



Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Centro Acadêmico de Vitória – CAV

**Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade
Fenotípica – PPGNAFPF**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS METABÓLICOS, COMPORTAMENTAIS E DE
DESEMPENHO EM TESTES FÍSICOS EM RATOS JOVENS**

Mayara Alves Leal Guimarães

Vitória de Santo Antão

2017



Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Centro Acadêmico de Vitória – CAV

**Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade
Fenotípica – PPGNAFPF**

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS METABÓLICOS, COMPORTAMENTAIS E DE
DESEMPENHO EM TESTES FÍSICOS EM RATOS JOVENS**

Mayara Alves Leal Guimarães

Orientador: Profa. Dra. Raquel da Silva Aragão

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, área de concentração em Bases Experimentais, para a obtenção do título de Mestre.

Vitória de Santo Antão

2017

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV
Bibliotecária Jaciane Freire Santana - CRB-4/2018

G963e Guimaraes, Mayara Alves Leal

Efeito da atividade física voluntária materna sobre parâmetros metabólicos, comportamentais e de desempenho em testes físicos em ratos jovens/ Mayara Alves Leal Guimaraes - Vitória de Santo Antão, 2017.
69 folhas: il.; fig., tab.

Orientadora: Raquel da Silva Aragão

Dissertação (Mestrado em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, 2017.

Inclui referências e anexos.

1. Teste físico - ratas. 2. Atividade física voluntária - ratas. 3. Metabolismo - ratas. I. Aragão, Raquel da Silva (Orientadora). II. Título.

796.07 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-090/2017

Mayara Alves Leal Guimarães

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS METABÓLICOS, COMPORTAMENTAIS E DE
DESEMPENHO EM TESTES FÍSICOS EM RATOS JOVENS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Fatores Ambientais Moduladores da Plasticidade Fenotípica.

Aprovado em: 23/02/2017.

Orientador(a): **Dr.^a Raquel da Silva Aragão**
Universidade Federal de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA:

Dr. José Antonio dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Dr.^a Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff
Universidade Federal de Pernambuco

Dr.^a Carol Virginia Gois Leandro
Universidade Federal de Pernambuco

*Dedico este trabalho
primeiramente a Deus
e a todos que acompanharam
essa minha trajetória,
meus familiares e amigos!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus** pelo dom da minha vida e por ter me dado força e perseverança para chegar até aqui. Sem a certeza da presença Dele em meus caminhos, eu jamais alcançaria essa conquista!

Agradeço a minha família, que sempre me apoiou em absolutamente tudo que me proponho a fazer. A meus pais **Fernanda Alves** e **Edson Leal** que são tudo para mim! Espero um dia ter o prazer de retribuir tudo o que já fizeram e ainda fazem por mim. Aos meus irmãos mais velhos **Edson Junior** e **Luciana Alves** que me incentivam sempre e me dão exemplo desde pequena sobre o que é lutar com dignidade e honestidade para vencer na vida. Embora muitas vezes não fale, mas morro de orgulho dos dois! A minha avó, meu anjinho **Maria Alves** que não está mais presente em vida, mas que tenho certeza que está vibrando de felicidade por mim lá no céu, o seu amor ainda é vivo em mim.

A meu noivo **Thiago Santos** e minha benção de Deus, todo meu agradecimento pela paciência, companhia nas inúmeras idas e vindas a Vitória e por toda parceria na vida! Nossa relação de amor e cumplicidade é alimentada todos os dias, de tal forma que mesmo se eu não soubesse o que era o amor, eu possivelmente desconfiaria só por viver e sentir o que eu sinto por você. Não canso de dizer, que sorte a minha! Obrigado por ser mais por mim, do que eu mesma.

A minha orientadora **Profa. Dra. Raquel Aragão**, sem dúvidas uma das mulheres mais inteligentes e profissionais que conheci. Obrigado pelo crescimento acadêmico proporcionado, pela paciência comigo, pelos conselhos e pela disponibilidade de estar sempre presente me ajudando em tudo. Não teria conseguido sem ter sua orientação. Palavras me faltam para lhe agradecer!

Ao **corpo docente** da nossa Pós graduação a quem tanto admiramos e que nos acompanhou durante o mestrado. Em especial a nossa coordenadora **Prof. Dra. Carol Leandro** que foi e continua sendo uma das minhas referências acadêmicas, uma fonte de inspiração. Obrigada pelas oportunidades criadas e pelo apoio demonstrado de sempre.

Agradeço a minha turma de mestrado maravilhosa! Escolhida a dedo para mim! A nossa união me fortaleceu em vários momentos, a companhia de vocês foi crucial durante esses dois anos. **Sávio Barbosa, Debora Alves, Talitta Ricarly, Aiany Simões,**

Reginaldo Correia, Gabriela Góes, vocês são pessoas especiais e eu só tenho a agradecer por ter ganhado essa nossa amizade.

Agradeço meus colegas de trabalho que me acolheram como ninguém **Alan Lira, Carolina Cadete, Erika Cadena e Thaynan Oliveira** e em especial os meus estagiários **Guilherme Chagas e Ermínio Neto** que embarcaram comigo em diversos desafios da pesquisa e não me abandonaram. Esse mestrado com certeza não seria possível sem ajuda de vocês!

Agradeço aos meus **amigos da vida e caminhada**, da igreja, de infância e os da faculdade, que entenderam minhas ausências, que sempre me apoiam e me incentivam a crescer, pois acreditam em mim. Sou só metade sem vocês, amo cada um!

Agradeço as minhas doutorandas lindas **Jessica Fragoso e Tercya Araújo!** A Jéssica por ser uma pessoa incrível e iluminada que simplesmente me ensinou tudo o que sabia sem pensar duas vezes e nem sequer me conhecia! Simplesmente me adotou na pesquisa e aguentou por muitas vezes meus apereios (kkkkkk), agradeço demais por tudo! Minha torcida por você será eterna! A Tercya por me proporcionar doses diárias de maturidade e perseverança com seus exemplos de força de vontade. Aprendi muito no dia a dia do CAV depois que nos aproximamos, além disso você tem um senso de humor contagiante, tudo se tornou mais leve com nossas crises de riso diárias! Agradeço muito tudo o que fizeram por mim neste período, vocês enriqueceram muito minha vida, uma verdadeira conquista conhecer vocês! Muito obrigada!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”

(Marthin Luter King)

RESUMO

Objetivou-se avaliar parâmetros comportamentais, metabólicos e de desempenho em testes físicos da prole cujas mães foram submetidas a atividade física voluntária (AFV) perinatal. Foram utilizadas 14 ratas albinas da linhagem *Wistar*, alocadas em gaiolas de atividade física voluntária (GAFV) dispondo de uma roda de corrida, durante três períodos: adaptação (30 dias), gestação e lactação. Para avaliar a atividade física voluntária foram utilizadas grandezas físicas: Distância percorrida (km), tempo percorrido (min) e estimativa de gasto calórico (km.s^{-1}), avaliadas por todo período de adaptação. Após este período foram formados dois grupos experimentais de acordo com o nível de atividade física: Muito Ativo (MA=6) e Inativo (IN=8). Durante todo o experimento as ratas receberam as dietas AIN-93 M e G de acordo com o ciclo da vida. Nas ratas, foram determinados peso corporal, ganho de peso e consumo alimentar durante gestação e lactação, e peso da gordura visceral e perfil bioquímico do soro ao desmame. Nos filhotes, foi acompanhado peso corporal e comprimento naso-anal até 70º dia pós-natal. Foi realizado testes máximos de resistência aeróbia e muscular aos 60 dias de vida, teste de ansiedade em labirinto elevado em cruz (LEC) aos 61 dias, e testes de tolerância a glicose e insulina (GTT e ITT) aos 62 e 65 dias, respectivamente. Ao sacrifício, 22 ou 70 dias, foi pesado a gordura visceral, avaliado o peso de gordura relativo ao peso corporal e coletado soro para verificação do perfil bioquímico dos animais. As mães muito ativas tiveram maior distância percorrida, tempo de atividade e maior gasto calórico no período de adaptação. As ratas muito ativas consumiram mais ração, foram mais pesadas ao final da gestação e tiveram menor concentração de glicemia ao desmame. Os filhotes de mães muito ativas entraram maior número de vezes nos dois braços do LEC, passaram maior tempo nos braços abertos, menor tempo no centro do labirinto, maior tempo em inclinação da cabeça para baixo e apresentaram maior frequência de exploração vertical. Além disso, a prole muito ativa apresentou melhor performance no carregamento de cargas no teste de sobrecarga máxima. Não houve diferença no teste máximo em esteira, assim como não houve diferença nos testes de tolerância à glicose e insulina. Ao sacrifício, aos 70 dias, a prole muito ativa apresentou menor peso de gordura comparado aos inativos. Concluímos que, a AFV materna aumenta a resistência muscular e diminui comportamento ansioso no LEC da prole adolescente. Desta forma, pode-se considerar que a atividade física voluntária materna durante a gestação gera repercussões no comportamento e nas capacidades físicas da prole no final da adolescência.

Palavras-chave: Atividade física voluntária materna. Ansiedade. Testes físicos. Parâmetros metabólicos.

ABSTRACT

The main goals of this study were to evaluate the effects of voluntary physical activity during pregnancy/lactation on behavioral, metabolic and physical fitness parameters of offsprings whose mothers were submitted to perinatal voluntary physical activity (AFV). Fourteen female Wistar albino rats were used in a volunteer physical activity cage (GAFV) with a running wheel for three periods: adaptation (30 days), gestation and lactation. Voluntary physical activity was ranked by distance traveled (km), time traveled (min) and estimated caloric burned (km.s^{-1}). After this period two experimental groups were formed according to the level of physical activity: Very Active (VA = 6) and Inactive (IN = 8). Mothers received diet AIN-93 M e G according to the period of life. Dam's body weight, body weight gain, food consumption, visceral fat mass and biochemical profile at weaning were evaluated. Pups somatic growth was evaluated from birth to 70th day of life. Maximal treadmill and maximum overload test were performed at 60th day. Anxiety-behavior at elevated plus maze (EPM) was evaluated at 61st day. Glucose (GTT) and insulin (ITT) tolerance test were performed at 62nd and 65th day, respectively. In the sacrifice, 22nd or 70th day of life, visceral fat and body weight were evaluated. Trunk blood was collected and centrifuged for biochemical profile analyze. Very active mothers showed a progressive increase in running distance, time of activity and estimated calorie burned. In additional, VA dams had higher food intake during adaptation, lower body weight and glycaemia at weaning. At elevated plus maze, VA offspring showed increased number of entries in both arms, time spent in open arms and time in head dipping and frequency of rearing. VA pups carried higher overload and had higher number of climbs in overload test. VA pups had showed no difference in somatic development. No difference was observed in treadmill test or GTT and ITT. In summary, maternal physical activity enhances carrying overload capacity and decreases anxiety-related behavior at EPM in offspring at late adolescence.

Key-words: Voluntary physical activity. Anxiety. Physical capacity. Metabolic profile.

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	10
2 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS	17
3 HIPÓTESE	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
5 RESULTADOS	28
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
REFERÊNCIAS	64
ANEXO	69

1 APRESENTAÇÃO

Estudos demonstram que o início da vida (gestação, lactação e primeiro ano de vida) é um período crítico para o desenvolvimento do organismo, pois este é vulnerável a sofrer alterações quando submetidos a estímulos ambientais diversos, tais como, álcool, fumo, nutrição e atividade física (DOBBING, 1964; GLUCKMAN; HANSON et al., 2008). Alterações morfológicas, funcionais e comportamentais são suscetíveis a acontecer, quando há submissão de algum desses estímulos ambientais durante o período crítico (COSTELLO et al., 2008; MARCOLIN et al., 2012; WALTON et al., 2015). Essas alterações desempenham papel importante na etiologia de doenças crônicas como, resistência à insulina, diabetes tipo II, obesidade, hipertensão, doenças cardiovasculares e neuropatologias (BARKER et al., 1990, 1989; HALES; BARKER, 1992; COTMAN; BERCHTOLD; CHRISTIE, 2007).

Estudos epidemiológicos levantaram a hipótese de que influências no período pré e pós natal são relevantes para o desenvolvimento de um organismo saudável ou para o aparecimento de doenças futuras (BARKER, 2007). O cenário da Fome Holandesa vivida no fim da II Guerra Mundial evidenciou, em humanos, essas possíveis repercussões (RAVELLI; STEIN; SUSSER, 1976). A restrição alimentar materna causada pela Fome Holandesa resultou no desenvolvimento de quadros de obesidade na adolescência de seus descendentes (RAVELLI; STEIN; SUSSER, 1976). Outro estudo demonstrou que crianças que nasceram com baixo peso devido a desnutrição materna possuíam predisposição biológica em desenvolver doenças crônicas como hipertensão, diabetes tipo 2 (RAVELLI et al, 1998) e doenças coronarianas (ERIKSSON et al, 1999).

Tendo conhecimento dessas predisposições, fundamentou-se a teoria da “Origem desenvolvimentista da saúde e da doença” (DOHaD) a qual considera que estímulos ambientais precoces influenciam tanto no aumento do risco de desenvolver doenças na vida adulta como na promoção à saúde ao longo da vida (HALES E BARKER, 2007; MATHERS, 2007). Estímulos ambientais, como a nutrição, em períodos vulneráveis podem alterar a expressão gênica influenciando na saúde do indivíduo na vida adulta (MATHERS, 2007). Sabe-se que, crianças que recebem aleitamento materno na infância podem desenvolver proteção fisiológica ao longo da vida, além de serem mais propícias a ter melhor perfil lipídico plasmático (SIMON et al., 2009). Por isso estudos salientam que a manutenção da saúde e bem estar na

infância é considerado um fator importantíssimo para a diminuição ou proteção contra desenvolvimento de doenças futuras (BAROUKI et al., 2012; DEBOER et al., 2013).

A capacidade de um mesmo genótipo (genes do indivíduo) gerar diversos fenótipos (características do indivíduo) após ter sido exposto a influência de estímulos ambientais no início da vida é denominada de “plasticidade fenotípica” (WEST-EBERHARD, 1989). É a plasticidade que permite ao organismo garantir adaptação no seu momento de formação e diferenciação (WEST-EBERHARD, 1989). Ela tem características ativas e adaptativas porque está susceptível à influência do ambiente (variação do fenótipo) e dos genes (genoma individual) (WEST-EBERHARD, 2005). As variações diante das condições ambientais impõem processos adaptativos que se desenvolvem para garantir a sobrevivência, ciclo reprodutivo e longevidade do organismo (WEST-EBERHARD, 2005).

A plasticidade fenotípica pode ser explicada através da observação do desenvolvimento dos animais. Em insetos, na sociedade de abelhas, por exemplo, é possível identificar a plasticidade através da diferenciação e classificação entre abelhas operárias e abelha rainha (BARCHUK et al, 2007). A rainha pelo fato de se alimentar apenas de geleia real, desde o início de vida, desenvolve maior expressão de genes relacionados ao ganho de peso e desenvolvimento do sistema reprodutor (BARCHUK et al, 2007). Enquanto que as abelhas operárias desenvolvem os genes relacionados a memorização, coleta de pólen e própolis assim como possuem capacidade reprodutiva reduzida (BARCHUK et al, 2007).

Da mesma forma, é possível observar em espécies como as *Drosophilas*, as quais apresentam alterações em suas características, como comprimento e largura da asa, de acordo com o fator ambiental que é influenciada (FANARA; WERENKRAUT, 2016). Este fenômeno também foi reconhecido na evolução humana, tomando como exemplo o *Homo Erectus* que desenvolveu maiores variações anatômicas (mandíbula e dentes menores, crânio maior) regionais, sugerindo nível elevado de plasticidade de desenvolvimento comparado a espécies anteriores como o *Australopitechus* (TABOADA et al., 2016).

A compreensão dos mecanismos que permitem a plasticidade podem ser entendidos através do conhecimento da epigenética. Esta ciência da área de biologia molecular pode otimizar o entendimento de como essas mudanças ambientais possuem efeito em nossas vidas, de modo a propor o risco do aparecimento de doenças no futuro (DOS SANTOS et al, 2015). Modulações epigenéticas controlam a transcrição e

fenótipos das células através de vias moleculares como a metilação de DNA, a não codificação ou a não expressão de RNA e a modificação de histonas (GUERRERO-BOSAGNA; SKINNER, 2013). Estas modulações permitem que o organismo se adapte a alterações ambientais de modo a sobreviver e se reproduzir (GUERRERO-BOSAGNA; SKINNER, 2013).

A metilação de DNA consiste na adição do grupo metil na posição 5' da citosina promovendo mudança no N terminal de histonas. Essas, por sua vez, encaminham uma cascata para silenciar ou inibir a expressão gênica (RASMUSSEN; ZIERATH; BARROS, 2014). As histonas são em número de quatro: H2A, H2B, H3 e H4 e se encontram no núcleo do DNA (SANTOS; TEWARI; BENITE-RIBEIRO, 2014) podem sofrer modificações como acetilação, metilação e fosforilação na região N terminal. Essas modificações irão alterar estrutura da cromatina do DNA estimulando ou inibindo a transcrição (BUNKAR et al, 2016).

Esses processos epigenéticos são influenciados por moduladores (nutrição, ambiente, atividade física) que promovem mudanças no período inicial da vida, as quais repercutem até a idade adulta (SANTOS; TEWARI; BENITE-RIBEIRO, 2014; BUNKAR et al, 2016). Em estudo com ratas gestantes, foi identificado que a oferta de dieta hipoproteica induziu mudanças na expressão gênica na prole, mais especificamente na expressão de genes no fígado (LILLYCROP et al., 2005). Em outro exemplo, a insuficiência útero placentária induziu a regulação epigenética provocando a metilação do gene renal p53, que está associado com a redução de número de néfrons, gerando o risco de desenvolvimento da hipertensão na vida adulta (WOODS et al., 2001; PHAM et al., 2003).

Contudo, certas influências moduladoras como a prática de exercícios físicos podem promover ajustes na expressão gênica trazendo diversos benefícios à saúde. Os exercícios de resistência induzem mudanças da metilação de DNA, na estrutura da histona e na dinâmica de produção de mRNA de proteínas musculares, o que favorece a melhoria da capacidade da absorção de glicose no músculo (MCGEE et al., 2009; DAVIDSEN et al., 2011). O termo exercício físico refere-se a uma atividade física realizada sistematicamente, que pode ser classificada. A atividade física, por sua vez, é qualquer movimento do músculo esquelético que demande gasto energético acima do metabolismo basal (CASPERSEN; CHRISTENSON, 1985). Por fim, treinamento físico é o exercício físico realizado regularmente com um determinado objetivo (CASPERSEN; CHRISTENSON, 1985).

Em humanos, foi verificado efeito moderado dos exercícios físicos com o melhoramento os níveis de insulina e sua responsividade em crianças e adolescentes (FEDEWA et al, 2014). Em adolescentes, a prática de exercícios físicos aeróbios promoveu maior sensibilidade à insulina e consequentemente maior controle dos níveis de glicemia no organismo dos indivíduos ativos (SUH et al., 2011). Estudo com trezentos pacientes portadores de diabetes mellitus, com idade entre 30 e 60 anos, observou melhorias da homeostase de glicose e diminuição de riscos de doenças cardiovasculares devido à prática de exercícios aeróbios e de resistência (SANGHANI et al, 2013).

O exercício físico aeróbio se apresentou eficaz em proporcionar efeito protetor contra o comportamento de estresse através de mudanças fisiológicas neurais (VOLLERT et al, 2011). Exercícios realizados por animais em esteira, por quatro semanas consecutivas, gerou diminuição dos efeitos de ansiedade os quais foram induzidos por submissão a estresse por privação de sono (VOLLERT et al, 2011). Ademais, o exercício provoca o aumento da neurogênese no giro denteado em animais adultos, sendo esta, por sua vez, associada a efeitos positivos de diminuição de comportamentos ansiogênicos e depressivos (VAN PRAAG; KEMPERMANN; GAGE, 2000). A neurogênese, portanto, pode ser funcionalmente importante para ações ansiolíticas (TREJO; LLORENS-MARTÍN; TORRES-ALEMÁN, 2008). Evidências científicas demonstram que após realização do exercício físico ocorre o aumento da concentração do fator neurotrófico cerebral BDNF (*Fator neurotrófico derivado do cérebro*) em campos específicos do córtex pré-frontal (AKSU et al, 2012).

Em estudo com humanos, foi demonstrado que os treinos aeróbios intensos reduzem a sensibilidade à ansiedade quando comparados a indivíduos que praticam treinos de baixa intensidade, mesmo sendo pelo mesmo período de tempo (BROMAN-FULKS et al, 2004). Em animais, LIU et al. (2013) identificaram, após a realização de 40 dias de corrida voluntária, a proliferação celular no hipocampo, aumentando a neurogênese desses animais. Resultados semelhantes foram encontrados em estudo com camundongos, onde o livre acesso a rodas de corrida diminuiu comportamentos de ansiedade quando comparados a camundongos sedentários (DUMAN et al., 2007).

A melhoria da capacidade física é um dos efeitos que também pode ser verificado com a realização de exercícios físicos, sendo aeróbio ou de força (ANDERSEN et al., 2005; ANTONIO-SANTOS et al., 2016). Em humanos foi verificado que treinamento aeróbio possibilita a maior velocidade de movimento e

potência dos músculos extensores do joelho de quem realiza este tipo de exercício (ANDERSEN et al., 2005). Em animais, treinamento de resistência com levantamento de carga por 8 semanas (5 dias por semana) gerou o aumento das fibras do tipo IIB no músculo EDL dos animais treinados resultando em maior capacidade de carregamento (ANTONIO-SANTOS et al., 2016). Treinamento aeróbio moderado (5 dias/semana, 60 min/dia) em esteira realizado por ratas gestantes foi capaz de aumentar a predominância de fibras tipo II a nos músculos sóleo e EDL da prole (LEANDRO et al., 2012a). Compreende-se, portanto que este estímulo ambiental externo, o exercício físico, é capaz de gerar alterações a nível muscular, comportamental e metabólico (VOLLERT et al., 2011; SANGHANI et al., 2013; ANTONIO-SANTOS et al., 2016).

Os exercícios físicos realizados por mães durante o período gestacional podem otimizar a relação feto-placentária de modo que a sua prática, quando realizada durante a gestação, permite melhor oxigenação da placenta propiciando melhor crescimento do fetal (CLAPP, J.F., 2003). A manutenção de controle de glicose e insulina são otimizadas após sessão de exercícios, quando estes são realizado ao final da gestação (CLAPP; CAPELESS, 1991). O exercício físico materno em animais, parece minimizar o risco de aparecimento de doenças como diabetes tipo 2 nos filhotes (SHEPHERD; KAHN, 1999). A restrição de crescimento intrauterino (RCIU), em animais, é conhecida por causar a diminuição da disposição de glicose no organismo e também da sensibilidade a insulina em proles maduras (BARCHUK et al., 2007). Ratos que foram submetidos a RCIU por ligação uterina bilateral e que realizaram exercícios físicos aeróbios (5 dias/semana por quatro semanas) na adolescência e na idade adulta apresentaram recuperação de massa celular β pancreática de modo a normalizar a secreção de insulina (LAKER et al., 2011).

Exercícios físicos aeróbios (4 semanas consecutivas, 5 dias por semana, 60 min/dia e 65% de VO_{2max}), antes e durante a gestação, foram capazes de atenuar nos filhotes os efeitos da desnutrição proteica na secreção de insulina, além de normalizar os níveis de glicemia das ratas, sugerindo potencial efeito de compensação a resistência à insulina, prevenindo também o risco de diabetes mellitus (FALCÃO-TEBAS et al., 2012; FIDALGO et al., 2012). Estes exercícios maternos também podem reverter possíveis distúrbios neuropsiquiátricos da prole causados por separação materna (UYSAL et al., 2011). Exercícios aeróbios maternos podem desencadear influências na prole, visto que, foi identificado maior concentração de BDNF e consequente

diminuição de níveis de ansiedade na prole provenientes de mães muito ativas (KIM et al., 2007;AKSU et al., 2012).

Os efeitos do treinamento materno podem variar de acordo com o período em que esse estímulo é aplicado (começo, final ou durante toda a gestação), intensidade (leve, moderado ou intenso) e tipo de exercício (anaeróbico, aeróbico ou combinado) (ROSA et al., 2011). Ademais, o exercício realizado contra a vontade do executante pode causar estresse nos animais, podendo ser um importante fator de confusão na interpretação dos resultados (CONTARTEZE et al., 2008). A prática de exercícios como a natação é um exemplo de treinamento vastamente criticado, pois alguns autores consideram o nado estressante para o animal por refletir a ação de busca de sobrevivência do mesmo e não o seu esforço físico (GOBATTO et al., 2001). Por isso, se faz necessário, a utilização de modelos de atividade física que não causem estresse nos animais (ROSA et al., 2011).

Recentemente, pesquisadores têm estudado o efeito do atividade voluntária materna e suas possíveis repercussões no feto (ROSA et al., 2011; CARTER et al., 2012; SANTANA MUNIZ et al., 2014). Estudos realizados com modelo animal, demonstraram que a atividade física voluntária materna pode causar melhoria na sensibilidade à insulina no músculo esquelético e tecido adiposo da prole na vida adulta, assim como também na homeostase da glicose desses filhotes em relação aos das mães sedentárias (CARTER et al., 2013). Foi verificado o efeito desta atividade realizada através de rodas de corrida durante a gestação e lactação, sendo as mães submetidas a dieta normoproteica e sua prole sem acesso a utilização da roda (CARTER et al., 2012). Os resultados deste estudo, demonstraram a maior sensibilidade à glicose no músculo sóleo e no tecido adiposo dos filhotes de mães muito ativas comparado aos de mães inativas (CARTER et al., 2012).

Este tipo de atividade, mesmo quando realizada por mães obesas, promove a recuperação da homeostase de glicose no plasma de seus filhotes (RAIPURIA; BAHARI; MORRIS, 2015). A obesidade materna induz a redução de RNA mensageiro promovendo a desregulação do transportador GLUT 4 no músculo, contudo com a realização de exercícios voluntários durante a gestação, este quadro de redução pôde ser revertido (RAIPURIA; BAHARI; MORRIS, 2015).

Desta forma, é possível entender o quão importante é o ambiente materno para a saúde do feto (LEANDRO et al., 2012b; POLLACK; DIVON, 1992). Nesta perspectiva, se desenvolveu a seguinte pesquisa a qual relaciona a atividade física voluntária

materna com os seus possíveis efeitos no comportamento, na homeostase da glicose e no desempenho em testes físicos da prole.

2 OBJETIVOS

GERAL

Avaliar o efeito, na prole, da atividade física voluntária materna sobre parâmetros metabólicos, comportamentais e de desempenho em testes físicos em ratos jovens.

ESPECÍFICOS

Nas mães

- Caracterizar as ratas quanto ao nível de atividade física voluntária avaliando diariamente a distância percorrida, gasto calórico e tempo de atividade física durante o período de pré-gestacional, gestacional e lactacional;
- Realizar as avaliações somáticas das ratas;
- Realizar avaliação do perfil bioquímico das ratas;

Nos filhotes

Avaliar, na prole, as repercussões da atividade física voluntária materna sobre:

- o crescimento somático;
- o desempenho em testes físicos aeróbio e de força
- o comportamento de ansiedade;
- a resposta glicêmica;
- o perfil bioquímico sanguíneo;

3 HIPÓTESE

A prática da atividade física voluntária materna promove uma melhor captação de glicose, diminui comportamentos de ansiedade, aumenta a resistência muscular e aeróbia da prole adolescente, assim como otimiza o perfil bioquímico da prole e traz melhorias no crescimento somático da mesma.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Animais e dieta experimental

Foram utilizadas 14 ratas albinas da linhagem *Wistar* (peso corporal entre 220 e 260g, idade entre 85-95 dias) provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da UFPE (BENTO-SANTOS et al., 2012). Os animais foram mantidos em biotério de experimentação com temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ com controle de iluminação em ciclo claro-escuro de 8:00 às 20:00. O manejo e os cuidados para com os animais seguiram as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPE (protocolo 23076.016575/2014-70).

As ratas nulíparas tiveram acesso a alimentação de acordo com o seu período de vida: AIN-93M durante a adaptação e AIN-93G durante a gestação e lactação (REEVES; SUPPL, 1997). No primeiro momento, as ratas utilizaram gaiolas de atividade física voluntária (GAFV) dispondo de uma roda de corrida de aço inoxidável para que as mesmas praticassem atividade física livremente no período de quatro semanas durante a adaptação. Posteriormente, as ratas foram colocadas em gaiola padrão de biotério para acasalamento e após a presença de espermatozoide na cavidade vaginal, foram recolocadas individualmente nas GAFV. Após o parto, a ninhada foi ajustada para oito filhotes, sendo o máximo de filhotes machos. Os animais supranumerários foram sacrificados por decapitação. Dois filhotes machos de cada ninhada foram escolhidos aleatoriamente para cada avaliação. A partir do desmame no 22º dia, os filhotes passaram a receber dieta padrão de biotério - Presence (Purina do Brasil) até o fim do experimento.

Quadro 1 - Composição da dieta AIN-93M e AIN-93G fornecida as ratas durante os períodos de adaptação, gestação e lactação.

INGREDIENTES (g)	AIN-93M	AIN-93G
Amido de Milho (87% carboidratos)	465,9	397,49
Caseína (proteína 85%)	140,0	200,0
Amido Dextrinizado (92% Tetrassacarídeos)	155,0	132,0
Sacarose	100,0	100,0
Óleo de Soja	40,0	70,0
Fibras	50,0	50,0
Mix Mineral (AIN-93M)	35,0	-
Mix Mineral (AIN-93G)	-	35,0
Mix de Vitaminas (AIN-95)	10,0	10,0
L- Metionina	1,8	3,0
Bitartato de Colina	2,5	2,5
Tert-butylhydroquinone (TBHQ)	0,008	0,014
SOMA (g)	1000,0	1000,0

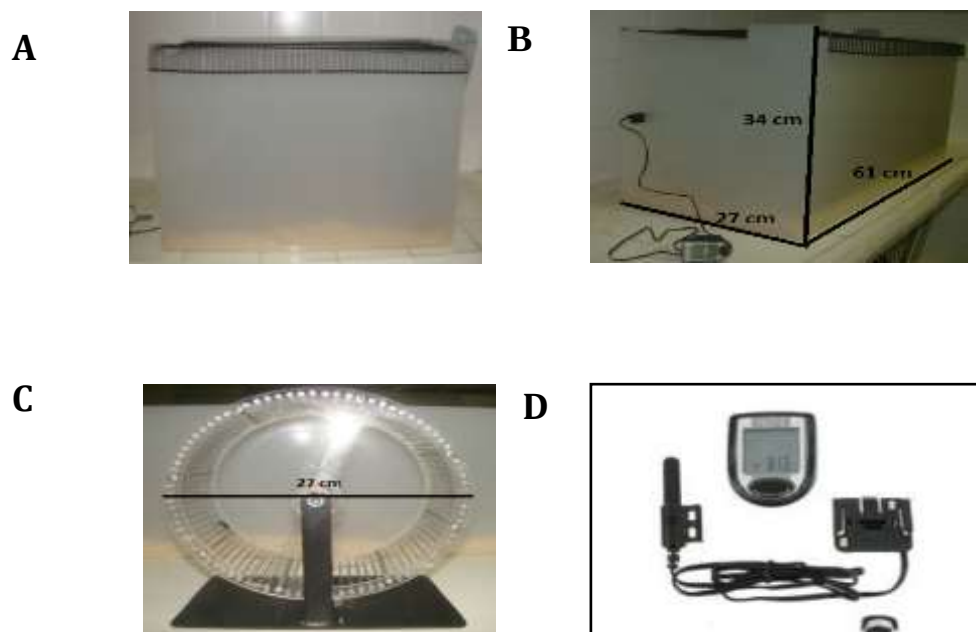
Fonte: (REEVES, 1997)

Protocolo de atividade física voluntária

A gaiola de atividade física voluntária (GAFV) é feita de acrílico, possui as seguintes dimensões: 27 cm de largura, 34 cm de altura e 61 cm de comprimento (Figura 1A e B). Foi posicionado em uma das extremidades um cicloergômetro com 27 cm, composto por acrílico e raios em aço inoxidável (Figura 1C), acoplado a um sistema de monitoramento por sensor (ciclocomputador Cataye, model CCVL810, Osaka, Japan).

A atividade física das ratas foi avaliada pela movimentação do cicloergômetro, sendo quantificado diariamente através dos sensores que registram: Distância percorrida (Km), estimativa do gasto calórico (Km/s) e tempo de atividade (minutos). As ratas foram classificadas, após o período de adaptação, em dois grupos de acordo com o nível de atividade física diário (Grupo Inativo (IN): n=8; Grupo Muito Ativo (MA): n=6) (Tabela 2) (SANTANA MUNIZ et al., 2014). Não foi encontrado nenhuma rata com perfil de atividade ativo.

Figura 1- Ilustração da gaiola de atividade física voluntária e suas dimensões (A e B). Cicloergômetro e ciclocomputador utilizados na GAFV (C e D).



Fonte: (FRAGOSO, 2015)

Quadro 2 - Classificação dos grupos experimentais de acordo com a atividade física percorrida (tempo, distância e gasto calórico).

Grupos Experimentais	n	Distância percorrida (Km/dia)	Gasto Calórico (Km.s⁻¹.)	Tempo (min/dia)
Inativo	8	<1.0	<10.0	<20.0
Ativo	0	>1.0 < 5.0	>10,0 < 40.0	> 20,0<120.0
Muito Ativo	6	>5.0	>40.0	>120.0

Fonte: (SANTANA MUNIZ et al., 2014).

Avaliação da evolução ponderal das ratas

A aferição do peso corporal foi realizada a cada três dias, desde o período de adaptação até o fim período de lactação. A aferição no período de gestação foi iniciado após o diagnóstico de prenhes. O horário estabelecido para esta avaliação foi às 8:00h, foi utilizada uma balança eletrônica digital (Balança semi analítica BEL, capacidade 5200, resolução 0,1g). A análise de ganho de peso foi realizada através da aplicação da fórmula abaixo:

$$\%GP = [\text{Peso do dia (g)} \times 100 / \text{Peso do 1}^{\text{a}} \text{ dia (g)}] - 100$$

Fonte: (BAYOL et al., 2004)

Avaliação do consumo alimentar das ratas

O consumo alimentar das ratas foi mensurado a cada três dias, sendo calculado pela diferença entre a quantidade de ração ofertada e a sobra da ração obtida neste intervalo. O consumo alimentar foi avaliado entre 8:00h da manhã, foi utilizada a mesma balança eletrônica digital da aferição do peso corporal. Aplicou-se a seguinte fórmula:

$\text{Consumo alimentar} = \text{Peso da ração ofertada (g)} - \text{Peso da ração restante (g)}$
--

Fonte: (LOPES DE SOUZA, et al 2008)

Sacrifício das ratas

As ratas foram sacrificadas no dia seguinte do desmame dos filhotes. No dia do sacrifício foram colocadas de jejum por 6 horas, sendo sacrificadas por decapitação com guilhotina às 16:00h. Amostras de sangue do tronco foram coletadas em tubos BD Vacutainer® com ativador de soro. As amostras foram misturadas por inversão e colocadas em gelo, por 30 minutos. Em seguida, foram centrifugadas durante 20 minutos, 4°C, 3500g. O soro foi recuperado e guardado à -80°C até análise. A gordura visceral das ratas foi coletada e pesada.

Avaliações somáticas nos filhotes

O peso corporal e o comprimento corporal dos animais foram avaliados através de uma balança eletrônica digital e com régua milimetrada, respectivamente. As avaliações ocorreram do 1º ao 21º dia de vida, a cada três dias. Aos 30, 45 e 60 dias peso. Foi realizado o cálculo de ganho de peso dos filhotes na lactação e pós-lactação com as mesmas idades da pesagem.

Testes Físicos

Foram realizados 2 tipos de testes máximos para avaliação de duas capacidades físicas: teste máximo em esteira e teste de sobrecarga máxima. Para os testes máximos, foram escolhidos aleatoriamente um animal de cada prole, que realizava apenas um dos

teste. Aos 55 dias de vida iniciava o período de adaptação aos testes por 5 dias consecutivos. No 60º dia, foram realizados os testes máximos.

As adaptações e os testes máximos ocorreram sempre na mesma sala de experimentação (dentro do biotério de experimentação) e 4 horas após a virada do ciclo claro para o ciclo escuro (11:00 horas). As manipulações sempre foram realizadas pelo mesmo avaliador.

Teste máximo em esteira

No teste máximo em esteira, foi utilizada uma esteira digital automática de marca Insight (Figura 2), dotada de 6 baias com grade de aço inoxidável na extremidade de fundo do tapete rolante, a fim de estimular a corrida do animal através de choques nas patas traseiras. Foi escolhida uma única baia de número 2 para fazer todos as adaptações e testes. A esteira era manipulada pelo avaliador através de uma alavanca manual de velocidade, a qual variava entre 0,0 e 3,0 Km/h. Além disto, o aparato também possuía um monitor digital que foi utilizado para cronometrar o tempo de duração e a distância percorrida pelo animal. A esteira sempre foi utilizada na inclinação 0º (Figura 2).

Figura 2- Visão diagonal do aparato de teste máximo em esteira.



Nota: Possui 6 baias individuais com altura de 180 mm, largura interna 97 mm, comprimento de 385 mm.

Fonte: SCIENLABOR. Disponível em: < <http://www.scienlabor.com.br/produtos/detalhes/1188/esteira-motorizada-para-camundongos-com-10-baias.html>>. Acesso em: 10 de fev. 2017. 10:30.

Antes do teste, foi padronizado um período de adaptação ao aparato, durante 5 dias consecutivos, onde todos os dias era realizado o mesmo protocolo. O tempo diário de adaptação era de 20 minutos, divididos em quatro estágios de 5 minutos. No primeiro

estágio, o animal correu na velocidade de 0,3 km/h, no segundo em 0,4 km/h, no terceiro em 0,5 km/h, e no ultimo é retomada a velocidade inicial (LEANDRO et al., 2007). Desde a adaptação, foi dado na cauda um estímulo elétrico de leve intensidade, sendo utilizado sempre que o animal parava de correr.

Para o teste de capacidade aeróbia máxima foi utilizado o protocolo descrito por LEANDRO et al, (2007). Os animais foram colocados na esteira automática com inclinação 0°, com velocidade inicial de 0,3 Km/h. A cada 3 minutos a velocidade aumentava em 0,3 Km/h. O teste terminou quando o animal foi incapaz de manter a velocidade de corrida, não conseguindo mover mais nenhuma pata e, consequentemente, não respondendo mais o estímulo de choque. Foi registrado o tempo total de teste, a velocidade do estágio atingido e a distância percorrida.

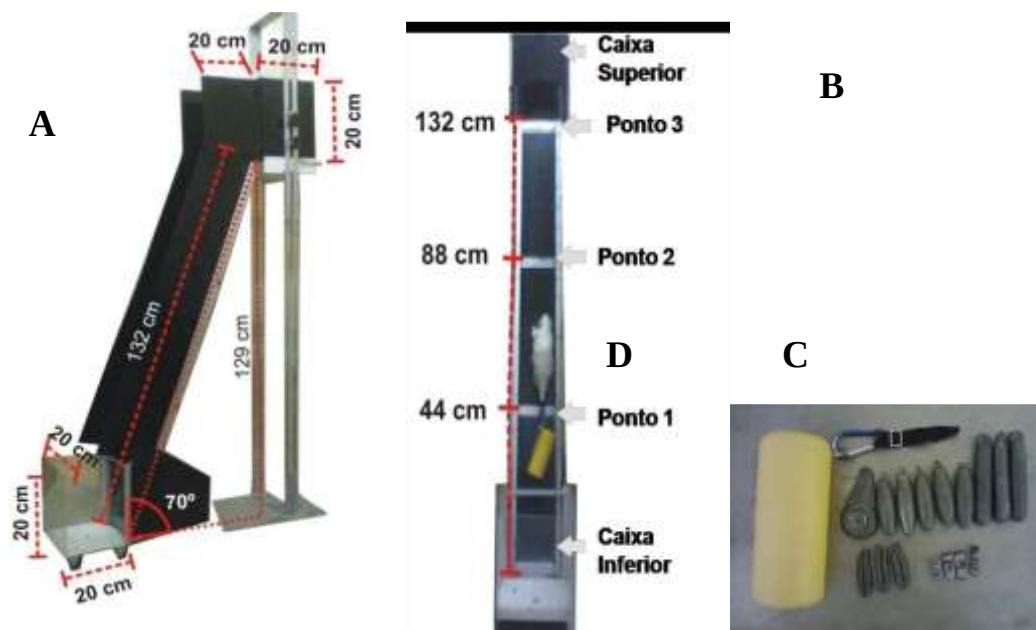
Teste de sobrecarga máxima

Foi utilizado um aparato de carregamento de sobrecarga (escada) descrito por ANTONIO-SANTOS, et al (2016). Este consistia de uma escada, com 132 cm e 87 degraus metálicos. A angulação do aparato é regulável e foi mantida em 70° entre a base da escada e o solo (Figura 3A). Foi utilizado um suporte para fixar a carga na cauda do rato que consistia em uma fita para fixação (formada por uma fita semi-elástica com uma presilha na ponta) e um recipiente cilíndrico onde as cargas eram colocadas (Figura 3B). A fita para fixação foi cuidadosamente fixada na porção proximal da cauda com esparadrapo. O estímulo usado para os ratos subirem a escada foi um leve toque com a ponta dos dedos na região dorsal do animal entre as patas posteriores.

A adaptação ao aparato foi realizada durante cinco dias. No primeiro dia o animal foi inicialmente colocado na caixa inferior, em seguida colocado no ponto 1 (44 cm da base) durante 30 segundos. A seguir, colocado no ponto 2 (88 cm da base), depois colocado no ponto 3 localizado no topo do aparato. Por mais sete vezes, no mesmo dia, o animal era colocado no ponto 1 e podia mover-se livremente no aparato. No segundo e terceiro dia, os animais foram colocados para realizar as 10 subidas a partir do ponto 1. No 4º dia de adaptação, os animais foram colocados no ponto 1, executando 10 subidas com o recipiente de carga vazio fixado na parte proximal da cauda. No último dia de adaptação os animais foram induzidos a subir 10 vezes na escada, a partir do ponto 1, com uma sobrecarga de 10% do peso corporal no recipiente de carga, como proposto por (ANTONIO-SANTOS, 2016).

No dia do teste máximo propriamente dito, os animais foram posicionados no ponto 1 (Figura 3B), subiram toda a escada até a caixa superior. Os ratos subiram inicialmente com uma sobrecarga de 75% do seu peso corporal (HORNBERGER e FARRAR, 2004). Foi considerada uma subida com sucesso, quando esta era realizada em um tempo menor que 40 segundos, sem que o rato soltasse a escada. Caso acontecesse o contrário, a subida era considerada falha. A cada subida bem sucedida foi adicionado 10% do peso corporal na carga, e após três falhas consecutivas foi considerada a carga máxima do animal. Foi registrado o número de subidas e a carga máxima carregada pelo animal.

Figura 3 – Aparato para teste de sobrecarga máxima.



Fonte: (ANTONIO-SANTOS,2016)

(A) Visão lateral do aparato de treinamento (uma escada com altura: 129cm; largura: 20cm; comprimento: 132cm; com 87 degraus e 1 cm entre os degraus). **(B)** Visão frontal do aparato de treinamento, descrição dos pontos onde o rato era colocado (caixa inferior transparente, ponto 1 a 44 cm da base, ponto 2 a 88 cm da base, ponto 3 a 132cm da base e caixa superior escura). **(C)** O suporte para fixação de carga consistiu de uma fita para fixação (formada por uma fita semi-elástica com uma presilha na ponta) e um recipiente onde as cargas eram colocadas. A fita era cuidadosamente fixada na porção proximal da cauda dos ratos com esparadrapo. **(D)** Rato subindo a escada com sobrecarga fixa em sua cauda (ANTONIO-SANTOS et al., 2016).

Teste em Labirinto Elevado em Cruz

O teste de ansiedade foi realizado aos 61 dias de vida. Dois filhotes machos de cada ninhada foram escolhidos aleatoriamente para realizar o teste. Este foi realizado quatro horas após a virada do ciclo claro para o ciclo escuro (11:00 horas). O labirinto possui dois braços abertos (50 cm x 10 cm) e dois fechados (50 cm x 10 cm x 40cm) que se estendem a uma plataforma central comum (10 cm x 10 cm). O aparato estava a uma altura de 50 cm do chão. O teste seguiu protocolo padronizado de PELLOW et al, (1985). Foi utilizado o programa Super Viewer para a filmagem dos animais sob luz infravermelha. Cada animal era posicionado na plataforma central do LEC com a face voltada para o braço aberto. O teste durava 5 minutos. A análise foi feita *offline* por um único avaliador, a cegas com o recurso do software X-plorat versão 3.3.0. Foram analisados o número e frequência de entradas nos braços fechado e aberto, assim como frequência e tempo que os animais dispendiam nos seguintes comportamentos: Inclinação da cabeça para baixo (*head dipping*), coçar/limpeza (*grooming*), lambendo (*licking*) e exploração vertical (*rearing*).

Testes tolerância à glicose e tolerância à insulina (GTT e ITT)

O teste de tolerância à glicose (GTT) foi realizado aos 62 dias de vida dos animais e o teste de tolerância à insulina (ITT) aos 65 dias de vida. Em ambos os testes, os animais ficaram em jejum por 12 horas. O sangue coletado foi extraído de um corte na ponta da cauda do animal. A glicose utilizada no teste de GTT foi a de concentração de 50% (Isotoma Farmacêutica Ltda), com dosagem de 2 mg/g do peso corporal do animal, sendo injetada intraperitonealmente. No teste de ITT, a dosagem da solução de insulina (*Humulin R*, Eli Lilly) utilizada foi a de 0,75mU/g de peso corporal do rato. Ambos os testes, tiveram o registro da concentração da glicose nos tempos 0, 15, 30, 45, 60 e 120 minutos. Para o ITT, com os valores de glicemia obtidos nos tempos 0, 30 e 60 minutos foi calculado o tempo de decaimento de glicemia (Kitt), a qual expressa a queda de glicemia por %minuto, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Kitt} = 0,693/t_{1/2} \quad (\text{LUNDBAEK, 1962})$$

Índice de Lee e Índice de Massa Corporal (IMC)

O peso corporal e comprimento naso-anal dos animais foram medidos no dia do sacrifício (22 ou 70 dias) para calcular a massa corporal relacionada ao comprimento dos filhotes, através da aplicação do Índice de Lee e IMC (NOVELLI et al, 2007).

Fora utilizadas as seguintes fórmulas:

$$\text{Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)}}}{\text{comprimento (cm)}}$$

$$\text{IMC} = \frac{\text{peso corporal (g)}}{\text{comprimento (cm)}^2}$$

Sacrifício dos filhotes

Aos 22 ou 70 dias, dois animais de cada ninhada foram colocados em jejum por 6h e depois decapitados com guilhotina. Amostra de sangue do tronco foi coletada em tubos BD Vacutainer® com ativador de soro. As amostras foram misturadas por inversão e colocadas em gelo, por 30 minutos. Em seguida, foram centrifugadas durante 20 minutos, à 4°C, 3500g. O soro foi recuperado e guardado à -80°C até análise.

A gordura visceral dos filhotes foi coletada e pesada.

Análises bioquímicas

O soro coletado dos filhotes e das mães foi armazenado em alíquotas e analisado pelo método colorimétrico enzimático para a determinação de: glicose, colesterol total, colesterol HDL, e triglicerídeos. Foram utilizados os teste adequados da Labtest. Os procedimentos seguiram o protocolo descrito pelo fabricante. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro de marca *Thermo Scientific*, em duplicata, usando placa de 96 poços.

Análise Estatística

O teste Kolmogorov–Smirnov foi realizado para determinar se os dados apresentavam distribuição normal. Todos os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média (E.P.M). As variáveis de atividade física voluntária materna, peso corporal, ganho de peso e consumo alimentar das ratas, assim como o peso corporal, comprimento naso-anal dos filhotes e teste de tolerância a glicose (GTT), teste de tolerância a insulina foram analisados pela ANOVA two way medidas repetidas (atividade física x tempo), seguido do teste de Tukey. As diferenças relacionadas aos dados do Kitt, índice de Lee, IMC, relações de massa corporal de mães e filhotes pós lactação, filmagens dos parâmetros comportamentais e registros dos parâmetros de resistência aeróbia e de força foram determinadas pelo uso do teste t de student. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. Os dados foram analisados estatisticamente através do software GraphPad Prism 6® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

5 RESULTADOS

Title: Maternal voluntary physical activity enhances muscular performance and decrease anxiety-like behavior in young rats offspring

Short-title: Maternal activity: physical capacity and anxiety in pups

Mayara Alves Leal GUIMARÃES¹, Guilherme Souza CHAGAS², Manoel Ermínio da SILVA², Allan de Oliveira LIRA³, Jéssica FRAGOSO³, José ANTÔNIO-SANTOS², Carol Góis LEANDRO^{1,2,3}, Raquel DA SILVA ARAGÃO^{1,2,3*}

¹Post-graduate Program of Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity, Academic Centre of Vitoria, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil

²Department of Physical Education and Sports Science, Academic Centre of Vitoria, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680 Recife, PE, Brazil

³Post-graduate Program of Nutrition, Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil

* Corresponding author: Raquel da Silva Aragão, Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Alto do Reservatório, s/n, Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil, CEP 55608-680. Phone: (00 55 81) 31144136 / 31144137. Fax: (00 55 81) 21268473. E-mail: raquel.aragao@gmail.com

ABSTRACT

Maternal voluntary physical activity is capable to modify some parameters of offspring development. Our aim was to evaluate metabolic, behavioral and physical capacities parameters in offspring whose mothers' performed physical activity. Fourteen female Wistar rats were placed in special cages with a stainless steel wheel running. Dams were allowed to perform voluntary physical activity from 30 days before breeding until 14th day of lactation. Dams were classified inactive (I, n=8) and very active (VA, n=6) according to the traveled distance, time of activity and calorie burned daily recorded. Dams body weight and food consumption was evaluated throughout the experiment and biochemical profile at weaning. Pups somatic growth was evaluated from birth to 70th day of life. Maximal treadmill and maximum overload test were performed at 60th day. Anxiety-behavior at elevated plus maze (EPM) was evaluated at 61st day. Glucose (GTT) and insulin (ITT) tolerance test were performed at 62nd and 65th day, respectively. VA dams had higher food intake during adaptation, lower body weight and glycaemia at weaning. Pups showed no difference in somatic development. VA pups carried higher overload and had higher number of climbs in overload test. At EPM, VA offspring showed increased number of entries in both arms, time spent in open arms and time in head dipping and frequency of rearing. No difference was observed in treadmill test or GTT and ITT. In summary, maternal physical activity enhances carrying overload capacity and decreases anxiety-related behavior at EPM in offspring at late adolescence.

KEY WORDS: maternal physical activity; anxiety; physical capacity; metabolic profile

INTRODUCTION

Early life periods (mainly, gestation and lactation) are critical to development of many structures in body¹. A variety of maternal stimuli, among them alcohol, smoking, nutrition, physical activity, can interfere in offspring morphological, physiological and behavioral development, as well as life span^{2,3}. These stimuli can also play a role in development of diseases like insulin resistance, type II diabetes obesity, hypertension, cardiovascular disease and neuropathology^{3,4,5}. Thus it was proposed the theory of developmental origins of health and disease (DOHaD) that considers that environmental stimuli in early life may increase risk for develop chronic disease in adult life as well as may promote better health in life time^{6,7}. Among these stimuli it is possible to find maternal physical activity or exercise as a factor that can promote behavioral, morphological, physiological, metabolic changes in offspring^{8,9,10}. Maternal exercise during gestation can increase fetoplacental growth in a way to enhance fetal nutrient availability and thus fetal growth¹¹. Glucose and insulin control maintenance are improved after an exercise session when tested at the end of pregnancy¹². Maternal voluntary physical activity increases insulin sensitivity in skeletal muscle and adipose tissue, as well as glucose homeostasis in offspring¹⁰. Aerobic treadmill training (5days/week, progressive reduction in duration and intensity 50-20min/day, 65-30% VO₂max) before and during gestation diminishes maternal low-protein diet effects on insulin secretion in dams and on metabolic profile and glucose homeostasis in adult offspring^{9,13}. This maternal training protocol also increases fiber type IIa number in soleus and EDL muscles in pups⁹. Apart from metabolic changes, maternal physical activity may also play a role in offspring mental health. Maternal treadmill training decreases anxiety-like behaviors in offspring^{9,14}. On the same way, maternal exercise can also revert anxiety-like behaviors in offspring submitted to maternal deprivation¹⁴.

Taking all together it is possible to observe that maternal levels of activity are important to progeny health.

Considering this importance we proposed a voluntary maternal physical activity protocol by Santana Muniz, et al., 2014¹⁵ to study influences of early environment on metabolic, behavioral and physical capacities parameters in offspring. We hypothesized that voluntary maternal physical activity in running wheels before mating during gestation and lactation improve glucose homeostasis, decreases anxiety-like behaviors and enhances physical capacities in late adolescence in offspring. This study would increase the literature about the importance of a non-pharmacological and low-cost stimulus to promote health in progeny.

METHODS

The experimental protocol was approved by the Ethical Committee in Animal Experimentation of Biosciences Centre, Federal University of Pernambuco, Brazil (protocol n° 23076.016575/2014-70) and followed the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals.

Animals

Fourteen virgin female albino Wistar rats (*Rattus norvegicus*) (body weight 220-260g, 85-95 days-old) were obtained from the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Brazil. They were maintained at animal facility with a room temperature of 22 ± 1 °C and a controlled light–dark cycle (dark 08.00 am–8.00 pm). Diet and water were given ad libitum according to the period of life: AIN-93M (adaptation) and AIN-93G (gestation/lactation)¹⁶. Special cages were built with a stainless steel wheel running and dams were allowed to run for a period of thirty days

(adaptation). After this period of adaptation, females were placed into a standard cage and mated (1 female: 1 male) for a period of 2–4 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 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 15. Dam's body weight and food intake were measured every third day from adaptation to the end of lactation. 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. After weaning (postnatal day 21), pups received standard laboratory chow (Presence – Purina, Brazil). Only male pups were evaluated through experimental period. Two pups from each dam were randomly assigned to perform either a maximum overload test or a maximal treadmill test. Two other pups from each dam were evaluated at elevated plus-maze and performed glucose and insulin tolerance tests.

Voluntary physical activity measurements

Voluntary physical activity measurements followed the protocol previously describe by ¹⁶. Briefly, female Wistar rats were singly housed into an acrylic cage (dimensions: 34 cm height, 27 cm width, 61 cm length) equipped with a stainless steel wheel (27 cm diameter). A wireless cyclocomputer (Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan) was attached in the wheel to calculate and display usage information. Measurements of distance traveled (Km), time of use (minutes) and calorie consumption (Km.s^{-1}) recorded during the period of adaptation (thirty days) were used to classify rats into different groups according to physical activity level¹⁵. Inactive (I, n=8) and Very Active (VA, n=6) groups were obtained (Table 1). None of the rats performed physical activity within Active level (Distance traveled >1.0 and <5.0

Km/day; Time of activity >20.0 and <120.0 min/day; and Estimated calorie burned >10.0 and <40.0 Km/s/day). Females had access to the running wheel from adaptation up to day 15 of lactation. Wheels were locked on postnatal day 15 to prevent the pups from running and/or being injured.

Pups somatic growth evaluation

Pups body weight and length was measured every third day from postnatal day 1 to 21, and at 30th, 45th, 60th and 70th postnatal day. Body weight gain was calculated as follows: Percentage of weight gain = [body weight (g) × 100 / birth weight (g)]. At killing, body mass index and Lee index were calculated.

Maximal treadmill test and maximum overload test

Two offspring from each dam were randomly chose and subdivided into two groups to perform either a maximal treadmill test or a maximum overload test. Both test were performed at postnatal day 60 and were preceded by a five consecutive days of adaptation to the apparatus. Adaptation and tests were performed at the same room by the same evaluator four hours after lights went off.

Adaptation to the treadmill was performed as described by Leandro et. al, 2007¹⁷. Each animal was adapted and tested alone in the treadmill. Maximal treadmill test was an adaptation of Leandro et. al, 2007¹⁷. Briefly, the pup was placed into the treadmill and started to run at an initial speed of 0.3Km/h. Speed was increased by 0.3 Km/h every three minutes. No inclination was used. The tests were stopped when the animals were unable to keep running in the treadmill. Maximum speed (Km/h), distance traveled (m) and test duration (minutes) were recorded.

Maximum overload test was performed in a vertical ladder described by Antonio-santos¹⁸. Adaptation to the apparatus was performed as described by Antonio-

santos¹⁸. Maximum overload test was slightly modified. At the first maximum overload test, rats had to climb up initially with a load of 75% of their body weight ¹⁸. It was considered a “successful climb” when the animal climbed the entire length of the ladder taking a time shorter than 40 seconds. After each climb, it was added 10% of animals’ body weight in the overload until the animal was not able to climb up the ladder. The test was stopped when the animal could not climb the ladder after three successive attempts ¹⁸. Maximum overload (g), maximum overload relative to body weight (%) and number of climbs were recorded.

Elevated plus-maze test

Two others offspring from each dam were filmed in the elevated plus-maze (EPM) at postnatal day 61. EPM consisted of two open arms (50×10 cm, surrounded by a 0.25 cm-high border) and two closed arms (50×10 cm, surrounded by 40 cm-high walls) the two pairs of identical arms were connected by a central platform (10×10 cm). The apparatus was elevated 50 cm above the floor and was lit by a red-light lamp (25 W) placed above central platform. All test were performed four hours after light went off. Rats were placed on the central platform facing an open arm and were observed for 5 minutes. Each session was recorded by a camera attached to a computer. After each test the EPM was carefully cleaned with sodium hypochlorite and water. Videos were analyzed offline by an evaluator blinded to animal’ condition using Xplorat (version 3.3.0). The following parameters were measured: number of open and close arms entries, time spent at each arm, and time and frequency of ethological behaviors (head dipping, grooming, licking and rearing).

Offspring’s Glucose tolerance test and insulin tolerance test

The same animals that were used to EPM also performed glucose tolerance test (GTT) at postnatal day 62 and insulin tolerance test (ITT) at postnatal day 65. In both

tests, animals were fasted overnight. Blood sample collections were performed by cutting the tip of the tail. First blood sample was collected (time 0) before the injection of glucose or insulin. In the GTT, a 50% glucose solution (Isopharma Pharmaceutical Limited) at a dose of 2mg/g body weight was administered intraperitoneally. Blood samples were then collected at 15, 30, 45, 60 and 120 min after administration. The area under the glucose curve was obtained using blood glucose values at all times. In the ITT, a solution of insulin (Humuli R, Eli Lilly, Brazil) at a dose of 0.75mU/g body weight was administered intraperitoneally, and additional blood samples were collected at 15, 30, 45, 60 and 120 min after administration. Glucose disappearance constant was calculated from the blood glucose values obtained at 0, 30 and 60 min (Kitt)¹⁹.

Killing and serum collection

Mothers and one pup from each dam were killed at weaning. Others two pups were killed at 70th day of life. All animals were killed by decapitation between 4 and 5 pm after six hours fasting. Trunk blood was collected and centrifuged. Serum was stored at -80°C until analyses. Visceral fat pad was collected and weighted. Glucose, triglycerides, total cholesterol and HDL cholesterol were analyzed in serum.

Statistical analyses

The Kolmogorov–Smirnov test was performed to determine if the data were normally distributed. For the mothers, measurements of traveled distance, estimated calorie burned, time of activity, body weight, weight gain, food intake were analyzed by ANOVA two-way (day and physical activity as factors), followed by Tukey test. Dams metabolic and somatic measurements at killing were analyzed by Student T test. For the offspring, body weight and length, and weight gain were also analyzed by ANOVA two-way (day and physical activity as factors), followed by Tukey test. All others pups data were analyzed by Student t 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 6® (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

RESULTS

Figure 1A, B and C present data of the maternal voluntary physical activity. Very active (VA) dams presented progressively increase in physical activity during adaptation period. At the beginning of pregnancy activity levels decrease until lactation. VA mothers showed higher traveled distance than Inactive (I) mothers from 10th day of adaptation until 10th day of gestation, some punctual differences were also observed at 12th-13th day of gestation and 4th, 5th, 7th, 10th, 12th and 14th day of lactation ($p < 0.05$) (Fig. 1A). Time that dams spent running was also superior to VA mothers than I mother from sixth day of adaptation until 12th day of gestation and at 4th, 7th, 9th-12th and 14th day of lactation ($p < 0.05$) (Fig. 1B). Estimated calorie burned had a similar development with differences observed at 7th and 11th, from 13th day of lactation to 8th day of gestation, 10th-14th of gestation and 4th, 7th, 11th and 12th day of lactation ($p < 0.05$) (Fig. 1C). VA dams also presented lower body weight at 4th, 7th and 16th day of adaptation, while they had increased body weight at last day of gestation ($p < 0.05$) (Fig. 2A). Food intake was higher in VA mothers only from 19th to 28th day of lactation and during the early beginning of gestation ($p < 0.05$) (Fig. 2B). No difference in body weight gain was observed between groups (Fig. 2C). Pups number and weight at birth were not different between groups (data not shown). We killed mothers at weaning and analyzed some metabolic parameters. We only observed lower body weight and fasting glycaemia at VA mothers at weaning ($p < 0.05$) (Table 2).

Regarding pups we observed no difference in body weight and length during lactation period (Fig. 3 A-B). Although it was observed decreased body weight gain in

the end of first week of life in VA pups and reduced gain in the end of the second one ($p<0.05$) (Fig. 3C). When we evaluated metabolic profile from pups at weaning we observed no differences between groups (Table 3 and 4). After weaning pups did not differ in relation to body weight and body weight gain (data not shown). Glucose and insulin tolerance tests were performed at late adolescence in pups. At the former, neither glycaemia profile during the test nor area under the curve values presented difference between groups (Fig. 4A-B). As to insulin tolerance test we also observed no difference in glycaemia curve or in rate of disappearance of glucose (Fig. 4C-D). At 70th day of life, pups from VA mother showed reduced visceral fat pad weight but no difference in serum biochemical profile (Table 3 and 4).

We evaluated pups physical capacities at two different maximal tests: maximal treadmill test and maximum overload test. At treadmill test no difference was seen between groups regarding parameter evaluated: maximum speed, traveled distance and time of test (Fig. 5A-C). Notwithstanding VA pups presented better performance at maximum overload test. VA pups carried a higher overload either in grams ($p=0.013$) or relative to body weight ($p=0.022$) and climbed up the ladder more times ($p=0.042$) (Fig. 5D-E).

Others pups were evaluated in relation to anxiety levels at an elevated plus maze test. VA pups performed more entries in both arms (open arms $p=0.0105$; closed arms $p=0.0031$), although no difference was observed when percentage of entry was evaluated (Table 5). They also spent more time in open arms ($p=0.0104$) and less time in central area ($p=0.0001$) (Table 5). These differences remained when the percentages of time in each area were evaluated (open arms $p=0.0046$; central area $p=0.0013$) (Table 5). Regarding time and frequency of ethological behaviors we only observed that VA

pups increased time in head dipping ($p=0.0438$) and showed more frequency of rearing ($p=0.0464$) (Table 5).

DISCUSSION

Our results showed that VA mothers perform higher distance, spend more time in running wheel and burn more calories than I mothers from second week of adaptation until second week of gestation. At the end of pregnancy VA tend to decrease activity levels to inactivity but they still present some days with higher activity than I dams until the wheel was locked. Body weight during adaptation period was lower in VA mother, but they showed higher body weight at last day of gestation. VA dams food intake was also higher from adaptation to first days of pregnancy. At weaning, VA mothers had lower serum glycaemia and were lighter. Regarding pups somatic development we observed no difference between groups. However pups from VA dams had increased performance at maximum overload test and decrease levels of anxiety at EPM test. Maternal physical activity did not influence pups response to glucose or insulin tolerance test.

Results related to parameters of voluntary physical activity from VA and I dams as well as dams body weight evolution from adaptation to lactation were similar to our previously work ¹⁵. This demonstrated that this voluntary physical activity protocol maintain an steady reproducibility represented by acquisition of a very activity profile during pre-mating period and reduction in level activity at the second half of pregnancy until the wheel is locked¹⁵. Moderate exercise in the beginning of pregnancy and reduction of intensity in the end is associated with better fetoplacental growth²⁰. VA dams presented lower body weight during pregnancy, although they had increased food intake. It has been showed that running wheel is related to increase food intake²¹.

Besides, energetic cost to VA mothers is higher than in I mothers and induces greater caloric need and consequently higher food intake²².

Conversely, at the end of gestation period, VA dams were heavier than I dams. This increased body weight could be related to increment in pups' body weight as it was already showed that exercise during gestation contributes to higher gain in fat mass and lean mass in offspring²³. However, our results did not present any difference in litter weight or number of pups. Others studies have observed these same results with no difference at birth in offspring from mothers that practiced physical activity during pre-mating or gestation^{24,15}. Nevertheless, increased maternal body weight at the end of pregnancy may also be due to increase in placental growth^{20,23}. Exercise during pregnancy increased placental growth rate and gross volume in mid-gestation and at term²³. These results were also observed in mothers that decreased their activity levels at the final third of gestation²⁰. Increased placental functionality is considered to benefit fetal development as it enhances nutrients availability²⁰.

At weaning, VA dams serum glycaemia was reduced compared to I dams. This may be due to enhanced adipose and muscular cell sensitivity to insulin due to exercise²⁵. On the other hand this reduced glycaemia was not reproduced in pups regardless age. It was not observed any change in biochemical profile or in response to glucose or insulin tolerance tests in offspring. On the same sense, maternal aerobic training during pregnancy (5days/week, progressive reduction in duration and intensity 50-20min/day, 65-30% VO₂max) did not change metabolic profile in offspring from normoproteic (17% protein) feed mothers¹³. Nevertheless, maternal training enhanced metabolic parameter in pups from mother whose received low-protein (8% protein) diet from gestation to lactation¹³. Another study showed that maternal physical activity increased glucose uptake in male and female offspring at 270 days old¹⁰. It is known

that younger animals display better glucose uptake than older animals²⁶. Thus, the fact that our pups did not show metabolic differences may be due to evaluation age (22 and 70 days old). In animals, metabolic changes that involve programming mechanisms are more common presented in older ages than at adolescence²⁸.

VA pups had lower visceral fat pad weight at beginning of adult life (70 days). Reduction in total fat weight was observed in older offspring (39 and 68 weeks of live) from active mothers¹⁰. Study with pups from VA mother showed a negative relationship between retroperitoneal fat and PGC1 α mRNA expression²⁴. PGC1 α is known to increase fatty acid oxidation in skeletal muscles by increasing in mitochondrial biogenesis²⁴. Other studies also showed enhanced PGC1 α expression in those who exercises^{28,29}. After low-intense swimming exercise it was observed increase in PGC1 α expression in epitrochlearis muscles in active animals²⁹. High-intense swimming activity also enhances PGC1 α expression and mitochondrial biogenesis²⁸.

Perinatal is also important to behavioral development in offspring besides its influence on metabolism³⁰. In order to assess anxiety-related behavior in offspring we perform an elevated plus maze test. Time and entries in each arm as well as some behavioral parameters were analyzed. We observed that VA pups spent more time in head dipping and had more frequency of rearing. These behaviors can be classified as non-anxious exploration as they represent positive exploration attitudes in maze³¹. Furthermore, VA pups had more number of entries in both arms, although they spent more time in open arms and less time in central area than I pups. Taking all this responses together we can propose that VA offspring had decreased anxiety levels. Our results are in agreement with other studies that showed that maternal aerobic exercise decreases anxiety levels in pups as they presented increase exploration time in open arms^{9,14}.

Maternal aerobic exercise favors increase in BDNF in prefrontal cortex in offspring¹⁴. Another studied showed that aerobic exercise during gestation (30min/day, 5day/week) diminishes anxiety-related response in offspring at early adolescence (26 days old) and adulthood (120 days)⁹. These results were correlated to increased BDNF expression in prefrontal cortex⁹. Epigenetics changes may be responsible to augment BDNF expression^{32,33}. Animals that performed aerobic exercise for one week presented decreased DNA mutilation levels in BDNF gene promoter IV, therefore they had increased BDNF gene expression³³. Another explanation to decreased anxiety levels in VA pups may be due to increase expression of IGF-1. This factor is an essential regulator to brain development and maturation, as well as neuronal survival³⁴. Increased IGF-1 expression was observed in serum, prefrontal cortex and hippocampus from animals that exercised³⁵ and enhances exercise anxiolytic effects³⁶. It is interesting to note that IGF-1 can transpose blood-brain barrier³⁶.

Early periods of life are known to also influence offspring health levels and lifespan⁷. Our results showed that maternal physical activity improved offspring performance in maximum overload test represented by increased carrying overload capacity and number of ladder climbs. Increased muscular resistance in rodents is related to higher number of fibers in skeletal muscle¹⁸. Resistance training during eight weeks increased fiber type IIb in EDL muscle¹⁸. Maternal exercise is also capable to modify fiber type profile in offspring⁸. Treadmill moderate aerobic training during pregnancy increase fiber type IIa number in soleus and EDL muscle in offspring. Increased IGF-1 expression is observed after maternal exercise³⁷ and is also known to promote skeletal muscle proliferation and differentiation³⁸. IGF-1 could favor protein synthesis and inhibit protein degradation³⁸. Aerobic exercise (20min/day) during gestation increased IGF-1 concentration in maternal serum³⁷. The same result was also

observed in women that exercise (aerobic, 5 times/week, 40 min) during pregnancy³⁹. After fifteen minutes of aerobic exercise in humans it was observed increased IGF-1 concentration, as well enhanced skeletal muscle metabolism resulting in better physical capacity⁴⁰. However, our results did not show difference in aerobic capacity in adolescent offspring. Interestingly, another study where pregnant mice had access to running wheel during gestation did not observed difference in physical activity levels in offspring at 21 and 60 days⁴¹. Although they observed increase physical activity in offspring from active mother at adulthood (160 days old)⁴¹. Maternal exercise at various intensities did not modified aerobic capacity in offspring at 90 days old⁴². Therefore, we postulate that maternal physical activity influences aerobic capacities in pups' relation to their age.

In summary, maternal physical activity from pre-mating until lactation did not modifies metabolic profile or aerobic capacity in pups. But maternal activity decreases anxiety-related behavior in elevated plus-maze and enhances carrying overload capacity in offspring at late adolescence. These results are important as they can indicate that physical activity in mothers can be used as a tool to ameliorate behavioral and physical performance in offspring. Results are therefore aligned with the importance of early periods of life the offspring development.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are grateful to Dr Edeones França, Vinicius Vasconcelos and Thuani Lamenha for their help in animals care.

FINANCIAL SUPPORT

Mayara Alves Leal Guimarães was the recipient of a master scholarship by the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE, Brazil, number IBPG-1407-4.05/14). This work was supported by the FACEPE (grant number APQ-0201-4.05/14) and Universidade Federal de Pernambuco (grant number Propesq/Jovem Pesquisador-01/2015).

CONFLICTS OF INTEREST

None

ETHICAL STANDARDS

The authors assert that all procedures contributing to this work comply with the ethical standards of the relevant national guides on the care and use of laboratory animals from National Council in Animal Experimentation Control (CONCEA) and has been approved by the institutional committee Ethical Committee in Animal Experimentation of Biosciences Centre, Federal University of Pernambuco, Brazil (protocol nº 23076.016575/2014-70).

REFERENCES

- 1-Morgane PJ, Mokler DJ, Galler JR. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neurosci Biobehav Rev.* 2002;26(4):471–83.

- 2- Dobbing, J. The Influence of Early Nutrition on the Development and Myelination of the Brain. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1964, p. 503-509.

- 3- Gluckman, P. D.;Hhanson, M. A.; Beedle, A. S. Early life events and their consequences for later disease: A life history and evolutionary perspective. *Am. J. Hum. Biol*, 2007, p. 1–19.

- 4-Hales, C. N.; Barker, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. ***Diabetologia***, v. 35, n. 7, p. 595-601, Jul 1992.

- 5- Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci.* 2007;30(9):464–72.

- 6- Barker DJP. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med.* 2007;261(5):412–7.

- 7- Mathers JC. Early nutrition: impact on epigenetics. *Forum of Nutrition.* 2007,60:42-

- 8- Leandro CG, et al. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. *Eur J Nutr.* 2012;51(7):807–15
- 9- 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. *Neurosci Lett.* Elsevier Ireland Ltd; 2012;516(2):221–5.
- 10- Carter LG, et al. Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012;303:E1061-8.
- 11- Clapp, J.F. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and feto-placental growth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2003, p. 80–85.
- 12- Clapp, J. F.; Capeless, E. L. The changing glycemic response to exercise during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991, v. 165, n. 6 Pt 1, p. 1678–83.
- 13- 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. *Br J Nutr.* 2012;(2013):1–8
- 14- Uysal N et al. Neuroscience Letters Maternal exercise decreases maternal deprivation induced anxiety of pups and correlates to increased prefrontal cortex BDNF

and VEGF. *Neurosci Lett.* Elsevier Ireland Ltd; 2011;505(3):273–8.

15- Santana Muniz G, et al. Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. *Physiol Behav.* Elsevier Inc.; 2014;129:1–10.

16- Reeves PG, Suppl M. Symposium : Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research. *Exp Biol.* 1997;838–41.

17- Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhaes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res [Internet].* 2007;21(3):751–6.

18- Antonio-santos J. et al. Resistance training alters the proportion of skeletal muscle fibers but not brain neurotrophic factors in young adult rats. *Neurotrophic Factors Resist Train.* 2016;30(12):3531–7.

19- Lundbaek, K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. *Br. Med. J.* 1962; 1507–13.

20- Clapp, J. F., 3RD et al. Continuing regular exercise during pregnancy: effect of exercise volume on fetoplacental growth. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 142-147.

- 21- Stunkard AJ. NIH Public Access. Psychiatry Interpers Biol Process. 2009;162(3):214–20.
- 22- Sherwin C. Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. Anim Behav. 1998;56(1):11–27.
- 23- Clapp, J. F., 3RD et al. Beginning regular exercise in early pregnancy: effect on fetoplacental growth. Am J Obstet Gynecol, 2000; 1484-1488.
- 24- Raipuria M, Bahari H, Morris MJ. Effects of maternal diet and exercise during pregnancy on glucose metabolism in skeletal muscle and fat of weanling rats. PLoS One. 2015;10(4):1–14.
- 25- dos Santos JM, et al. The effect of exercise on skeletal muscle glucose uptake in type 2 diabetes: an epigenetic perspective. Metabolism Elsevier Inc.; 2015;64(12):1619–28
- 26- dos Santos JM, Benite-Ribeiro SA, Queiroz G, Duarte JA. The effect of age on glucose uptake and GLUT1 and GLUT4 expression in rat skeletal muscle. Cell Biochem Funct. 2012;30(3):191–7
- 27 Fernández-Fernández R, Navarro VM, Barreiro ML, Vigo EM, Tovar S, Sirotkin A V., et al. Effects of chronic hyperghrelinemia on puberty onset and pregnancy outcome

in the rat. *Endocrinology*. 2005;146(7):3018–25.

28- Sutherland LN, et al. Exercise and adrenaline increase PGC-1 α mRNA expression in rat adipose tissue. *J Physiol*. 2009;587:1607–17.

29- Goto M, et al. cDNA Cloning and mRNA analysis of PGC-1 in epitrochlearis muscle in swimming-exercised rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;274(2):350–4.

30- Perales M, et al. Benefits of aerobic or resistance training during pregnancy on maternal health and perinatal outcomes: A systematic review. *Early Hum Dev*. Elsevier Ireland Ltd; 2016;94:43–8.

31- Carola V, et al. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviours in inbred mice. *Behav Brain Res*. 2002;134:49–57.

32- Elsner VR, et al. Effect of different exercise protocols on histone acetyltransferases and histone deacetylases activities in rat hippocampus. *Neuroscience* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;192:580–7.

33- Gomez-Pinilla F, et al. Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. *Eur J Neurosci*. 2011;33(3):383–90.

34- Aksu I, Ates M, Baykara B, Kiray M, Sisman AR, Buyuk E, et al. Anxiety correlates to decreased blood and prefrontal cortex IGF-1 levels in streptozotocin induced diabetes. *Neurosci Lett* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2012;531(2):176–81.

35 Uysal N, et al. Exercise increases leptin levels correlated with IGF-1 in hippocampus and prefrontal cortex of adolescent male and female rats. *J Chem Neuroanat* [Internet]. Elsevier B.V.; 2017;81:27–33.

36- Trejo JL, Llorens-Martín M V., Torres-Alemán I. The effects of exercise on spatial learning and anxiety-like behavior are mediated by an IGF-I-dependent mechanism related to hippocampal neurogenesis. *Mol Cell Neurosci*. 2008;37(2):402–11.

37- Turgut, et al. Increased Plasma Levels of Growth Hormone , Insulin-Like Growth Factor (IGF) -I and IGF-Binding Protein 3 in Pregnant Rats with Exercise. 2006;(Jenkins 1999):75–81

38- Woodhouse LJ, Mukherjee A, Shalet SM, Ezzat S. The influence of growth hormone status on physical impairments, functional limitations, and health-related quality of life in adults. *Endocr Rev*. 2006;27(3):287–317.

39- Hopkins SA, et al. Effects of exercise training on maternal hormonal changes in pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(4):495–500.

40- Mannerkorpi K, Landin-Wilhelmsen K, Larsson A, Cider Å, Arodell O, Bjersing JL. Acute effects of physical exercise on the serum insulin-like growth factor system in women with fibromyalgia. *BMC Musculoskelet Disord. BMC Musculoskeletal Disorders*; 2017;18(1):37.

41- Eclarinal JD, et al. Maternal exercise during pregnancy promotes physical activity in adult offspring. *FASEB J.* 2016;30(7):fj.201500018R-.

42- Piçarro IC, et al. Effect of exercise during pregnancy, graded as a percentage of aerobic capacity: Maternal and fetal responses of the rat. *Comp Biochem Physiol -- Part A Physiol.* 1991;100(4):795–9.

LEGENDS OF THE FIGURES

Figure 1. Maternal voluntary physical activity parameters during adaptation, gestation and lactation periods. Daily traveled distance in km (A), time in minutes (B), estimated calorie burned in Km/s (C) during 30 days of adaptation, all gestation and up to 15th day of lactation. Groups were constituted by inactive (n=8) and very active (n=6) dams. Values are presented as means $\pm$ S.E.M. *p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 vs Inactive using two-way ANOVA followed by Tukey test.

Figure 2. Somatic evaluations during adaptation, gestation and lactation periods in dams. Body weight in grams (A), food intake in grams (B) and body weight gain in percentage (C) during 30 days of adaptation, all gestation and up to 15th day of lactation. Groups were constituted by inactive (n=8) and very active (n=6) dams. Values are presented as means $\pm$ S.E.M. *p<0.05 ** p< 0.001 vs. Inactive. Two-way ANOVA followed by Tukey test.

Figure 3. Offspring somatic evolution during lactation. Offspring body weight in grams (A), food intake in grams (B) and body weight gain in percentage (C) during lactation period. Groups were constituted by pups from mothers that performed activity at running wheel during 30 days of adaptation, all gestation and up to 15th day of lactation. Inactive (n=25) and Very Active (n=19) pups. Values are presented as means $\pm$ S.E.M. Two-way ANOVA followed by Tukey test.

Figure 4. Offspring glycemic profile. Glucose tolerance test (A), area under the curve (B), insulin tolerance test (C) and rate of disappearance of glucose (Kitt) (D). Tests

were performed at 62nd and 65th day of life, respectively. Groups were constituted by pups from mothers that performed activity at running wheel during 30 days of adaptation, all gestation and up to 15th day of lactation. Inactive (n=15) and Very Active (n=10) pups. Values are presented as means $\pm$ S.E.M. Two-way ANOVA followed by Tukey test.

Figure 5. Offspring results during maximal treadmill test and maximum overload test. Maximum speed in Km/h (A), traveled distance in meters (B), time in minutes (C) at maximal treadmill test and number of climbs (D), maximum overload in grams (E), relative maximum overload (F) of maximum overload test. Animals were submitted to test at 60th day of life. Groups were constituted by pups from mothers that performed activity at running wheel during 30 days of adaptation, all gestation and up to 15th day of lactation. Inactive (n=7) and Very Active (n=6) pups. Values are presented as means $\pm$ S.E.M. *p<0.05 vs. Inactive. Student T test.

Table 1. Experimental groups classified according to daily physical activity in the running wheel.

Experimental groups	n	Distance traveled (Km/day)	Estimated calorie burned (Km.s⁻¹.day⁻¹)	Time (min/day)
Inactive	8	<1.0	<10.0	<20.0
Active	0	>1,0<5,0	>10,0<4,0	>20,0<120,0
Very Active	6	>5.0	>40.0	>120.0

(SANTANA MUNIZ et al, 2014)

Table 2. Somatic and serum biochemical profile from dams after weaning.

	Inactive	Very Active	
	(n= 8)	(n=6)	p
Body weight (g)	307.4 ± 9.31	275.4 ± 9.63*	0.044
Visceral fat pad (g)	3.01 ± 0.193	4.73 ± 1.241	0.167
Visceral fat pad (%)	1.455 ± 0.301	1.624 ± 0.371	0.732
Glucose (mg/dl)	118.8 ± 4.717	94.96 ± 7.484*	0.029
Triglycerides (mg/dl)	96.48 ± 22.85	94.81 ± 30.82	0.966
Total Cholesterol (mg/dl)	80.29 ± 7.931	71.66 ± 4.982	0.439
HDL Cholesterol (mg/dl)	56.60 ± 2.133	54.28 ± 3.267	0.556

Values expressed as mean ± SEM, * p<0.05, vs. Inactive group, Student t test.

Table 3. Offspring serum biochemical profile and somatic evaluation at 22 postnatal days.

	Inactive	Very active
	(n= 8-16)	(n = 6-12)
	22 days	22 days
Glucose (mg/dl)	99.26 ± 3.41	105.0 ± 14.58
Triglycerides (mg/dl)	58.97 ± 6.26	76.83 ± 18.97
Total Cholesterol (mg/dl)	97.68 ± 7.03	111.7 ± 5.59
HDL Cholesterol (mg/dl)	50.24 ± 3.22	46.31 ± 1.187
Body weight (g)	52.71 ± 2.008	54.85 ± 3.002
Visceral fat pad (g)	0.459 ± 0.119	0.225 ± 0.167
Visceral fat pad (%)	0.570 ± 0.133	0.650 ± 0.325
Lee Index	0.298 ± 0.006	0.291 ± 0.009
BMI	0.334 ± 0.012	0.313 ± 0.018

BMI: body mass index. Values expressed as mean ± SEM, * p<0.05, vs. Inactive group, Student t test.

Table 4. Offspring serum biochemical profile and somatic evaluation at 70 postnatal days.

	Inactive	Very active
	(n= 8-16)	(n = 6-12)
	70 days	70 days
Glucose (mg/dl)	95.12 ± 8.21	112.9 ± 5.46
Triglycerides (mg/dl)	53.45 ± 4.80	57.11 ± 10.42
Total Cholesterol (mg/dl)	80.33 ± 1.74	84.43 ± 5.07
Body weight (g)	308.6 ± 8.489	295.8 ± 10.99
Visceral fat pad (g)	11.31 ± 0.814	8.348 ± 0.892*
Visceral fat pad (%)	3.375 ± 0.217	2.891 ± 0.275
Lee Index	0.290 ± 0.003	0.285 ± 0.004
BMI	0.564 ± 0.017	0.541 ± 0.018

BMI: body mass index. Values expressed as mean ± SEM, * p<0.05, vs. Inactive group, Student t test.

Table 5. Differences between groups in elevated plus maze test.

	Inactive	Very Active	
	(n= 16)	(n= 12)	p
Entries			
<i>Number of open arms entries</i>	2.917 ± 0.56	4.900 ± 0.37*	0.0105
<i>Number of closed arms entries</i>	9.500 ± 0.62	11.92 ± 0.37**	0.0031
<i>% open arms entries</i>	27.50 ± 1.83	29.18 ± 1.41	0.4730
<i>% closed arms entries</i>	72.93 ± 2.64	73.47 ± 2.12	0.8760
Times			
<i>Time in open arms</i>	39.10 ± 6.62	64.00 ± 5.84*	0.0104
<i>Time in closed arms</i>	158.2 ± 3.49	152.4 ± 8.24	0.5399
<i>Time in center square</i>	113.7 ± 5.85	68.67 ± 7.24***	0.0001
<i>% time in open arms</i>	11.19 ± 2.47	21.16 ± 1.97**	0.0046
<i>% time in closed arms</i>	53.61 ± 1.19	51.94 ± 2.67	0.5744
<i>% time in center square</i>	37.89 ± 1.95	24.96 ± 2.99**	0.0013
Behaviours			
<i>Grooming frequency</i>	6.64 ± 1.220	6.40 ± 1.185	0.8915
<i>Grooming time</i>	7.33 ± 1.118	9.00 ± 0.977	0.2753
<i>Head dipping frequency</i>	10.64 ± 1.754	12.36 ± 0.812	0.3822
<i>Head dipping time</i>	9.00 ± 1.578	13.00 ± 0.982*	0.0438
<i>Licking frequency</i>	1.78 ± 0.741	0.700 ± 0.423	0.2122
<i>Licking time</i>	1.18 ± 0.443	1.00 ± 0.444	0.7753
<i>Rearing frequency</i>	14.33 ± 1.093	18.64 ± 1.580*	0.0464
<i>Rearing time</i>	32.42 ± 3.338	43.78 ± 7.186	0.1355

Values expressed as mean ± SEM, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 vs. Inactive group, test t de Student.

Figure 1

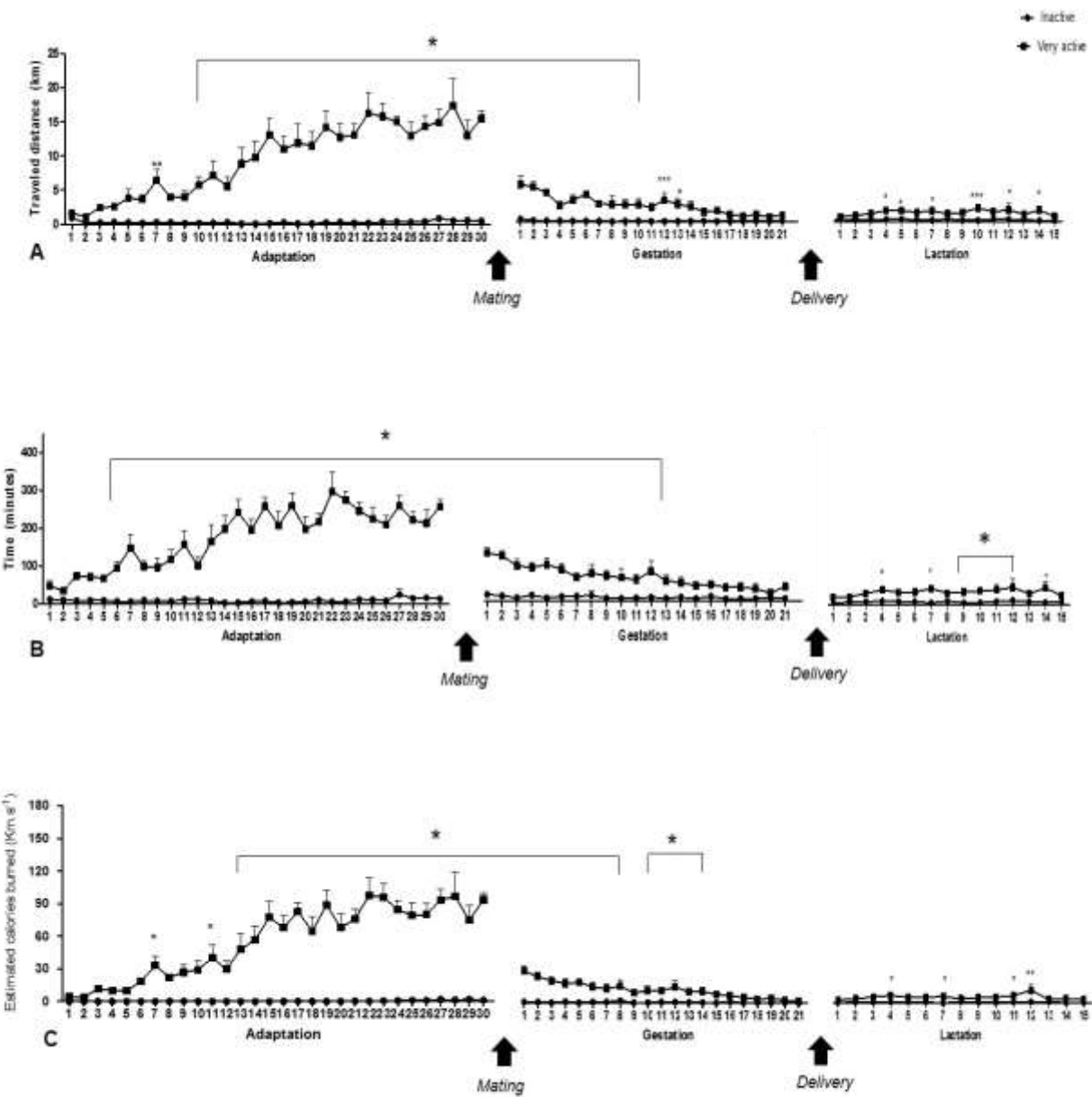


Figure 2

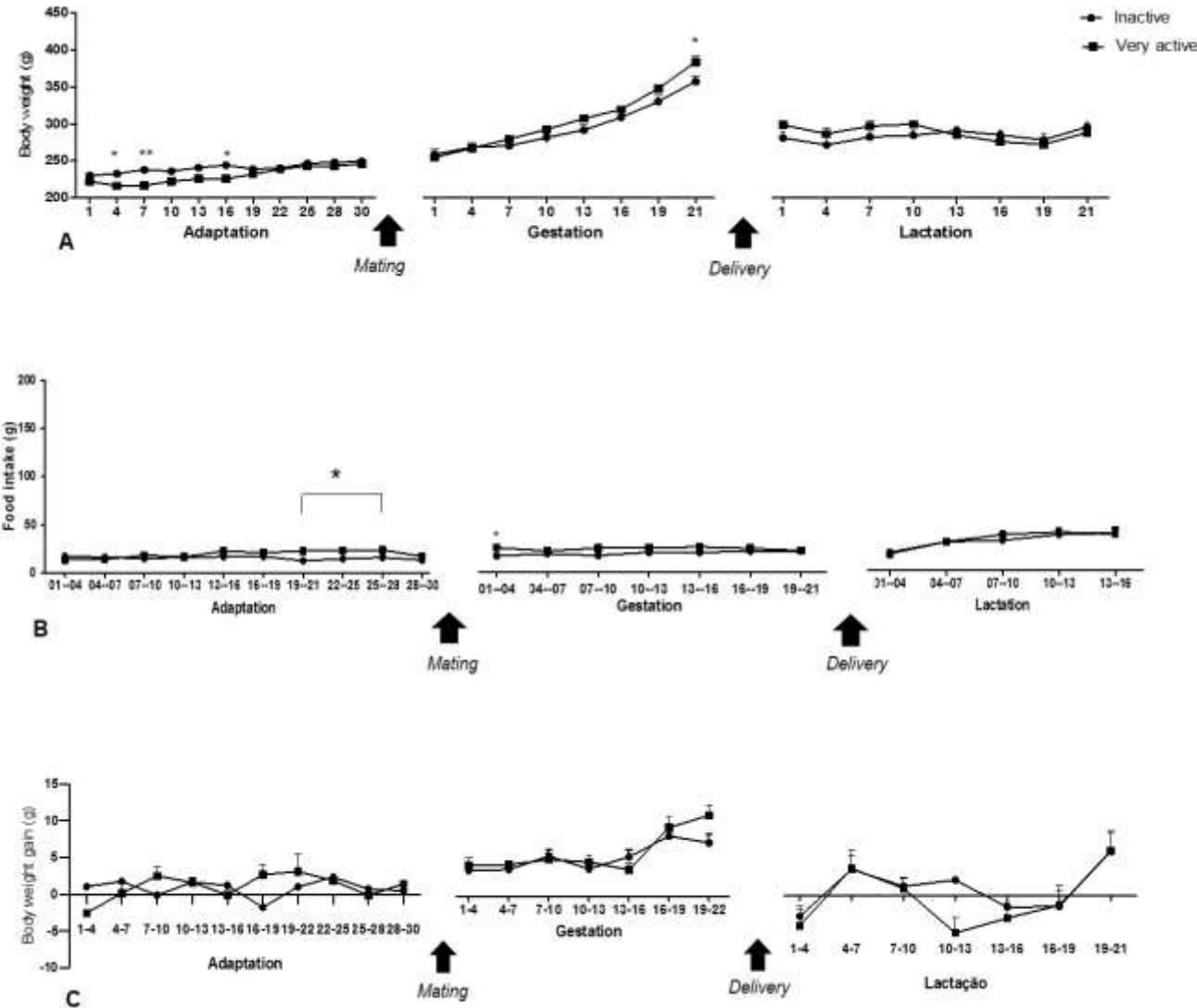


Figure 3

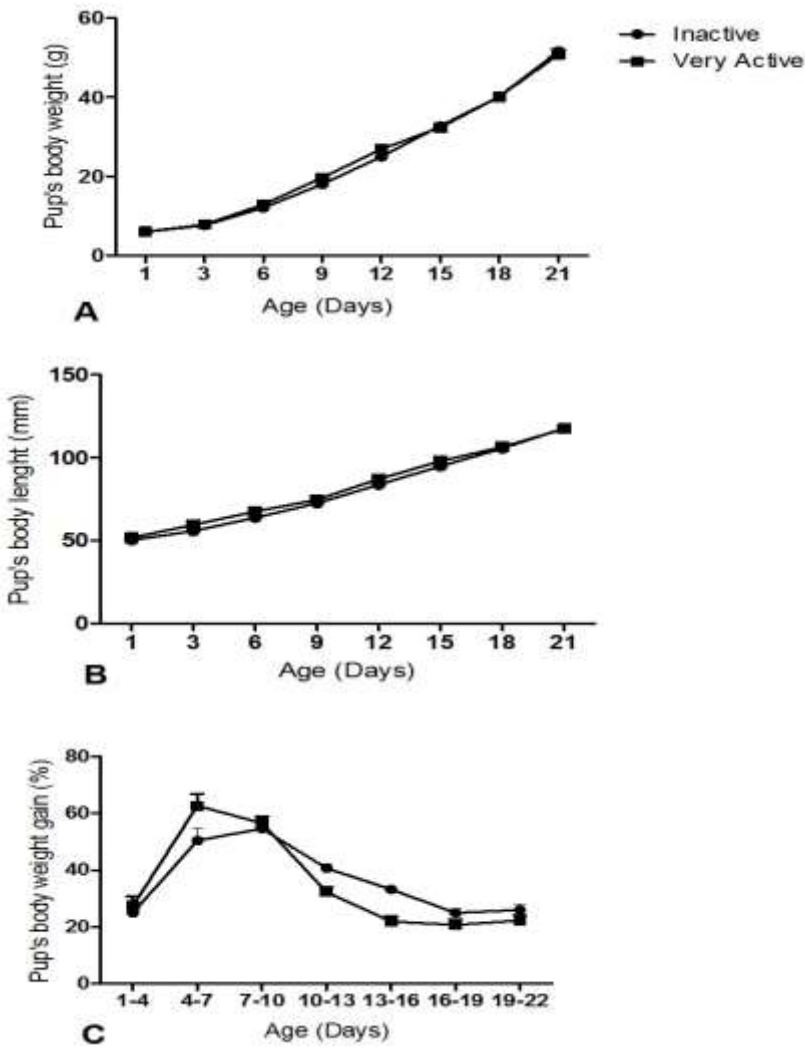


Figure 4

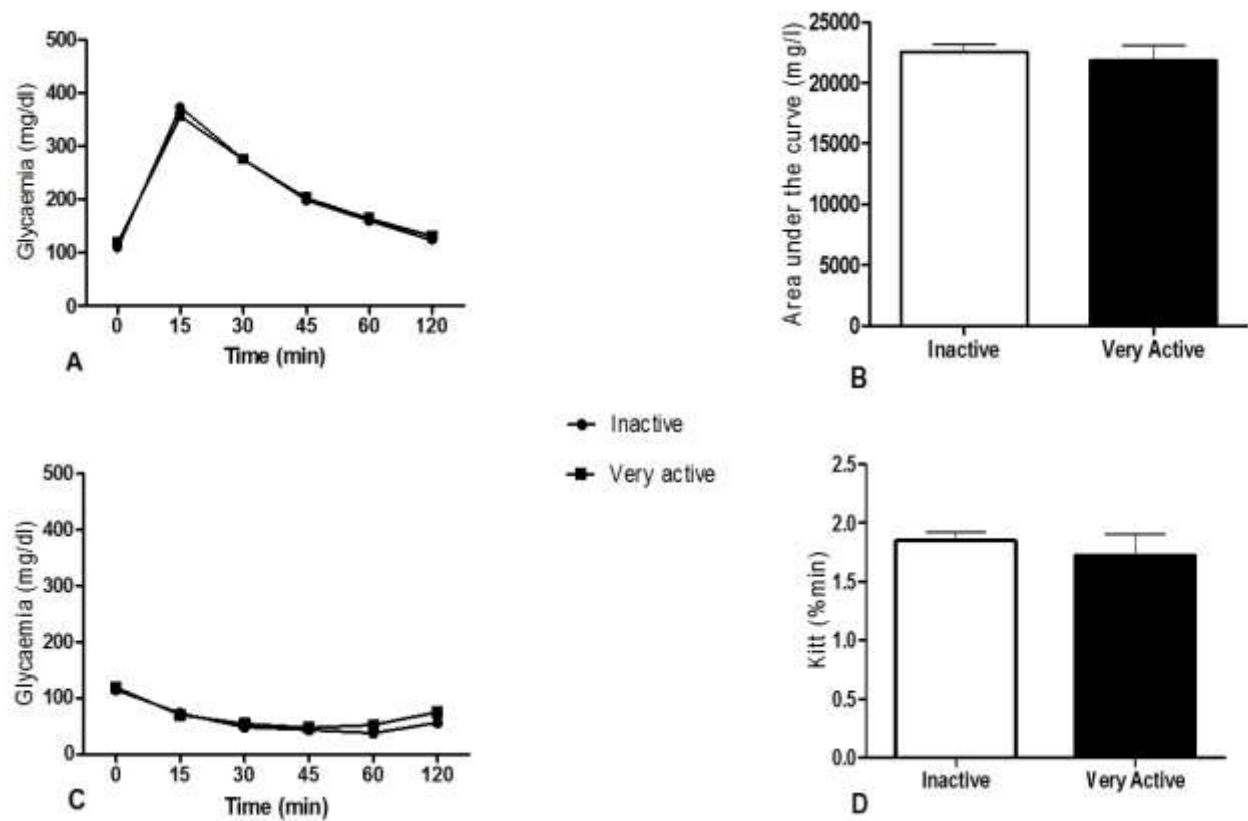
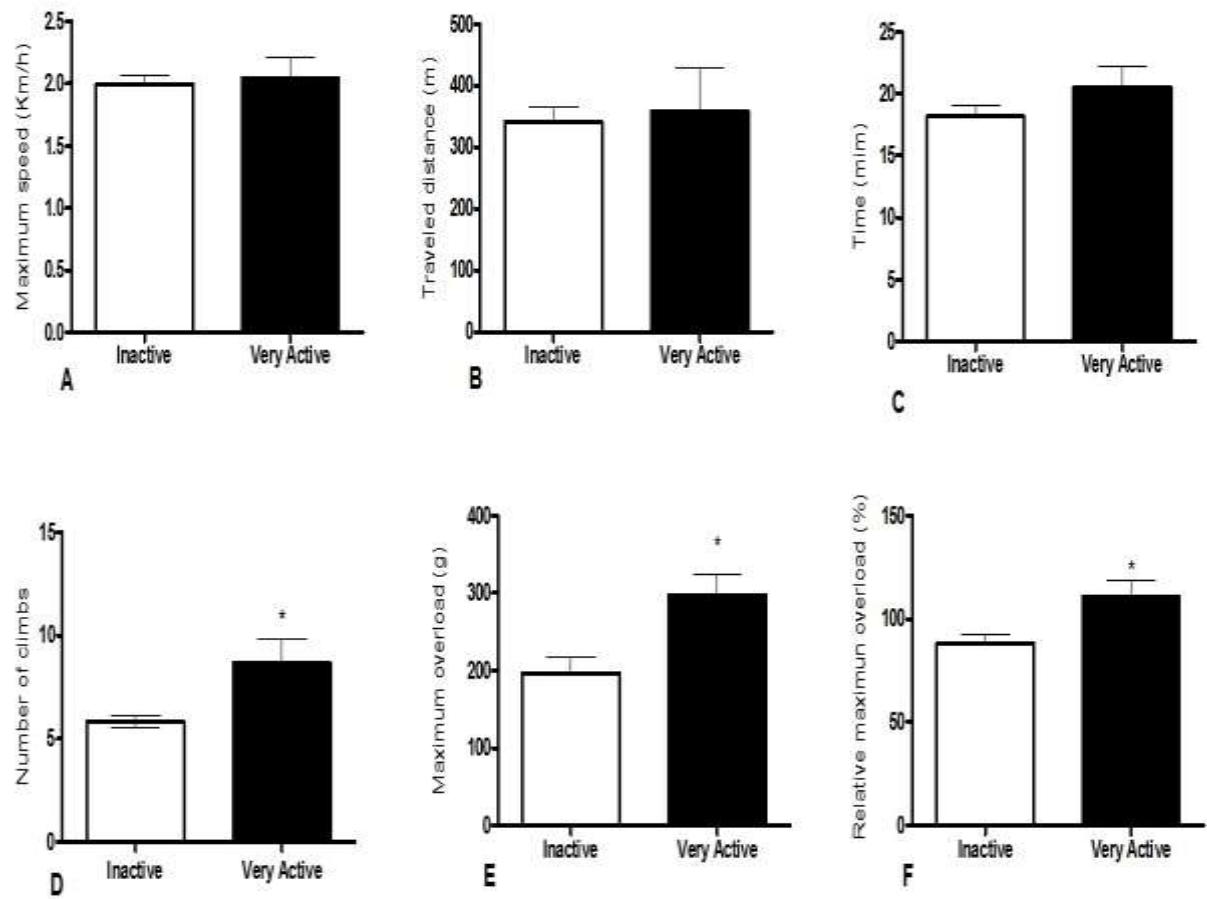


Figure 5

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabe-se que estímulos ambientais tais com exercício físico, durante a gestação, podem promover efeitos na prole (LEANDRO et al., 2007; AKSU et al., 2012). No presente estudo, tivemos como principal objetivo avaliar os efeitos da atividade física voluntária materna sobre a prole adolescente. Adotamos como hipótese a possibilidade de efeitos moduladores sobre o comportamento de ansiedade, captação de glicose e capacidade física da prole provenientes de mães ativas.

A atividade materna apresentou influência em alguns desses parâmetros. A prole adolescente muito ativa apresentou comportamentos ansiolíticos e aumentou a capacidade física de força no teste de sobrecarga máxima, no entanto, no perfil glicêmico não foi identificado nenhuma alteração. A prole muito ativa apresentou menor peso de gordura aos 70 dias. Desta forma, fornecemos resultados importantes à luz da plasticidade fenotípica sendo possível demonstrar que existe uma ligação da mãe com o filho e que esta pode ser indiretamente modulada pelo ambiente externo ao qual a mãe se submete durante a gestação.

Assim, se torna importante a continuação de estudos neste tema de modo a aumentar o cenário de evidências científicas nesta linha de pesquisa. Algumas perspectivas futuras vem sendo planejadas, são elas:

- Análise da expressão de genes relacionados ao controle de comportamentos de ansiedade na prole;
- Análise da expressão de IGF-1 no soro, córtex pré-frontal, hipocampo na prole.
- Avaliação de fibras musculares na prole.

Estas pesquisas poderiam complementar nosso trabalho e enriquecer a nossa hipótese com mais evidências científicas no assunto.

REFERÊNCIAS

- ANTONIO-SANTOS, J. et al. Resistance training alters the proportion of skeletal muscle fibers but not brain neurotrophic factors in young adult rats. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, Canada, v.30, n.12, p. 3531-3538, 2016.
- 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**, Canada, v. 516, n. 2, p. 221–225, 2012.
- ANDERSEN, L. L. et al. Changes in the human muscle force-velocity relationship in response to resistance training and subsequent detraining. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, Toronto, v. 99, n. 1, p. 87–94, 2005.
- BARCHUK, A. R. et al. Molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honeybee *Apis mellifera*. **BMC developmental biology**, London, v. 7, p. 70, 2007.
- BARKER, D. J. et al. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. **British Medical Journal (Clinical research ed.)**, London, v. 301, p. 259–262, 1990.
- BARKER, D. J. P. et al. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. **The Lancet**, London, September 9, p. 577–580, 1989.
- BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. **Journal of Internal Medicine**, London, v. 261, n. 5, p. 412–417, 2007.
- BAROUKI, R. et al. Developmental origins of non-communicable disease: implications for research and public health. **Environmental health : a global access science source**, Paris, v. 11, p. 42, 2012.
- BAYOL, S. et al. The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. **British Journal of Nutrition**, England, v. 91, n. 3, p. 331–339, 2004.
- BROMAN-FULKS, J. J. et al. Effects of aerobic exercise on anxiety sensitivity. **Behaviour Research and Therapy**, v. 42, n. 2, p. 125–136, 2004.
- BUNKAR, N. et al. Epigenetics: A key paradigm in reproductive health. **Clinical and Experimental Reproductive Medicine**, India, v. 43, n. 2, p. 59, 2016.
- CASPERSEN, C. J.; CHRISTENSON, G. M. Physical Activity , Exercise , and Physical Fitness, definitions and Distinctions for Health-Related Research. **Public Health Reports**. Atlanta, March-April , v.100, n 2, p. 136-131, 1985.
- CLAPP, J. F.; CAPELESS, E. L. The changing glycemic response to exercise during pregnancy. **American journal of obstetrics and gynecology**, Cleveland, v. 165, n. 6 Pt 1, p. 1678–83, 1991.

CLAPP, J.F. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and feto-placental growth. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, Cleveland, v.186, n.1, p. 80–85, 2003.

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

COSTELLO, P. M. et al. Peri-implantation and late gestation maternal undernutrition differentially affect fetal sheep skeletal muscle development. **The Journal of physiology**, London, v. 586, n. 9, p. 2371–9, 2008.

COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C.; CHRISTIE, L. A. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. **Trends in Neurosciences**, California, v. 30, n. 9, p. 464–472, 2007.

DAVIDSEN, P. K. et al. High responders to resistance exercise training demonstrate differential regulation of skeletal muscle microRNA expression. **System**, London, n. 32, p. 309–317, 2011.

DEBOER, M. D. et al. Early childhood growth failure and the developmental origins of adult disease: Do enteric infections and malnutrition increase risk for the metabolic syndrome? **Nutrition Reviews**, Oxford, v. 70, n. 11, p. 642–653, 2013.

DOBBING, J. The Influence of Early Nutrition on the Development and Myelination of the Brain. **Proceedings of the Royal Society of London: Biological Sciences**, London, v. 159, p. 503-509, 1964.

DOS SANTOS, J. M. et al. The effect of exercise on skeletal muscle glucose uptake in type 2 diabetes: an epigenetic perspective. **Metabolism**, England, v. 64, n. 12, p. 1619–28, 2015.

DUMAN, C. H. ET AL. Voluntary Exercise Produces Antidepressant and Anxiolytic Behavioral Effects in Mice. **Brain Research**, Connecticut, v. 454, n. 1, p. 42–54, 2007.

ERIKSSON, J. G. et al. Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study. **British Medical Journal (Clinical research ed.)**, Finland, v. 318, n. 7181, p. 427–431, 1999.

FALCÃO-TEBAS, F. et al. Efeitos do treinamento físico durante a gestação sobre a evolução ponderal, glicemia e colesterolemia de ratos adultos submetidos à desnutrição perinatal. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Recife, v. 18, n. 1, p. 58–62, 2012.

FANARA, J. J.; WERENKRAUT, V. Phenotypic plasticity in *Drosophila* cactophilic species : the effect of competition , density , and breeding sites. **Insect Science**, v.00, p. 1–9, 2016.

FEDEWA, M. V et al. Exercise and Insulin Resistance in Youth: A Meta-Analysis. **Pediatrics**, New York, v. 133, n. 1, p. E163–E174, 2014.

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**, England, n. 2013, p. 1–8, 2012.

GUERRERO-BOSAGNA, C.; SKINNER, AND M. K. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of phenotype and disease. **Molecular and Cellular Endocrinology Journal**, Washington v. 354, p. 3–8, 2013.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BEEDLE, A. S. Early life events and their consequences for later disease: A life history and evolutionary perspective. **American Journal of Human Biology**, London, v. 19, n. 1, p. 1–19, 2007.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, Cambridge, v. 35, n. 7, p. 595-601, Jul 1992.

HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, Canada, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004

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**, Korea, v. 25, n. 4, p. 243–249, 2007.

LAKER, R. C. et al. Short-term exercise training early in life restores deficits in pancreatic β -cell mass associated with growth restriction in adult male rats. **AJP: Endocrinology and Metabolism**, Australia, v. 301, n. 31, p. E931–E940, 2011.

LEANDRO, C.G. et al. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. **Journal of Strength and Conditioning Research**, Canada, v. 21, n.3, p. 38-43, 2007.

LEANDRO, C. G. et al. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. **European Journal of Nutrition**, v. 51, n. 7, p. 807–815, 2012a.

LEANDRO, C. G. et al. Maternal moderate physical training during pregnancy attenuates the effects of a low-protein diet on the impaired secretion of insulin in rats: Potential role for compensation of insulin resistance and preventing gestational diabetes mellitus. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, 2012b.

LILLYCROP, K. A. et al. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. **The Journal of Nutrition**, London, v. 135, n. 6, p. 1382–1386, 2005.

LIU, J. et al. Melatonin potentiates running wheel-induced neurogenesis in the dentate gyrus of adult C3H/HeN mice hippocampus. **Journal of Pineal Research**, New York, v. 54, n. 2, p. 222–231, 2013.

LOPES DE SOUZA, S. et al. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **Eur J Neurosci**, v. 27, n. 6, p. 1400-1408, Mar 2008.

- LUNDBAEK, K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. **British medical journal**, England, v. 1, n. 5291, p. 1507–13, 1962.
- MATHERS JC. Early nutrition: impact on epigenetics. **Forum of Nutrition**, England, v. 3. 60, p. 42-48, 2007.
- MARCOLIN, M. DE L. et al. Effects of early life interventions and palatable diet on anxiety and on oxidative stress in young rats. **Physiology and Behavior**, Canada, v. 106, n. 4, p. 491–498, 2012.
- MCGEE, S. L. et al. Exercise - induced histone modifications in human skeletal muscle. **The Journal Physiology**, London, v. 587, n. 24, p. 5951–5958, 2009.
- NOVELLI, E. L. B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v.41, p.111-119, 2007.
- PHAM, T. D. et al. Uteroplacental insufficiency increases apoptosis and alters p53 gene methylation in the full-term IUGR rat kidney. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, Los Angeles, v. 285, n. 5, p. R962-70, 2003.
- POLLACK, R. N.; DIVON, M. Y. Intrauterine growth retardation: definition, classification, and etiology. **Clinical obstetrics and gynecology**, v. 35, n. 1, p. 99–107, 1992.
- RAIPURIA, M.; BAHARI, H.; MORRIS, M. J. Effects of maternal diet and exercise during pregnancy on glucose metabolism in skeletal muscle and fat of weanling rats. **PLoS ONE**, Australia, v. 10, n. 4, p. 1–14, 2015.
- RASMUSSEN, M.; ZIERATH, J. R.; BARR??S, R. Dynamic epigenetic responses to muscle contraction. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 7, p. 1010–1014, 2014.
- RAVELLI, A C. J. et al. Glucose-tolerance in adults after prenatal exposure to famine. **The Lancet**, London, v. 351, p. 173–177, 1998.
- RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **New England Journal of Medicine**, London, v. 295, n. 7, p. 349–353, 1976.
- REEVES, P. G.; SUPPL, M. Symposium : Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research. **Experimental Biology**, Whashington, p. 838–841, 1997.
- 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. R1134-41, 2011.
- SANGHANI, N. B. et al. Impact of lifestyle modification on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. **Indian journal of endocrinology and metabolism. The Journal of clinical Endocrinology and Metabolism**, England, v. 17 , p. 1030-9, 2013.
- SANTANA MUNIZ, G. et al. Active maternal phenotype is established before breeding

and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. **Physiology and Behavior**, Canada, v. 129, p. 1–10, 2014.

SANTOS, J. M.; TEWARI, S.; BENITE-RIBEIRO, S. A. The effect of exercise on epigenetic modifications of PGC1: The impact on type 2 diabetes. **Medical Hypotheses**, London, v. 82, n. 6, p. 748–753, 2014.

SANTOS, J. . Resistance training alters the proportion of skeletal muscle fibers but not brain neurotrophic factors in young adult rats. **Medical Hypotheses**, London, v. 30, n. 12, p. 3531–3537, 2016.

SIMON, V. G. N. et al. Breastfeeding, complementary feeding, overweight and obesity in pre-school children. **Revista de saude publica**, Philadelphia, v. 43, n. 1, p. 60–69, 2009.

SHEPHERD, P. R.; KAHN, B. B. Mechanisms of disease - Glucose transporters and insulin action - Implications for insulin resistance and diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, England, v. 341, n. 4, p. 248–257, 1999.

SUH, S. et al. Effects of resistance training and aerobic exercise on insulin sensitivity in overweight korean adolescents: a controlled randomized trial. **Diabetes Metabolism Journal**, v. 35, n. 4, p. 418–426, 2011.

TABOADA, H. G. et al. Morphological variation in Homo erectus and the origins of developmental plasticity. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**. London, v. 371, p.1698, 2016.

TREJO, J. L.; LLORENS-MARTÍN, M. V.; TORRES-ALEMÁN, I. The effects of exercise on spatial learning and anxiety-like behavior are mediated by an IGF-I-dependent mechanism related to hippocampal neurogenesis. **Molecular and Cellular Neuroscience**, n. December, p. 191–198, 2000.

VOLLERT, C. et al. Exercise prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: Potential role of oxidative stress mechanisms. **Behavioural Brain Research**, Texas, v. 224, n. 2, p. 233–240, 2011.

WALTON, R. G. et al. Insulin-resistant subjects have normal angiogenic response to aerobic exercise training in skeletal muscle, but not in adipose tissue. **Physiological Reports**, Lexington, v. 3, n. 6, p. e12415–e12415, 2015.

WEST-EBERHARD, M. J. Phenotypic plasticity and the origin of diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 20, p. 249–278, 1989.

WEST-EBERHARD, M. J. Developmental plasticity and the origin of species differences. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 2, p. 6543–6549, 2005.

WOODS, L. L. et al. Maternal protein restriction suppresses the newborn renin-angiotensin system and programs adult hypertension in rats. **Pediatric research**, Oregon, v. 49, n. 4, p. 460–7, 2001.

ANEXO - TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 14 de agosto de 2014.

Ofício nº 41/14

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Raquel da Silva Aragão**
Núcleo de Educação Física
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.016575/2014-70

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, "*Atividade Física Voluntária e s Desnutrição Protéica Maternas: Influências Sobre o Perfil Bioquímico Sanguíneo, A Morfologia de Órgãos e o Metabolismo Energético da Prole Adulta*".

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 do Departamento de Nutrição - CCS/UFPE; Animais: ratos heterogênicos; Linhagem: Wistar, Sexo: machos e fêmeas; Peso: 220-260g (reprodutores). 5-8g (filhotes ao nascimento), Idade: 90 dias; Número de animais previsto no protocolo: 168.

Atenciosamente,

Profa. Marcia Vasconcelos
Vice-Presidente do CEUACCB-UFPE
SUAPE 2106035

CCB: Integrar para desenvolver