ( $p<0.05$ ) in the frequencies to enter open arena was detected in ovariectomized rats compared to sham and ovariectomy with HIIE, while reversed effect has observed in freezing duration. The present results show that HIIE may help to counteract the ovariectomized effect on anxiety-related behaviours of rats. The HIIE may become the promising therapy to treat anxiety behaviour on menopause condition.

**Keywords: Anxiety, interval exercise, ovariectomy, menopause**

**ABSTRAK**

Berkurangnya kadar hormon estrogen saat periode menopause alami maupun akibat pengangkatan ovarium telah terbukti pada penelitian di manusia maupun hewan coba dapat mempengaruhi perilaku wanita seperti meningkatnya kecemasan. Beberapa studi juga melaporkan latihan fisik bertindak sebagai terapi potensial untuk mengurangi depresi dan kecemasan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh Latihan Fisik Interval dengan Intensitas Tinggi (LFIIT) terhadap perilaku yang berkaitan dengan kecemasan pada tikus setelah periode ovariektomi jangka panjang. Sebanyak 15 ekor tikus Sprague Dawley betina (usia 12 minggu) digunakan dalam studi ini. Tikus dikelompokkan dalam sham (*SHAM*), Ovariektomi (*OVX*), dan Ovariektomi dengan LFIIT (*OVX LFIIT*). Kelompok LFIIT mendapatkan perlakuan LFIIT selama 7 minggu yang dimulai setelah periode ovariektomi selama dua belas minggu menggunakan *treadmill*. Perilaku kecemasan direpresentasikan oleh frekuensi memasuki arena tengah, dan durasi *freezing* serta *grooming* pada OFT. Frekuensi memasuki arena tengah lebih sedikit pada tikus ovariektomi ( $p<0.05$ ) dibandingkan tikus sham and ovariektomi dengan LFIIT, sementara hasil sebaliknya ditemukan pada durasi *freezing*. Penelitian ini menunjukkan bahwa LFIIT dapat menghilangkan efek ovariektomi terhadap perilaku yang berkaitan dengan kecemasan. Perlakuan LFIIT dapat menjadi terapi yang menjanjikan untuk mengatasi kecemasan saat menopause.

**Kata kunci: Kecemasan, latihan interval, ovariektomi, menopause**

## PENDAHULUAN

Kecemasan (*anxiety*) adalah reaksi emosional adaptif terhadap perubahan lingkungan yang dipersepsi oleh individu sebagai keadaan yang mengancam atau berbahaya (1). Kecemasan menjadi patologis ketika telah mengganggu aktivitas keseharian karena terjadi secara menetap dalam jangka waktu lama, dengan intensitas yang meningkat dan respon tidak adekuat meskipun tanpa adanya stresor (1–3).

Wanita lebih berisiko untuk menderita gangguan kecemasan dibandingkan pria (2,4). Risiko ini diduga berkaitan dengan adanya fluktuasi hormonal khususnya estrogen sepanjang periode kehidupan wanita (5,6). Perubahan regulasi hormonal pada aksis hipotalamus-hipofisis-ovarium menyebabkan penurunan dramatis kadar estrogen sirkulasi saat menopause dan dihubungkan dengan meningkatnya insiden kecemasan pada periode tersebut (7–9). Penelitian sebelumnya menemukan bahwa wanita menopause memiliki tingkat kecemasan lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak menopause (10). Studi pada hewan coba yang diovariektomi sebagai model menopause alami maupun ovariektomi pada manusia (11) menemukan peningkatan durasi imobilitas pada uji *elevated plus maze* dan *forced swimming* yang merupakan indikasi perilaku kecemasan (12,13).

Terapi estrogen untuk mencegah atau mengobati kecemasan pada wanita menunjukkan hasil yang tidak konsisten. Beberapa penelitian pre klinis dan klinis melaporkan berkurangnya kecemasan dengan pemberian estrogen (14–16), akan tetapi terdapat pula penelitian yang menunjukkan tidak ada efek terapi estrogen terhadap kecemasan (17). Di lain pihak, terdapat bukti bahwa terapi estrogen menimbulkan berbagai efek samping seperti meningkatkan risiko gangguan sistem kardiovaskular, kanker, dan hiperplasia endometrium (18). Kondisi ini memicu pengembangan penelitian untuk menemukan terapi kecemasan dengan menggunakan pendekatan yang efektif dan lebih aman.

Selama satu dekade terakhir, penelitian di bidang neurosains telah membuktikan manfaat latihan fisik *endurance* kontinu untuk mengatasi kecemasan (19–22). Akan tetapi, belum ditemukan penelitian yang menggunakan metode LFIIT untuk mengatasi kecemasan pada wanita menopause atau hewan coba yang diovariektomi. Latihan fisik dengan metode LFIIT saat ini mulai banyak digemari karena mudah dimodifikasi pada orang dengan berbagai kondisi kebugaran tubuh, serta dapat diterapkan pada semua jenis olahraga seperti bersepeda, berjalan, berenang atau latihan menggunakan *treadmill* (23).

Metode LFIIT merupakan pengembangan dari latihan *endurance* tetapi dilakukan secara diskontinu antara intensitas tinggi (biasanya  $\geq 90\% \dot{V}O_{2max}$ ) yang relatif singkat, diselingi dengan periode istirahat atau aktivitas fisik ringan (24–26). Kefektifan metode LFIIT setara dengan latihan *endurance* kontinu dalam meningkatkan kapasitas kardiorespirasi, kapasitas oksidatif, dan kekuatan otot maupun dapat menginduksi peningkatan faktor pertumbuhan di otak (24,25,27,28). Sebuah studi terbaru menemukan berkurangnya tingkat kecemasan pasien Skizofrenia setelah diberikan LFIIT (29). Dengan demikian, dapat dihipotesiskan bahwa LFIIT potensial menurunkan kecemasan pada kondisi menopause. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh LFIIT terhadap perilaku kecemasan pada tikus yang telah diovariektomi sebagai model menopause atau ovariektomi bilateral pada manusia.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah *quacy experiment* yang dilakukan secara *in-vivo* dengan menggunakan *post test only group design* untuk menilai pengaruh LFIIT terhadap perilaku terkait kecemasan pada tikus yang telah diovariektomi. Subjek penelitian ini adalah tikus betina galur *Sprague Dawley* usia 12 minggu dan bobot 150 - 200 g berjumlah 15 ekor. Tikus diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (UGM). Selama perlakuan, tikus dipelihara pada Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan UGM menggunakan kandang plastik

dengan tutup kawat dan alas diberi sekam padi berukuran 40x20x20 cm<sup>3</sup> beserta alat makan dan minum. Makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*. Kondisi ruangan selama periode pemeliharaan dan perlakuan berventilasi baik, pencahayaan seimbang antara siang dan malam yaitu 12 jam terang dan 12 jam gelap. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik oleh Komisi etik Fakultas Kedokteran UGM (KE/FK/217/EC/2016).

Subjek penelitian dibagi secara acak dalam 3 kelompok yaitu: kelompok *SHAM* atau kontrol, ovariektomi tanpa LFIIT (OVX), dan ovariektomi dengan LFIIT (OVX LFIIT) yang selanjutnya diaklimasi dengan suasana kandang selama 7 hari. Prosedur *sham* dan ovariektomi dilakukan pada hari ke-8. Sebelum dilaparotomi, tikus dianestesi menggunakan ketamin HCl (PT Guardian Pharmatama, Jakarta, Indonesia) dengan dosis 0,15 cc/100 gBB secara intra muskular dan dibiarkan sampai tikus teranastesi dengan baik. Laparotomi dilakukan dengan menginsisi kulit di sepanjang garis tengah abdomen dan peritonium sekitar 2 cm (30–33). Pada kelompok OVX, dilakukan pengambilan kedua ovarium dengan cara memotong bagian akhiran uterus dan ligamen suspensorium ovarium. Prosedur yang sama dilakukan pada tikus *SHAM* tanpa pemotongan akhiran uterus. Daerah yang diinsisi selanjutnya ditutup dan dijahit, kemudian diolesi dengan povidine iodine untuk mencegah infeksi.

Perlakuan LFIIT pada kelompok OVX LFIIT dimulai setelah 12 minggu pascaovariektomi untuk menginduksi hipoestrogenisitas jangka panjang. Perlakuan LFIIT merujuk pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Afzalpour et al. (28). Protokol LFIIT diberikan selama 7 minggu yang terdiri dari 1 minggu periode aklimatisasi dan latihan uji bertingkat, serta 6 minggu LFIIT menggunakan *treadmill* khusus tikus (*Gama Tread*, versi 2010, FK UGM). Pada periode aklimatisasi, *treadmill* diatur pada kecepatan 10 m/min dan durasi 10 menit/hari. Perlakuan LFIIT diberikan dengan frekuensi latihan 6x/minggu dengan protokol yang terdiri dari pemanasan dan pendinginan (5 menit, kecepatan 10 m/min) serta latihan interval. Latihan interval terdiri dari periode latihan dengan intensitas tinggi (90 – 95 %  $VO_{2max}$ ), diselingi dengan periode istirahat atau pemulihan pada intensitas rendah. Kecepatan latihan berbeda antara hari ganjil dan genap, sementara jumlah interval bertambah setiap minggu (Tabel 1).

Pada akhir perlakuan LFIIT, dilakukan pengukuran perilaku terkait kecemasan dengan menggunakan uji lapangan terbuka atau *Open Field Test* (OFT). *Open field* yang digunakan memiliki panjang dan lebar 100 cm, dan tinggi 50 cm dan dibagi menjadi enam belas kotak dengan luas masing-masing 25 cm<sup>2</sup>. Uji dilakukan dengan memasukkan tikus tepat pada tengah (*center*) arena selama 5 menit (34). Pada periode uji, aktivitas tikus diamati dan direkam dengan menggunakan kamera khusus (Miconos, Indonesia). Parameter kecemasan yang dinilai adalah frekuensi memasuki arena tengah ( $x/5$  min), persentase (%) durasi *freezing* atau *immobility time* yaitu persentase waktu tikus berada dalam keadaan diam, biasanya dengan posisi jongkok, mata terbuka lebar, pernapasan ireguler, setelah tikus tidak bergerak minimal selama 1 detik, serta persentase (%) durasi *grooming* yaitu persentase waktu yang digunakan tikus menggetarkan kaki depan, menjilati kaki dan genital, mencakar, serta menggoyangkan kepala (35).

Analisis data pada penelitian ini menggunakan perangkat lunak SPSS versi 19 (IBM Company) dengan tingkat kemaknaan ( $p$ )<0,05. Normalitas distribusi data diuji menggunakan *Shapiro-Wilk test*, sementara *Levene's test* digunakan untuk mengetahui homogenitas data sebelum melakukan uji beda antar kelompok untuk setiap variabel yang diukur (36,37). Uji *one-way ANOVA* dan *post hoc Bonferroni* digunakan untuk menguji persentase durasi *freezing* dan *grooming* antar kelompok *SHAM*, OVX, dan OVX LFIIT. Variabel frekuensi tikus memasuki arena tengah dan dianalisis menggunakan uji non parametrik yaitu *Kruskal-Wallis test* dengan *post hoc Mann-Whitney test* karena tidak memenuhi asumsi normalitas (36).

**Tabel 1. Protokol LFIIT yang diberikan kepada kelompok ovariektomi dengan LFIIT**

Minggu	Hari	Hari Ganjil	Hari Genap
Minggu I	1		
	2	2 interval, 36 m/min, 3 min	3 interval, 40 m/min, 30 detik
	3		
	4	2 interval, 36 m/min, 3 min	5 interval, 40 m/min, 30 detik
	5		
	6	2 interval, 36 m/min, 3 min	7 interval, 40 m/min, 30 detik
Minggu II	1		
	2	3 interval, 36 m/min, 3 min	9 interval, 40 m/min, 30 detik
	3		
	4	3 interval, 36 m/min, 3 min	11 interval, 40 m/min, 30 detik
	5		
	6	3 interval, 36 m/min, 3 min	13 interval, 40 m/min, 30 detik
Minggu III	1		
	2	4 interval, 36 m/min, 3 min	15 interval, 40 m/min, 30 detik
	3		
	4	4 interval, 36 m/min, 3 min	17 interval, 40 m/min, 30 detik
	5		
	6	5 interval, 36 m/min, 3 min	19 interval, 40 m/min, 30 detik
Minggu IV	1		
	2	5 interval, 36 m/min, 3 min	19 interval, 40 m/min, 30 detik
	3		
	4	6 interval, 36 m/min, 3 min	20 interval, 40 m/min, 30 detik
	5		
	6	6 interval, 36 m/min, 3 min	20 interval, 40 m/min, 30 detik
Minggu V-VI	6-Jan	6 interval, 36 m/min, 3 min	20 interval, 40 m/min, 30 detik

Merujuk pada Afzalpour et al.(28) dengan sedikit modifikasi.

## HASIL

Tabel 2 merupakan hasil pengukuran parameter perilaku tikus yang berkaitan dengan kecemasan yaitu frekuensi memasuki arena tengah dari *open field*, durasi *freezing*, dan durasi *grooming*. Hasil uji statistik menggunakan *Kruskal-Wallis* menunjukkan perbedaan bermakna pada frekuensi memasuki arena tengah dari *open field* antar kelompok *SHAM*, *OVX*, dan *OVX LFIIT* ( $p=0,032$ ). Berdasarkan hasil uji *post hoc* dengan *Mann-Whitney*, frekuensi memasuki arena tengah dari *open field* pada OFT lebih sedikit pada kelompok *OVX* dibandingkan dengan kelompok *SHAM* ( $U=2,5$ ;  $z=-2,4$ ;  $p=0,018$ ). Sementara itu, kelompok *OVX* yang mendapatkan LFIIT juga menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok *OVX* ( $U=0$ ;  $z=-2,8$ ;  $p=0,008$ ) dan tidak dengan kelompok *SHAM* ( $U=5$ ;  $z=-1,6$ ;  $p=0,151$ ).

Persentase durasi *freezing* pada OFT menunjukkan nilai paling tinggi pada kelompok *OVX*. Hasil uji beda perilaku kecemasan dengan *one-way ANOVA* pada variabel ini ditemukan adanya perbedaan bermakna antar kelompok ( $F_{2,14} = 16,7$ ;  $p=0,001$ ). Uji *post hoc* dengan *Bonferroni* menunjukkan perbedaan bermakna terjadi antara kelompok *OVX* dengan kelompok *SHAM* dan *OVX LFIIT* ( $F_{2,14} = 16,7$ ;  $p=0,001$  dan  $F_{2,14} = 16,7$ ;  $p=0,002$ ). Latihan interval dengan intensitas sedang dapat pada tikus yang telah diovariektomi mampu menurunkan durasi *freezing* setara kelompok *SHAM* ( $F_{2,14} = 16,7$ ;  $p=1,000$ ).

Hasil yang berbeda dengan dua variabel di atas ditemukan pada persentase durasi *grooming* selama 5 menit OFT (Gambar 1c). Uji beda rerata antar kelompok menggunakan *one-way* ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antar kelompok *SHAM*, *OVX*, dan *OVX LFIIT* ( $F_{2,14} = 2,7; p=0,108$ ).

**Tabel 2. Perilaku terkait kecemasan pada OFT setelah LFIIT kelompok *Sham* (kontrol), ovariektomi, dan ovariektomi dengan LFIIT**

Perilaku Kecemasan	Kelompok			p
	<i>SHAM</i> (n=5)	<i>OVX</i> (n=5)	<i>OVX LFIIT</i> (n=5)	
Frekuensi memasuki arena tengah (x/5 min) <sup>a</sup>	2 ± 8	1 ± 1*	9 ± 9	0,032 <sup>c</sup>
Durasi <i>freezing</i> (%) <sup>b</sup>	11,4 ± 8,3	61,2 ± 17,8**	17 ± 16,7	0,001 <sup>d</sup>
Durasi <i>grooming</i> (%) <sup>b</sup>	16,4 ± 11,1	35,6 ± 26,7	11 ± 9,7	0,108 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>Data disajikan dalam median±IQR.

<sup>b</sup>Data disajikan dalam rerata±SD.

<sup>c</sup>p value dari uji *Kruskal-Wallis* dengan uji *post hoc Mann-Whitney*.

<sup>d</sup>p value dari uji *one-way* ANOVA dengan uji *post hoc Bonferroni*.

\*p<0,05 dengan *SHAM*.

\*\*p<0,01 dengan *SHAM*.

*SHAM*, kelompok *SHAM*; *OVX*, kelompok ovariektomi; *OVX LFIIT*, Kelompok ovariektomi dengan LFIIT.

## BAHASAN

Penelitian ini menemukan bahwa perlakuan ovariektomi pada tikus *Sprague Dawley* sebagai model menopause pada manusia dapat memicu perilaku kecemasan jika dibandingkan dengan tikus *sham*, khususnya terhadap variabel frekuensi memasuki arena tengah dari *open field* dan persentase durasi *freezing* pada OFT. Perlakuan LFIIT yang diberikan pada tikus ovariektomi mampu menghilangkan kecemasan akibat pengangkatan kedua ovarium.

Ovarium merupakan penghasil utama hormon steroid pada wanita khususnya estrogen (7,38). Secara fisiologis, hormon estrogen berperan sebagai molekul sinyal penting terhadap otak yang meliputi kontrol aksis hipotalamus-hipofisis dan reproduksi, neuroprotektif, menstimulasi pelepasan neurotransmitter serta terlibat dalam modifikasi pengaruh stresor terhadap memori, depresi dan kecemasan (39,40). Dengan demikian, peran estrogen dapat terganggu pada kondisi hipoestrogenitas pascamenopause maupun ovariektomi (41). Hal ini terbukti dengan ditemukannya perbedaan bermakna pada perilaku kecemasan antara kelompok *OVX* dan *SHAM* pada penelitian ini. Tikus kelompok *OVX* memiliki frekuensi memasuki area tengah lebih sedikit dan persentase durasi *freezing* lebih lama dibandingkan tikus yang tidak diovariektomi ( $p<0,05$ ). Meskipun tidak dilakukan pengukuran kadar estrogen pada penelitian ini, beberapa penelitian terdahulu pada tikus ovariektomi secara konsisten melaporkan penurunan kadar estrogen sirkulasi dan otak (13,31,33,42,43). Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan penelitian terdahulu dimana tikus ovariektomi menunjukkan perilaku kecemasan dengan meningkatnya frekuensi dan durasi *freezing* atau periode imobilitas pada uji kecemasan menggunakan OFT, *elevated plus maze* dan *forced swimming* (12,13,39). Di sisi lain, walaupun terdapat pola berkurangnya persentase *grooming* pada kelompok ovariektomi di penelitian ini, hasil uji statistik tidak ditemukan adanya perbedaan bermakna antara tikus kelompok *OVX* dan *SHAM* ( $p>0,05$ ). Hal ini kemungkinan disebabkan karena singkatnya durasi uji kecemasan (5 menit) sehingga saat evaluasi, aktivitas *freezing* mengkonsumsi sebagian besar waktu di dalam *open field* pada tikus ovariektomi.

Penelitian ini juga menemukan bahwa perlakuan LFIIT pada tikus yang diovariektomi dapat menurunkan kecemasan. Tikus kelompok *OVX LFIIT* memiliki frekuensi memasuki area tengah lebih banyak dan persentase durasi *freezing* lebih sedikit dibandingkan dengan

kelompok OVX dan nilai ini setara dengan perilaku yang ditunjukkan oleh kelompok *SHAM* ( $p < 0,05$  antara OVX dengan OVX LFIIT dan  $p > 0,05$  antara OVX LFIIT dengan *SHAM*). Meskipun mekanisme pengaruh LFIIT terhadap menurunnya kecemasan tidak dapat dijelaskan sepenuhnya pada penelitian ini, penelitian sebelumnya yang juga memberikan perlakuan latihan fisik tetapi dengan tipe *endurance* pada tikus ovariektomi menemukan hasil yang sama (44). Lu et al. (2014) juga menemukan korelasi bermakna antara kadar estrogen sirkulasi dengan perilaku kecemasan pada OFT, dimana semakin tinggi kadar estrogen, maka durasi imobilitas semakin singkat. Selain itu, kadar estrogen sirkulasi juga berkorelasi positif dengan kadar *Brain Derived Neurotrophic Factors* (BDNF) pada otak (44). BDNF merupakan neurotropin yang berperan dalam modulasi plastisitas sinaps di otak dan meregulasi berbagai ekspresi protein sinaptik (45). Beberapa penelitian sebelumnya juga melaporkan peningkatan signifikan kadar estrogen sirkulasi setelah perlakuan latihan fisik pada tikus ovariektomi (43,46). Peningkatan plastisitas saraf dan BDNF di otak juga ditemukan setelah tikus mendapatkan perlakuan latihan fisik dengan berbagai intensitas (47–49). Meningkatnya konsentrasi BDNF di otak dapat menurunkan perilaku kecemasan dan depresi pada tikus yang telah ovariektomi (50). Berdasarkan hasil-hasil ini maka perlakuan LFIIT pada tikus ovariektomi dapat mengatasi kecemasan dengan mekanisme yang kemungkinan melibatkan peningkatan kadar estrogen sirkulasi dan BDNF otak.

## SIMPULAN

Periode ovariektomi jangka panjang menginduksi perilaku kecemasan khususnya pada frekuensi memasuki area tengah dan persentase durasi *freezing* selama tikus berada di dalam OFT. Perlakuan LFIIT selama tujuh minggu efektif untuk mencegah kecemasan pada tikus yang telah ovariektomi.

## SARAN

Perlakuan LFIIT dapat dijadikan sebagai terapi alternatif untuk mencegah kecemasan sebagai efek dari pengangkatan kedua ovarium atau menopause. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya tentang mekanisme perbaikan perilaku setelah LFIIT dengan mengukur kadar estrogen dan BDNF pada sirkulasi maupun otak tikus.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini mendapatkan pembiayaan dari Lembaga Pengelola Dana Pendidikan Indonesia (NO: PRJ-956/LPDP/2014). Penulis mengucapkan terima kasih kepada Suparno (Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, UGM) atas bantuan teknis selama penelitian.

## RUJUKAN

1. Marques AA, Cesar M, Morais A, Nardi AE, Thuret S, Dias GP. Gender Differences in the Neurobiology of Anxiety: Focus on Adult Hippocampal Neurogenesis. *Neural Plast.* 2016;2016:1–14.
2. Gale C, Oakley-Browne M. Generalised anxiety disorder. *Clinical Evidence Concies* 2004. 2004. p. 32–6.
3. Shear MK, Cloitre M, Pine D, Ross J. *Anxiety Disorders in Women: Setting a research agenda.* Maryland: ADAA; 2005.
4. Kessler RC, Petukhova M, Sampson NA, Zaslavsky AM, Wittchen HU. Twelve-month and lifetime prevalence and lifetime morbid risk of anxiety and mood disorders in the United States. *Int J Methods Psychiatry Res.* 2012;21:169–84.
5. Schoenrock SA, Oreper D, Young N, Ervin RB, Bogue A, Valdar W, et al. Ovariectomy results in inbred strain-specific increases in anxiety-like behavior in mice. *Physiol Behav.* 2016;167:404–12.

6. Mulhall S, Andel R, Anstey KJ. Variation in symptoms of depression and anxiety in midlife women by menopausal status. *Maturitas*. 2018;108:7–12.
7. Davis SR, Lambrinouadaki I, Lumsden M, Mishra GD, Pal L, Rees M, et al. Menopause. *Nat Rev Dis Prim*. 2015;1:15004.
8. Rao SS, Singh M, Parkar M, Sugumaran R. Health maintenance for postmenopausal women. *Am Fam Physician*. 2008;78:583–91.
9. Dalal PK, Agarwal M. Postmenopausal Syndrome. *Indian J Psychiatry*. 2015;57 (Suppl 2):S222–322.
10. Bromberger JT, Kravitz HM, Chang Y, Jr JFR, Avis NE, Gold EB, et al. Does risk for anxiety increase during the menopausal transition? Study of Women’s Health Across the Nation (SWAN). *Menopause*. 2013;20(5):488–95.
11. Oral A, Unal D, Halici Z, Cadirci E, Sengul O, Ozaltin S, et al. Bilateral Ovariectomy in Young Rats: What Happens in Their Livers during Cecal Ligation and Puncture Induced Sepsis? *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2012;25(6):371–9.
12. Lagunas N, Calmarza-font I, Diz-chaves Y, Garcia-segura LM. Long-term ovariectomy enhances anxiety and depressive-like behaviors in mice submitted to chronic unpredictable stress. *Horm Behav*. 2010;58(5):786–91.
13. de Chaves G, Moretti M, Castro AA, Dagostin W, da Silva GG, Boeck CR, et al. Effects of long-term ovariectomy on anxiety and behavioral despair in rats. *Physiol Behav*. 2009;97(3–4):420–5.
14. Gleason CE, Dowling NM, Wharton W, Manson JE, Miller VM, Atwood CS, et al. Effects of hormone therapy on cognition and mood in recently postmenopausal women: Findings from the randomized, controlled KEEPS–cognitive and affective study. *PLoS Med*. 2012;e1001833.
15. Walf AA, Frye CA. Effects of two estradiol regimens on anxiety and depressive behaviors and trophic effects in peripheral tissues in a rodent model. *Gend Med*. 2009;6(1):300–11.
16. Rodríguez-landa JF, Cueto-escobedo J, Puga-olguín A, Rivadeneyra-domínguez E, Bernal-morales B, Herrera-huerta EV, et al. The phytoestrogen genistein produces similar effects as 17 $\beta$ -estradiol on anxiety-like behavior in rats at 12 weeks after ovariectomy. *Biomed Res Int*. 2017;2017:1–10.
17. Demetrio FN, Renno, J. J, Gianfaldoni A, Goncalves M, Halbe HW, Filho AH, et al. Effect of estrogen replacement therapy on symptoms of depression and anxiety in non-depressive menopausal women: A randomized double-blind, controlled study. *Arch Women’s Ment Heal*. 2011;14(6):479 – 486.
18. Tan MN, Kartal M, Guldal D. The effect of physical activity and body mass index on menopausal symptoms in Turkish women: a cross-sectional study in primary care. *BMC Womens Health* . 2014;14(1):38.
19. Ben J, Soares FMS, Scherer EBS, Cechetti F, Netto CA, Wyse ATS. Running exercise effects on spatial and avoidance tasks in ovariectomized rats. *Neurobiol Learn Mem*. 2010;94:312–7.
20. Seo J. Treadmill exercise alleviates stress-induced anxiety-like behaviors in rats. *J Exerc Rehabil*. 2018;14(5):724–30.
21. Merom D, Phongsavan P, Wagner R, Chey T, Marnane C, Steel Z, et al. Promoting walking as an adjunct intervention to group cognitive behavioral therapy for anxiety disorders: a pilot group randomized trial. *J Anxiety Disord*. 2008;22:959–68.
22. Asmundson GJ, Fetzner MG, Deboer LB, Powers MB, Otto MW, Smits JA. Let’s get physical: a contemporary review of the anxiolytic effects of exercise for anxiety and its disorders 373. *Depress Anxiety*. 2013;30:362–73.
23. ACSM. High-Intensity Interval Training. American College of Sports Medicine Leading The Way. ACSM; 2014. p. 1–2.
24. Tschakert G, Hofmann P. High-intensity intermittent exercise: Methodological and physiological aspects. *Int J Sports Physiol Perform*. 2013;8:600–10.
25. Gibala MJ. High-Intensity Interval Training : New Insights. *Sport Sci Exch*. 2007;20:1–6.
26. Gibala MJ, Little JP, Macdonald MJ, Hawley J a. Physiological adaptations to low-volume , high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol*. 2012;5(March):1077–84.
27. Carnevali JC, Eder R, Lira FS, Lima WP, Gonçalves DC, Zanchi NE, et al. Effects of high-intensity intermittent training on carnitine palmitoyl transferase activity in the gastrocnemius muscle of rats. *Brazilian J Med Biol Res*. 2012;45(8):777–83.
28. Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiol Behav*. 2015;147:78–83.
29. Wu MH, Lee CP, Hsu SC, Chang CM, Chen CY. Effectiveness of high-intensity interval training on the mental and physical health of people with chronic schizophrenia. *Neuropsychiatr Dis Treat*.

- 2015;11:1255–63.
30. Aquina M, Permatasari N. The Effectiveness Of Tofu Liquid Waste As A Natural Phytoestrogen For Mandibular Bone Of Ovariectomized Rats. *IDJ*. 2012;1:6–13.
  31. Kaidah S, Soejono SK, Partadiredja G. Exercise improves hippocampal estrogen and spatial memory of ovariectomized rats. *Bratisl Med J*. 2016;117(5):94–9.
  32. Agustiniingsih D, Soejono SK, Soesatyo MHNE, Prakosa D. Exercise induces the synthesis of estrogen in ovariectomized Sprague–Dawley rats ventricular myocardium through increase expression of CYP19aromatase. *Sport Sci Health*. 2015;11:337–43.
  33. Rauf S, Soejono SK, Partadiredja G. Effects of treadmill exercise training on cerebellar estrogen and estrogen receptors , serum estrogen , and motor coordination performance of ovariectomized rats. *IJBMS*. 2015;18(6):587–92.
  34. Marques-Aleixo I, Oliveira PJ, Moreira PI, Magalhães J, Ascensão A. Physical exercise as a possible strategy for brain protection: Evidence from mitochondrial-mediated mechanisms. *Prog Neurobiol*. 2012;99:149–62.
  35. Terçariol RPG, Godinho AF. Behavioral effects of acute exposure to the insecticide fipronil. *Pestic Biochem Physiol*. 2011;99:221–5.
  36. Field A. *Discovering Statistics Using SPSS*. Third. London; 2009.
  37. Ellison SLR, Barwick VJ, Farrant TJD. *Practical Statistics for the Analytical Scientist A Bench Guide*. Second. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2009.
  38. Ting AY, Xu J, Stouffer RL. Differential effects of estrogen and progesterone on development of primate secondary follicles in a steroid-depleted milieu in vitro. *Hum Reprod*. 2015;30(8):1907–17.
  39. McLaughlin KJ, Wilson JO, Harman J, Wright RL, A. L, Wiczorek, et al. Chronic 17 $\beta$ -estradiol or cholesterol prevents stress-induced hippocampal CA3 dendritic retraction in ovariectomized female rats: Possible correspondence between CA1 spine properties and spatial acquisition. *Hippocampus*. 2010;20:768–86.
  40. Foster TC. Role of Estrogen Receptor Alpha and Beta Expression and Signalling on Cognitive Function During Aging. *Hippocampus*. 2012;22(4):656–69.
  41. Fuchs T. Menopause and the mind: the effects of menopause and hormone replacement therapy. *MSJA*. 2011;3(1):27–30.
  42. Mansour SZ, Moustafa EM, Hassan AA, Thabet NM. Protective role of krill oil against estrogen deficiency induced neurodegeneration in ovariectomized rats. *Indian J Exp Biol*. 2017;55(5):279–85.
  43. Hao L, Wang Y, Duan Y. Effects of treadmill exercise training on liver fat accumulation and estrogen receptor alpha expression in intact and ovariectomized rats with or without estrogen replacement treatment. *Eur J Appl Physiol*. 2010;109:879–86.
  44. Lu J, Xu Y, Hu W, Gao Y, Ni X, Sheng H, et al. Exercise ameliorates depression-like behavior and increases hippocampal BDNF level in ovariectomized rats. *Neurosci Lett*. 2014;573:13–8.
  45. Marosi K, Mattson MP. BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25(2):89–98.
  46. Pighon A, Gutkowska J, Jankowski M, Rabasa-Lhoret R, Lavoie JM. Exercise training in ovariectomized rats stimulates estrogenic-like effects on expression of genes involved in lipid accumulation and subclinical inflammation in liver. *Metabolism*. 2011;60:629–639.
  47. Yoelvis G-M, Pareja-Galeano H, Revilla VB-CS, Gomez-Cabrera MC, Gambini J, Gimenez-Llort L, et al. Physical exercise neuroprotects ovariectomized 3xTg-AD mice through BDNF mechanisms. 2014;45:154–66.
  48. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, Rasmussen P, Nordby P, Stallknecht B, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010;298(November 2009):R372–7.
  49. de Almeida AA, da Silva SG, Fernandes J, Peixinho-pena LF, Scorca FA, Cavalheiro EA, et al. Differential effects of exercise intensities in hippocampal BDNF, inflammatory cytokines and cell proliferation in rats during the postnatal brain development. *Neurosci Lett*. 2013;553:1–6.
  50. Al-Rahbi B, Zakaria R, Othman Z, Hassan A, Ahmad AH. Enhancement of BDNF concentration and restoration of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis accompany reduced depressive-like behaviour in stressed ovariectomised rats treated with either tualang honey or estrogen. *Sci World J*. Hindawi Publishing Corporation; 2014;2014:1–8.