

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E
CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

ALLAN DE OLIVEIRA LIRA

ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA ALTERA OS
PADRÕES DE LOCOMOÇÃO DE RATOS NO CAMPO ABERTO
DURANTE O DESENVOLVIMENTO

RECIFE

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E
CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

ALLAN DE OLIVEIRA LIRA

ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA ALTERA OS
PADRÕES DE LOCOMOÇÃO DE RATOS NO CAMPO ABERTO
DURANTE O DESENVOLVIMENTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Neurociências

Orientador: Prof. Dr. João Henrique da Costa Silva
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Raquel da Silva Aragão

RECIFE

2016

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

L768a Lira, Allan de Oliveira.
Atividade física voluntária materna altera os padrões de locomoção de ratos no campo aberto durante o desenvolvimento / Allan de Oliveira Lira. – 2016.
64 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: João Henrique da Costa Silva.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento. Recife, 2016.

Inclui referências e anexos.

1. Locomoção. 2. Atividade física. 3. Plasticidade. 4. Gestação. 5. Prole. I. Silva, João Henrique da Costa (Orientador). II. Título.

612.8 CDD (22.ed.) UFPE (CCS2016-130)

ALLAN DE OLIVEIRA LIRA

**ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA ALTERA OS
PADRÕES DE LOCOMOÇÃO DE RATOS NO CAMPO ABERTO
DURANTE O DESENVOLVIMENTO**

Dissertação aprovada em: 02/03/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ana Elisa Toscano de Meneses da Silva Castro
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. José Antônio dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. José Luiz de Brito Alves
Universidade Federal da Paraíba

Dedico este trabalho a todos que
direta ou indiretamente
participaram e foram
fundamentais na sua construção.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, aos meus amigos e a uma pessoa em particular por me apoiarem e compreenderem durante esse período, mesmo em momentos mais delicados e de estresse.

Aos professores João Henrique e Raquel Aragão pelo exemplo de profissionais e pesquisadores que são. Por me aceitarem como aluno e proporcionarem meu acesso ao conhecimento e formação.

A professora Carol Leandro, que me abriu as portas para a pesquisa ainda na graduação e foi minha “terceira orientadora” durante o mestrado, sua ajuda foi simplesmente fundamental para a realização deste trabalho.

Agradeço a Gisélia Muniz e Renata Beserra, que foram inicialmente as duas pesquisadoras que me supervisionaram. O conhecimento e experiência proporcionados por vocês também foram importantes e molda a pessoa que sou hoje.

A todos os membros da “família” Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, que sempre se dispõe a ajudar e contribuir, a Carolina Cadete, Gerffeson Martins e Guilherme Chagas por serem quem são e pelo suporte nos experimentos. Agradeço ainda especialmente a Jéssica Fragoso, que pacientemente me ensinou todos os procedimentos e manuseios com os animais no biotério. Sem vocês esta pesquisa não teria sequer os resultados.

Agradeço a Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento por me proporcionar novas experiências e novos conhecimentos, novos colegas e novos amigos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

E principalmente, agradeço a Deus pela graça de viver e vivenciar todas essas experiências.

“Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar.” (Bertrand Russell)

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da atividade física voluntária materna sobre os parâmetros de atividade locomotora da prole. Ratas Wistar realizaram atividade física voluntária (AFV) 30 dias antes (adaptação) e durante a gestação até o 15º dia de lactação. De acordo com o nível de AFV antes da gestação, as ratas foram classificadas em inativas (I) e muito ativas (MA). Houve também um grupo controle (C) que permaneceu em gaiolas padrão de laboratório durante o experimento. Durante todo o experimento, o peso corporal, consumo alimentar e a glicemia de jejum (durante a gestação) foram registrados. Aos 23, 45 e 60 dias, os filhotes machos provenientes de mães dos grupos MA, I e C tiveram livre acesso, por cinco minutos, a um campo aberto de 1m de diâmetro enquanto eram filmados por uma câmera com luz infravermelha. Foram avaliados os parâmetros: distância percorrida (DP, em m), deslocamento rotacional (DR, em m), velocidade média (VM, em m/s), potência média (PM, em mW), energia total (ET, em kcal), tempo de imobilidade (TI, em s), número de parada (NP), relação TI/NP (em s) e tempo de permanência nas áreas (em s) do campo aberto. Ratas MA apresentaram maior peso corporal e consumo alimentar durante a adaptação quando comparadas as ratas C. Filhotes de todos os grupos diminuíram a distância percorrida ao decorrer da idade, com exceção dos filhotes de ratas MA. O deslocamento rotacional foi progressivamente aumentando em todos os grupos com o passar da idade. Aos 60 dias, filhotes de mães MA tiveram maior velocidade média e potência média que os ratos de mães C. A permanência nas áreas periféricas do campo aberto também foi mais pronunciada em filhotes de mães MA. Em conclusão, a atividade física materna possivelmente influencia a atividade locomotora dos filhotes por aumentar a distância percorrida, potência e velocidade média, redução do tempo imóvel e por gastar mais tempo nas áreas periféricas do campo aberto. Esses efeitos são importantes para a aquisição de habilidades motoras durante o desenvolvimento.

Palavras-chave: Locomoção. Atividade física. Plasticidade. Gestação. Prole

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effects of maternal voluntary physical activity on locomotor activity parameters of the offspring. Female Wistar rats performed voluntary physical activity (VPA) before and during gestation until the 15th day of lactation. According to the level of VPA before gestation, the rats were classified in Inactive (I) and Very Active (VA). Also, there was a control group (C) that remained on laboratory standard cages throughout the experiment. During the experiment, the body weight, food consumption and glycaemia (during pregnancy) were recorded. At the age of 23, 45 and 60 days, male pups from the mothers of group VA, I and C had free access, during five minutes, to an open field with 1m of diameter while were filmed by a camera with infra-red light. Were evaluated the following parameters: distance traveled (DT, in m), rotational displacement (RD, in m), average speed (AS, in m/s), average potency (AP, in mW), total energy (TE, in kcal), time immobile (TI, in s), number of stops (NS) and relationship between TI/NS. VA mothers showed high body weight and food consumption during adaptation and gestation when compared to control. Pups from all groups showed a reduction in distance travelled throughout ages, except pups from VA dams. Rotational displacement was progressively increased in all groups throughout ages. At 60 d old, pups from VA dams showed a higher average speed and potency than control pups. The permanence in the peripheral area of the open field was more pronounced in the pups from VA dams. In conclusion, maternal physical activity can potentially influences the locomotor activity of offspring by an increased distance travelled and average and potency, reduced time immobile and more time spent in the peripheral area of the open field arena. These effects are important for later motor abilities acquisition throughout ages.

Keywords: Locomotion. Physical activity. Plasticity. Pregnancy. Offspring

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Gaiola de atividade física voluntária e suas dimensões.	34
Figura 2 - Comedouro e cicloergômetro.	35
Figura 3 - Funcionamento do ciclocomputador.	35
Figura 4 - Funcionamento da filmagem no campo aberto.	38
Artigo 1 Figura 1 - Progressão temporal do desenvolvimento do sistema nervoso, ontogênese de reflexos e primeiros padrões motores em ratos.	21
Artigo 2 Figura 1 - Parameters of voluntary physical activity.	48
Figura 2 - Parameters of locomotor activity of offspring at 23, 45 and 60 days of life.	51
Figura 3 - Time spent in the areas of the open field (s).	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos grupos de acordo com o nível de atividade física voluntária (distância percorrida, gasto calórico e tempo) no cicloergômetro.	36
Artigo 2 Tabela 1 - Description of the locomotor activity parameters that were evaluated in the open field	46
Tabela 2 - Data from mothers during adaptation, pregnancy and lactation.	49

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Artigo 1: Atividade física e desenvolvimento neuromotor da locomoção: papel da plasticidade fenotípica.	15
3 HIPÓTESE	32
4 OBJETIVOS	33
4.1 Objetivo geral	33
4.2 Objetivos específicos	33
5 MÉTODOS	34
5.1 Animais	34
5.2 Avaliação da atividade física voluntária materna	35
5.3 Avaliações do peso corporal e consumo alimentar das ratas	37
5.4 Mensuração da glicose sanguínea	37
5.5 Avaliação da atividade locomotora	37
5.5.1 Procedimentos	37
5.5.2 Sistema de captação de imagens	38
5.5.3 Sistema de análise	39
5.6 Análise estatística	40
6 RESULTADOS	41
6.1 Artigo 2: Maternal voluntary physical activity alters spatial displacement performance of the offspring rats in the open field test	41
7 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61
ANEXOS	66

1 APRESENTAÇÃO

A locomoção é uma característica vital para a manutenção da sobrevivência, pois é através dela que ocorre sua interação com o ambiente. A integração dos sistemas nervoso e muscular é fundamental para os comportamentos relacionados à atividade locomotora como andar, correr, saltar, rastejar entre outros. Enquanto o sistema nervoso está relacionado com a coordenação motora, os músculos produzem a força mecânica para a realização do movimento. Assim, alterações no desenvolvimento desses sistemas em períodos de maior vulnerabilidade (gestação e lactação) podem comprometer de forma permanente a locomoção.

Manipulações em períodos críticos do desenvolvimento como a exposição materna às drogas, álcool, estresse ou desnutrição provocam retardo na maturação de reflexos (movimentos involuntários relacionados à aquisição de postura e locomoção) e altera os padrões motores de diferentes formas. As modificações do organismo em resposta aos estímulos ambientes são denominadas de plasticidade fenotípica e ocorrem por mecanismos epigenéticos. Nesse sentido, estudos vêm demonstrando que diferentes protocolos de treinamento físico durante a gestação são eficazes em aumentar a síntese e liberação de neurotrofinas no cérebro de seus descendentes, além de melhorar a aprendizagem espacial. O treinamento físico materno também parece estar envolvido com a neuroproteção, impedindo que filhotes desnutridos tenham menores eixos cranianos e retardos na maturação de reflexos.

Atualmente vem sendo proposto um novo modelo de atividade física materna durante a gestação, denominado de “atividade física voluntária”. Esta é caracterizada quando a locomoção não está relacionada por questões de sobrevivência ou por fatores externos e apresenta vantagens em relação ao treinamento físico forçado por não causar estresse aos animais. Este modelo experimental de atividade física materna está associada a benefícios no metabolismo dos ratos, além de prevenir neurodegeneração e também estar envolvida com a síntese e liberação de neurotrofinas. Entretanto, estudos com esse modelo experimental são escassos e não há conhecimentos quanto aos seus efeitos nos padrões de locomoção durante o desenvolvimento.

O presente estudo foi realizado em colaboração com o Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT) e o Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética (LNED) com supervisão dos orientadores Prof. Dr. João Henrique Costa e Silva e Prof. Dr^a. Raquel da Silva Aragão. A pesquisa gerou o artigo de revisão intitulado “*Atividade física materna e desenvolvimento neuromotor da locomoção: papel da plasticidade fenotípica*” que compõe a revisão de literatura desta dissertação e será submetido à Revista Brasileira de

Medicina do Esporte. Além do artigo original intitulado “*Maternal voluntary physical activity alters spatial displacement performance of the offspring rats in the open field test*” que compõe os nossos resultados e será enviado para à International Journal of Developmental Neuroscience.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Título: Plasticidade fenotípica e desenvolvimento neuromotor da locomoção: papel da atividade física

Resumo

A locomoção é uma característica vital para a sobrevivência dos animais por constituir elementos essenciais como procura por alimentos, fuga de predadores e reprodução sexual. Através da plasticidade fenotípica, fatores ambientais durante períodos críticos do desenvolvimento são capazes de promover alterações nos padrões motores das espécies. A atividade física materna durante a gestação é um desses fatores e também promove adaptações no desenvolvimento do sistema sensório-motor. Dessa forma, o objetivo desta revisão é discutir os efeitos dos fatores ambientais e os mecanismos envolvidos nas adaptações, além de apresentar o papel da atividade física no processo de plasticidade fenotípica. Foram selecionados publicações entre os anos de 2000 a 2015 nas bases de dados da Pubmed/Medline, Bireme e Scielo. Os termos indexados foram: physical activity, pregnancy, locomotion, nervous system, skeletal muscle e motor development. A atividade física materna é capaz de promover adaptações em vários aspectos da fisiologia do organismo, incluindo a locomoção. Essas adaptações dependem do tipo, frequência, duração e momento em que o exercício físico teve início e são possivelmente induzidas por mecanismos epigenéticos.

Palavras-chave: Gestação, atividade física, sistema nervoso, sistema muscular esquelético, locomoção

Abstract

Locomotion is a vital characteristic for the survivability of the animals and constitutes essential elements such as the search for food, running from predators and sexual reproduction. Through phenotypic plasticity, environmental factors during the critical period of development are capable of promote alterations in motor patterns of the species. The maternal physical activity during pregnancy is one of these environment factors and also promotes adaptations in the sensory-motor development. Thus, the objective of this review is to discuss the effects of environmental factors and the mechanisms involved with such adaptations, as well as to present the role of the physical activity in the phenotypic plasticity process. There were selected articles published between 2000 and 2015 on the Pubmed/Medline, Bireme and Scielo databases. The indexing terms used were: physical activity, pregnancy, locomotion, nervous system, skeletal muscle and motor development. Maternal physical activity is capable of promoting adaptations in many physiological aspects of the organism, including the locomotion. These adaptations are dependent of the type, frequency, duration, and the moment the physical exercise started and are induced by epigenetic mechanisms.

Keywords: Pregnancy, physical activity, nervous system, skeletal muscle system, locomotion.

Introdução

Os períodos iniciais da vida, que constituem as fases de gestação e lactação (e primeira infância nos humanos), são considerados críticos para o desenvolvimento do organismo devido ao rápido processo de hiperplasia e hipertrofia dos tecidos (1-3). O desenvolvimento dos sistemas nervoso e muscular se inicia no período gestacional e continua após o nascimento (1, 4). Dessa forma, o desenvolvimento da locomoção começa nessas mesmas

fases, com o surgimento das estruturas sensório-motoras e os primeiros reflexos (2, 5). Alterações no desenvolvimento dos sistemas nervoso e/ou muscular podem comprometer a locomoção em virtude da estreita integração funcional de ambos (6).

Estudos vêm sendo realizados para entender os efeitos de diferentes manipulações durante os períodos críticos de desenvolvimento sobre o sistema locomotor (7-10). A exposição materna ao álcool, às drogas, ao estresse e aos diferentes tipos de manipulação nutricional durante a gestação e/ou lactação provoca atrasos na maturação de reflexos e alterações no comportamento e na locomoção (7-10). A associação entre respostas adaptativas do organismo frente a um estímulo ambiental são denominadas de plasticidade fenotípica e ocorre por mecanismos epigenéticos (11, 12). O estilo de vida ativo durante a gestação também vem sendo utilizado para estudar as possíveis adaptações do organismo em desenvolvimento (13, 14).

Protocolos de treinamento físico de intensidade moderada durante a gestação promovem alterações sobre a taxa de crescimento, perfil metabólico e sobre o sistema sensório-motor dos filhotes (10, 13, 15). A atividade física voluntária é outro modelo que vem sendo utilizado, e é caracterizada por qualquer movimento do músculo esquelético que demande um gasto energético acima do metabolismo basal (14, 16-18). Este modelo de estudo também parece influenciar adaptações no metabolismo e no sistema nervoso (14, 16-18). Entretanto, seus efeitos são diferentes e controversos em comparação aos do modelo com treinamento físico (14).

Diante da importância dos estímulos ambientais sobre o desenvolvimento do sistema locomotor, o objetivo desta revisão é discutir os efeitos dos fatores ambientais e os mecanismos envolvidos nessas adaptações, além de apresentar o papel da atividade física no processo de plasticidade fenotípica. Para a realização desta revisão foram utilizadas as bases de dados Pubmed/Medline, Bireme e Scielo. Os termos indexados foram: physical activity,

pregnancy, locomotion, nervous system, skeletal muscle e motor development. Foram selecionados artigos publicados entre os anos de 2000 a 2015, porém, alguns artigos fora desta faixa temporal foram utilizados para critério de discussão quando pertinente.

Desenvolvimento neuromotor da locomoção

A locomoção é uma característica vital dos animais por permitir a sua interação com o ambiente (17). Os comportamentos relacionados à locomoção constituem elementos importantes para sobrevivência, tais como; a busca por alimentos, a fuga de um predador ou a reprodução sexual (17). Tais comportamentos requerem coordenação precisa, adquirida através da maturação e integração funcional dos sistemas nervoso e muscular (7, 19). Enquanto o sistema nervoso está envolvido com a coordenação e controle da ação motora, o sistema muscular tem função de gerar força mecânica para permitir o deslocamento do corpo (7).

Apesar de haver diferenças no tempo do desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) nos mamíferos, o mesmo sempre tem início no período gestacional e continua durante o início da vida pós-natal (2, 20). No período gestacional, o processo de formação do tecido nervoso pode ser dividido em três fases principais: organogênese (segmentação, mórula, blástula, gastrulação e neurulação), neurogênese e gliogênese, além da diferenciação das células neurais imaturas (2). No período pós-natal, ocorre os eventos tardios da neurogênese e gliogênese seguidos de migração e diferenciação celular, formação de mielina e sinaptogênese (2). Nesse período, também ocorre maior integração e maturação da comunicação entre o SNC e a periferia (19).

Em vertebrados, o desenvolvimento muscular começa no período gestacional com o surgimento de células progenitoras que se diferenciam em fibras musculares (4). No início da inervação muscular, que se inicia logo após a formação das fibras musculares, cada fibra é

inervada por vários axônios e, posteriormente, esse excesso é eliminado restando apenas um axônio para cada fibra (4). Na ausência de inervação funcional, o desenvolvimento muscular é prejudicado, resultando em diminuição no número total de fibras musculares (4). Após o nascimento, ocorre a maturação do controle das ações de contração e relaxamento musculares, permitindo a realização dos movimentos coordenados (21).

O padrão motor se inicia a partir das primeiras respostas reflexas, que são movimentos involuntários, responsáveis pela estimulação sensorial e proprioceptiva (22). Estes reflexos simples e primitivos estão relacionados com a construção de comportamentos motores relacionados à postura e locomoção, essenciais durante a vida adulta (22). Em ratos, os reflexos de preensão palmar, recuperação de decúbito, colocação pelas vibrissas, aversão ao precipício, geotaxia negativa e endireitamento em queda livre são alguns dos reflexos comumente utilizados para avaliar a apropriada maturação do sistema neuromotor (23, 24). Assim, alterações no tempo de aparecimento ou no desaparecimento de alguns desses reflexos podem estar associadas com mudanças nos padrões de locomoção.

O desenvolvimento da locomoção segue uma sequência de diferentes acontecimentos próprios de cada espécie (25). Nos humanos, os padrões motores podem ser ordenados a partir das respostas reflexas e do engatinhar/rastejar, seguido de movimentos rítmicos (combinando ações reflexas com ações voluntárias) e dos movimentos voluntários (realizado com um propósito e adquirido através da aprendizagem) (26). Em ratos, nas duas primeiras semanas, pivotear e rastejar (inicialmente sem os membros posteriores) são as formas predominantes de locomoção e na terceira semana, o animal assume um padrão de locomoção similar ao de um adulto (6). Diferentes métodos podem ser usados para análise da atividade locomotora nesses animais, e entre eles, o campo aberto (análise observacional ou automática) é o mais comumente utilizado (7, 8, 27).

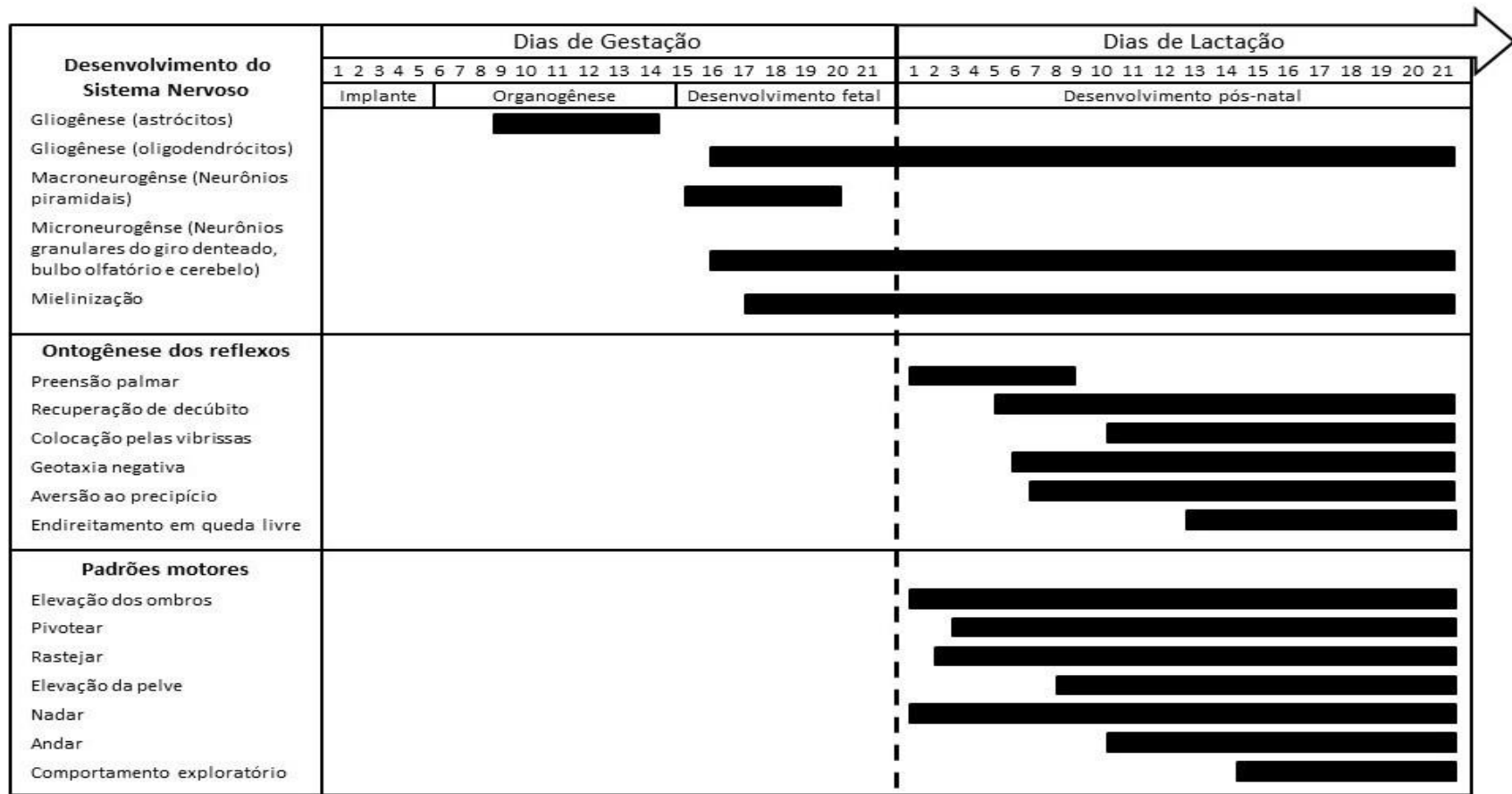


Figura 1. Progressão temporal em dias do desenvolvimento do sistema nervoso, ontogênese reflexa e primeiros padrões motores em ratos.

Baseado nos artigos de Dobbing (1), Fox (23) e Jamon (28).

Plasticidade fenotípica e desenvolvimento neuromotor da locomoção

Estímulos ambientais sobre a mãe vêm sendo utilizados para compreender como o organismo é capaz de se adaptar a diferentes condições ambientais e como são estabelecidas estratégias para o desenvolvimento da prole (29). Esses estímulos são estudados sob a perspectiva da plasticidade fenotípica, que pode ser definida como um fenômeno biológico no qual um único genótipo pode dar origem a diversos fenótipos em resposta a diferentes condições ambientais (12). Embora seja reconhecido que esse fenômeno é inerente ao organismo durante todas as fases da vida, estudos mostram que os períodos iniciais de desenvolvimento são mais vulneráveis aos efeitos provocados pelos insultos ambientais (30). Isso acontece porque nas primeiras etapas da vida, o ambiente influencia a estrutura e a função dos tecidos, uma vez que ocorre rápido crescimento e multiplicação celular (3).

Os sistemas nervoso e muscular e, conseqüentemente, a locomoção são particularmente afetados por diferentes estímulos ambientais (7, 8, 31-34). Por exemplo, ratos que foram expostos ao etanol (95%) numa câmara de vapor por 4 horas do 2º ao 12º dia de vida, apresentaram retardo na maturação do reflexo de endireitamento em queda livre (35). Filhotes (19 dias de vida pós-natal) de ratas que receberam bebida com 35% de etanol durante a gestação e lactação, apresentaram um aumento na distância percorrida no teste de locomoção no campo aberto (8). O estresse de contenção e o paradigma de estresse (contenção, exposição ao frio, fome, superpopulação de gaiola e inversão de ciclo) a partir da segunda semana de gestação também induzem um aumento dos padrões de atividade locomotora dos filhotes quando avaliados aos 60 dias (9, 36).

Diferentes protocolos de dietas experimentais durante os períodos críticos do organismo também promovem alterações no desenvolvimento sensorio-motor (7, 10, 31). A dieta hipoproteica (proteína 8%) durante a gestação e lactação está associada a um retardo na maturação dos reflexos de geotaxia negativa, colocação pelas vibrissas, endireitamento em

queda livre e aversão ao precipício (7, 10). Similarmente, a dieta hiperlipídica (lipídeos 52%) durante a lactação também atrasou os reflexos de recuperação de decúbito, colocação pelas vibrissas, geotaxia negativa e endireitamento em queda livre (37). Ainda, camundongos adultos provenientes de fêmeas db/+ (com hiperleptinemia) aumentaram a distância percorrida no campo aberto (31).

Em humanos, também é possível observar alterações na massa magra e na *performance* motora em decorrência de insultos ambientais nos períodos críticos de desenvolvimento (38-40). Crianças senegalesas desnutridas com 4-6 anos de idade apresentaram desempenho bastante inferior em praticamente todos os testes de coordenação motora da escala de McCarthy e *performance* física (corrida, arremesso, salto, agilidade e força manual) em comparação com crianças normonutridas (38). Da mesma forma, crianças do Nordeste do Brasil entre 7-10 anos que nasceram com baixo peso tiveram desempenho de força manual e velocidade de corrida em 20 metros inferiores a crianças que nasceram com peso normal, sugerindo alterações na massa magra (39). Nesse sentido, também foi observado que crianças com 9 anos de idade de zonas urbanas e rurais em situação de risco nutricional tiveram menor torque no teste de contração máxima voluntária (MVC) do tríceps sural em comparação a crianças sem risco nutricional, provavelmente devido a atrofia muscular apresentada nessas crianças (40).

Plasticidade fenotípica e atividade física materna

Estudos vêm fortalecendo a ideia de que um estilo de vida materno ativo induz adaptações fisiológicas e atuam como reguladores crônicos e agudos da oferta de oxigênio e substratos energéticos para o feto em desenvolvimento (41). Mulheres que praticam exercício físico antes e durante a gestação têm uma melhor interação materno-fetal, maior volume e uma maior funcionalidade da placenta (observada através de uma maior atividade do labirinto

placentário) (42). Entretanto, esses benefícios estão relacionados com a magnitude do esforço (duração, frequência e intensidade do esforço). Por exemplo, em resposta a exercícios físicos intensos (acima de 70% do $VO_{2máx}$ ou $FC_{máx}$), ocorre uma grande redistribuição do fluxo sanguíneo para os músculos em atividade (43). Isso causa uma diminuição temporária na disponibilidade de oxigênio e nutrientes ao feto, comprometendo seu crescimento (43). Nesse sentido, o *American College of Obstetricians and Gynecologists* (44) recomenda cerca de 150 minutos de atividade física aeróbia de intensidade moderada ($\sim 50\%$ do $VO_{2máx}$ ou $FC_{máx}$) por semana para gestantes saudáveis. Esses exercícios são preferencialmente os de baixo impacto e que reduzem o risco de quedas, como a caminhada, natação, bicicleta estacionária, yoga e pilates (com algumas restrições de movimento) (44).

A prática da atividade física é também reconhecida por promover alterações neuromusculares estimulando a síntese e liberação de fatores neurotróficos, que possivelmente podem ser passados à descendência (45, 46). De fato, a corrida em esteira durante a gestação (5 dias/semana, 30min/dia, 70% do $VO_{2máx}$) aumentou a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo dos filhotes de ratos ao nascimento (47). Mesmo quando iniciado a partir da última semana de gestação, a corrida em esteira (5 dias/semana, 30min/dia, 3-8 m/min) foi capaz de aumentar a expressão de BDNF no hipocampo dos filhotes aos 29 dias de vida, além de aumentar a sobrevivência das células nas regiões 1 e 3 do hipocampo (CA1 e CA3) (48). Da mesma forma, o treinamento físico em esteira (5 dias/semana, 30min/dia, 6-8m/min) durante a gestação aumentou o número de neurônios CA1 e CA3 e receptores de leptina no hipocampo da prole com 120 dias, além de promover uma maior aprendizagem espacial (49).

Embora existam poucos estudos, aparentemente o treinamento físico de intensidade leve-moderada durante a gestação também apresenta influência na modulação do desenvolvimento neuromotor (10, 50). Ratas desnutridas submetidas a um treinamento físico

de intensidade moderada em esteira (5 dias/semana e 60 min/dia, a 65% $VO_{2m\acute{a}x}$) 4 semanas antes da gestação e de intensidade leve (5 dias/semana e 20min/dia, a 40% $VO_{2m\acute{a}x}$) durante a gestação tiveram filhotes com maiores eixos cranianos em comparação a filhotes de ratas desnutridas sedentárias, sugerindo neuroproteção (51). Nesse sentido, o mesmo protocolo de treinamento físico com ratas ainda se mostrou eficaz em atenuar o retardo na maturação dos reflexos de aversão ao precipício, colocação pelas vibrissas e geotaxia negativa nos filhotes de mães desnutridas (10). Ademais, o treinamento físico em esteira (5dias/semana, 30min/dia, 6-8m/min) durante a gestação ainda aumentou a expressão de BDNF e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) no córtex pré-frontal, diminuiu a ansiedade e aumentou a distância percorrida dos filhotes no campo aberto aos 26 dias, e também, aos 4 meses de vida (50).

Outro modelo que vem sendo utilizado para estudar os efeitos da atividade física materna sobre a plasticidade fenotípica é o da “atividade física voluntária” (14, 16, 52). O termo “atividade física voluntária” se refere quando a locomoção não está relacionada a questões de sobrevivência ou motivada por algum fator externo, e se apresenta vantajoso por induzir menos estresse aos animais que o treinamento físico forçado, diminuindo o risco na interpretação dos resultados (17, 53). A atividade física voluntária materna em cicloergômetros é capaz de alterar parâmetros relacionados ao crescimento somático e a captação de glicose em resposta à insulina no músculo esquelético e no tecido adiposo, sugerindo menor risco para o aparecimento de diabetes *mellitus* tipo 2 (14, 16). Além disso, a corrida voluntária em cicloergômetros diminui a neurodegeneração e provoca maior expressão de BDNF e fator de crescimento nervoso (NGF) em várias áreas do cérebro de ratos, porém, atrasa a maturação dos reflexos de endireitamento em queda livre, aversão ao precipício e colocação pelas vibrissas (14, 18, 45).

Nos últimos anos, vem sendo documentado na literatura como os mecanismos epigenéticos estão envolvidos no processo de plasticidade fenotípica (11). A epigenética é o termo usado na biologia para se referir ao processo de expressão e transmissão da informação genética, por meios que não afetam a sequência do DNA, mas a organização estrutural da cromatina (11, 54). Existem três mecanismos conhecidos que podem explicar a interação entre o ambiente e a expressão de genes: metilação do DNA (quando há a adição de um grupo metil aos resíduos de citosina do DNA, impedindo a ligação de fatores de transcrição e, conseqüentemente, diminuindo sua expressão), modificações pós-tradução de histonas (quando há a adição de um grupo metil, acetil, fosfato ou ubiquitina na região N-terminal das histonas, aumentando ou diminuindo o acesso dos fatores de transcrição nas regiões promotoras do gene) e a produção de micro RNAs (11, 54).

Diversas pesquisas vêm associando alterações epigenéticas provocadas pela prática de atividade física nos sistemas nervoso e muscular, sugerindo que essas modificações possam ter influência sobre o desenvolvimento sensório-motor (55-58). Por exemplo, já foi identificado que em atividades físicas agudas com pessoas sedentárias são observadas hipometilações na região promotora de genes associados com a atividade metabólica do músculo esquelético (PGC-1 α , TFAM, PPAR- δ e PDK4), resultando em aumento na expressão desses genes (55). Porém, a expressão de genes de fatores de transcrição relacionados com a proliferação e diferenciação de fibras musculares como o MyoD e os MEFs não foi alterada em ambos modelos com humanos e animais (55). Já no sistema nervoso, o exercício físico regula alterações epigenéticas de genes como o fator de crescimento similar a insulina-1 (IGF-1), VEGF, BDNF e outras neurotrofinas através de acetilações na histona H3 das regiões promotoras dos genes, aumentando sua transcrição (56-58). Porém, não foi encontrado estudos que avaliassem os efeitos epigenéticos da atividade física materna em seus descendentes.

Conclusão

Insultos ambientais como a exposição perinatal ao álcool, às drogas, à desnutrição ou à dieta obesogênica influenciam o desenvolvimento dos sistemas nervoso e muscular de diferentes formas, alterando os padrões motores. O estilo de vida materno ativo altera o aporte de oxigênio e nutrientes ao feto a depender do tipo, intensidade e frequência do exercício, repercutindo em vários aspectos da fisiologia do organismo e induzindo alterações epigenéticas, inclusive no desenvolvimento sensório-motor. Existem poucos estudos que avaliam os efeitos da atividade física voluntária sobre o sistema sensório-motor, e estes utilizam diferentes tipos de modelos experimentais, repercutindo de forma controversa a outros estudos. Dessa forma, pesquisas que utilizem este modelo experimental são necessários para determinar seus efeitos no desenvolvimento da locomoção e os sinais envolvidos no processo de plasticidade fenotípica.

Referências

1. Dobbing J. The later development of the brain and its vulnerability. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 1982;5:88-.
2. Morgane PJ, Austin-LaFrance R, Bronzino J, Tonkiss J, Diaz-Cintra S, Cintra L, et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1993;17(1):91-128.
3. Morgane PJ, Mokler DJ, Galler JR. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2002;26(4):471-83.
4. Biressi S, Molinaro M, Cossu G. Cellular heterogeneity during vertebrate skeletal muscle development. *Developmental biology*. 2007;308(2):281-93.
5. Clarac F, Vinay L, Cazalets J-R, Fady J-C, Jamon M. Role of gravity in the development of posture and locomotion in the neonatal rat. *Brain research reviews*. 1998;28(1):35-43.
6. Westerga J, Gramsbergen A. Development of locomotion in the rat: the significance of early movements. *Early human development*. 1993;34(1):89-100.
7. Barros KM, Manhães-De-Castro R, Lopes-De-Souza S, Matos RJ, Deiró TC, Cabral-Filho JE, et al. A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. *Nutritional neuroscience*. 2006;9(1-2):99-104.
8. Brys I, Pupe S, Bizarro L. Attention, locomotor activity and developmental milestones in rats prenatally exposed to ethanol. *International journal of developmental neuroscience*. 2014;38:161-8.
9. Burton C, Lovic V, Fleming AS. Early adversity alters attention and locomotion in adult Sprague-Dawley rats. *Behavioral Neuroscience*. 2006;120(3):665.
10. Falcão-Tebas F, Bento-Santos A, Antônio Fidalgo M, de Almeida MB, Antônio dos Santos J, Lopes de Souza S, et al. Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. *British Journal of Nutrition*. 2012;107(03):372-7.

11. Sinclair K, Lea R, Rees W, Young L. The developmental origins of health and disease: current theories and epigenetic mechanisms. *Society of Reproduction and Fertility supplement*. 2007;64:425.
12. West-Eberhard MJ. *Developmental plasticity and evolution*: Oxford University Press; 2003.
13. Amorim MF, Dos Santos JA, Hirabara SM, Nascimento E, De Souza SL, De Castro RM, et al. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? *Experimental physiology*. 2009;94(8):906-13.
14. Muniz GS, Beserra R, da Silva GdP, Fragoso J, de Oliveira Lira A, Nascimento E, et al. Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. *Physiology & behavior*. 2014;129:1-10.
15. Fidalgo M, Falcao-Tebas F, Bento-Santos A, de Oliveira E, Nogueira-Neto JF, de Moura EG, et al. Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate-low physical training. *British Journal of Nutrition*. 2013;109(03):449-56.
16. Carter LG, Lewis KN, Wilkerson DC, Tobia CM, Tenlep SYN, Shridas P, et al. Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2012;303(8):E1061-E8.
17. Garland T, Schutz H, Chappell MA, Keeney BK, Meek TH, Copes LE, et al. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. *The Journal of experimental biology*. 2011;214(2):206-29.
18. Herring A, Donath A, Yarmolenko M, Uslar E, Conzen C, Kanakis D, et al. Exercise during pregnancy mitigates Alzheimer-like pathology in mouse offspring. *The FASEB Journal*. 2012;26(1):117-28.
19. Westerga J, Gramsbergen A. The development of locomotion in the rat. *Developmental brain research*. 1990;57(2):163-74.
20. Guedes RCA, Rocha-de-Melo AP, Teodósio NR. Nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral. *Ciência e cultura*. 2004;56(1):32-5.
21. Gramsbergen A. Posture and locomotion in the rat: independent or interdependent development? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1998;22(4):547-53.
22. Mônica Ferraz Teixeira de Barros K, Manhães de Castro RO. Desnutrição neonatal: aspectos estruturais e biomecânicos do desenvolvimento da atividade locomotora em ratos. 2006.
23. Fox W. Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. *Animal Behaviour*. 1965;13(2):234-IN5.
24. Smart J, Dobbing J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. *Brain research*. 1971;28(1):85-95.
25. Muir GD. Early ontogeny of locomotor behaviour: a comparison between altricial and precocial animals. *Brain research bulletin*. 2000;53(5):719-26.
26. Rosenbaum DA. *Human motor control*: Academic press; 2009.
27. da Silva Aragão R, Rodrigues MAB, de Barros KMFT, Silva SRF, Toscano AE, de Souza RE, et al. Automatic system for analysis of locomotor activity in rodents—A reproducibility study. *Journal of neuroscience methods*. 2011;195(2):216-21.
28. Jamon M. The early development of motor control in neonate rat. *Comptes Rendus Palevol*. 2006;5(3):657-66.
29. Wells JC. The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother? *Journal of Theoretical Biology*. 2003;221(1):143-61.
30. Lucas A. Programming by early nutrition in man. The childhood environment and adult disease. 1991;1991:38-55.
31. Pollock KE, Stevens D, Pennington KA, Thaisrivongs R, Kaiser J, Ellersieck MR, et al. Hyperleptinemia During Pregnancy Decreases Adult Weight of Offspring and Is Associated With Increased Offspring Locomotor Activity in Mice. *Endocrinology*. 2015;156(10):3777-90.
32. Rodriguez J, Rodriguez-Gonzalez G, Reyes-Castro L, Ibanez C, Ramirez A, Chavira R, et al. Maternal obesity in the rat programs male offspring exploratory, learning and motivation behavior: prevention by dietary intervention pre-gestation or in gestation. *International journal of developmental neuroscience*. 2012;30(2):75-81.

33. Wilson CA, Terry AV. Variable maternal stress in rats alters locomotor activity, social behavior, and recognition memory in the adult offspring. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2013;104:47-61.
34. Zeng Y, Brydges NM, Wood ER, Drake AJ, Hall J. Prenatal glucocorticoid exposure in rats: programming effects on stress reactivity and cognition in adult offspring. *Stress*. 2015;18(3):353-61.
35. Diaz MR, Vollmer CC, Zamudio-Bulcock PA, Vollmer W, Blomquist SL, Morton RA, et al. Repeated intermittent alcohol exposure during the third trimester-equivalent increases expression of the GABA A receptor δ subunit in cerebellar granule neurons and delays motor development in rats. *Neuropharmacology*. 2014;79:262-74.
36. Deminière JM, Piazza PV, Guegan G, Abrous N, Maccari S, Le Moal M, et al. Increased locomotor response to novelty and propensity to intravenous amphetamine self-administration in adult offspring of stressed mothers. *Brain research*. 1992;586(1):135-9.
37. Giriko CÁ, Andreoli CA, Mennitti LV, Hosoume LF, dos Santos Souto T, da Silva AV, et al. Delayed physical and neurobehavioral development and increased aggressive and depression-like behaviors in the rat offspring of dams fed a high-fat diet. *International journal of developmental neuroscience*. 2013;31(8):731-9.
38. Bénéfice E, Fouéré T, Malina R. Early nutritional history and motor performance of Senegalese children, 4-6 years of age. *Annals of human biology*. 1999;26(5):443-55.
39. Moura-Dos-Santos M, Wellington-Barros J, Brito-Almeida M, Manhães-de-Castro R, Maia J, Góis Leandro C. Permanent deficits in handgrip strength and running speed performance in low birth weight children. *American Journal of Human Biology*. 2013;25(1):58-62.
40. Paiva M, Marinho S, Amaral P, Canon F, Barros K, Manhaes de Castro R, et al. Mechanical properties of the plantar flexor muscles in malnourished prepubertal children. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*. 2008;11(S1):179-80.
41. Clapp J. Influence of endurance exercise and diet on human placental development and fetal growth. *Placenta*. 2006;27(6):527-34.
42. Clapp JF, Kim H, Burciu B, Schmidt S, Petry K, Lopez B. Continuing regular exercise during pregnancy: effect of exercise volume on fetoplacental growth. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;186(1):142-7.
43. Thomas DM, Clapp JF, Shernce S. A foetal energy balance equation based on maternal exercise and diet. *Journal of the Royal Society interface*. 2008;5(21):449-55.
44. Committee Opinion No. 650: Physical Activity and Exercise During Pregnancy and the Postpartum Period. *Obstetrics and gynecology*. 2015;126(6):e135-42. Epub 2015/11/26.
45. Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain research*. 1996;726(1):49-56.
46. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, Rasmussen P, Nordby P, Stallknecht B, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2010;298(2):R372-R7.
47. Kim H, Lee S-H, Kim S-S, Yoo J-H, Kim C-J. The influence of maternal treadmill running during pregnancy on short-term memory and hippocampal cell survival in rat pups. *International journal of developmental neuroscience*. 2007;25(4):243-9.
48. Parnpiansil P, Jutapakdeegul N, Chentanez T, Kotchabhakdi N. Exercise during pregnancy increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression and spatial learning in neonatal rat pup. *Neuroscience letters*. 2003;352(1):45-8.
49. Dayi A, Agilkaya S, Ozbal S, Cetin F, Aksu I, Gencoglu C, et al. Maternal aerobic exercise during pregnancy can increase spatial learning by affecting leptin expression on offspring's early and late period in life depending on gender. *The Scientific World Journal*. 2012;2012.
50. Aksu I, Baykara B, Ozbal S, Cetin F, Sisman AR, Dayi A, et al. Maternal treadmill exercise during pregnancy decreases anxiety and increases prefrontal cortex VEGF and BDNF levels of rat pups in early and late periods of life. *Neuroscience letters*. 2012;516(2):221-5.
51. Fidalgo M, Macêdo ÉMCd, Dantas R, Foerster P, Neves C, Manhães-de-Castro R, et al. Efeito do treinamento físico e da desnutrição durante a gestação sobre os eixos cranianos de ratos neonatos. *Rev bras med esporte*. 2010;16(6):441-4.

52. Rosa BV, Firth EC, Blair HT, Vickers MH, Morel PC. Voluntary exercise in pregnant rats positively influences fetal growth without initiating a maternal physiological stress response. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2011;300(5):R1134-R41.
53. Contarteze RVL, Manchado FDB, Gobatto CA, De Mello MAR. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2008;151(3):415-22.
54. Ana Lydia Sawaya CGL, Dan Waitzberg. *Fisiologia da Nutrição na Saúde e na Doença: da biologia molecular ao tratamento*. 1 ed 2013. 623 p.
55. Barres R, Yan J, Egan B, Treebak JT, Rasmussen M, Fritz T, et al. Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. *Cell metabolism*. 2012;15(3):405-11.
56. Gómez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. *Journal of neurophysiology*. 2002;88(5):2187-95.
57. Gomez-Pinilla F, Zhuang Y, Feng J, Ying Z, Fan G. Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. *European Journal of Neuroscience*. 2011;33(3):383-90.
58. Ntanas-Stathopoulos J, Tzanninis J, Philippou A, Koutsilieris M. Epigenetic regulation on gene expression induced by physical exercise. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2013;13(2):133-46.

3 HIPÓTESE

A atividade física voluntária materna antes e durante a gestação melhora os parâmetros relacionados com a atividade locomotora dos filhotes aos 23, 45 e 60 dias de vida no teste de campo aberto.

4 OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Avaliar os efeitos da atividade física voluntária materna sobre os parâmetros de atividade locomotora da prole.

Objetivos Específicos:

Nas ratas:

- Avaliar o peso corporal, consumo alimentar e a glicemia de jejum nos períodos de adaptação à atividade física voluntária, gestação e lactação;
- Quantificar diariamente a distância percorrida, estimativa de gasto calórico e tempo de atividade física durante os períodos de adaptação à atividade física voluntária, gestação e lactação.

Nos filhotes:

- Avaliar o padrão de atividade locomotora através da distância percorrida, deslocamento rotacional, velocidade média, potência média, energia total, tempo imóvel, número de paradas, relação entre número de paradas/tempo imóvel e o tempo de permanência nas áreas do campo aberto.

5 MÉTODOS

5.1 Animais

Foram utilizadas 20 ratas albinas virgens da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), pesando 220-260g e com idade entre 85-95 dias de vida, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Brasil. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação com temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2$, num ciclo 12/12h [ciclo claro (18:00 às 06:00h) e ciclo escuro (06:00 às 18:00h)] e livre acesso à água e alimentação: período de adaptação (carboidratos: 75%, lipídeos: 11% e proteínas: 14%) e período de gestação/lactação (carboidratos: 64%, lipídeos: 18% e proteínas: 18%) (REEVES, 1993). As ratas foram alojadas individualmente em gaiolas de atividade física voluntária (GAFV) com a presença de um cicloergômetro por um período de 30 dias (período de adaptação). Após esse período, as ratas foram colocadas em gaiolas padrão de laboratório para acasalar (1 fêmea para 1 macho) durante 1-5 dias. Durante o acasalamento, as ratas não tiveram acesso ao cicloergômetro. O dia em que foi observada a presença de espermatozoides na cavidade vaginal foi designado o dia de concepção, dia 0 da gestação. As ratas gestantes foram então transferidas para suas respectivas gaiolas onde tiveram livre acesso ao cicloergômetro durante todo o período de gestação e os 15 primeiros dias de lactação. O cicloergômetro foi travado no 15º dia de vida pós-natal dos filhotes para preveni-los de correrem no cicloergômetro ou de se machucarem. No 1º dia de vida pós-natal, os filhotes foram reduzidos a 8 por mãe, com apenas machos em cada ninhada sempre que possível. Eventualmente, a ninhada era completada com 2-3 filhotes fêmeas quando necessário. De cada ninhada, 4 filhotes machos foram aleatoriamente selecionados para a avaliação dos parâmetros de atividade locomotora após o período de amamentação. Cada ninhada representou a amostra que foi avaliada: controle (C, n = 4), inativo (I, n = 8) e muito ativo (MA, n = 8). Após o desmame (22 dias), os filhotes receberam dieta padrão Presence-Brazil durante o experimento. A manipulação e os cuidados com os animais seguiram o estatuto da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de animais do Centro de Ciências Biológicas da UFPE (processo nº 23076.047664/2013-87) (Anexo A).

5.2 Avaliação da atividade física voluntária materna

As ratas foram alojadas individualmente em gaiolas de atividade física voluntária (GAFV) de acrílico com as seguintes dimensões: 27 cm de largura, 34 cm de altura e 61 cm de comprimento (Figura 1). Em uma das extremidades foi posicionado um cicloergômetro com 27 cm de diâmetro, composto por acrílico e raios em aço inoxidável (Figura 2). Um sistema de monitoramento por sensor (ciclocomputador Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan) foi acoplado à gaiola e ao cicloergômetro de forma a medir as seguintes grandezas físicas: distância percorrida (km), tempo (minutos), velocidade média (Km/h) e estimativa de gasto calórico (em Km/s/dia) (Figura 3). A distância foi determinada através do número de rotações do cicloergômetro. A velocidade foi calculada através do intervalo de tempo entre uma rotação e outra. A circunferência da roda e o diâmetro foram usados para calibrar o ciclocomputador e então calcular a velocidade média e a distância percorrida. O gasto calórico foi estimado por integrar o valor calculado da velocidade em cada segundo. Essas variáveis foram mensuradas diariamente durante o experimento. A distância percorrida diária, o tempo diário de atividade física e a estimativa de gasto calórico foram utilizados para classificar as ratas em diferentes grupos de acordo com o nível de atividade física voluntária em: inativo (I) ou muito ativo (MA) (Tabela 1). Neste estudo não houve um grupo ativo, uma vez que as ratas é que escolhem praticar ou não, a atividade física voluntária no cicloergômetro. Um grupo controle (C, n =4) com idade e peso corporal similar foi incorporado no estudo e alojado individualmente em gaiolas padrão de laboratório.

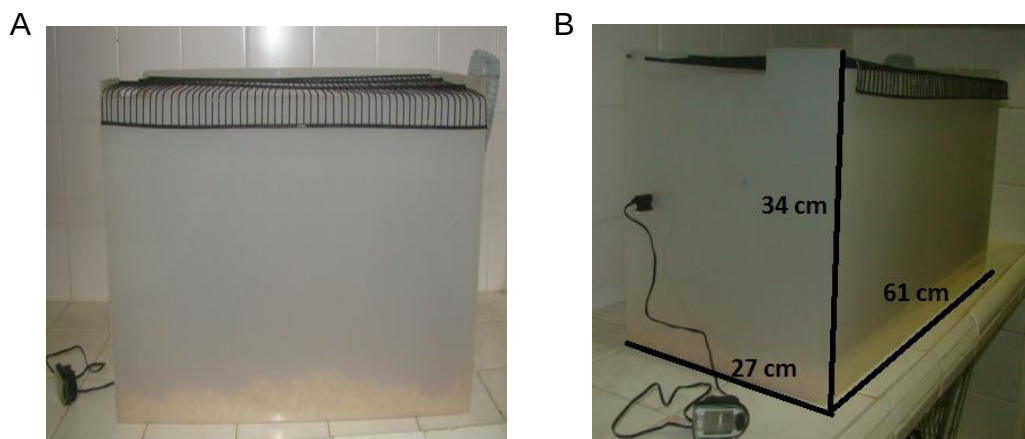


Figura 1. Gaiola de atividade física voluntária (A) e suas dimensões (B).

A



B



Figura 2. Comedouro (A) e cicloergômetro (B).

A



B



C



D



Figura 3 – Funcionamento do ciclocomputador. Ciclocomputador com os sensores [Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan] (A); Posicionamento de um sensor na porção externa da GAFV, acoplado ao ciclocomputador (B); visão interna dos sensores, um acoplado ao cicloergômetro e outro a GAFV (C); Rata realizando a atividade física (D). Adaptado de Muniz (2013).

Tabela 1 – Classificação dos grupos de acordo com o nível de atividade física voluntária (distância percorrida, gasto calórico e tempo) no cicloergômetro.

Grupos experimentais	Distância percorrida (km/dia)	Gasto Calórico (Km/s/dia)	Tempo (min/dia)
Controle	0	0	0
Inativo	< 1.0	< 10.0	< 20.0
Ativo	>1.0< 5.0	>10.0< 40.0	>20.0< 120.0
Muito Ativo	>5.0	>40.0	>120.0

(MUNIZ *et al.*, 2014)

5.3 Avaliações do peso corporal e consumo alimentar das ratas

O peso corporal e o consumo alimentar das ratas foram mensurados a cada três dias durante todo o experimento usando uma balança de precisão Marte, modelo S-1000, com capacidade máxima de 1000g e sensibilidade de 0,01g.

5.4 Mensuração da glicose sanguínea

Após 12 horas de jejum, os níveis de glicemia das ratas foram avaliados no último dia do período de adaptação e semanalmente no período de gestação. As concentrações de glicose sanguínea foram identificadas pelo método glicose oxidase e a leitura através do glicosímetro (Accu Check Advantage and Accutrend GCT). Os animais sofreram jejum durante o período da noite.

5.5 Avaliação da atividade locomotora

5.5.1 Procedimentos

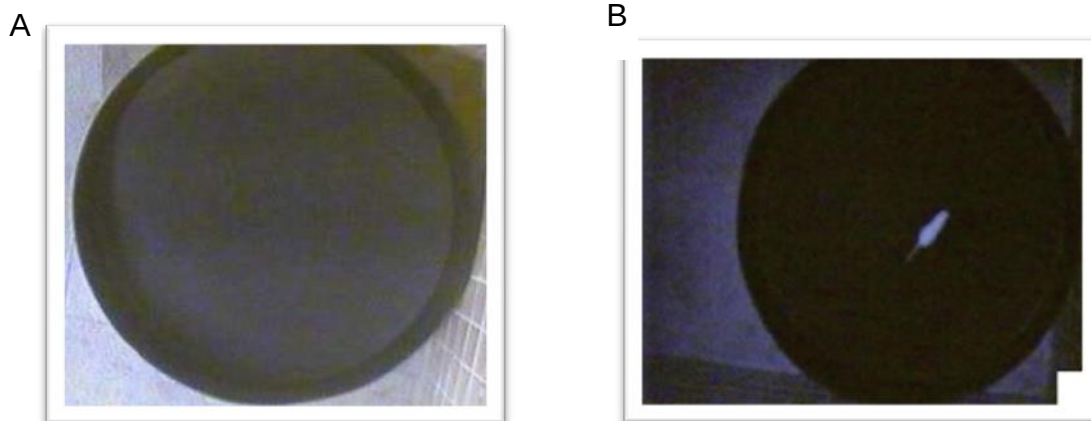
Para avaliar as consequências da atividade física voluntária materna sobre a atividade locomotora, os animais foram avaliados no 23º, 45º e 60º dias de vida pós-natal durante a fase escura do ciclo circadiano (09:00h as 11:00h). Os animais foram posicionados no centro do campo aberto e filmados durante 5 minutos, enquanto se locomoviam livremente. Na troca dos

animais, o campo foi limpo com solução de água e hipoclorito, e o etil vinil acetato (EVA), para eliminar odores que possam interferir no comportamento do animal seguinte.

5.5.2 Sistema de captação de imagens

A monitoração do movimento dos animais ocorreu no aparelho de campo aberto circular, delimitado por paredes de 30 cm de altura, com superfícies internas pintadas de preto e superfície macia de EVA, também preta, com objetivo de facilitar a locomoção do animal e proporcionar um maior contraste com este (Figura 4A e B). Essa monitoração foi possível através de imagens digitais capturados sob luz infravermelha.

Foi posicionada na linha vertical que passa pelo centro do campo aberto, fixada ao teto da sala, uma câmera digital (VTR@6638 – CCTV System) que filmou o animal enquanto este se movimentou (Figura 4C). Sua distância do local de fixação até o solo do campo é de 2,40 m. A câmera possui sensor de infravermelho e um LED de iluminação. Apresenta resolução de 420 linhas, velocidade entre 1/60 e 1/100 s, e sua sensibilidade permite registrar imagens com iluminação mínima, até 0,1 lux. A câmera foi acoplada ao computador através de placa de captura (ARAGÃO *et al.*, 2011).



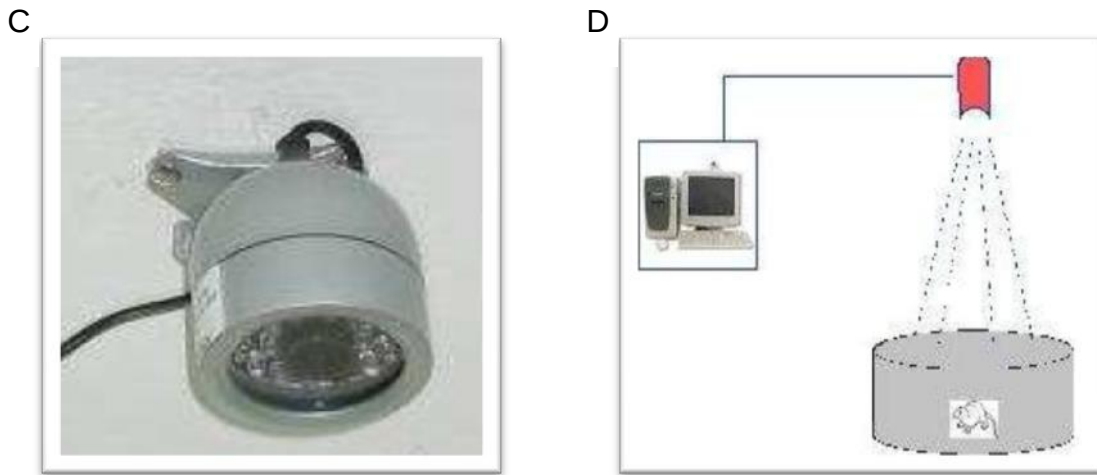


Figura 4 – Funcionamento da filmagem no campo aberto. Vista superior do campo aberto em ambiente claro (A); Imagem do rato no campo (B); Câmera de captura das imagens dos animais (C); Representação esquemática do sistema (D).

5.5.3 Sistema de análise

Através de um software de captura, os vídeos foram enviados ao computador e salvos no formato AVI, sendo posteriormente divididos em quadros, para análise. A análise das imagens obtidas a partir de cada vídeo é feita através de uma plataforma de software em MATLAB. Através de uma interface, o avaliador introduz dados para registro do animal e informações que seriam utilizadas para análise dos quadros. Dentro do campo aberto, a análise da atividade locomotora foi avaliada através das seguintes variáveis:

- Distância percorrida (m): a soma de todos os deslocamentos realizados pelo animal capaz de deslocar o seu centro de massa ao longo do comprimento do seu raio.
- Deslocamento rotacional (m): a soma de todos os pequenos deslocamentos realizados pelo animal que não foi suficiente para deslocar o seu centro de massa do comprimento do seu raio. Esta análise foi incluída para levar em conta pequenos movimentos da cabeça e dos membros
- Velocidade média (m/s): relação do deslocamento total pelo tempo em que o animal permaneceu em movimento;
- Potência média (mW): potência produzida durante o período de deslocamento;
- Energia total (Kcal): energia produzida durante o tempo de deslocamento;
- Tempo imóvel: tempo total que o animal ficou imóvel no campo aberto;
- Número de paradas: número total de paradas realizadas no campo;
- Relação tempo de imobilidade/número de paradas: relação entre o tempo total que o animal permaneceu imóvel no campo aberto e o número total de paradas.

- Tempo de permanência nas diferentes áreas do campo aberto: Tempo gasto em cada uma das 3 áreas do campo aberto: (central, intermediária e periférica)

A análise do padrão de atividade locomotora seguiu o protocolo criado por Aragão *et al.* (2011), com a adição da variável deslocamento rotacional e energia total.

5.6 Análise estatística

O teste de Kolmogorov–Smirnov foi realizado para determinar a distribuição normal dos dados. Os resultados de distância percorrida, tempo de atividade física, estimativa de gasto calórico e peso corporal das mães foram apresentados em média $\pm$ E.P.M. As diferenças estatísticas entre os grupos foi determinado pelo teste ANOVA *two-way* seguida do pós-teste de Bonferroni. As diferenças nas análises de peso corporal e glicemia das mães foi determinado através do teste ANOVA *one-way* seguido do pós-teste de Tukey.

Para a análise da atividade locomotora, foi utilizado o teste ANOVA *two-way* seguido do pós-teste de Bonferroni para os parâmetros de distância percorrida, velocidade média, potência média, energia total, tempo imóvel e número de paradas. Para a relação entre o tempo imóvel e o número de paradas, foi utilizado o teste de Friedman seguido do pós-teste de Dunns. A significância foi mantida em $p < 0.05$. A análise dos dados ocorreu através do programa estatístico GraphPad Prism 5® (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

6 RESULTADOS

Title: Maternal voluntary physical activity alters spatial displacement performance of the offspring in the open field test

Short-title: Maternal voluntary physical activity and locomotor performance

Highlights

- We studied effect of maternal physical activity on offspring locomotor performance.
- Dams had access to running wheel before gestation and through pregnancy and lactation.
- Pups from very active mothers were more active in the open field test.

Abstract

Maternal physical activity can be associated with growth trajectory and neural development of offspring. In this study, we analysed the effects of maternal physical activity on some parameters of locomotor activity. Twenty female Wistar rats were classified as control (C, n=4); inactive (I, n=8) and very active (VA, n=8). During 30 d before breeding, distance travelled, time of activity and calorie burned were daily recorded for inactive and very active dams. Offspring were evaluated on the 23rd, 45th and 60th day of postnatal life. Pattern of locomotor activity was evaluated by: distance travelled, rotational displacement, average speed and potency, time of immobility, number of stops and time spent in different areas of the open field. VA mothers showed high body weight and food consumption during adaptation and gestation when compared to control. Offspring from all groups showed a reduction in distance travelled throughout ages, except pups from VA dams. Differences among groups were seen at 45 and 60 d old. Rotational displacement was progressively increased in all groups throughout ages. At 60 d old, pups from VA dams showed a higher average speed and potency than control pups. The permanence in the peripheral area of the open field was higher in the pups from VA dams. In conclusion, maternal physical activity can potentially influences the locomotor activity of offspring by an increased distance travelled and average and potency, reduced time immobile and more time spent in the peripheral area of the open field arena. These effects are important for later motor abilities acquisition throughout ages.

Key-words: Locomotor development, developmental plasticity, physical activity, gestation, offspring, rats

1. Introduction

The locomotor activity is related to the animal survival such as, seeking for food, shelter, interaction with competitors, mating and predators defence (59). This behaviour requires a fine coordination with simultaneous activity of different motor pathways and maturation and functional integration of the nervous and muscular systems (60). Most of vertebrates are immature in terms of motor development at birth, but their primitive reflexes allow them to elaborate the first movements (61). In rats, motoneurons are produced on embryonic days in the cervical spinal cord and lumbo-sacral cord (62). Half of the motoneurons produced degenerate and die, and the last week of gestation represents the initial stages of motoneuron differentiation and maturation (63).

Altman & Sudarshan (1975) were the pioneers in the study of locomotor patterns of rats (*Rattus norvegicus*) during development. They described three phases for the development of locomotion: pivoting (first week of life), crawling (ambulation; second week of life) and walking/running (third week of life) (62). After the first three weeks of birth, a rapid maturation of motor behaviour takes place and the conduction velocity of peripheral nerves reaches adult values (62). The adult pattern is characterized by a mononeural innervation and changes in the histochemical and physiological properties of muscle fibres and pattern of locomotion, for example, walking, running, hopping or jumping, and crawling or slithering, are now entirely mature (60).

It has been recognized that maternal environment may play an important role in neuronal maturation and in the formation/refinement of sensorimotor connections impacting on the patterns of locomotor activity (64, 65). Maternal physical activity has been used as a model to study investment strategies on the offspring during development (66, 67). Children from active mothers during pregnancy scored high levels on the orientation and state regulation subscales of the Brazelton Neonatal Behavioral Assessment Scales (68). Babies (8 – 12 postpartum day) from exercised mothers (20 min/day, three times per week, at 55% of their maximal aerobic capacity) during pregnancy, presented more efficient auditory memory process (69). In rats, maternal physical training during pregnancy showed an increase in some somatic growth indicators (growth rate, tail length, laterolateral axis of the skull and anteroposterior axis of the head) and anticipation in the maturation of some reflexes (70). Voluntary maternal physical activity (running wheel, 30 days before breeding and during gestation/lactation) was related to the increased somatic growth indicators in the offspring at

different ages (67). However, there is no data about the repercussion of this maternal stimulus on patterns of locomotor activity of the offspring.

In the present study, we investigated the repercussion of maternal physical activity on some parameters of locomotor activity such as: distance travelled, rotational displacement, average speed and potency. We also analysed some behavioural parameters: time of immobility, number of stops and the time spent in the different areas of the open field (71). Thus, the main goal of the present study was to analyse the effects of maternal voluntary physical activity on some patterns of locomotor activity in offspring at different ages. Our hypothesis is that maternal voluntary physical activity alters the offspring's locomotor activity patterns.

2. Material and methods

The experimental protocol was approved by the Ethical Committee of the Biological Sciences Center (protocol nº 23076.047664/2013-87), Federal University of Pernambuco, Brazil, and followed the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals (72).

2.1 Animals

Twenty virgin female albino Wistar rats (*Rattus norvegicus*) aged 85-95 days were obtained from the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Brazil. Animals were maintained at a room temperature of $22 \pm 1^\circ\text{C}$ with a controlled light-dark cycle (dark 08.00 am – 8.00 pm). Food and water were given *ad libitum* throughout the experiment: period of adaptation (carbohydrates: 75%, lipids: 11% and protein: 14%) and period of gestation/lactation (carbohydrates: 64%, lipids: 18% and protein: 18%) (73). Special cages were used with a stainless steel wheel running and dams were allowed to run for a period of four weeks. After this period, females were placed into a standard cage and mated (1 female for 1 male) for a period of 1–5 days. Females had no access to the running wheel during mating. The day on which spermatozoa were present in a vaginal smear was designated as the day of conception, day 0 of pregnancy. Pregnant rats were then transferred to their original cages with free access to the running wheel throughout pregnancy, and up to postnatal day 14. Wheels were locked on postnatal day 14 to prevent the pups from running and/or being injured. On postnatal day 1, litters were reduced to 8 pups per mother, ensuring only males per litter when possible. Eventually, litters were completed to 8 pups with 2–3 females when necessary. Of each litter, 3-4 males were randomly chosen for the evaluation of parameters of locomotor activity performed after suckling period. Offspring were transferred to standard cages without running wheel after weaning. Each litter, composed for 3-4

offspring, represents one sample from total n evaluated: control (C, $n=4$); inactive (I, $n=8$) and very active (VA, $n=8$). The classification of voluntary physical activity (inactive, active and very active) was based on previous study (67).

2.2 Voluntary physical activity measurements

Female Wistar rats were singly housed into an acrylic cage (cage size: 34 cm height, 27 cm width and 61 cm length). A stainless steel wheel (27 cm diameter) was placed into the cage for running physical activity with food and water *ad libitum*. A wireless cyclocomputer (Cataye, model CC-AT200W, Colorado, USA) was attached in the wheel to calculate and display trip information, such as time of activity, distance travelled, estimated calorie burned, and the current time. Distance was determined by counting the number of rotations, which was translated into the number of wheel circumferences passed. The protocol to classify rats according to their physical activity followed previous study (67). Briefly, daily distance travelled, time of activity and estimated calorie burned were used to classify rats into different groups according to voluntary physical activity: Inactive [Distance travelled (Km/day): ≤ 1.0 ; Estimated calorie burned (Km/s/day): ≤ 10.0 and Time of activity (min/day): ≤ 20.0] and Very Active [Distance travelled (Km/day): > 5.0 ; Estimated calorie burned (Km/s/day): > 40.0 and Time of activity (min/day): > 120.0] (67). In this study there was no active group [Distance travelled (Km/day): $> 1.0 \leq 5.0$; Estimated calorie burned (Km/s/day): $> 10.0 \leq 40.0$ and Time of activity (min/day): $> 20.0 \leq 120.0$], as the mothers spontaneously have chosen whether perform or not physical activity on the wheel. A control group ($n=4$) with similar age and body weight was incorporated in the study and individually housed in a standard dimension cage without running wheel apparatus.

2.3 Mother's and offspring body weight and food intake

Mother's body weight and food intake were recorded on each three days throughout the experiment. Body weight of the pups was measured at birth and every three days during the lactation period. After weaning, body weight was assessed on the 30th, 40th, 50th and 60th day of life. Body weight was recorded using a Marte Scale (AS-1000) with 0.01g accuracy.

2.4 Blood glucose measurements

Twelve hour fasting glycaemia levels were evaluated in the last day of adaptation and weekly during gestation using blood samples from the tail vein of the rats, using a glucometer (Accu Check Advantage and Accutrend GCT) and the glucose oxidase method. The animals were fasted overnight.

2.5 Locomotor activity

Animals were evaluated on the 23rd, 45th and 60th days of postnatal life during the dark phase of the circadian cycle (between 10.00am and 12.00pm). The procedures were performed as described in previous study (71). Each animal was placed individually in the centre of the open field (1 m diameter) and recorded for 5 minutes while it moved freely. The movements were directly recorded in a digital format and analysed *offline* (71). When the animals were exchanged, the field was cleaned to eliminate odours that could affect the behaviour of the next animal. The same analysis system described in previous study (71) was used and some new parameters were included (Table 1).

2.6 Statistical analyses

The Kolmogorov–Smirnov test was performed to determine if the data were normally distributed. For the mothers, measurements of distance travelled, estimated calorie burned and time of activity were analysed by ANOVA two-way (day and physical activity as factors). Body weight, food intake and blood glycaemia were analysed by ANOVA one-way. For the offspring, each litter with four pups was considered one sample, and statistical analyses were performed by two-way ANOVA for repeated measures followed by the Bonferroni test. All data are presented as means $\pm$ S.E.M. Significance was set at $p < 0.05$. Data analysis was performed using the statistical program GraphPad Prism 5® (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

3. Results

Figure 1A, B and C present data of the maternal voluntary physical activity. Before gestation, dams were spontaneously divided into two groups according to physical activity (distance travelled, estimated calorie burned and time of activity). At pregnancy, the very active dams gradually reduced the distance travelled becoming inactive from the second week of gestation until the 14th day of lactation (day on which the running wheel was locked).

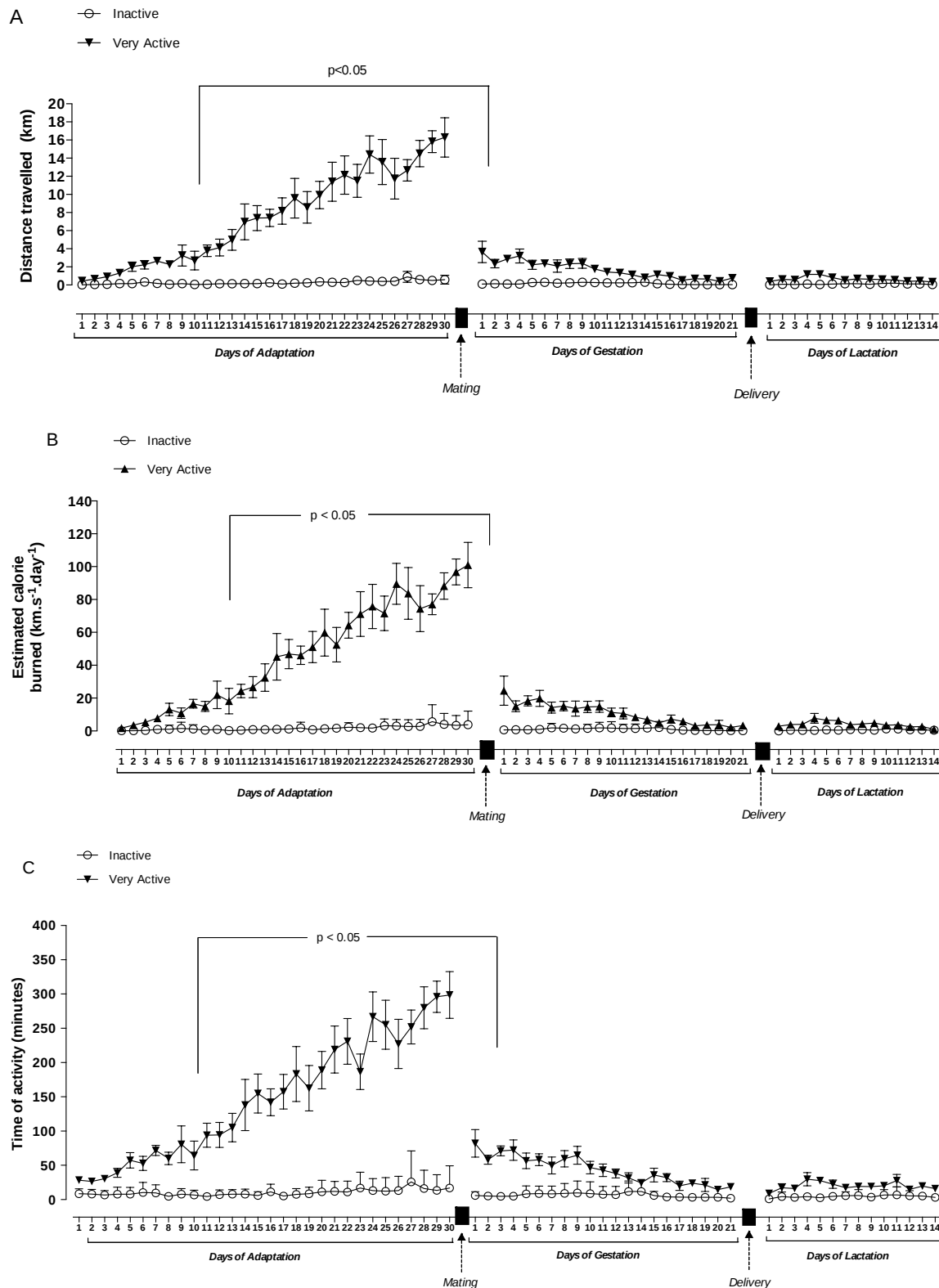


Figure 1. Parameters of voluntary physical activity. Daily distance travelled (A), estimated calorie burned (B) and time of activity(C) were recorded during periods of adaptation, gestation and lactation. Values are presented as mean $\pm$ S.E.M. * $p < 0.05$ vs. Inactive using two way ANOVA with Bonferroni post-hoc test.

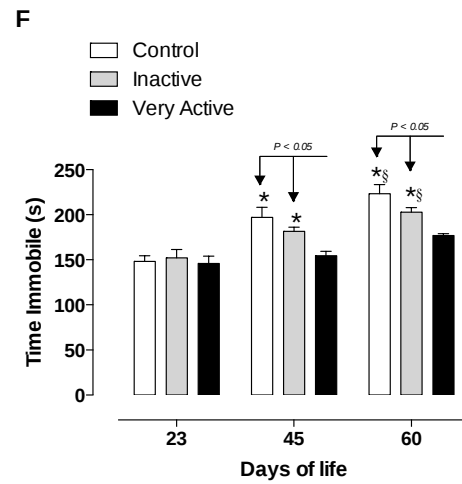
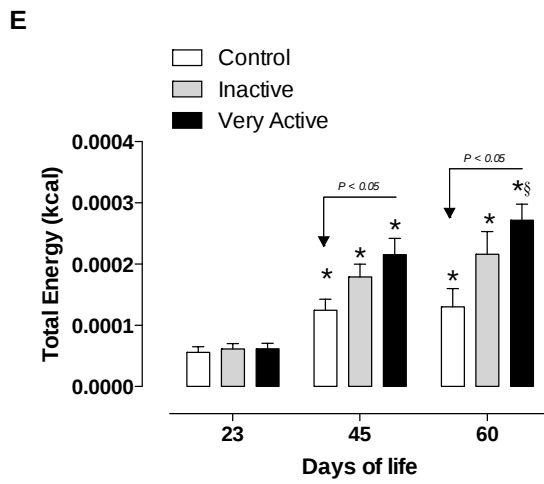
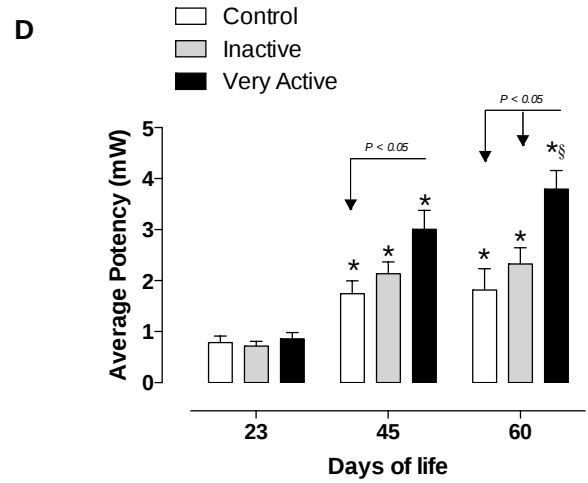
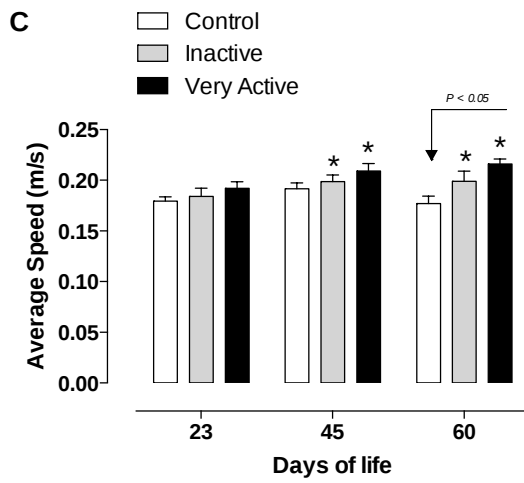
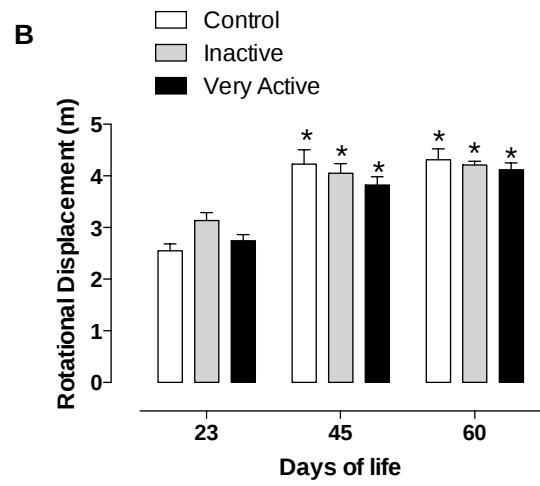
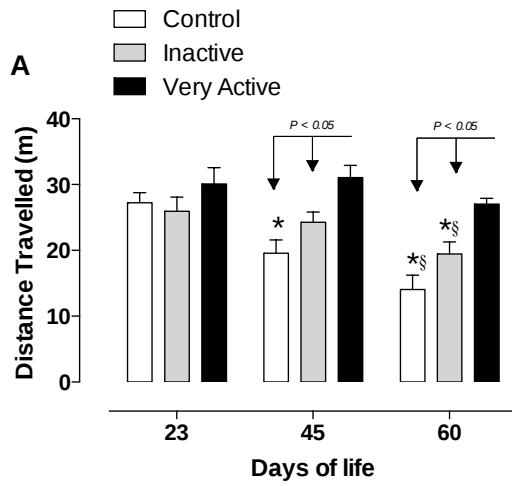
Very active mothers showed high body weight and food consumption during adaptation and gestation when compared to control (Table 2). The number of pups born from very active and inactive mothers was higher than control mothers (Table 2). Offspring's birth weight did not differ among groups ($C = 6.4$, SEM: 0.5; $I = 5.6$, SEM: 0.1; $VA = 5.7$, SEM: 0.2; $P > 0.05$). Similarly, body weight did not differ among groups during lactation, 22nd, 30th, 40th, 50th and 60th days old [data not shown].

Some parameters of the locomotor activity of the offspring were evaluated at 23, 45 and 60 d old (Figure 2). All groups showed a reduction in the distance travelled throughout ages, except pups from VA dams. Differences among groups were seen at 45 and 60 d old (Figure 2A). Rotational displacement was progressively increased in all groups throughout ages (Figure 2B). Pups from inactive and very active dams showed an increasing in terms of average speed over the ages. At 60 d old, pups from VA dams showed a higher average speed than pups from control dams (Figure 2C). Average potency and total energy were increased throughout ages for all groups. However, it was more pronounced in pups from VA dams at 45 and 60 d old (Figure 2D and E).

Table 2. Data from mothers during adaptation, pregnancy and lactation. Values expressed as Mean $\pm$ SEM

	Initial body weight (g)		Final body weight (g)		$\Delta\%$ body weight		Food consumption (g/day)		Glycaemia (mg/dL)		Number of pups at delivery	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Adaptation												
Control	218.7	14.2	226.5	6.2	4.3	0.4	12.0	0.5	109.3	4.3		
Inactive	233.2	3.9	238.6	4.9	2.4	0.1	13.6	0.9	108.8	2.8		
Very Active	234.2	4.7	237.5	5.8	1.6	0.9	15.4 ^a	0.6	108.8	3.3		
Pregnancy												
Control	234.0	7.4	325.4	11.2	39.0	1.2	14.6	0.6	74.2	3.7	9.2	0.75
Inactive	257.0	6.2	351.3	6.4	37.1	3.6	16.1	0.5	76.8	2.7	11.7 ^a	0.45
Very Active	254.6	7.4	363.9 ^a	9.0	43.9	5.9	20.7 ^{a,b}	0.7	69.1	3.4	14.0 ^{a,b}	0.53
Lactation												
Control	252.0	6.3	249.9	9.8	-0.8	2.9	37.1	3.4	-	-		
Inactive	275.5	4.5	276.7	3.8	0.5	1.3	40.5	1.5	-	-		
Very Active	284.9 ^a	7.2	282.8 ^a	9.4	-0.6	2.7	42.4	2.3	-	-		

Control (n=4); Inactive (n=8) and Very Active (n=8), ^a p<0.05 vs Control and ^b p<0.05 vs Inactive using one way ANOVA with Tukey's post-hoc.



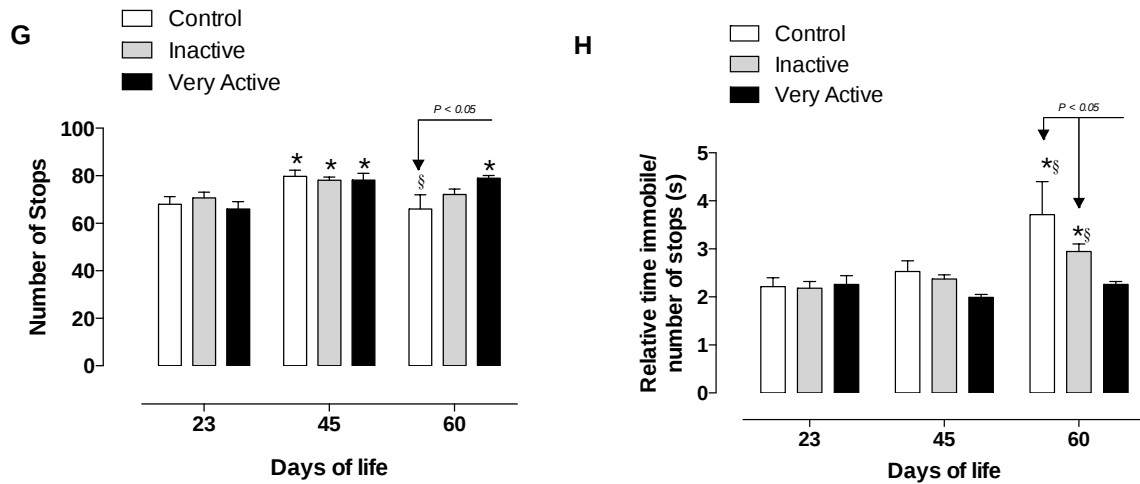


Figure 2 – Parameters of locomotor activity of offspring at 23, 45 and 60 days of life.

Litters were classified according to maternal voluntary physical activity during the adaptation period (30 days before mating), being constituted by groups: Control (n=4), Inactive (n=8) and Very Active (n=8). A, Distance travelled (m); B, Rotational displacement (m); C, Average speed (m/s); D, Average potency (mW); E, Total energy (kcal); F, Time of immobility (s); G, Number of stops; H, relative time of immobility/number of stops (s). Values are presented as mean $\pm$ S.E.M. * $p < 0.05$ vs. 23 days; § $p < 0.05$ vs. 45 days; using two way ANOVA with Bonferroni's post-hoc test.

Time immobile was increased for pups from control and inactive dams throughout ages (Figure 2F). In addition, pups from VA dams showed a reduced time immobile when compared to pups from control and inactive dams at 45 and 60 d old (Figure 2F). The number of stops increased at 45 d old for all groups, but normalized at 60 d old, except for pups from very active dams when compared to pups from control dams (Figure 2G). At 60 d old, the ratio of relative time immobile/number of stops was higher for pups from control and inactive dams. This ratio did not change for pups from VA dams over the ages (Figure 2H).

For all groups, the time spent in the central and intermediate area of the open field was progressively reduced throughout ages. The permanence in the peripheral area of the open field was more pronounced in the pups from VA dams (Figure 3).

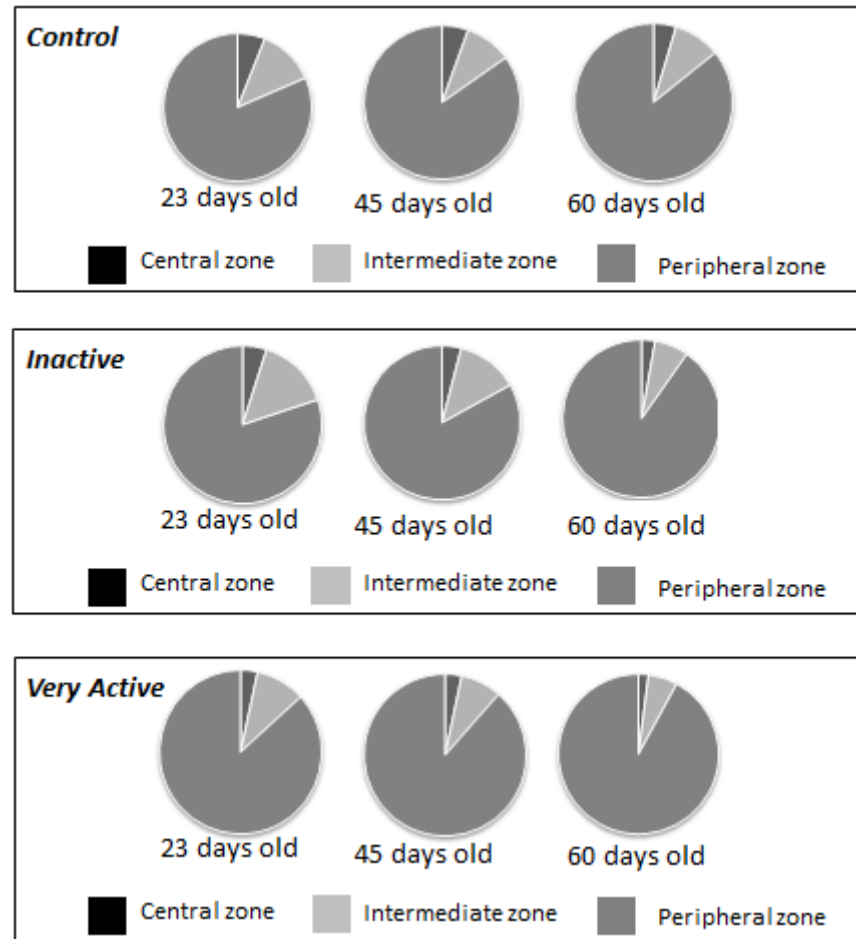


Figure 3 - Time spent in the areas of the open field (s). Litters were classified according to maternal voluntary physical activity during the adaptation period (30 days before mating), being constituted by groups: Control (n=4), Inactive (n=8) and Very Active (n=8). Time spent in the Central, Intermediate and Peripheral zones of the open field was evaluated at 23, 45 and 60 days of life. Total time: 300s.

4. Discussion

In this study, we investigated the effects of maternal voluntary physical activity on spatial displacement performance in the open field test. Our results demonstrate that maternal physical activity impacts on the locomotor activity of male pups by an increased distance travelled and average potency, reduced time immobile and more time spent in the peripheral area of the open field arena. Indeed, maternal physical activity during pregnancy has been considered as an important environmental stimulus acting during the development of the foetal brain (16). In addition, we observed that maternal voluntary physical activity influences some patterns of locomotor activity as a function of age. We specifically focused on the acquisition of these patterns at different ages because of the maturation of motoneurons,

synaptic plasticity and neuroadaptation during development in response to maternal environmental stimuli. This result extends our previous study (20) about the effects of maternal voluntary physical activity on growth, development and reflexes ontogeny of offspring.

In the present study, we used the protocol for maternal voluntary physical activity based on distance travelled, estimated calories burn and time spent in the running wheel in order to establish the active phenotype during pre-gestational period (20). Before pregnancy, dams were classified either as inactive or as very active according to a previous study (20). As expected from very active mothers, there was a progressive increasing in the parameters of physical activity during pre-gestational period followed by a suddenly reduction during gestation until the 14th day of lactation. Our results are aligned with previous study that identified a more preservative behaviour from mothers in order to save energy for their foetus (20). Also, very active mothers presented an increase in the body weight gain probably due the high food consumption and the gain of lean mass related to physical activity (3). The high number of pups recorded at delivery may also explain the high body weight as seen in VA mothers. Even though the statistical analysis showed a difference in terms of number of pups at birth, we believe that there is no physiological reason to consider that physical activity can affect the number of pups at birth in rats.

The present study showed that pups from VA mothers increased the distance travelled and reduced the number of stops in the open field test. Prior studies have mostly focused on the effects of physical activity during pregnancy on the behaviour, learning and memory of the offspring during the development (1, 10, 18). There are evidences that offspring from active mothers had reduced anxiety levels (1) and improved spatial learning (10) compared to offspring from control mothers. We also observed that pups from VA mothers showed more pronounced changes in the average speed, average potency and energy expended in the open field throughout ages. These parameters are more related to the ability of skeletal muscle to develop force and thereafter movement (4). The increased ability to develop movement can also be expressed as a function of the level of maturation, activation and coordination of neural (sensory and motor) structures and muscle activation (14). It has been showed that maternal environment can influence muscle phenotype and muscular mechanical properties of the offspring.

Regarding to neural structures activation and coordination, motor and sensitive reflexes (crawling, grasping, rooting, stepping, etc) are the first forms of movement and are behaviourally stereotyped at birth and disappear in a way dependent on age and

environmental stimuli (14). Early life events are critical in the development of these reflexes and can influence permanently the development of neuromotor system. Previous study has shown that voluntary maternal physical activity altered the ontogeny of some reflexes such as righting, negative geotaxis, cliff drop avoidance and vibrissae placing reflexes in pups of rats during development (20). During young age, the nervous system has a probable bent to plasticity, which can enhance the internal potential of the developing brain (14). In addition, maternal physical activity (treadmill running, beginning on the 15 postnatal day, 30 min/day at a low-intensity) during pregnancy promoted hippocampal neurogenesis and increased hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA expression in rat offspring at 29 days old (15). It is possible that maternal physical activity has affected areas related to sensorimotor development and locomotor activity such as spinal cord, cerebellum and cerebral cortex (8). Thus, maternal physical activity influences on reflexes ontogeny and the repercussions were seen on the pattern of locomotor tasks in the offspring during development.

In the present study, pups showed a progressive increased time spent in the peripheral area of the open field throughout ages. It is possible that the process of learning a new physical skill or behaviour can increase the number of neurons in the hippocampus of young rats during development (22). Animals develop the sensorial peripheral response by vibrissae placing in the peripheral area of an open field. This response enhances in a function of age because of the maturation of the nervous system, but also because of trial of training (17). Over trials, the rats learn to remain on the peripheral areas and time spent in the central and peripheral areas of the open field tends to reduce (8). However, this response was more pronounced in pups from VA mothers. Previous studies have demonstrated that pups from active mothers had increased hippocampal neurogenesis, modified reflexes ontogeny, better memory and learning abilities (11, 18). This finding is particularly interesting once learning different types of motor skill related to sensorial reflexes (vibrissae placing) can be associated to a better learning of sports and games, and acquisition of motor coordination and physical fitness in humans (21).

5. Conclusion

In this study, we demonstrate that maternal physical activity bearings the locomotor activity of offspring by an increased distance travelled and average potency, reduced time immobile and more time spent in the peripheral area of the open field arena. These effects can be related to modification on reflexes ontogeny, better memory and learning abilities as seen

in pups from active mothers. In addition, it is possible that maternal physical activity might affect areas related to sensorimotor development and locomotor activity in the offspring during development.

6. Acknowledgment

This study was supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Coordination for the Improvement of Higher Level or Education Personnel (CAPES) and State of Pernambuco Science and Technology Support Foundation (FACEPE).

7. References

1. Aksu I, Baykara B, Ozbal S, Cetin F, Sisman AR, Dayi A, et al. Maternal treadmill exercise during pregnancy decreases anxiety and increases prefrontal cortex VEGF and BDNF levels of rat pups in early and late periods of life. *Neurosci Lett*. 2012;516(2):221-5.
2. Altman J, Sudarshan K. Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Anim Behav*. 1975;23(4):896-920.
3. Amorim MF, dos Santos JA, Hirabara SM, Nascimento E, de Souza SL, de Castro RM, et al. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? *Exp Physiol*. 2009;94(8):906-13.
4. Aragao Rda S, Rodrigues MA, de Barros KM, Silva SR, Toscano AE, de Souza RE, et al. Automatic system for analysis of locomotor activity in rodents--a reproducibility study. *J Neurosci Methods*. 2011;195(2):216-21.
5. Barros KM, Manhaes-De-Castro R, Lopes-De-Souza S, Matos RJ, Deiro TC, Cabral-Filho JE, et al. A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. *Nutr Neurosci*. 2006;9(1-2):99-104.

6. Bayne K. Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. American Physiological Society. *Physiologist*. 1996;39(4):199, 208-11.
7. Carter LG, Lewis KN, Wilkerson DC, Tobia CM, Ngo Tenlep SY, Shridas P, et al. Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;303(8):E1061-8.
8. Cicirata F, Angaut P, Panto MR, Serapide MF. Neocerebellar control of the motor activity: experimental analysis in the rat. Comparative aspects. *Brain Res Brain Res Rev*. 1989;14(2):117-41.
9. Clapp JF, 3rd, Lopez B, Harcar-Sevcik R. Neonatal behavioral profile of the offspring of women who continued to exercise regularly throughout pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(1 Pt 1):91-4.
10. Dayi A, Agilkaya S, Ozbal S, Cetin F, Aksu I, Gencoglu C, et al. Maternal aerobic exercise during pregnancy can increase spatial learning by affecting leptin expression on offspring's early and late period in life depending on gender. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:429803.
11. Falcao-Tebas F, Bento-Santos A, Fidalgo MA, de Almeida MB, dos Santos JA, Lopes de Souza S, et al. Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. *Br J Nutr*. 2012;107(3):372-7.
12. Friedhoff AJ, Miller JC, Armour M, Schweitzer JW, Mohan S. Role of maternal biochemistry in fetal brain development: effect of maternal thyroidectomy on behaviour and biogenic amine metabolism in rat progeny. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2000;3(2):89-97.
13. Garland T, Jr., Schutz H, Chappell MA, Keeney BK, Meek TH, Copes LE, et al. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. *J Exp Biol*. 2011;214(Pt 2):206-29.

14. Gramsbergen A. Posture and locomotion in the rat: independent or interdependent development? *Neurosci Biobehav Rev.* 1998;22(4):547-53.
15. Kim H, Lee SH, Kim SS, Yoo JH, Kim CJ. The influence of maternal treadmill running during pregnancy on short-term memory and hippocampal cell survival in rat pups. *Int J Dev Neurosci.* 2007;25(4):243-9.
16. LeMoyne EL, Curnier D, St-Jacques S, Ellemberg D. The effects of exercise during pregnancy on the newborn's brain: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2012;13:68.
17. Madronal N, Lopez-Aracil C, Rangel A, del Rio JA, Delgado-Garcia JM, Gruart A. Effects of enriched physical and social environments on motor performance, associative learning, and hippocampal neurogenesis in mice. *PLoS One.* 2010;5(6):e11130.
18. Parnpiansil P, Jutapakdeegul N, Chentanez T, Kotchabhakdi N. Exercise during pregnancy increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression and spatial learning in neonatal rat pup. *Neurosci Lett.* 2003;352(1):45-8.
19. Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr.* 1997;127(5 Suppl):838S-41S.
20. Santana Muniz G, Beserra R, da Silva Gde P, Fragoso J, Lira Ade O, Nascimento E, et al. Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. *Physiol Behav.* 2014;129:1-10.
21. Sherwood NE, Jeffery RW. The behavioral determinants of exercise: implications for physical activity interventions. *Annu Rev Nutr.* 2000;20:21-44.
22. Sultan S, Mandairon N, Kermen F, Garcia S, Sacquet J, Didier A. Learning-dependent neurogenesis in the olfactory bulb determines long-term olfactory memory. *FASEB J.* 2010;24(7):2355-63.

23. Vinay L, Brocard F, Pflieger JF, Simeoni-Alias J, Clarac F. Perinatal development of lumbar motoneurons and their inputs in the rat. *Brain Res Bull.* 2000;53(5):635-47.
24. Westerga J, Gramsbergen A. The development of locomotion in the rat. *Brain Res Dev Brain Res.* 1990;57(2):163-74.

7 CONCLUSÃO

O fenótipo ativo materno é estabelecido antes da gestação e altera a atividade locomotora dos filhotes por aumentar a distância percorrida e a potência média, reduzir o tempo imóvel e gastar mais tempo nas áreas periféricas do campo aberto. Esses efeitos podem estar relacionados com modificações na ontogênese dos reflexos, melhor capacidade de memorização e aprendizado, como pôde ser observado nos filhotes de mães muito ativas. Além disso, é possível que a atividade física voluntária materna afete áreas relacionadas ao desenvolvimento sensório-motor e locomotor dos filhotes durante o desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

- AKSU, I. *et al.* Maternal treadmill exercise during pregnancy decreases anxiety and increases prefrontal cortex VEGF and BDNF levels of rat pups in early and late periods of life. **Neuroscience letters**, v. 516, n. 2, p. 221-225, 2012.
- AMORIM, M. F. *et al.* Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? **Experimental physiology**, v. 94, n. 8, p. 906-913, 2009.
- ANA LYDIA SAWAYA, C. G. L., DAN WAITZBERG. **Fisiologia da Nutrição na Saúde e na Doença: da biologia molecular ao tratamento**. 1. 2013. 623 ISBN 978-85-388-0388-1.
- BARRES, R. *et al.* Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. **Cell metabolism**, v. 15, n. 3, p. 405-411, 2012.
- BARROS, K. M. *et al.* A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutritional neuroscience**, v. 9, n. 1-2, p. 99-104, 2006.
- BAYNE, K. Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. **American Physiological Society**. Physiologist, v. 39, n. 4, p. 199, 208-11, Aug 1996.
- BÉNÉFICE, E.; FOUÉRE, T.; MALINA, R. Early nutritional history and motor performance of Senegalese children, 4-6 years of age. **Annals of human biology**, v. 26, n. 5, p. 443-455, 1999.
- BIRESSI, S.; MOLINARO, M.; COSSU, G. Cellular heterogeneity during vertebrate skeletal muscle development. **Developmental biology**, v. 308, n. 2, p. 281-293, 2007.
- BRYN, I.; PUPE, S.; BIZARRO, L. Attention, locomotor activity and developmental milestones in rats prenatally exposed to ethanol. **International journal of developmental neuroscience**, v. 38, p. 161-168, 2014.
- BURTON, C.; LOVIC, V.; FLEMING, A. S. Early adversity alters attention and locomotion in adult Sprague-Dawley rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 120, n. 3, p. 665, 2006.
- CARTER, L. G. *et al.* Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 303, n. 8, p. E1061-E1068, 2012.
- CICIRATA, F. *et al.* Neocerebellar control of the motor activity: experimental analysis in the rat. Comparative aspects. **Brain Res Brain Res Rev**, v. 14, n. 2, p. 117-41, Apr-Jun 1989.
- CLAPP, J. Influence of endurance exercise and diet on human placental development and fetal growth. **Placenta**, v. 27, n. 6, p. 527-534, 2006.
- CLAPP, J. F. *et al.* Continuing regular exercise during pregnancy: effect of exercise volume on fetoplacental growth. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 186, n. 1, p. 142-147, 2002.
- CLARAC, F. *et al.* Role of gravity in the development of posture and locomotion in the neonatal rat. **Brain research reviews**, v. 28, n. 1, p. 35-43, 1998.
- Committee Opinion No. 650: Physical Activity and Exercise During Pregnancy and the Postpartum Period. **Obstet Gynecol**, v. 126, n. 6, p. e135-42, Dec 2015.

CONTARTEZE, R. V. L. *et al.* Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 151, n. 3, p. 415-422, 2008.

DA SILVA ARAGÃO, R. *et al.* Automatic system for analysis of locomotor activity in rodents—A reproducibility study. **Journal of neuroscience methods**, v. 195, n. 2, p. 216-221, 2011.

DAYI, A. *et al.* Maternal aerobic exercise during pregnancy can increase spatial learning by affecting leptin expression on offspring's early and late period in life depending on gender. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

DEMINIÈRE, J. M. *et al.* Increased locomotor response to novelty and propensity to intravenous amphetamine self-administration in adult offspring of stressed mothers. **Brain research**, v. 586, n. 1, p. 135-139, 1992.

DIAZ, M. R. *et al.* Repeated intermittent alcohol exposure during the third trimester-equivalent increases expression of the GABA A receptor δ subunit in cerebellar granule neurons and delays motor development in rats. **Neuropharmacology**, v. 79, p. 262-274, 2014.

DOBBING, J. The later development of the brain and its vulnerability. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 5, p. 88-88, 1982.

FALCÃO-TEBAS, F. *et al.* Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 03, p. 372-377, 2012.

FIDALGO, M. *et al.* Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate–low physical training. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 03, p. 449-456, 2013.

FIDALGO, M. *et al.* Efeito do treinamento físico e da desnutrição durante a gestação sobre os eixos cranianos de ratos neonatos. **Rev. bras. med. esporte**, v. 16, n. 6, p. 441-444, 2010.

FOX, W. Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. **Animal Behaviour**, v. 13, n. 2, p. 234-IN5, 1965.

FRIEDHOFF, A. J. *et al.* Role of maternal biochemistry in fetal brain development: effect of maternal thyroidectomy on behaviour and biogenic amine metabolism in rat progeny. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 3, n. 2, p. 89-97, Jun 2000.

GARLAND, T. *et al.* The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. **The Journal of experimental biology**, v. 214, n. 2, p. 206-229, 2011.

GIRIKO, C. Á. *et al.* Delayed physical and neurobehavioral development and increased aggressive and depression-like behaviors in the rat offspring of dams fed a high-fat diet. **International journal of developmental neuroscience**, v. 31, n. 8, p. 731-739, 2013.

GÓMEZ-PINILLA, F. *et al.* Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. **Journal of neurophysiology**, v. 88, n. 5, p. 2187-2195, 2002.

GOMEZ-PINILLA, F. *et al.* Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. **European Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 3, p. 383-390, 2011.

- GRAMSBERGEN, A. Posture and locomotion in the rat: independent or interdependent development? **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 22, n. 4, p. 547-553, 1998.
- GUEDES, R. C. A.; ROCHA-DE-MELO, A. P.; TEODÓSIO, N. R. Nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral. **Ciência e cultura**, v. 56, n. 1, p. 32-35, 2004.
- HERRING, A. *et al.* Exercise during pregnancy mitigates Alzheimer-like pathology in mouse offspring. **The FASEB Journal**, v. 26, n. 1, p. 117-128, 2012.
- KIM, H. *et al.* The influence of maternal treadmill running during pregnancy on short-term memory and hippocampal cell survival in rat pups. **International journal of developmental neuroscience**, v. 25, n. 4, p. 243-249, 2007.
- LEMOYNE, E. L. *et al.* The effects of exercise during pregnancy on the newborn's brain: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 13, p. 68, 2012.
- LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. **The childhood environment and adult disease**, v. 1991, p. 38-55, 1991.
- MADRONAL, N. *et al.* Effects of enriched physical and social environments on motor performance, associative learning, and hippocampal neurogenesis in mice. **PLoS One**, v. 5, n. 6, p. e11130, 2010.
- MÔNICA FERRAZ TEIXEIRA DE BARROS, K.; MANHÃES DE CASTRO, R. O. **Desnutrição neonatal**: aspectos estruturais e biomecânicos do desenvolvimento da atividade locomotora em ratos. 2006.
- MORGANE, P. J. *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 17, n. 1, p. 91-128, 1993.
- MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 4, p. 471-483, 2002.
- MOURA-DOS-SANTOS, M. *et al.* Permanent deficits in handgrip strength and running speed performance in low birth weight children. **American Journal of Human Biology**, v. 25, n. 1, p. 58-62, 2013.
- MUIR, G. D. Early ontogeny of locomotor behaviour: a comparison between altricial and precocial animals. **Brain research bulletin**, v. 53, n. 5, p. 719-726, 2000.
- MUNIZ, G. S. *et al.* Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. **Physiology & behavior**, v. 129, p. 1-10, 2014.
- NEEPER, S. A. *et al.* Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. **Brain research**, v. 726, n. 1, p. 49-56, 1996.
- NTANANIS-STATHOPOULOS, J. *et al.* Epigenetic regulation on gene expression induced by physical exercise. **J Musculoskelet Neuronal Interact**, v. 13, n. 2, p. 133-146, 2013.
- PAIVA, M. *et al.* Mechanical properties of the plantar flexor muscles in malnourished prepubertal children. **Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering**, v. 11, n. S1, p. 179-180, 2008.
- PARNPIANSIL, P. *et al.* Exercise during pregnancy increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression and spatial learning in neonatal rat pup. **Neuroscience letters**, v. 352, n. 1, p. 45-48, 2003.

POLLOCK, K. E. *et al.* Hyperleptinemia During Pregnancy Decreases Adult Weight of Offspring and Is Associated With Increased Offspring Locomotor Activity in Mice. **Endocrinology**, v. 156, n. 10, p. 3777-3790, 2015.

RODRIGUEZ, J. *et al.* Maternal obesity in the rat programs male offspring exploratory, learning and motivation behavior: prevention by dietary intervention pre-gestation or in gestation. **International journal of developmental neuroscience**, v. 30, n. 2, p. 75-81, 2012.

ROSA, B. V. *et al.* Voluntary exercise in pregnant rats positively influences fetal growth without initiating a maternal physiological stress response. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300, n. 5, p. R1134-R1141, 2011.

ROSENBAUM, D. A. Human motor control. Academic press, 2009. ISBN 0080921221.

SEIFERT, T. *et al.* Endurance training enhances BDNF release from the human brain. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 298, n. 2, p. R372-R377, 2010.

SHERWOOD, N. E.; JEFFERY, R. W. The behavioral determinants of exercise: implications for physical activity interventions. **Annu Rev Nutr**, v. 20, p. 21-44, 2000.

SINCLAIR, K. *et al.* The developmental origins of health and disease: current theories and epigenetic mechanisms. **Society of Reproduction and Fertility supplement**, v. 64, p. 425, 2007.

SMART, J.; DOBBING, J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain research**, v. 28, n. 1, p. 85-95, 1971.

SULTAN, S. *et al.* Learning-dependent neurogenesis in the olfactory bulb determines long-term olfactory memory. **FASEB J**, v. 24, n. 7, p. 2355-63, Jul 2010.

THOMAS, D. M.; CLAPP, J. F.; SHERNCE, S. A foetal energy balance equation based on maternal exercise and diet. **Journal of the Royal Society interface**, v. 5, n. 21, p. 449-455, 2008.

VINAY, L. *et al.* Perinatal development of lumbar motoneurons and their inputs in the rat. **Brain Res Bull**, v. 53, n. 5, p. 635-47, Nov 15 2000.

WELLS, J. C. The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother? **Journal of Theoretical Biology**, v. 221, n. 1, p. 143-161, 2003.

WEST-EBERHARD, M. J. **Developmental plasticity and evolution**. Oxford University Press, 2003. ISBN 0195122356.

WESTERGA, J.; GRAMSBERGEN, A. The development of locomotion in the rat. **Developmental brain research**, v. 57, n. 2, p. 163-174, 1990.

_____. Development of locomotion in the rat: the significance of early movements. **Early human development**, v. 34, n. 1, p. 89-100, 1993.

WILSON, C. A.; TERRY, A. V. Variable maternal stress in rats alters locomotor activity, social behavior, and recognition memory in the adult offspring. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 104, p. 47-61, 2013.

ZENG, Y. *et al.* Prenatal glucocorticoid exposure in rats: programming effects on stress reactivity and cognition in adult offspring. **Stress**, v. 18, n. 3, p. 353-361, 2015.

ANEXOS

Anexo A

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50410-020 / Recife - PE - Brasil
E-mail: (55 81) 2126 8040 / 2126 8351
Fax: (55 81) 2126 8950
www.ccb.ufpe.br



Recife, 28 de novembro de 2013.

Ofício nº 655/13

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Carol Virginia Góis Leandro**
Universidade Federal de Pernambuco
Centro Acadêmico de Vitória
Processo nº 23076.047864/2013-87

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **"Efeitos da atividade física voluntária e da desnutrição perinatal materna sobre a atividade locomotora em filhotes de ratos"**.

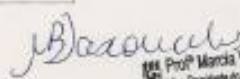
Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério de criação do Departamento de Nutrição; Animal: Rato heterogênico; Linhagem: wistar; Idade: 90 dias; Peso: 220-260g; Sexo: machos e fêmeas; Nº Total de Animais: 120.

Atenciosamente



Profª Maria Vasconcelos
Vice-Presidente da CEUA/CCB-UFPE
SUPE 2706/03

CCB: Integrar para desenvolver