



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

SUÊNIA MARCELE VITOR DE LIMA

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E ELETROFISIOLÓGICOS EM
RATAS E SUA PROLE**

**RECIFE
2021**

SUÊNIA MARCELE VITOR DE LIMA

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E ELETROFISIOLÓGICOS EM
RATAS E SUA PROLE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de doutora em nutrição.

Área de concentração: Bases experimentais da nutrição.

Orientadora: Prof.^a Dra. Carol Virgínia Góis Leandro

Coorientador: Prof. Dr. Rubem Carlos Araújo Guedes

RECIFE
2021

Catálogo na fonte:
Elaine Freitas, CRB4:1790

L732e	<p>Lima, Suênia Marcele Vitor de Efeito da atividade física voluntária materna sobre parâmetros comportamentais e eletrofisiológicos em ratas e sua prole / Suênia Marcele Vitor de Lima . – 2022. 84 p. ; il.</p> <p>Orientadora: Carol Virgínia Góis Leandro. Coorientador: Rubem Carlos Araújo Guedes. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2022.</p> <p>Inclui referências e anexos.</p> <p>1. Atividade física voluntária. 2. Ansiedade. 3. Memória. 3. Depressão alastrante cortical. 4. Ratos. I. Leandro, Carol Virgínia Góis (orientadora) II. Guedes, Rubem Carlos Araújo. (coorientador). III. Título.</p> <p>612.3 CDD (23.ed.)</p> <p>UFPE (CCS 2022 - 108)</p>
-------	--

SUÊNIA MARCELE VITOR DE LIMA

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E ELETROFISIOLÓGICOS EM
RATAS E SUA PROLE**

Aprovada em: 06 / 08 / 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Carol Virginia Góis Leandro (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Rubem Carlos Araújo Guedes (Co-orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Diogo Antonio Alves de Vasconcelos (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr^a. Cássia Borges Lima de Castro (Examinador Externo)

Prof. Dr^a. Jéssica Priscila Fragoso de Moura (Examinador Externo)
Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA/UNICAMP

Prof. Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes (Examinador Externo)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr^a. Ângela Amâncio dos Santos (Examinador Externo)
Departamento de Fisiologia e Farmacologia / UFPE

AGRADECIMENTOS

Primeiro de tudo, à Deus por plantar em mim o desejo de concluir essa tese e satisfazê-lo.

À minha mãe Marcela e ao meu pai Gilson por tudo. Pelo amor, pela perseverança, pelo exemplo de fé e alegria, pelas palavras de incentivo, pelo cuidado e atenção, pelo investimento financeiro na minha vida.

Ao meu esposo Marcos Lima, meu amor e gratidão por acreditar que tudo seria possível, por alimentar minha fé. Nisso e em tudo, você foi e sempre será meu melhor amigo, meu conselheiro mais sábio.

À toda minha família: irmão, sogro, sogra, cunhado, sobrinho, tios e tias, vós e vós, primos e primas; obrigada pelas palavras de encorajamento e por entenderem a minha ausência nos muitos momentos que precisei me dedicar aos estudos.

Aos meus pastores Emídio e Verônica Lucena, aos amigos e irmãos da Igreja Verbo da Vida em Paulista-PE, família da fé, a qual amo e honro. Suas orações e incentivo foram imprescindíveis para a realização desta etapa em minha vida.

À minha orientadora, prof^a Dr^a Carol Leandro, muito obrigada por acreditar que eu daria conta das responsabilidades que envolveram esta tese. Por se esforçar em dar toda assistência que precisei e ser presente, mesmo diante dos gigantes compromissos. Para mim foi uma grande honra ser orientada pela senhora que é uma mulher forte, inteligente, apaixonada e compromissada com a pesquisa e ensino.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Rubem Guedes, agradeço pelo comprometimento com minha formação científica desde o terceiro período de graduação, abrindo as portas do LAFFINT (Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio) para minha iniciação na pesquisa científica. Minha eterna gratidão pelos vários bons exemplos demonstrados ao longo desses anos, por ter me conduzido de maneira tão sábia, me incentivando, orientando e sempre me ajudando na execução dos experimentos, análise dos resultados, correção de relatórios, dissertação, tese e

artigos. O senhor é um exemplo de dedicação no que faz, comprometido com a justiça, honestidade, empatia, solidariedade e excelência no ensino e pesquisa.

À professora Dra. Gisélia Muniz por ter tido a sensibilidade, respeito e atenção para comigo e a tese. Serei eternamente grata por ter me ajudado, intermediando os trâmites burocráticos para a execução dos ajustes necessários à implantação de um biotério adequado para os animais dessa tese, além das valiosas orientações.

À todos os amigos do LAFINNT, estagiários, mestrandos e doutorandos, que de alguma forma contribuíram para a realização dessa pesquisa. Agradecer aos amigos Jéssica Fragoso e Gerfferson Martins pelo suporte e orientações valiosas. Estender minha gratidão a minha amiga/irmã Lisianny Ferreira, por compartilhar comigo das vitórias e frustrações que nos acompanharam ao longo da jornada do mestrado e doutorado, te amo minha amiga!!! Foi muito trabalho, mas em um ambiente tranquilo, de respeito e cooperação mútua, tudo se tornou mais leve e prazeroso.

Aos estagiários que passaram deixando suas contribuições no desenvolvimento desta tese: Andressa, Bruna e Erik. E aos que permaneceram até o fim: Izaura e Luísa, minha eterna gratidão pelo auxílio técnico nos experimentos, e por garantir o bem estar dos animais e das condições padrão do biotério. É um trabalho árduo, mas vocês tornaram menos laborioso.

Gostaria também de agradecer aos professores que fizeram parte da banca examinadora deste projeto de tese. Obrigada pelas riquezas de informações e orientações para a execução da versão final desta tese.

Ao programa de pós-graduação em nutrição da UFPE, representado pelo excelente corpo docente que contribuíram para a minha formação acadêmico-científica, bem como pelas funcionárias administrativa Cecília Arruda e Andréa Nascimento, além das coordenadoras: Prof^a Dr^a Ilma Kruze e Prof^a Dr^a Thayza Stamford, obrigada pela competência na execução de suas funções.

Aos funcionários do departamento de graduação e pós-graduação em nutrição, em especial, ao técnico do Biotério Sr. Edeones França, pelo apoio técnico excepcional.

Aos animais, parte fundamental desse trabalho, obrigada por suas contribuições à ciência.

Ao órgão de fomento CNPq e Capes pelo auxílio financeiro concedido, que foi de fundamental importância para o desenvolvimento desta tese.

Meus sinceros agradecimentos, a todos que foram de alguma forma responsáveis por essa vitória tão esperada ao longo desses quatro anos. Que Deus os retribua com louvor.

RESUMO

Investigamos o efeito da atividade física voluntária materna sobre parâmetros comportamentais (ansiedade e memória) e eletrofisiológicos (depressão alastrante cortical - DAC) tanto em ratas quanto sua prole. Ratas da linhagem *Wistar* ($n = 33$) foram alojadas individualmente em gaiolas de atividade física voluntária, contendo cicloergômetro (roda de corrida). Nessas gaiolas foram acoplados ciclocomputadores que permitiram o registro da distância percorrida, estimativa do gasto calórico e tempo de atividade. As ratas passaram por um período de adaptação (30 dias), recebendo neste período dieta de manutenção (AIN-93M). Posteriormente, foram classificadas de acordo com o nível diário de atividade física em: Inativas ($n=8$), Ativas ($n = 11$) e Muito Ativas ($n = 14$). Após período de adaptação, foram acasaladas e ao confirmar gestação, as ratas se mantiveram com acesso à vontade ao cicloergômetro até o 14^a dia de lactação. Enquanto gestantes e lactantes, as ratas receberam dieta recomendada para esta fase da vida (AIN-93G). Seguido o desmame, todas as ratas mães foram testados comportamentalmente no labirinto em cruz elevado, campo aberto e nos testes de reconhecimento espacial e forma do objeto. Após realização de todos os testes comportamentais, registrou-se a DAC. Dois filhotes, um macho e uma fêmea de cada rata, ao completarem 60 dias de idade, foram submetidos aos testes comportamentais de ansiedade e memória, seguidos pelo registro eletrofisiológico da DAC, com idade entre 70 e 80 dias. Nossos resultados demonstraram que a atividade física voluntária materna antes da gestação até a lactação induziu comportamento menos ansioso, melhor retenção de memória e foi capaz de modular os parâmetros eletrofisiológicos da DAC, exibindo velocidades de propagação menores tanto nas ratas muito ativas quanto em seus respectivos filhotes. Tomados em conjunto, concluímos que a atividade física materna pode ser uma estratégia efetiva em melhorar sintomas de ansiedade, de comprometimento da memória, bem como modular excitabilidade cortical e possíveis patologias associadas.

Palavras-chave: Atividade física voluntária; ansiedade; memória; depressão alastrante cortical; ratos.

ABSTRACT

In the present study, we investigated the effect of voluntary maternal physical activity (n =33) were housed individually in voluntary physical activity cages, containing a cycle ergometer (running wheel). Cyclocomputers were attached to these cages, which allowed recording of the distance covered, estimation of caloric expenditure and time of activity. The rats went through an adaptation period (30 days), receiving in this period maintenance diet (AIN-93M). Subsequently, they were classified on behavioral (anxiety and memory) and electrophysiological (cortical spreading depression - CSD) parameters in both female rats and their offspring. Female Wistar rats according to the daily level of physical activity as Inactive (n=8), Active (n =11) and Very Active (n =14). After an adaptation period, they were mated and when pregnancy was confirmed, the rats remained with free access to the cycle ergometer until the 14th day of lactation. While pregnant and lactating, the rats received the recommended diet for this stage of life (AIN-93G). Following weaning, all mother rats were behaviorally tested in the elevated plus maze, open field and in the spatial recognition and object shape tests. After performing all behavioral tests, CSD was recorded. Two pups, one male and one female of each female rat, upon completing 60 days of age, were submitted to behavioral tests of anxiety and memory, followed by electrophysiological recording of CSD, aged between 70 and 80 days. Our results demonstrated that maternal voluntary physical activity before pregnancy until lactation induced less anxious behavior, better memory retention and was able to modulate the electrophysiological parameters of CSD, exhibiting lower propagation rates in both very active rats and their respective offspring. Taken together, these results indicate that maternal physical activity can be an effective strategy in improving symptoms of anxiety, memory impairment, as well as modulating cortical excitability and possible associated pathologies.

Keywords: Voluntary physical activity; anxiety; memory; cortical spreading depression; rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Efeitos benéficos da atividade física sobre o desenvolvimento cerebral pré e pós-natal	26
Figura 2 - Sequência temporal cíclica de eventos da DAC	27
Figura 3 - Gaiola de atividade física voluntária	33
Figura 4 - Desenho experimental	37
Figura 5 - Representação esquemática do campo aberto	39
Figura 6 - Representação esquemática dos testes de reconhecimento espacial e da forma do objeto	40
Figura 7 - Representação esquemática do labirinto em cruz elevado	41
Figura 8 - Esquema do registro eletrofisiológico da DAC	42
Figure 9 - Parâmetros de atividade física voluntária durante período de adaptação	45
Figure 10 - Parâmetros de atividade física voluntária durante período de gestação e lactação	46
Figure 11 - Atividade comportamental ansiolítica no teste de campo aberto	48
Figura 12 - Tempo de exploração no teste de reconhecimento de objetos	49
Figura 13 - Atividade comportamental no teste de labirinto em cruz elevado	50
Figura 14 - Resultado dos parâmetros da DAC	52
Figura 15 - Pesos corporais dos filhotes adultos jovens (60-70dias)	54
Figura 16 - Atividade comportamental e locomotora no teste de campo aberto dos filhotes	55
Figura 17 - Testes da memória de reconhecimento da posição espacial e da forma de objetos	56
Figura 18 - Atividade comportamental no teste de labirinto em cruz elevado dos filhotes	57
Figura 19 - Velocidades da DAC dos filhotes	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos envolvendo exercício físico e DAC	29
Tabela 2 - Classificação dos grupos experimentais	35
Tabela 3 - Composição das dietas	36
Tabela 4 - Peso corporal e ingestão alimentar materna	47
Tabela 5 - Amplitude e Duração da variação negativa lenta do potencial da DAC	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	O IMPACTO DO AMBIENTE NUTRICIONAL MATERNO SOBRE O NEURODESENVOLVIMENTO	17
2.2	EFEITOS BENÉFICOS DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL	19
2.3	IMPLICAÇÕES DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE O SISTEMA NERVOSO MATERNO E DA PROLE	22
2.4	DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL	27
3	HIPÓTESE	31
4	OBJETIVOS	32
4.1	OBJETIVO GERAL	32
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
5	MATERIAIS E MÉTODOS	33
5.1	ANIMAIS	33
5.2	AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO PONDERAL DAS RATAS E FILHOTES	38
5.3	AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR DAS RATAS	39
5.4	TESTES COMPORTAMENTAIS	39
5.5	ANÁLISE ELETROFISIOLÓGICA DA DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL	43
5.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
6	RESULTADOS	45
6.1	RESULTADOS A PARTIR DAS ANÁLISES REALIZADAS NAS RATAS INATIVAS, ATIVAS E MUITO ATIVAS	45
6.2	RESULTADOS A PARTIR DAS ANÁLISES REALIZADAS NOS FILHOTES DAS RATAS MÃES INATIVAS, ATIVAS E MUITO ATIVAS	55
7	DISCUSSÃO	60
8	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66
	ANEXO A - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL	82

ANEXO B – PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PIBIC)	83
DESENVOLVIDO A PARTIR DA PRESENTE TESE	
ANEXO C – SUBMISSÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO	84

1 INTRODUÇÃO

Em mamíferos, os períodos iniciais da vida (gestação, lactação e primeira infância) são considerados críticos para o desenvolvimento dos diversos sistemas orgânicos devido à rápida proliferação e diferenciação celular (MORGANE, 2002). Nestes períodos, o organismo fica mais suscetível a estímulos ambientais gerando respostas adaptativas que se refletem em alterações morfológicas, fisiológicas e/ou comportamentais (DOBBING, 1964). Essa capacidade de gerar respostas adaptativas ocorre devido a um fenômeno biológico chamado de plasticidade fenotípica, que se refere à expressão de diferentes fenótipos a partir de um mesmo genótipo pela interação entre o gene e sob influência de diferentes condições ambientais (WEST-EBERHARD, 1989).

Uma nutrição equilibrada, principalmente durante os períodos críticos para o desenvolvimento, é indispensável para um adequado crescimento e desenvolvimento do feto. Em modelos animais, a má nutrição, produzida pela técnica que utiliza dieta hipoproteica, durante o período gestacional foi capaz de provocar menor peso corporal e menor eixo latero-lateral e antero-posterior do crânio da prole ao nascimento, e atrofia muscular aos 25 dias de vida (TOSCANO, MANHAES-DE-CASTRO e CANON, 2008; FIDALGO et al., 2010; FALCAO-TEBAS et al., 2012; LAKER et al., 2014). Déficit em indicadores de crescimento somático, retardou o aparecimento das características físicas (abertura do conduto auditivo e abertura dos olhos) e a ontogenia dos reflexos na prole de ratas alimentadas com dieta hipoproteica durante a lactação (FALCAO-TEBAS et al., 2012).

Atividade física em contrapartida, pode promover adaptações benéficas às mudanças que ocorrem durante a gestação, como o fortalecimento muscular, prevenindo dores lombares, correções das alterações posturais, controle do acréscimo natural do peso, controle da termorregulação corpórea e prevenção de doenças associadas à gravidez, tais como hipertensão arterial sistêmica, diabetes gestacional e pré-eclâmpsia (NASCIMENTO, SURITA, CECATTI, 2012; VASCONCELOS et al., 2020; YONG et al., 2020).

Evidências clínicas relevantes apontam que os benefícios da atividade física impactam não apenas a neurobiologia e comportamento materno, mas também o neurodesenvolvimento pré e pós-natal da prole (ANDOH et al., 2019). Em humanos,

atividade física materna melhora o crescimento do feto e da placenta, promove o desenvolvimento do cérebro, a conectividade e aumenta as funções cognitivas dos filhos em fases mais tardias da vida (ESTEBAN-CORNEJO *et al.*, 2016). Estudos mostram que crianças de mães ativas tiveram pontuações mais altas em desempenho acadêmico (matemática e linguagem) do que aquelas de mães sedentárias (CLAPP, LOPEZ, HARCAR-SEVCIK, 1999; ESTEBAN-CORNEJO *et al.*, 2016). A atividade física materna, incluindo corrida, yoga, levantamento de peso e atividade aeróbica durante a gravidez, melhorou as habilidades de linguagem dos filhos avaliados quando tinham 15 meses de idade, indicando um efeito neuroplástico duradouro induzida pela atividade física materna em humano (JUKIC *et al.*, 2013).

Modelos experimentais de exercício físico em roedores, têm demonstrado que tanto as mães quanto sua prole se beneficiam com treinamento físico materno durante a gestação (5 dias por semana, 60 min dia⁻¹, a 40-70% da captação máxima de oxigênio), melhorando o consumo de oxigênio em repouso nas mães e atenuando o impacto de uma dieta pobre em proteínas (8% de proteína) sobre o desenvolvimento somático e ontogenia reflexa em ratos descendentes (FALCÃO-TEBAS *et al.*, 2012; LEANDRO *et al.*, 2012; FIDALGO *et al.*, 2013).

A atividade física voluntária materna antes e durante a gestação, bem como no período da lactação, tem sido considerada um importante indutor de adaptação fenotípica benéfica para a prole (YAU *et al.*, 2019). Estudos mostraram que a atividade física voluntária (no cicloergômetro) durante 30 dias antes do acasalamento até a lactação demonstrou maiores resultados de trajetória de crescimento e ontogenia reflexa (maior eixo lateral-lateral do crânio, eixo longitudinal, comprimento da cauda e antecipação do pavilhão e do canal auditivo, abertura e erupção dos incisivos) em filhotes de mães ativas em comparação com mães inativas (SANTANA-MUNIZ *et al.*, 2014).

Seguindo este mesmo protocolo de atividade física voluntária, Fragoso *et al.*, (2017), mostraram que a atividade voluntária materna, antes e durante a gestação, atenuou os efeitos nocivos da dieta hipoproteica materna (dieta com 8% de caseína) sobre o crescimento somático, ontogenia reflexa, atividade locomotora (avaliada em campo aberto) e o peso corporal dos filhotes com 60 dias de vida. Os mecanismos subjacentes podem estar relacionados à regulação positiva da expressão gênica dos fatores neurotróficos (NTFs) em diferentes áreas do cérebro da mãe (cerebelo,

hipotálamo, hipocampo e córtex), e da placenta (FRAGOSO *et al.*, 2019). Está bem estabelecido que a atividade física pode elevar os níveis circulantes de NTFs, ao quais têm propriedades neurotróficas, neuroprotetoras e cognitivamente benéficas (WALSH *et al.*, 2020; YAU *et al.*, 2019).

Outros mecanismos neuroprotetores induzidos pela atividade física voluntária em modelos animais, incluem àquelas ligadas à neurogênese aprimorada e plasticidade estrutural e sináptica do hipocampo, as quais são conhecidas por melhorar o aprendizado e a memória, e reduzir o comportamento depressivo (JACOTTE-SIMANCAS, *et al.*, 2015; YAU *et al.*, 2019). Embora tem sido estabelecido os benefícios da atividade física voluntária sobre parâmetros da neuroplasticidade estrutural e comportamental, não há estudos avaliando o padrão eletrofisiológico, avaliada por meio da depressão alastrante cortical (DAC).

Estudos têm comprovado que variáveis do tipo farmacológicas, hormonais e nutricionais podem alterar a excitabilidade do córtex cerebral, tornando-o mais suscetível ou mais resistente à propagação deste fenômeno eletrofisiológico. Esses estudos têm avaliado para além das alterações sobre o fenômeno da DAC, parâmetros bioquímicos, comportamentais e imunohistoquímicos (GUEDES e ABADIE-GUEDES, 2019; FRANCISCO *et al.*, 2019; BENEVIDES, *et al.*, 2020).

A DAC pode ser de grande utilidade para avaliar as repercussões que a atividade física materna voluntária pode promover sobre o sistema nervoso, tanto da mãe quanto da sua prole, tendo em vista o fato de outros modelos experimentais de exercício físico (natação e esteira ergométrica), já demonstrarem influenciar a excitabilidade cortical, levando uma resistência do tecido cerebral a propagação do fenômeno (VITOR-DE LIMA *et al.*, 2017; SILVA-GONDIM *et al.*, 2017). No entanto, esses prévios estudos usaram um protocolo de exercício físico forçado, e a atividade física voluntária materna é um modelo de atividade mais similar aos padrões realizados em humanos, por levar em consideração a livre e espontânea vontade do animal (neste estudo, o rato Wistar), o qual tem sido útil para entender as respostas adaptativas ao exercício (MANZANARES, BRITO-DA-SILVA, GANDRA, 2018).

Assim, utilizamos com inovação, o modelo experimental de atividade física voluntária em ratas antes da gestação até a lactação, para investigar as mudanças comportamentais e eletrofisiológicas induzidas pela atividade física, tanto nas ratas mães quanto parte de sua prole. Em conjunto com estudos anteriores, levantamos a

hipótese de que atividade física voluntária materna reduz o comportamento de ansiedade, melhora a memória e desacelera os parâmetros da DAC nas mães.

Assim, o objetivo principal do presente estudo foi avaliar os efeitos da atividade física voluntária materna sobre os parâmetros comportamentais de ansiedade por meio do teste do labirinto em cruz elevado e do teste de campo aberto. Adicionalmente, avaliou-se a retenção da memória de curto prazo com base no desempenho no teste de reconhecimento espacial e da forma do objeto. Registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical no córtex cerebral foi avaliado como indicativo de mudanças induzidas pela atividade voluntária sobre a excitabilidade cortical.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O IMPACTO DO AMBIENTE NUTRICIONAL MATERNO SOBRE O NEURODESENVOLVIMENTO

O sistema nervoso central (SNC) dos mamíferos é organizado em várias regiões anatômicas que se interconectam para controlar traços comportamentais complexos (MOLNÁR, *et al.*, 2019). Vários fatores maternos atingem o embrião em desenvolvimento via placenta ou sangue e controlam a proliferação, migração, diferenciação, maturação e sobrevivência / morte das células (MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002). Os períodos compreendidos pela gestação, lactação e primeira infância, são considerados críticos para o neurodesenvolvimento, pois o organismo fica mais suscetível e, como resultado de insultos, pode dá origem a distúrbios, tais como, esquizofrenia, autismo e epilepsia (ESTES E MCALLISTER, 2016; SCHMITT *et al.*, 2014; VAN DEN BERGH *et al.*, 2018).

Essa capacidade de gerar respostas adaptativas ocorre devido a um fenômeno biológico chamado de plasticidade fenotípica, que se refere à expressão de diferentes fenótipos a partir de um mesmo genótipo pela interação entre o gene e sob influência de diferentes condições ambientais (WEST-EBERHARD, 1989). Essa associação parece estar relacionada a mecanismos epigenéticos, que resultam em alterações no epigenoma com conseqüente efeito sobre a expressão de genes, tais como a metilação do DNA, modificações nas histonas e expressão de microRNAs, sem que ocorram alterações na sequência do DNA (WELLS, 2010; MARTIN-GRONERT E OZANNE, 2012; SEKI, 2012). Dada a complexidade do neurodesenvolvimento, diferentes insultos maternos podem produzir uma variedade de fenótipos que devem depender do tipo de insulto e do período de desenvolvimento (VANSISTHA e KHODOSEVICH, 2021).

Fatores estressores durante a gestação podem atingir o feto e comprometer a barreira transplacentária, aumentando sua permeabilidade aos hormônios, citocinas e outros mediadores inflamatórios, que podem prejudicar o crescimento e a função endócrina da placenta, comprometendo o transporte de nutrientes ao feto (BRONSON e BALE, 2016). Assim, os glicocorticóides associados ao estresse podem afetar dramaticamente o crescimento fetal e levar à hiperatividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e ansiedade na vida pós-natal (SECKL e HOLMES, 2007).

Uma nutrição equilibrada, principalmente durante os períodos críticos para o desenvolvimento, é indispensável para um adequado crescimento e desenvolvimento cerebral do feto (VANSISTHA e KHODOSEVICH, 2021). Em modelos animais, a desnutrição nas suas diferentes formas, pode ser produzida por métodos distintos, como: dietas com baixo teor de proteína, ou com quantidade insuficiente de alimento de boa qualidade, ou pela competição dos filhotes pelo leite materno quando são amamentados em ninhadas de tamanho grande, ou pela remoção dos filhotes da companhia materna (mantendo-os metade do dia com fêmeas não-lactantes ou em uma incubadora), ou cauterização de alguns mamilos da mãe, reduzindo assim a oferta do leite (CRNIC, 1980).

A desnutrição induzida por deficiência proteica, significa menos blocos (aminoácidos) de construção e menos energia, razão pela qual a restrição proteica em ratas, durante o período gestacional é capaz de provocar menor peso corporal e menor eixo laterolateral e anteroposterior do crânio da prole ao nascimento, e atrofia muscular aos 25 dias de vida (TOSCANO, MANHAES-DE-CASTRO e CANON, 2008; FIDALGO *et al.*, 2010). Estendendo a restrição proteica para o período de lactação, significativo déficit em indicadores de crescimento somático, retardou o aparecimento das características físicas (abertura do conduto auditivo e abertura dos olhos) e a ontogenia dos reflexos na prole durante a lactação (FALCAO-TEBAS *et al.*, 2012).

A restrição alimentar durante gestação e lactação, não resulta apenas em distúrbios nos parâmetros bioquímicos e metabólicos (ZAMBRANO *et al.*, 2006), mas também em anormalidades anatômicas e funcionais do SNC (PACAGNELLA *et al.*, 2013; AKITAKE *et al.*, 2014). Essas alterações estão associadas a um reduzido número de neurônios, perda de espinhas dendríticas e contatos sinápticos, além de atrofia do pericário e comprometimento na mielinização que, por sua vez, se relacionam com modificações relevantes em neurogênese, migração e conectividade sináptica (SALAS *et al.*, 2015; TORRERO *et al.*, 2014). Tais insultos contribuem para o retardo na diferenciação celular, o que pode atrasar a maturação dos circuitos corticais e, por sua vez, induzir deficiências comportamentais na aprendizagem e memória (GOULD *et al.*, 2018). Adicionalmente, a desnutrição proteica pré-natal foi capaz de causar alterações na morfologia de células hipocâmpais (MORGANE *et al.* 2002; KING *et al.*, 2004) e proliferação celular glial (MENDONÇA *et al.*, 2004) bem como nos sistemas de neurotransmissão serotoninérgico e noradrenérgico (SEIDLER *et al.*, 1990; MOKLER *et al.*, 2003).

Deficiências nutricionais podem ocasionar a produção excessiva de radicais livres no tecido cerebral (GUEDES *et al.*, 1996; EL-BACHÁ *et al.*, 1998) e dano oxidativo a macromoléculas nas regiões do córtex, hipocampo e cerebelo (FEOLI *et al.*, 2005), bem como alterações eletrofisiológicas a longo prazo (FRÍAS *et al.*, 2010). Ferreira, *et al.*, (2015; 2016), mostraram que a restrição proteica materna aumentou peroxidação lipídica e diminuiu a atividade de várias enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione reductase) nos filhotes avaliados imediatamente após o desmame e na vida adulta.

O estado nutricional materno desequilibrado pode interferir com o desenvolvimento cerebral dos filhotes (SABLE *et al.*, 2015). Por exemplo, ratos expostos a dieta rica em gordura saturada (High Fat Diets – HFD), durante a gestação e pós-desmame apresentou disfunções na expressão de genes hipocampais e prejuízos na aprendizagem e memória na vida adulta (PAGE, JONES, ANDAY, 2014). Em ratas, a obesidade materna, induzida pelo consumo de HFD, foi capaz de induzir nos filhotes, elevado nível de marcadores inflamatórios associados a um aumento na produção de radicais livres e à redução nos níveis das enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase, sugerindo um desequilíbrio no controle do estresse oxidativo (WENSVEEN *et al.*, 2015; ERIKCI ERTUNC e HOTAMISLIGIL, 2016; LYONS, KENNEDY, ANDROCHE, 2016). Essas repercussões negativas sobre os filhotes devido a subnutrição e obesidade materna, podem ser atenuados pela atividade física.

2.2 EFEITOS BENÉFICOS DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Conceitualmente, atividade física é uma expressão genérica definida como qualquer movimento corporal, produzido pelos músculos esqueléticos, que resulta em gasto energético maior do que os níveis de repouso (World Health Organization [WHO], 2018). O exercício, por sua vez, é definida como um componente da atividade física que é planejada, estruturada e repetitiva e que tem como objetivo final ou intermediário aumentar ou manter a saúde e aptidão física (CASPERSEN *et al.*, 1985; DESPRÉS, 2016; ANDRADE-SOUZA *et al.*, 2020). Indivíduos que rotineiramente fazem atividades e/ou se exercitam, beneficiam-se de uma melhor aptidão aeróbica,

força muscular e cognição, bem como qualidade de vida em geral (BRUNELLI *et al.*, 2012; VALLS *et al.*, 2014; GYLLING *et al.*, 2020).

Experimentalmente, em roedores, é possível estudar as repercussões fisiológicas do exercício através de dois tipos clássicos de protocolos: forçado e voluntário. O exercício forçado depende do uso de aparatos como escada, esteira ou roda motorizada, e também no caso de natação forçada, a água, para "forçar" o animal a realizar exercício (KREGEL *et al.*, 2006; KLEIN *et al.*, 2018; RANJBAR *et al.*, 2019). É possível avaliar parâmetros de exercício físico crônico e agudo, além de controlar variáveis como a intensidade e duração da carga de exercício, bem como medir a taxa metabólica basal (KREGEL *et al.*, 2006). A principal limitação com relação a esse modelo está no fato de que, os animais precisam de um período de familiarização, que pode ou não conter breves exposições a estímulos aversivos (tais como choque elétrico ou tocá-los de forma a forçar o animal a correr ou nadar), os quais podem constituir estresse (CONTARTEZE *et al.*, 2008).

Em contrapartida, o exercício do tipo voluntário, fornece ao animal o acesso *ad libitum* a uma roda e requer menor intervenção do pesquisador, além do fato de não conter estímulos aversivos para forçar o animal a praticar atividade nem interferir na ritmicidade circadiana do animal (GOH e LADIGES, 2015). Este modelo de atividade é mais semelhante ao padrão natural realizado em humanos do que o exercício forçado e tem sido utilizado mundialmente para compreender as respostas adaptativas ao exercício e seus efeitos sobre o comportamento e processos do envelhecimento (YÜKSEL *et al.*, 2019; MANZANARES, BRITO-DA-SILVA, GANDRA, 2018)

Também é possível avaliar através de um ciclocomputador acoplado ao lugar em que a roda de corrida está inserida, parâmetros como: duração, distância, velocidade média e calorias desprendidas, embora o pesquisador não tenha nenhum controle da quantidade e intensidade do exercício realizado (GOH e LADIGES, 2015). Há grandes discrepâncias nos valores desses parâmetros, com distâncias relatadas que variam entre menos de 1 Km/dia a 20 Km/dia e, como consequência disso, dificuldade na padronização da classificação quanto ao nível de atividade (KREGEL *et al.*, 2006; SANTANA-MUNIZ *et al.*, 2014; FRAGOSO *et al.*, 2019).

Em modelos animais e seres humanos o exercício físico pode promover várias adaptações fisiológicas benéficas à saúde, prevenindo ou reduzindo o risco a mortalidade por condições patológicas tais como: doenças cardiovasculares, câncer, diabetes mellitus, síndrome metabólica e osteoporose (LARSEN e MATCHKOV, 2016;

LEMES *et al.*, 2018; FARES, 2018; KELLEY *et al.*, 2018; SAINT-MAURICE, *et al.*, 2019). Em mulheres, o exercício físico vem surgindo como uma abordagem potencial para combater a cardiotoxicidade de tratamentos farmacológicos convencionais na terapia contra o câncer de mama (REZENDE, *et al.*, 2015; ANTUNES *et al.*, 2019), e na terapia contra a depressão pós-parto (GOBINATH *et al.*, 2018) além de melhorar a força muscular de mulheres fisicamente ativas e reduzir marcadores sistêmicos da inflamação relacionada ao envelhecimento (VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Essas respostas induzidas pelo exercício físico, é um complexo processo que incluem fatores estruturais e funcionais, e são altamente dependente da interação entre a frequência, intensidade e duração do exercício (DESPRÉS, 2016; SAINT-MAURICE *et al.*, 2019). Além das influências sobre a saúde geral do corpo, o exercício exerce impacto sobre a estrutura e função do sistema nervoso central [SNC], conferindo benefícios de proteção à saúde para várias doenças psicológicas e/ou neurológicas incluindo: ansiedade (KVAM *et al.*, 2016; STUBBS *et al.*, 2017) e depressão (JAYAKODY *et al.*, 2014; KANDOLA *et al.*, 2019), acidente vascular cerebral (BELFIORE *et al.*, 2018), além de melhorar vários aspectos de outras doenças cerebrais tais como: epilepsia, traumatismo craniano e doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson (CHIN *et al.*, 2015; DE ALMEIDA *et al.*, 2017; VERONESE *et al.*, 2018; INTZANDT *et al.*, 2018).

Crescentes evidências mostram que a prática regular de exercício físico constitui uma das terapias mais eficazes para reduzir os riscos às doenças neurológicas, contudo, a neurobiologia do exercício tem sido pouco citado nos discursos de saúde pública (BETTIO, *et al.*, 2019). A natureza crônica e muitas vezes debilitante dessas doenças resulta em terapias médicas caras e menor produtividade no trabalho, contudo, poderiam ser reduzidos ou evitados com maior sensibilização, reconhecimento e intervenção precoce apropriada da prática de exercício físico (NILSON, *et al.*, 2018).

Os mecanismos de ações mais citados subjacentes à neuroproteção induzida pelo exercício compreendem uma série de eventos que favorecem: o aumento da neurogênese e volume hipocampal (VARMA *et al.*, 2015); aumento dos níveis de proteínas sinápticas, como sinapsinas e sinaptofisinas (FERNANDES *et al.*, 2016); aumento dendrítico e formação de novas espinhas dendríticas (LEAL, COMPRIDO, DUARTE, 2014); além de induzir aumento de subunidades de receptores glutamatérgicos (STAPLES *et al.*, 2015).

Adicionalmente, outro efeito benéfico muito citado é o aumento da expressão e concentração de fatores neurotróficos, tais como: fator neurotrófico derivado de células da glia [Glial cell Derived Neurotrophic Factor – GDNF] (SPECK *et al.*, 2019); fator neurotrófico derivado do cérebro [Derived Neurotrophic Factor – BDNF] (ELDOMIATY *et al.*, 2017); fator de crescimento endotelial vascular [vascular endothelial growth factor – VEGF], o principal Brain regulador da angiogênese (MORLAND *et al.*, 2017) e o fator de crescimento semelhante à insulina [IGF-1] (KING *et al.*, 2019).

Estes mecanismos podem ser a base dos inúmeros efeitos do exercício sobre o cérebro, incluindo sua capacidade de beneficiar o SNC durante a maternidade (gestação e lactação), especialmente porque a gestação e lactação é um período acompanhado por alterações significativas na citoarquitetura hipocampal, fatores tróficos e neurogênese (LEUNER *et al.*, 2007; PAWLUSKI e GALEA, 2007; HOEKZEMA *et al.*, 2016). Assim, é altamente recomendável que trabalhos futuros considerem o exercício físico como uma estratégia potencialmente eficaz para as desordens psicológicas/psiquiátricas como depressão e ansiedade em mulheres, sobretudo durante a menopausa e gestação (SOARES, 2019; RIECHER-RÖSSLER, 2017).

2.3 IMPLICAÇÕES DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE O SISTEMA NERVOSO MATERNO E DA PROLE

Apesar dos avanços substanciais no conhecimento científico e desenvolvimento de diretrizes para promover a atividade física na gestação, a maioria das mulheres grávidas não atinge as atuais recomendações de atividade física, e muitas continuam sendo inativas durante e após a gravidez (EVENSON; MOTTOLA; ARTAL; 2019). As recomendações atuais de exercício físico na gestação já consideram a importância dessa prática, e nos últimos anos atualizou as recomendações para serem menos restritivas e, reafirmou a necessidade do envolvimento de gestantes por pelo menos 20 a 30 min/dia durante e após a gestação (ACOG, 2015; HINMAN, *et al.*, 2015).

As respostas benéficas que o exercício físico pode promover incluem: menor risco de diabetes mellitus gestacional, aumento da aptidão cardiorrespiratória, redução do ganho de peso corporal, melhora o condicionamento muscular devido ao ganho de força e maior flexibilidade, reduz inchaço dos membros inferiores e hipertensão gestacional (PRATHER, SPITZNAGLE, HUNT, 2012; GREGG e FERGUSON, 2017;

DAVENPORT *et al.*, 2018). Os benefícios da atividade física não são apenas limitado às condições físicas, mas também abrange fatores comportamentais positivos, tais como observado no estudo de Harrison *et al.*, (2016), os quais identificaram que a atividade física regular antes da gestação, durante e no pós-parto, reduziu sintomas de ansiedade e depressão, melhorou auto-estima e melhor qualidade de saúde geral.

Ratas fêmeas são pouco estudadas devido à complexidade do seu ciclo estral, que se traduz em menos conhecimento sobre a biologia do exercício neste sexo (COSTELLO, BIEUZEN, BLEAKLEY 2014; BRUINVELS, *et al.* 2017). Os mecanismos biológicos subjacentes aos benefícios do exercício foram investigados em vários estudos com animais em um ambiente de laboratório, com uma forte tendência de usar apenas machos, provavelmente para evitar lidar com a possível influência do ciclo menstrual/estral (HATCHARD, TING, MESSIER, 2014). É importante que pesquisas busquem o interesse por estudar parâmetros que beneficie o organismo materno, tendo em vista a complexidade que o período gestacional impõe para a saúde da mulher e de seus filhos.

Sinais comportamentais alterados, tais como: cognição prejudicada, ansiedade, depressão e estresse, embora descritas e compartilhadas por mulheres grávidas, não estão totalmente esclarecidos se refletem experiência legítima de alterações fisiológicas e comportamentais, ou se elas constituem apenas folclore sem base factual, dessa forma estudos que direcionem maior entendimento e endosso de especialistas, são necessários (MURKOFF, 2018; CHRONICLE, 2018).

Pesquisas conduzidas em mulheres gestantes com avaliação subjetiva, solicitando auto-relato de sintomas de deficiência cognitiva na gravidez, mostram relatos de perturbações significativas na capacidade de ler, esquecimentos, e dificuldade em manter concentração (POSER, KASSIRER, PEYSE, 1986; SHARP, 1993;). E tais dificuldades não apresentou ter relação com outras complicações da gestação como: hipertensão, proteinúria, anemia, glicosúria, insônia ou depressão, embora fossem mais comum no grupo sintomático.

Crawley (2002), observou que os relatos subjetivos de mulheres gestantes referente ao comprometimento cognitivo, eram pouco mencionados quando perguntadas sobre mudanças relacionada à gestação, mas quando solicitado especificamente, a maioria relacionou deficiência na memória, concentração, clareza de pensamento ou atenção. Isso corrobora com os resultados que Parsons e

Redman, (1991), encontrou em sua pesquisa retrospectiva, quando as mulheres eram entrevistadas sobre as mudanças cognitivas que sofreram durante a gestação, relatando comprometimento em três principais domínios: cognição, memória e distração, sendo mais pronunciado problemas na memória (PARSONS e REDMAN, 1991).

Avaliações na mudança estrutural do tecido cerebral são mais difíceis em humanos, por serem métodos invasivos e ir de contra às condutas éticas. Mas, uma alternativa substituta é o uso de imagens radiográficas. Oatridge *et al.*, (2002), avaliando o volume do cérebro com ressonância magnética (MRI) antes, durante e até 52 semanas após a gestação demonstraram uma acentuada redução no volume cerebral, com recuperação total após seis meses depois do parto. Os mecanismos por trás dessas mudanças permanecem desconhecidos, embora os autores especulam que derivam de alterações hormonais, vasculares e/ou metabólicas associado com a placenta. Isso é consistente com estudos em ratas revelando reduções absolutas e relativas no peso do cérebro na gravidez (HILLERER, *et al.* 2014).

Estudo de neuroimagem, usando ressonância magnética em mulheres primíparas (que passaram por uma ou mais experiência gestacional) e nulíparas (que nunca passaram pela gestação [controle]), sugere que a gravidez está associada a reduções significativas e duradouras do volume da massa cinzenta, com clara diferença entre quem já tinha experimentado uma gravidez ou não. Embora discreta recuperação tenha sido observada, as reduções gerais no volume da substância cinzenta persistiram dois anos após o parto (HOEKZEMA, *et al.* 2017).

Avaliações comportamentais são uma ferramenta importante para avaliar possíveis mudanças neuroquímicas e estruturais. Em um dos maiores estudos longitudinais, Glynn (2010), avaliou em mulheres gestantes e não gestantes (controle), no terceiro trimestre gestacional e no terceiro mês após o parto, três paradigmas: memória de trabalho, reconhecimento de memória e memória de evocação verbal. Os resultados indicaram deficiências cognitivas na memória de evocação verbal presentes nas gestantes e persistentes no período pós-parto, sem prejuízo significativo nos outros testes.

Recentemente, uma meta-análise incluindo 20 estudos conduzidos em 709 mulheres grávidas e 521 controles, demonstrou um prejuízo cognitivo significativo em mulheres grávidas em comparação com mulheres não grávidas, presente apenas no

terceiro trimestre da gestação. Alguns estudos avaliaram especificamente a memória e outros examinaram o "funcionamento executivo", definido como tarefas que envolvem atenção, planejamento e resolução de problemas. Enquanto o desempenho da memória foi significativamente menor em mulheres grávidas em comparação com os controles, o funcionamento executivo não foi (DAVIES, *et al.*, 2018).

Em modelos animais, tem sido sugerido que esse declínio na função cognitiva associado ao período gestacional e pós-natal (GALEA, *et al.*, 2018; EID, *et al.*, 2019), é parte de uma troca que ocorre quando o cérebro é instruído a aprender rapidamente os comportamentos maternos que consistem em: construção de ninhos; amamentar ou agachar-se sobre os filhotes; recuperar filhotes para o ninho; e lambadura corporal/genital de filhotes (MACBETH e LUINE, 2010). Além disso, ratas primíparas e múltiparas apresentam maior resiliência a estressores e menos ansiedade do que as ratas nulíparas. Os pesquisadores argumentam que as mudanças neurais provocadas pela gestação e a estimulação sensorial ocasionada pela presença da prole no período de lactação exigem uma plasticidade do cérebro para lidar com um ambiente mais complexo (MACBETH e LUINE, 2010).

Evidências clínicas e experimentais apontam que os benefícios da atividade física impactam não somente a neurobiologia e o comportamento materno, mas também, o neurodesenvolvimento pré e pós-natal da prole, como mostrado na figura 1 (GOMES-DASILVA e ARIDA, 2015; TORABI *et al.*, 2017; ANDOH *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2020).

Santana-Muniz *et al.*, (2014) evidenciou que o fenótipo materno ativo, estabelecido através da atividade física voluntária realizada antes, durante a gestação, até o 14^a dia de lactação, foi capaz de influenciar positivamente os resultados da trajetória de crescimento e a ontogenia reflexa da prole. Similar efeito se estendeu para filhotes de mães que foram submetidas a dieta hipoproteica a 8%, mostrando que atividade física voluntária materna antes, durante e após a gestação, atenuou os efeitos nocivos desta dieta sobre os indicadores de neurodesenvolvimento e padrões de atividade locomotora (FRAGOSO *et al.*, 2017), como previamente demonstrado pelo treino em esteira (AMORIM *et al.* 2009; FALCÃO-TEBAS *et al.*, 2012).

Aksu *et al.*, 2012, avaliando os efeitos do exercício materno durante a gestação sobre o neurodesenvolvimento dos filhotes a curto e longo prazo, evidenciou que os níveis de BDNF no córtex pré-frontal dos filhotes aos 26 e aos 120 dias de vida

estavam aumentados e em testes comportamentais, apresentaram menor ansiedade e maior atividade locomotora (aumento na mobilidade) nas duas idades avaliadas.

Aspectos benéficos no cérebro de filhotes de ratas que se exercitaram no período pré-natal são evidenciados, tais como: defesas antioxidantes (MARCELINO *et al.*, 2013), neurogênese hipocampal (BICK-SANDER *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2006), aumento do número de células (neurônios e não neurônios) no hipocampo da prole (GOMES DA SILVA *et al.*, 2015).

Evidências clínicas também indicam que a prática da atividade física materna durante a gravidez promove um ambiente intra-uterino saudável para o feto e melhora a função cognitiva na infância (WOLFE *et al.*, 1994; WEISSGERBER *et al.*, 2006; CARTER *et al.*, 2012). Clapp, Lopez, Harcar-Sevcik (1999), avaliaram as características do neurodesenvolvimento de filhos (5 anos de idade) de mães que se exercitaram regularmente durante a gestação, e verificaram que os filhos tiveram melhor desempenho em testes de inteligência geral e habilidades de linguagem oral.

Tem sido demonstrado que filhos de mães fisicamente ativas tiveram escores mais altos no desempenho acadêmico (ou seja, matemática e linguagem) do que meninos de mães sedentárias (ESTEBAN-CORNEJO *et al.*, 2016). Em conjunto, estas descobertas fornecem evidências convincentes que estímulos ambientais maternos, como o exercício físico, podem promover modificações benéficas capaz de permitir a transferência de experiências parentais para as gerações seguintes, como podemos ver na figura 1.

Figura 1 - Efeitos benéficos da atividade física sobre o desenvolvimento cerebral pré e pós-natal.



(Fonte: Adaptado de GOMES-DA-SILVA e ARIDA, 2015.)

Essas mudanças comportamentais no contexto do conceito: “Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença [*developmental origins of health and disease (DOHaD)*]” ou, em termos mais amplos, na “plasticidade fenotípica”, sugere que os níveis posteriores de atividade física podem ser influenciados pelo ambiente pré-gestacional e gestacional (ESTEBAN-CORNEJO *et al.*, 2016). E mais, os estudos com animais utilizando manipulações dietéticas durante o período perinatal têm apontado plausibilidade biológica para as respostas fenotípicas (COSTA-SILVA *et al.*, 2016).

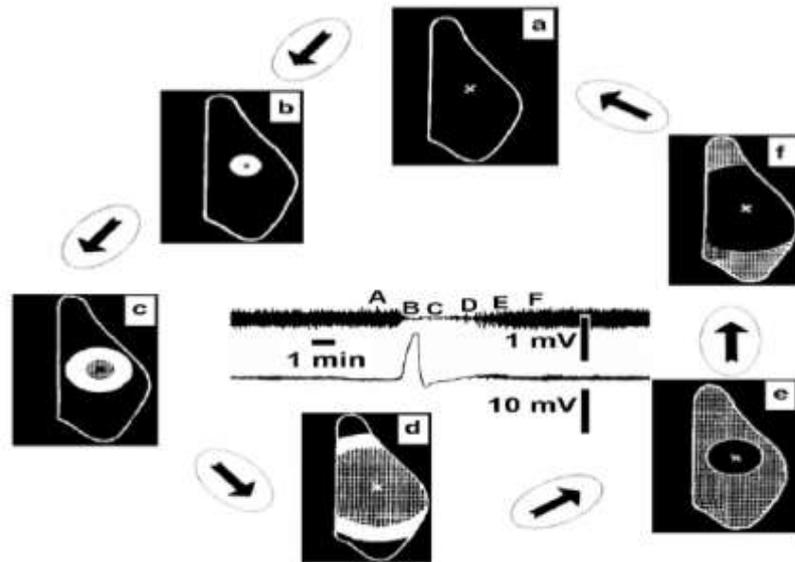
O exercício físico ou atividade física voluntária é capaz de atenuar processos patológicos induzidos pela desnutrição proteica perinatal (dieta com teor proteico de 6 - 8% de proteína, não apenas a nível periférico mas também no sistema nervoso central (FALCÃO-TEBAS *et al.*, 2012; SANTANA-MUNIZ *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2015; FRAGOSO *et al.*, 2019). E não só isso, mas a atividade física pré-gestacional e gestacional pode resultar em alterações hormonal, estrutural, funcional e eletrofisiológica (FERNANDES, ARIDA, GOMEZ-PINILLA, 2017; DREMENCOV *et al.*, 2015), podendo dessa forma repercutir em mudanças na excitabilidade cerebral como evidenciada pela alteração na susceptibilidade do córtex cerebral ao fenômeno eletrofisiológico conhecido como depressão alastrante cortical, que será apresentado a seguir.

2.4 DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL

A “Depressão Alastrante da Atividade Elétrica Cerebral” ou simplesmente “Depressão Alastrante Cortical” (DAC), foi descrito originalmente por um cientista brasileiro, o doutor Aristides Azevedo Pacheco Leão. O fenômeno consiste em uma redução (“depressão”) reversível das ondas eletrocorticográficas em resposta à estimulação elétrica, mecânica ou química de um ponto da superfície cerebral, a qual se recupera após cerca de 10 a 15 minutos (LEÃO, 1944a; GUEDES, 2011).

A partir do ponto estimulado, a DAC se propaga em todas as direções corticais para regiões cada vez mais remotas, e concomitantemente é acompanhada do aparecimento de uma “variação lenta de voltagem” (VLV) na região do cérebro invadida pelo fenômeno, (LEÃO, 1947; 1951). Tanto a redução da atividade elétrica, quanto a VLV, são características principais da DAC como ilustrado na figura 2.

Figura 2 - Esquema da sequência temporal cíclica de eventos da DAC.



(Fonte: Adaptado de GUEDES, 2011).

Em “a”, um córtex normal e nele o ponto estimulado (x), iniciando a DAC. Na sequência indicada pelas setas, a propagação concêntrica do fenômeno da DAC está ilustrada nos momentos “b” a “d”. As áreas em branco representam porções do tecido cortical invadidas pelo fenômeno em tempos sucessivos. As áreas quadriculadas, (nos momentos “c” a “f”) indicam regiões que já sofreram a DAC e agora estão se recuperando (áreas refratárias a uma nova estimulação). De “b” a “f”, observa-se que propagação (área branca) e recuperação (área escura) dão-se de forma concêntrica, sendo o ponto inicialmente estimulado o primeiro a se recuperar totalmente. Finalmente, retorna-se à situação inicial (em “a”), em que todo o tecido se mostra completamente recuperado. No centro da figura, os dois traçados de registro demonstram o eletrocorticograma (ECoG; traçado superior) e a variação lenta de voltagem (traçado inferior), variação esta que sempre aparece durante a DAC, quando o ECoG diminui sua amplitude. As letras “A” a “F”, no ECoG, correspondem a sequência das etapas representadas nos desenhos externos.

Em um registro eletrofisiológico, a VLV, que é a “marca registrada” da DAC, possui uma “forma de onda” bem definida, com início e fim fáceis de identificar; por isso, é muito utilizada para se calcular a velocidade com que o fenômeno se propaga pelo tecido nervoso (GUEDES, *et al.* 2017). Essas características clássicas têm sido tradicionalmente analisadas por técnicas óticas e eletrofisiológicas (EIKERMANNHAERTER e MOSKOWITZ, 2008; DREIER, *et al.*, 2018; GUEDES e ABADIE-GUEDES, *et al.* 2019).

Por uma sucinta definição, Guedes (2011) caracterizou a DAC nos seguintes aspectos: (1) é um fenômeno que necessita de uma população mínima de corpos celulares (neurônio e glia) para ser gerado e propagado; (2) o estímulo (elétrico, mecânico ou químico) requer uma variação brusca de energia para ser deflagrado; (3) é totalmente reversível, (4) propaga-se concêntricamente a partir do ponto

estimulado, (5) tem sido observado em todas as espécies de vertebrados até hoje estudadas, incluindo o homem; (6) propaga-se lentamente (mm/min) em um tecido no qual o potencial de ação se propaga muito rapidamente (m/s); (7) propaga-se mais facilmente em cérebros lisencéfalicos do que em girencefálicos; e (8) não está claro se é um fenômeno essencialmente fisiológico ou se também pode ser patológico, tendo em vista a relação entre o mecanismo de ação subjacente à DAC estarem presentes em certas doenças neurológicas.

A DAC tem sido investigada em seres humanos em diversos contextos clínicos, tais como: a epilepsia (WEI *et al.*, 2014), isquemia cerebral (DREIER *et al.*, 2018), enxaqueca com aura (FERRARI *et al.*, 2015) e esclerose múltipla (PUSIC *et al.*, 2015).

Estudos em ratos desenvolvidos no “Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio” (LAFINNT), do departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), têm comprovado que a susceptibilidade cortical ao fenômeno da DAC pode ser influenciada por algumas condições farmacológicas, hormonais, nutricionais e comportamentais que podem tornar o córtex mais vulnerável ou mais resistente à propagação da DAC, expressando velocidades de propagação respectivamente mais altas ou mais baixas quando comparadas aos animais controle (GUEDES e ABADIE-GUEDES, 2019). Assim, a velocidade de propagação da DAC é uma ferramenta útil para avaliar os aspectos eletrofisiológicos da sinalização cerebral. A tabela 1, apresenta alguns estudos animais envolvendo as características da DAC com manipulações nutricionais e farmacológicas associadas ao exercício físico (esteira e natação).

Tabela 1 - Efeitos do exercício físico na DAC.

Condição experimental	Autor/Ano
L-arginina e exercício físico em esteira	MONTEIRO, et al., 2011
Subnutrição e exercício físico em esteira	BATISTA-DE-OLIVEIRA, <i>et al.</i> , 2012
Tratamento neonatal subcutâneo com glutamato monossódico (MSG) e exercício físico em esteira	LIMA, <i>et al.</i> , 2014
Fluoxetina <i>versus</i> exercício físico em esteira	MONTEIRO, et al., 2015
Tratamento neonatal oral (gavagem) com MSG e exercício físico em esteira	VITOR-DE-LIMA, <i>et al.</i> , 2017
Distintas condições de lactação e exercício de natação	SILVA-GONDIM, <i>et al.</i> , 2017
Dieta rica em gordura (High-fat diet) e exercício físico em esteira	MONTEIRO, et al., 2018

(Fonte: o autor, 2021)

Diversos estudos confirmam o papel benéfico da atividade física com respeito à melhoria da qualidade de vida da gestante e sua saúde mental (TORABI *et al.*, 2017; ANDOH *et al.*, 2019). E não só isso, mas o exercício pode contrariar as desordens estruturais, metabólicas, funcionais e eletrofisiológicas de várias condições fisiopatológicas patologias que podem acometer o SNC (CARRIZOSA - MOOG, *et al.*, 2018).

Portanto, em virtude do que foi exposto acima, com inovação, esta tese se propôs a investigar, os efeitos que o modelo de exercício voluntário em cicloergômetro (roda de corrida) realizada antes, durante e após a gestação, exerce sobre o comportamento ansioso, e a retenção de memória em ratas e sua prole. Adicionalmente foram avaliados os parâmetros relacionados à DAC, como um fenômeno influenciado por alterações da excitabilidade cerebral.

3 HIPÓTESE

Atividade física voluntária em ratas antes e durante a gestação até a lactação, exerce sobre o sistema nervoso das mães e sua prole, efeito ansiolítico, melhora a retenção da memória, e expressa velocidades de propagação da depressão alastrante cortical reduzidas.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da atividade física voluntária realizada antes e durante a gestação até o período de lactação, sobre os parâmetros comportamentais e eletrofisiológicos da depressão alastrante cortical nas ratas mães e sua prole.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Durante o período de adaptação (30 dias antes da gestação):

- Caracterizar as ratas quanto ao nível de atividade física voluntária com avaliação diária dos parâmetros: distância percorrida, estimativa do gasto calórico e tempo de atividade física;
- Avaliar o peso corporal e o consumo alimentar das ratas;

Durante o período de gestação:

- Acompanhar diariamente os parâmetros de atividade física: distância percorrida, estimativa do gasto calórico e tempo de atividade física das ratas gestantes;
- Avaliar o peso corporal e o consumo alimentar das ratas;

Durante e após o período de lactação:

- Acompanhar o nível de atividade física voluntária, com avaliação diária dos parâmetros: distância percorrida, estimativa do gasto calórico e tempo de atividade física das ratas (mães) até o 14^a dia de lactação;
- Avaliar peso corporal (das mães e dos filhotes) e consumo alimentar das ratas (mães);
- Avaliar nas mães e sua prole, após o período de desmame os parâmetros comportamentais de ansiedade e avaliação da retenção de memória de curto prazo.
- Analisar nas mães e sua prole, os parâmetros eletrofisiológicos do fenômeno da “depressão alastrante cortical” (velocidade de propagação, amplitude e duração).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

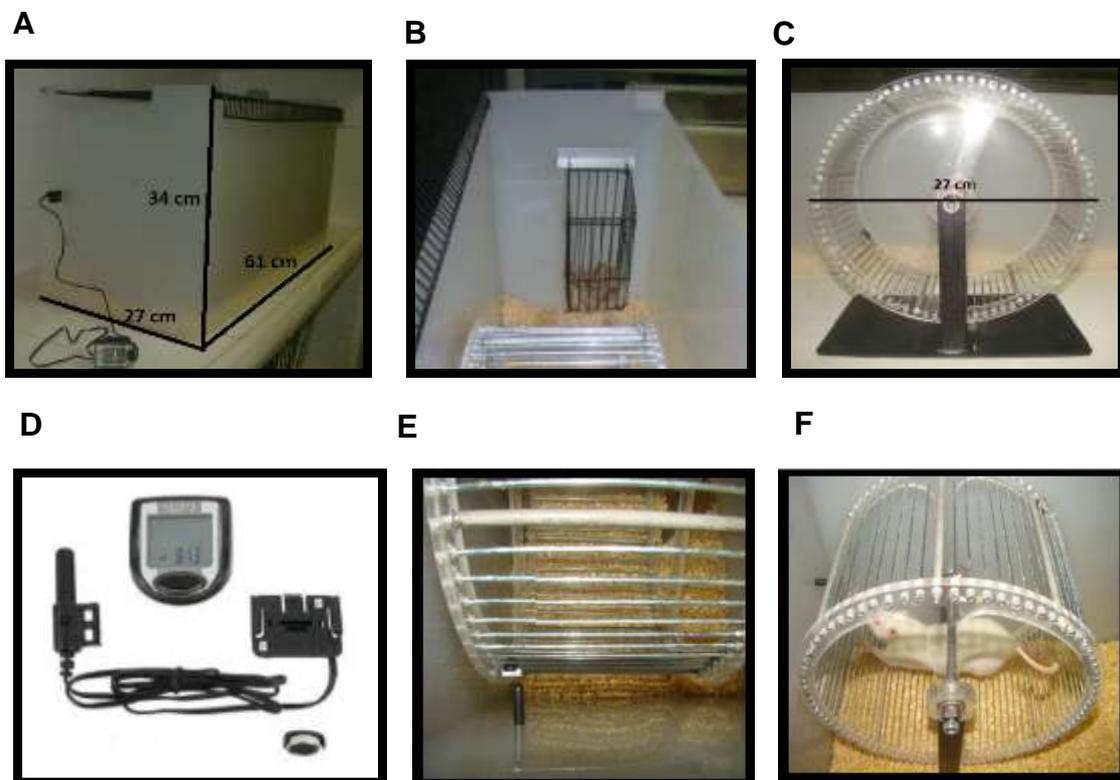
Esta tese foi realizada no “Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio” (LAFINNT), do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde (CCS)/Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Todos os procedimentos experimentais descritos a seguir foram analisados e aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPE (Processo nº 23076.011811/2017-12 – ANEXO A). As normas adotadas são sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e estão em concordância com as normas estabelecidas pelo National Institute of Health (Bethesda, USA), em sua publicação “Guide for Care and Use of Laboratory Animals”.

5.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 33 ratas albinas da linhagem *Wistar* (peso corporal 200 - 230 gramas), idade entre 80-90 dias provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação, com temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2$, num ciclo invertido 12/12h [ciclo claro (20h00min às 08h00min) e ciclo escuro (08h00min às 20h00min)] e livre acesso à água e alimentação. As ratas nulíparas foram alojadas em gaiolas individuais de atividade física voluntária (ver especificações no item 5.1.1) por 30 dias para após esse período, determinar o nível de atividade física e classificá-las em ratas inativas, ativas ou muito ativas (ver classificação da atividade conforme parâmetros na tabela 2 do item 5.1.3). Posteriormente, as ratas foram colocadas em gaiolas tamanho padrão de polipropileno (33 x 40 x 17 cm) para o acasalamento e após a presença de espermatozoide na cavidade vaginal (Marcondes, Bianchi et al. 2002), as ratas foram recolocadas individualmente nas gaiolas de atividade física voluntária, permanecendo durante a gestação e lactação. Após o parto todas as ninhadas foram ajustadas para nove filhotes (machos/fêmeas), evitando a superlotação e possível malnutrição induzida pela competição das mamas da rata. Após o desmame (21 dias), as ratas, com idade entre 160 – 195 dias, e seus filhotes (total de 38 filhotes *Wistar*, 1 macho e 1 fêmea de cada mãe, com idade entre 60-80 dias), foram submetidos aos testes comportamentais seguida do registro da depressão alastrante cortical.

5.1.1 Gaiola de atividade física voluntária

Foi elaborada uma gaiola de atividade física voluntária (GAFV) de acrílico com as seguintes dimensões: 27 cm de largura, 34 cm de altura e 61 cm de comprimento [Figura 3]. Em uma das extremidades foi posicionado um cicloergômetro com 27 cm de diâmetro, composto por acrílico e raios em aço inoxidável [Figura 2C, 2F]. Acoplado a gaiola e próximo ao cicloergômetro [Figura 3E, 2F], tem um sistema de monitoramento por sensor (ciclocomputador Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan) das grandezas físicas: distância percorrida (km), tempo (minutos), velocidade média (Km/h) e gasto calórico (em Kcal) [Figura 3D].



Fonte: SANTANA MUNIZ *et al.*, 2014.

Figura 3. Gaiola de atividade física voluntária com cicloergômetro e comedouro (B) e ciclocomputador (D) posicionado na porção externa da GAFV (A). Visão interna do sensor acoplado a GAFV (E), próximo ao cicloergômetro (C) com a rata realizando a atividade física voluntária (F).

5.1.2 Protocolo de atividade física voluntária

Todas as ratas (n = 33) com idade entre 80 a 90 dias de vida e pesando entre 200g - 230g foram previamente colocadas nas gaiolas de atividade física voluntária

individual por um período de 30 dias. A atividade física das ratas foi avaliada pela movimentação do cicloergômetro (roda de corrida) e quantificado através dos sensores acoplados na gaiola por meio das grandezas físicas [Figura 3A].

Diariamente e no mesmo horário (07h30min) foram anotadas as grandezas físicas para: distância percorrida (km), tempo percorrido (min) e estimativa do gasto calórico (kcal). Estas grandezas foram utilizadas para classificar o nível de atividade física das ratas. Após o período de adaptação, todas as ratas foram colocadas para acasalar em gaiolas tamanho padrão (33 x 40 x 17 cm), apropriadas para criação de animais em biotério, com os machos (1 macho: 2 fêmeas). As ratas foram consideradas gestantes após apresentarem espermatozóides na lâmina microscópica pelo teste de esfregaço vaginal (MARCONDES, BIANCHI TANNO, 2002, FRAGOSO *et al.*, 2017). Posteriormente, todas as ratas gestantes foram recolocadas nas respectivas gaiolas de atividade física voluntária permanecendo até o final da lactação. Diariamente foram anotadas as grandezas físicas através do ciclocomputador. No 14^o dia pós-parto o cicloergômetro foi travado, impedindo a utilização pelas mães e sua prole da roda de corrida, pois os filhotes neste período já apresentam a abertura dos olhos e com isso poderiam se machucar ao tentar fazer atividade física. Nesta data foi finalizado o período de atividade física voluntária das ratas.

5.1.3 Classificação do nível de atividade física voluntária

O nível de atividade física das ratas foi determinado considerando a avaliação dos parâmetros de atividade física voluntária, são eles: distância percorrida (km), tempo percorrido (min), e estimativa do gasto calórico (kcal) que foram monitorados diariamente e no mesmo horário (07h: 30min) ao longo de todo período de experimentação (pré-gestacional [período de adaptação], gestacional, e lactação [até o 14^a dia]), embora que para classificar as ratas em inativa, ativa e muito ativa, segundo os parâmetros mostrados na tabela 2 (ver abaixo), foram utilizadas apenas as duas últimas semanas dos 30 dias de atividade física pré-gestacional.

A distância foi determinada por contagem do número de rotações, que foi calculado pela circunferência (84 cm) do cicloergômetro. A circunferência e o diâmetro do cicloergômetro foram usados para calibrar o ciclocomputador e depois para calcular a velocidade média e a distância percorrida. O gasto calórico foi

estimado integrando o valor calculado a partir da velocidade em cada segundo. Todas as Medidas de distância percorrida, velocidade média, tempo e calorias foram registradas diariamente durante todo o experimento (período pré-gestacional, gestacional até o 14^a dia de lactação).

Tabela 2: Classificação das ratas nos grupos experimentais de acordo com os parâmetros da atividade física voluntária diária (distância percorrida, gasto calórico e tempo gasto no cicloergômetro).

Grupos experimentais	n	Distância percorrida (Km.dia-1)	Gasto Calórico (Km.s-1.dia-1)	Tempo (min.dia-1)
Inativa	8	< 1.0	< 10.0	< 20.0
Ativa	14	>1.0 < 5.0	> 10.0 < 40.0	> 20.0 < 120.0
Muito Ativa	11	> 5.0	> 40.0	> 120.0

(Adaptado de SANTANA MUNIZ *et al.*, 2014)

5.1.4 Dietas experimentais

As dietas foram elaboradas de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN) (Reeves, 1997). As ratas durante o período de adaptação na gaiola de atividade física voluntária receberam dieta AIN-93M para a fase de manutenção dos roedores, e após o diagnóstico de gestação passaram a consumir dieta AIN-93G até o fim da lactação, que consiste na fase de crescimento e reprodução destes animais (Reeves, 1997) – Tabela 3. Os filhotes após desmame, consumiram dieta padrão do biotério (PRESENCE-Purina do Brasil Ltda; com 23% de proteína) e água filtrada *ad libitum*.

Tabela 3 - Composição das dietas

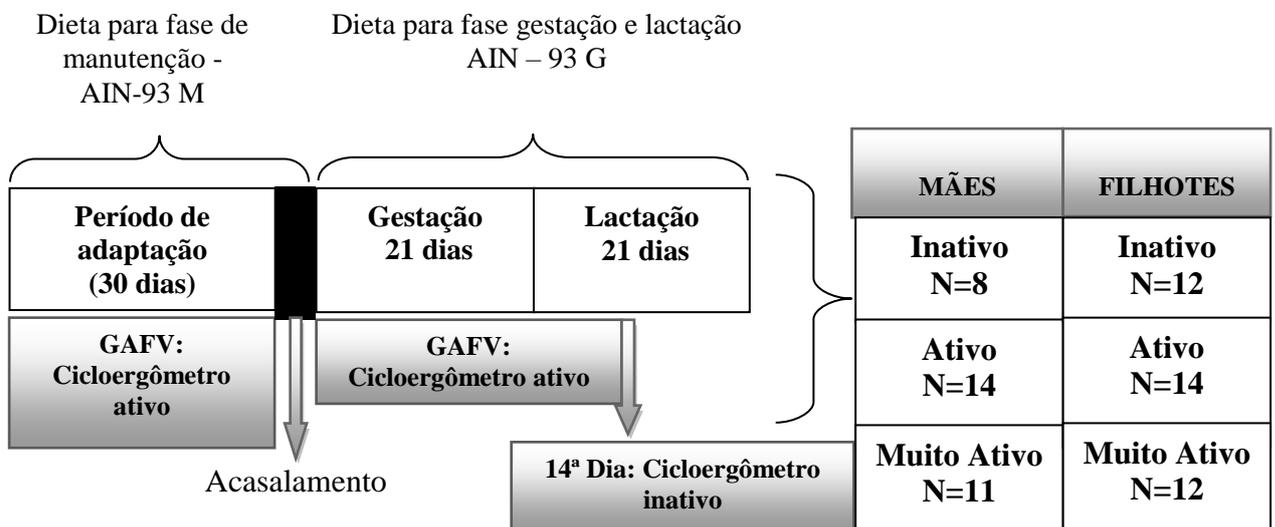
Ingredientes	AIN-93M g/Kg	AIN-93G g/Kg
Amido de milho (87% carboidratos), g	465.692	397.486
Caseína (proteína ≥ 80%), g	140.0	200.0
Amido de milho dextrinizado (92% tetrasaccharides), g	155.0	132.0
Sacarose, g	100.0	100.0
Óleo de soja, g	40.0	70.0
Celulose, g	50.0	50.0
Mix de Mineral (AIN-93M-MX), g	35.0	-
Mix de Mineral (AIN-93G-MX), g	-	35.0
Mix de Vitaminas (AIN-93-VX), g	10.0	10.0
L-Metionina, g	1.8	3.0
Bitartarato de Colina (41.1% colina), g	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone (TBHQ), g	0.008	0.014
Macronutrientes		
Total de energia (cal/g)	3,44	3,56
Proteína	14%	18%
Lipídeos	11%	18%
Carboidratos	75%	64%

(Fonte: adaptado de REEVES, 1997)

5.1.5 Desenho experimental

Em cada condição experimental de atividade física (mães inativas, ativas e muito ativas, bem como seus respectivos filhotes), após o período de lactação (desmame), foram analisados comportamentalmente e eletrofisiologicamente conforme ilustrado e descrito abaixo na Figura 4.

Figura 4 - Desenho experimental.



De acordo com o nível de atividade física das ratas, analisadas durante as duas últimas semanas do período pré-gestacional (30 dias), foram formados três grupos experimentais de ratas mães Inativa (N= 8), Ativa (N= 14), Muito Ativa (N= 11). As ratas após serem classificadas foram acasaladas e após detecção da prenhez, recolocadas na gaiola de atividade física voluntária onde permaneceram com acesso a roda de corrida até o 14ª dia de lactação. As ratas foram submetidas a uma dieta adequada conforme estavam ora no período de adaptação (dieta AIN-93M), ora no período gestacional e lactação (dieta AIN-93G – ver tabela 3). Logo após o desmame (21 dias de lactação), as ratas com idade entre 160-195 dias foram submetidas aos registros comportamentais e eletrofisiológicos, e seus respectivos filhotes quando atingiam a idade entre 60-80 dias (filhotes de ratas Inativa N= 12; Ativa N= 14; Muito Ativa N= 12),

5.2 AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO PONDERAL DAS RATAS E FILHOTES

O peso corporal das ratas foi avaliado a cada três dias durante todo período experimental (pré-gestacional, gestacional e lactação). Os filhotes foram pesados semanalmente desde a lactação até o dia dos registros comportamentais e

eletrofisiológicos. O horário estabelecido para esta avaliação foi entre 7h00min e 8h00min.

5.3 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR DAS RATAS

A ingestão de alimentos pelas ratas foi mensurada a cada três dias pela diferença entre a quantidade de alimento fornecido e a sobra de ração neste intervalo, obedecendo a seguinte fórmula: $CA = RO - RR$, em que o CA = consumo alimentar, RO = ração oferecida e RR = ração rejeitada.

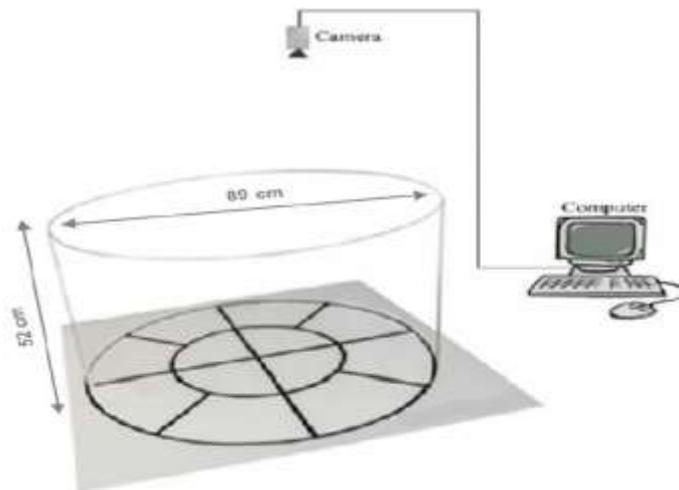
5.4 TESTES COMPORTAMENTAIS

Os testes foram realizados nas mães a partir de 160 dias de vida, logo após o desmame, e em seus respectivos filhotes ao completarem 60 dias, sob as mesmas condições padrão do biotério: ciclo claro/escuro invertido e ruídos atenuados. Uma câmera digital localizada verticalmente acima do aparelho conectada a um computador, registrou todos os testes para posterior análise. Entre uma sessão de teste e outra, os aparatos utilizados nos testes comportamentais (labirinto em cruz elevado, campo aberto e reconhecimento de objeto) foram limpos com papel toalha, embebido em etanol a 70%. Os testes foram analisados com auxílio do software AnyMaze (versão 4.99).

5.4.1 Campo aberto

As ratas e seus filhotes foram testados no aparelho de campo aberto, que consistiu em uma arena circular com 89 cm de diâmetro circundada por parede circular com 52 cm de altura (Figura 6). No início do teste, o animal foi posicionado no centro do aparelho, e seu comportamento foi registrado durante 5 min por uma câmera digital localizada verticalmente acima do campo aberto. Foram quantificados a distância total percorrida (m), o tempo total de imobilidade (s), o número de entradas na zona central do aparelho e o tempo gasto (s) na zona central.

Figura 5 - Representação esquemática do campo aberto



(Fonte: o autor, 2021)

5.4.2 Tarefa de reconhecimento de objeto

A tarefa de reconhecimento de objeto tem como objetivo avaliar as memórias de curta duração espacial e de reconhecimento do animal. Ela se baseia na tendência natural do animal em explorar mais o objeto novo em detrimento ao conhecido, num contexto anteriormente explorado. O aparelho para a realização desse teste foi o aparato do campo aberto (ver figura 6). Nessa tarefa, foram avaliadas as diferenças entre os grupos, na capacidade de identificação de objetos com base na sua forma e localização no campo aberto.

Conforme mostra a figura 7, em cada uma das duas tarefas de reconhecimento de objetos (localização e forma), realizadas em dias diferentes, as ratas em uma primeira sessão, exploraram por 5 minutos o ambiente. Numa segunda sessão, após 50 minutos, foram avaliados o reconhecimento das características de forma e localização espacial dos objetos, como descrito adiante. Se, nessa segunda análise, diante de dois objetos, um conhecido e outro desconhecido, a rata reconheceu o objeto apresentado na primeira análise, ela, então, passaria mais tempo explorando o objeto desconhecido, demonstrando assim reconhecimento do objeto previamente apresentado. Entre as sessões, os objetos, bem como o campo aberto, foram adequadamente limpos com álcool a 70%, para eliminar pistas olfativas que pudessem influenciar o ensaio seguinte. O critério para definir exploração foi

baseado na “exploração ativa”, ou seja, quando a rata estava tocando os objetos pelo menos com o focinho (MEDEIROS *et al.*, 2016). Com base nos tempos de exploração dos objetos novos (N) e familiares (F), calculamos o índice de discriminação (DI), utilizando a fórmula $DI = (TN - TF) / (TN + TF)$, onde TN é o tempo gasto com o novo objeto / nova posição e TF é o objeto familiar / posição familiar (VIANA *et al.*, 2013; ANTUNES e BIALA, 2012).

(1) Para avaliar a distinção de localização espacial: dois objetos idênticos (A e B) foram colocados em determinadas posições no campo aberto. Passados 50 minutos, a rata foi novamente colocada no campo aberto (segunda sessão) na presença dos mesmos objetos (A e B), todavia, neste segundo momento a posição de A se mantém (posição familiar), porém a localização de B se modifica (posição nova). Se a rata distingue uma posição desconhecida (nova), ela gasta mais tempo explorando o objeto nessa posição.

(2) Na discriminação das formas: dois objetos idênticos (A e B) foram posicionados na arena para a primeira análise. Após 50 minutos, a rata foi recolocada no campo aberto (segunda sessão) com o mesmo objeto A (familiar), porém, o objeto B foi substituído por outro, C (novo), da mesma cor, tamanho e cheiro do objeto A, mas com uma forma diferente. A rata demonstra que pode diferenciar as formas quando, nessa segunda sessão, passa mais tempo explorando o objeto com a forma desconhecida (nova).

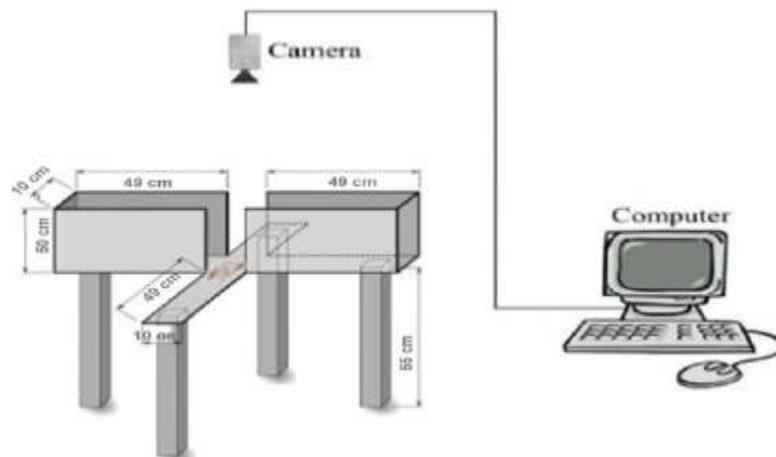
Figura 6 - Representação esquemática dos testes de reconhecimento espacial e da forma do objeto.



5.4.3 Labirinto em cruz elevado (LCE)

As ratas e seus filhotes foram submetidos ao teste do LCE, que consistiu em um aparelho de madeira em formato de cruz e com quatro braços (49 x 10 cm cada), elevados a 55 cm do solo. Dois dos braços eram abertos e outros dois braços, dispostos perpendicularmente aos abertos, eram fechados por paredes laterais de 50 cm de altura. Os braços do aparelho eram unidos por uma plataforma central de 10 x10 cm (Figura 5). No início do teste, cada animal foi colocado individualmente na área central do labirinto, com a cabeça direcionada para um dos braços abertos, podendo explorar livremente o equipamento durante 5 min (VITOR-DE-LIMA *et al.*, 2017). Foram quantificados os seguintes parâmetros: distância percorrida (m), tempo total de imobilidade (s), número de entradas no braço aberto e o tempo de permanência (s) no braço aberto, no braço fechado bem como no centro do aparato. Foi considerado entrada nos braços abertos, fechados ou centro, quando suas quatro patas entraram nos braços. De acordo com a literatura, o comportamento ansioso é expressado pelo número de entradas e tempo gasto reduzidos nos braços abertos.

Figura 7. Representação esquemática do labirinto em cruz elevado

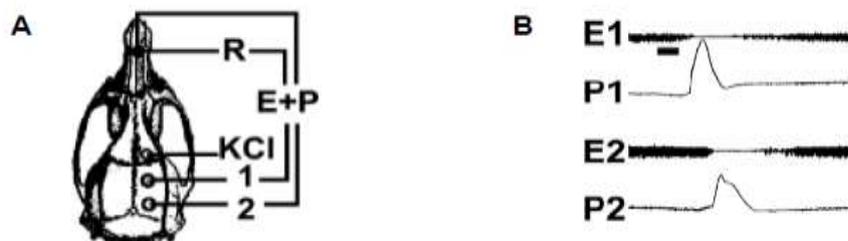


(Fonte: o autor, 2021)

5.5 ANÁLISE ELETROFISIOLÓGICA DA DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL

O registro eletrofisiológico da DAC foi realizado após os testes comportamentais. As ratas, foram submetidas a uma coleta de mucosa vaginal para identificar o estágio preciso do ciclo estral (EBINE *et al.*, 2016). Todas as ratas foram submetidas ao registro eletrofisiológico logo após confirmação da fase proestro, com objetivo de padronizar o mesmo ambiente fisiológico hormonal em todas as ratas (ACCIOLY *et al.*, 2012). Em seguida, sob anestesia com uma mistura de 1 g/Kg de uretana + 40 mg/Kg de alfa-cloralose (intraperitoneal), foram submetidas à trepanação de 3 orifícios no lado direito do crânio, para expor porções da superfície cortical. O orifício anterior (no osso frontal) foi utilizado para aplicar o estímulo que deflagrou a DAC; esta, ao se propagar, foi registrada nos outros dois orifícios (no osso parietal). Durante 4 horas, a variação lenta de voltagem da DAC foi registrada em um sistema digital (EMG Systems) que permite a visualização e registro em computador. A DAC foi provocada a cada 20-30 minutos por estimulação química na região frontal, sendo utilizado para isto o cloreto de potássio (KCl) a 2% (ACCIOLY e GUEDES, 2019). Durante o registro, a temperatura retal do animal foi mantida em $37,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por meio de um aquecedor elétrico. Foram calculados os seguintes parâmetros da DAC: 1) a velocidade média de propagação do fenômeno; 2) a amplitude e a duração da sua variação lenta de voltagem (BENEVIDES *et al.*, 2020). Tais procedimentos foram igualmente realizados nos filhotes submetidos ao registro da DAC.

Figura 8 - Esquema do registro eletrofisiológico da DAC.



(Fonte: Guedes, 2011)

Em "A", desenho do crânio de um rato com a identificação dos três orifícios necessários ao experimento. O orifício "KCl" corresponde ao de estimulação; o ponto "1" corresponde ao primeiro ponto de registro da resposta propagada e o ponto "2" ao segundo ponto de registro da propagação da mesma resposta. Nos pontos "1" e "2" serão posicionados dois eletrodos, um em cada orifício, em contato direto com o córtex, para medir a variação lenta de voltagem (VLV) em relação a um ponto "R", situado no osso nasal do animal. Em "B", um traçado de registro em que a barra horizontal representa o tempo de 1 minuto (referente a presença do estímulo, KCl) e "P1" e "P2" correspondem ao registro da VLV nos pontos "1" e "2" respectivamente.

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As medidas de distância percorrida, tempo de atividade e estimativa calórica foram analisadas por ANOVA de duas vias (usando o dia e a atividade física como fatores), seguida pelo pós teste de *Tukey* usando o programa estatístico *GraphPad Prism 6*® (*GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA*), esses parâmetros analisados foram expressos como média \pm erro padrão da média, e aceitas diferenças significantes, quando $p \leq 0,05$.

Para análises do peso corporal, consumo alimentar, dos resultados eletrofisiológicos e comportamentais foi utilizado a ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Holm-Sidak. Para isto, foi utilizado o programa “*Sigmastat*”, versão 3.1. Todos os testes foram expressos como média \pm Desvio padrão. Foram aceitas como significantes as diferenças em que $p \leq 0,05$.

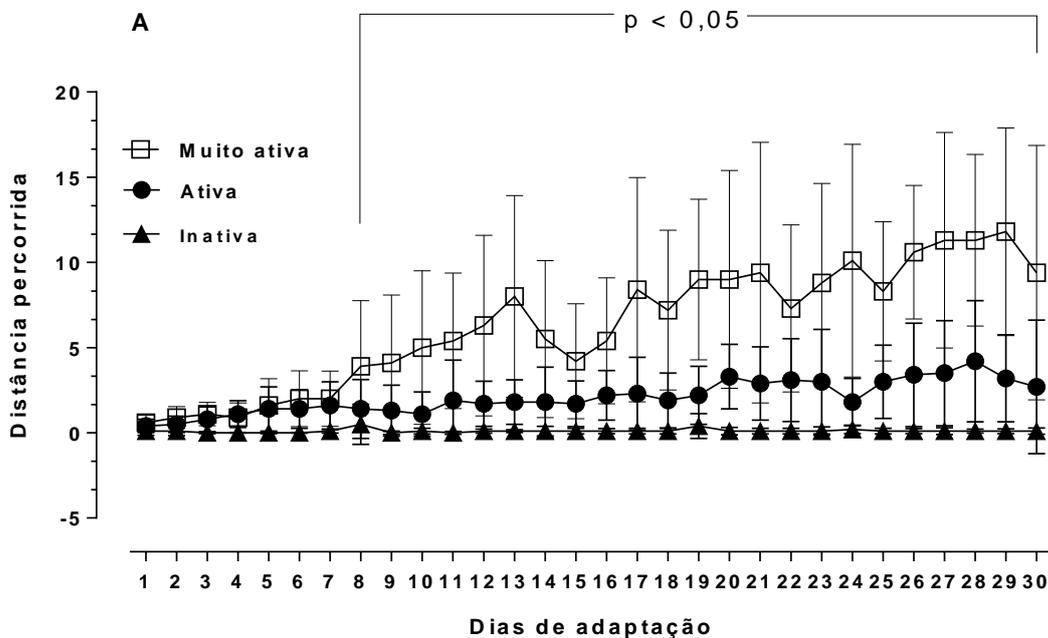
6 RESULTADOS

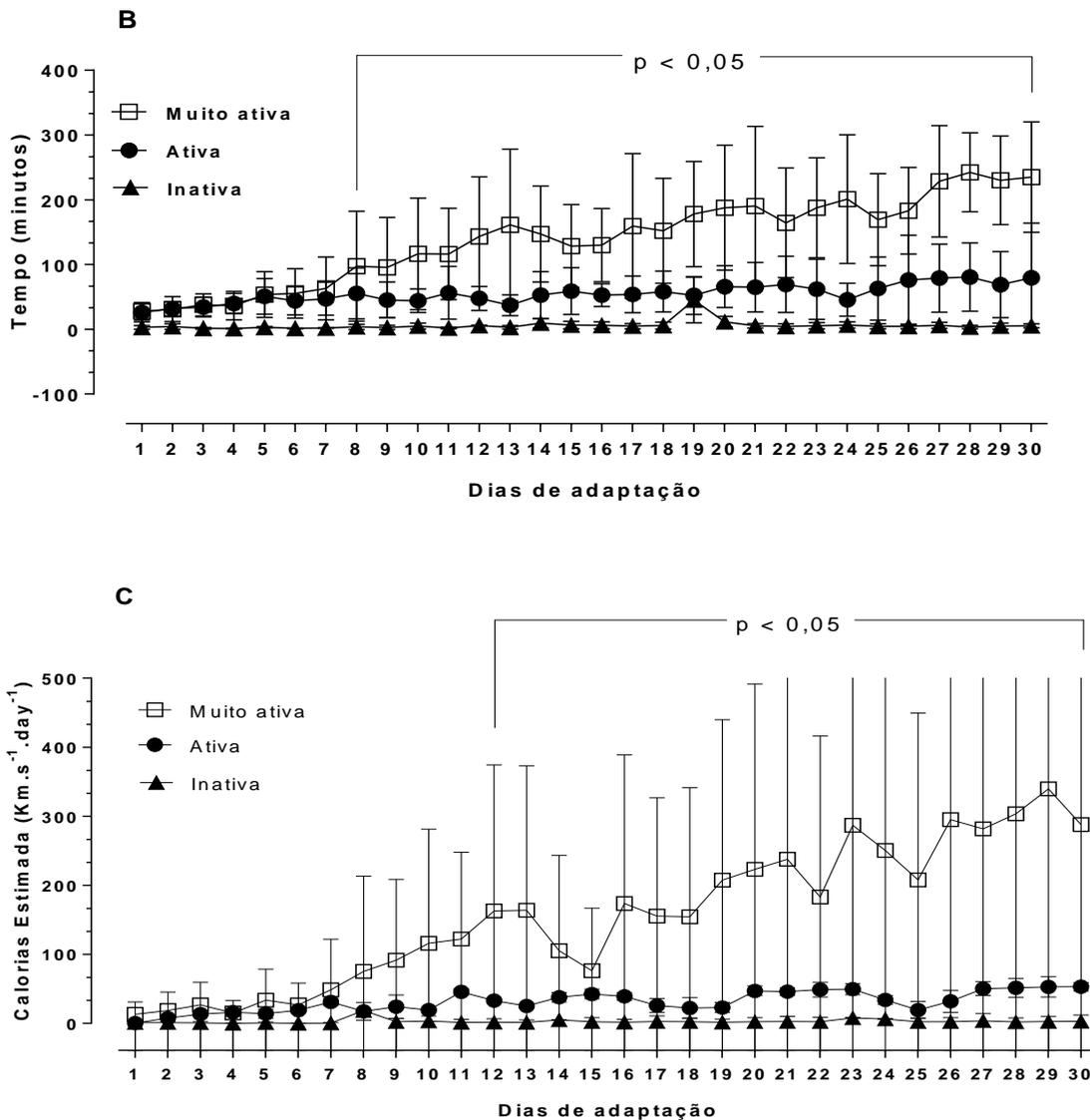
6.1 RESULTADOS A PARTIR DAS ANÁLISES REALIZADAS NAS RATAS MÃES

6.1.1 Ratas desenvolvem diferentes níveis de atividade física durante o período de adaptação

Os dados sobre os parâmetros de atividade física voluntária materna durante o período de adaptação são apresentados esquematicamente na Figura 9. Após o período de adaptação (trinta dias), os ratos foram classificados como inativos, ativos ou muito ativos de acordo com o nível de atividade física diária. Durante a adaptação, mães inativas realizaram menos de 1 km / dia na roda de corrida. As mães ativas realizaram uma quantidade constante de distância percorrida, enquanto as mães muito ativas apresentaram um aumento progressivo da distância percorrida.

Figure 9 - Parâmetros de atividade física voluntária para ratas durante o período de adaptação





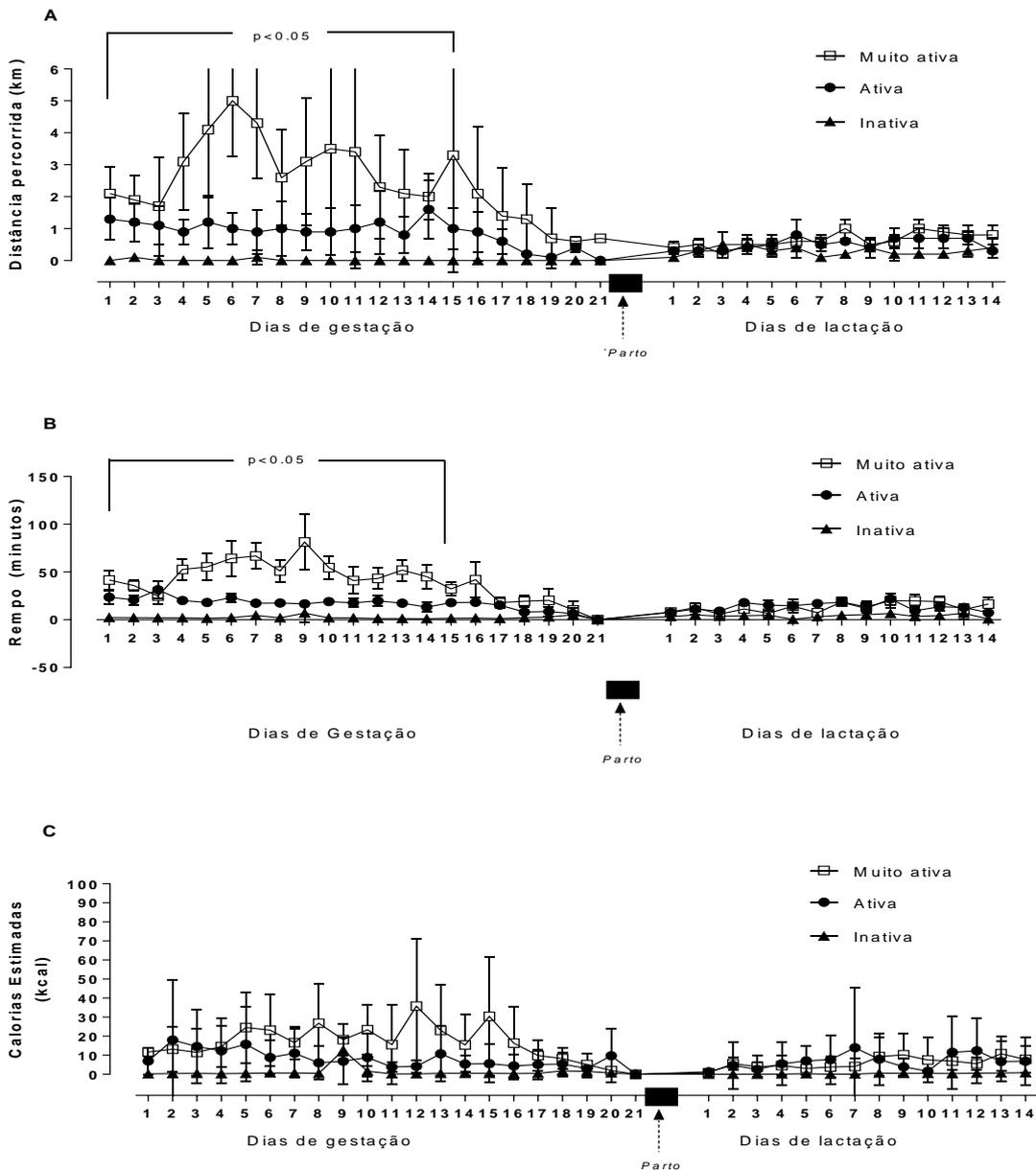
Parâmetros de atividade física voluntária para ratas Inativas ($n = 8$), Ativas ($n = 14$) e Muito Ativas ($n = 11$). A distância percorrida (A), o tempo de atividade (B) e a estimativa de gasto calórico (C) foram registrados durante o período de adaptação. Os valores são apresentados como média \pm desvio padrão da média (mean \pm S.D). * A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de duas vias com teste post-hoc de Tukey.

6.1.2 A atividade física voluntária diminui durante gestação e lactação

Durante a gestação, as ratas mães permaneceram nas gaiolas de atividade física voluntária com a roda ativa. As mães inativas mantiveram a distância percorrida menor que 1 km / dia, as mães ativas menos de 2 km / dia e as muito ativas reduziram a distância percorrida para menos de 4 km / dia na roda de corrida (Figura 10A). Do 15^a -17^a dia de gravidez até o 14^a dia do período de lactação, os

parâmetros de atividade física voluntária do grupo muito ativo e ativo tornaram-se comparáveis aos do grupo inativo (Figura 10 A-C).

Figura 10 - Parâmetros de atividade física voluntária para ratas durante o período de gestação e lactação.



Parâmetros de atividade física voluntária para mães Inativas ($n = 8$), Ativas ($n = 14$) e Muito Ativas ($n = 11$). A distância percorrida (A), o tempo de atividade (B) e a estimativa de calorias queimadas (C) foram registrados durante o período de gestação e lactação. Os valores são apresentados como média \pm desvio padrão da média (mean \pm S.D). *A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de dois fatores com teste post-hoc de Tukey.

6.1.3 Consumo alimentar e peso corporal materno

Na tabela 4 encontram-se os parâmetros maternos referente ao peso e consumo alimentar das ratas submetidas a atividade física voluntária em todo período experimental, adaptação (30 dias antes da gestação), gestação e lactação. Com relação ao ganho de peso, não houve diferença entre os grupos no período de adaptação e lactação, porém no período gestacional, gestação as mães muito ativas apresentaram um aumento no ganho de peso corporal em relação às mães inativas.

Com relação ao consumo alimentar, houve diferença significativa entre o grupo muito ativo *versus* inativo e muito ativo *versus* ativo em todos os períodos avaliados. O grupo ativo *versus* inativo mostrou diferença entre si apenas no período gestacional.

Tabela 4 - Peso corporal e ingestão alimentar materna durante a adaptação (30 dias antes da gravidez), gestação e lactação. Valores foram expressos em média e desvio padrão (D.P.)

	Inativo		Ativo		Muito ativo		P
	Média	D.P	Média	D.P	Média	D.P	
Adaptação							
Inicial PC (g)	217.50	13.10	226.56	15.58	218.75	7.65	
Final PC (g)	231.83	13.93	250.78	27.36	237.00	16.65	
Ganho de PC (g)	14.33	3.50	24.22	14.79	18.25	9.81	0.241
Ingestão alimentar (g/dia)	14.84	1.44	15.08	1.70	17.68^{ab}	1.38	0.003
Gestação							
Inicial PC (g)	248.50	21.14	252.17	26.42	244.86	21.54	
Final PC (g)	318.50	33.20	341.17	44.70	351.71	30.68	
Ganho de PC (g)	70.00	33.80	89.00	21.97	114.67^a	22.12	0.041
Ingestão alimentar (g/dia)	16.50	1.71	19.24^c	2.37	23.28^{ab}	1.85	0.001
Lactação							
Inicial PC (g)	254.17	15.55	287.09	35.34	270.50	27.58	
Final PC (g)	268.17	17.02	277.21	33.08	271.38	18.29	
Ganho de PC (g)	14.00	5.59	-5.09	17.91	0.88	15.59	0.066
Ingestão alimentar (g/dia)	24.53	7.14	31.17	12.43	51.11^{ab}	10.05	0.001

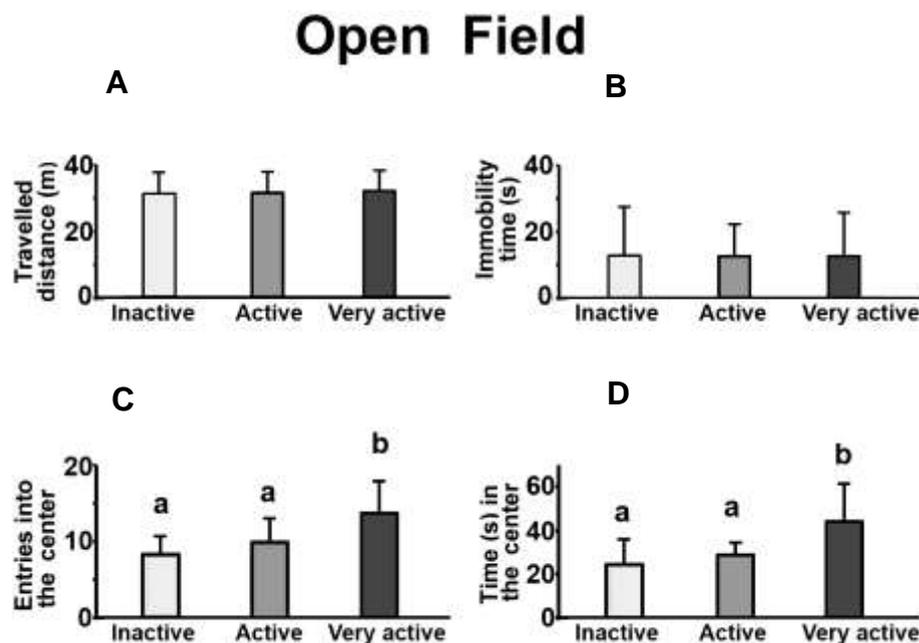
Mães: Inativas (n = 8), Ativas (n = 14) e Muito Ativas (n = 11).

^a p <0,05 versus inativo, ^b p <0,05 versus ativo e ^c p <0,05 versus inativo (ANOVA de uma via seguida de teste de Holm-Sidak). PC = peso corporal

6.1.5 Teste comportamental no campo aberto

O efeito da atividade física voluntária materna sobre a atividade locomotora e comportamento ansioso no teste de campo aberto (*open field* - OF) está disposto na figura 11. Comparado com o grupo inativo (*inactive*) e ativo (*active*), o grupo muito ativo (*very active*) entrou na área central um maior número de vezes (*very active* $13,7 \pm 4,2$ versus *active* $9,9 \pm 3,1$ e *inactive* $8,3 \pm 2,4$), e permaneceram por um tempo maior no centro (*very active* $44,0 \pm 17,4$ s versus *active* $28,9 \pm 5,7$ s e *inactive* $24,3 \pm 11,7$ s). Não houve diferença para a distância percorrida (*very active* $31,9 \pm 6,2$ m versus *active* $31,5 \pm 6,2$ m e *inactive* $31,0 \pm 6,4$ m) e tempo de imobilidade (*very active* $12,6 \pm 13,3$ s versus *active* $12,6 \pm 9,5$ s e *inactive* $12,8 \pm 14,6$ s).

Figura 11 - Efeito da atividade física voluntária materna sobre a atividade locomotora e comportamento ansioso no teste de campo aberto

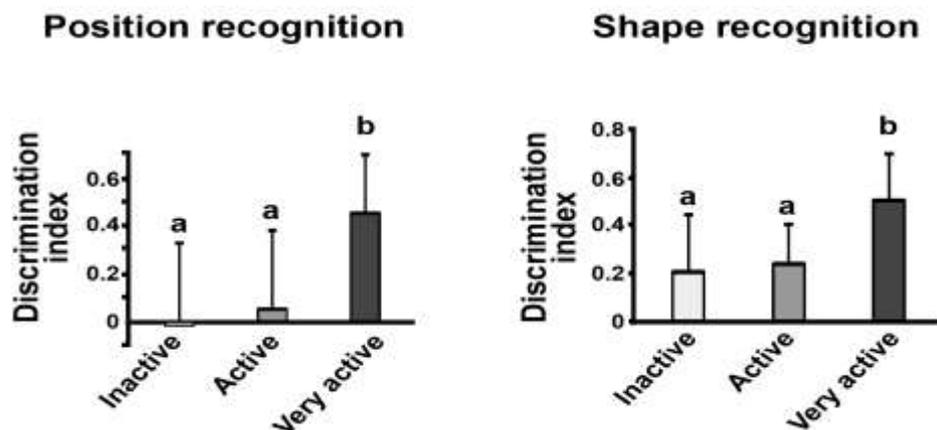


Atividade física voluntária materna resultou em atividade comportamental ansiolítica no teste de campo aberto em ratas previamente submetidas à roda de corrida voluntária antes, durante a gestação até a lactação. A ação ansiolítica foi caracterizada pelo aumento dos seguintes parâmetros: número de entradas na área central (gráfico C) e tempo de permanência na área central (gráfico D). Os grupos foram constituídos por mães Inativas ($n = 8$), Ativas ($n = 14$) e Muito Ativas ($n = 11$). Os valores são apresentados como média \pm D.P. Barras com letras diferentes representam valores significativamente diferentes e barras com as mesmas letras não diferem estatisticamente. ^b $p = 0,009$ para entradas na área central em comparação com os grupos inativos e ativos e ^b $p = 0,0013$ para o tempo na área central em comparação com os grupos inativos e ativos (ANOVA seguida pelo teste de Holm-Sidak).

6.1.6 Teste comportamental de reconhecimento de objeto

No teste de reconhecimento da posição espacial do objeto (Figura 12, painel esquerdo), o grupo muito ativo apresentou um maior índice de discriminação (*very active* $0,45 \pm 0,26$) do objeto inserido na nova posição espacial, comparado ao grupo ativo (*active* $0,054 \pm 0,324$) e inativo (*inactive* $- 0,01 \pm 0,335$). No teste de reconhecimento da forma do objeto (Fig. 12, painel direito), o grupo muito ativo apresentou um maior índice de discriminação (*very active* $0,505 \pm 0,1930$) no objeto com novo formato, comparado ao grupo ativo (*active* $0,239 \pm 0,165$) e inativo (*inactive* $0,208 \pm 0,237$).

Figura 12 - Tempo de exploração no teste de reconhecimento de objetos.



As mães inativas ($n = 8$), ativas ($n = 14$) e muito ativas ($n = 11$) são grupos previamente submetidos à atividade física voluntária materna antes, durante a gestação até a lactação. A retenção da memória de curto prazo foi caracterizada por um aumento no índice de discriminação tanto da nova forma do objeto quanto da nova posição espacial do objeto. Os valores são apresentados como média \pm D.P. Barras com letras diferentes representam valores significativamente diferentes e barras com as mesmas letras não diferem estatisticamente. ^b $p = 0,018$ para índice de discriminação da nova posição espacial do objeto em comparação com grupos inativos e ativos e ^b $p = 0,022$ para índice de discriminação da nova forma do objeto em comparação com grupos inativos (ANOVA seguida pelo teste de Holm-Sidak).

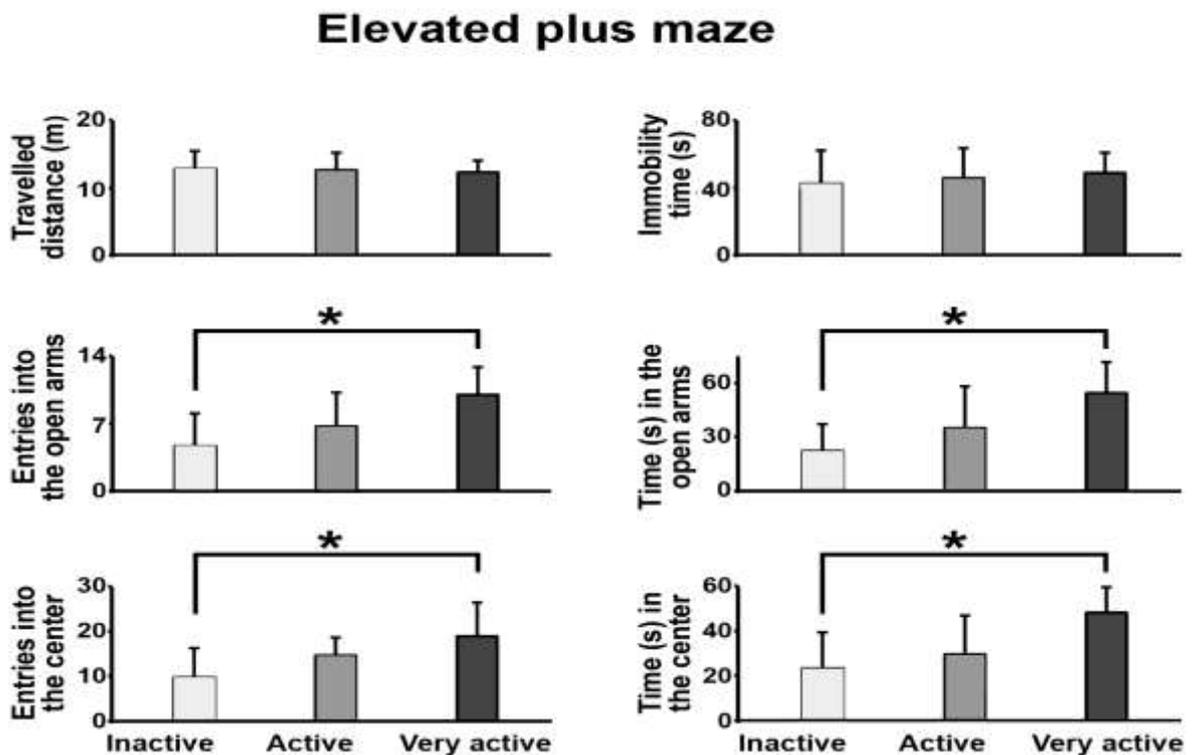
6.1.4 Teste comportamental no labirinto em cruz elevado

A figura 13 ilustra o efeito da atividade física voluntária materna sobre o comportamento ansioso das ratas, avaliado através do labirinto em cruz elevado (*elevated plus maze* - EPM). Com relação ao tempo de permanência nos braços abertos, o grupo muito ativo esteve por mais tempo comparado ao grupo ativo e inativo (*very active* $54,6 \pm 17,2$ s *versus active* $34,9 \pm 23,4$ s e *inactive* $22,0 \pm 15,2$ s) [Fig. 13, painel central direito]. Essa diferença se mostrou igual para o tempo de

permanência no centro do aparato do EPM (*very active* $48,1 \pm 14,9$ s *versus active* $29,5 \pm 17,4$ s e *inactive* $23,2 \pm 16,1$ s) [Fig. 13, painel inferior direito].

Com relação ao número de entrada nos braços abertos, o grupo muito ativo entrou mais vezes comparado ao grupo ativo e inativo (*very active* $10,0 \pm 2,9$ *versus active* $6,7 \pm 3,5$ e *inactive* $4,7 \pm 3,4$) [Fig. 13, painel central esquerdo]. Essa diferença se mostrou igual para o número de entradas no centro do aparato do EPM (*very active* $18,9 \pm 7,5$ *versus active* $14,6 \pm 4,0$ e *inactive* $9,7 \pm 6,6$) [Fig. 13, painel inferior esquerdo]. Não houve diferença para a distância percorrida (*very active* $12,3 \pm 1,8$ m *versus active* $12,6 \pm 2,6$ m e *inactive* $12,8 \pm 2,7$ m) [Fig. 13, painel superior esquerdo] e tempo de imobilidade (*very active* $48,6 \pm 12,2$ s *versus active* $45,7 \pm 17,9$ s e *inactive* $42,5 \pm 19,6$ s) [Fig. 13, painel superior direito].

Figura 13 - Atividade comportamental no teste de labirinto em cruz elevado



Atividade comportamental no teste de labirinto em cruz elevado (*elevated plus maze* – EPM) de mães Inativa (*inactive*); ativa (*active*) e muito ativa (*very active*) previamente submetidas à atividade física voluntária materna antes, durante a gestação até a lactação. O comportamento de ansiedade foi caracterizado pelo aumento dos seguintes parâmetros: número de entradas na área central (gráfico inferior esquerdo), tempo despendido na área central (gráfico inferior direito), número de entradas nos braços abertos (gráfico central esquerdo) e tempo despendido nos braços abertos (gráfico central direito). Os grupos foram constituídos por mães Inativas ($n = 8$), Ativas ($n = 14$) e Muito Ativas ($n = 11$). Os valores são apresentados como média \pm D.P. * $p = 0,022$ para entradas na área central em comparação com o grupo inativo, * $p = 0,038$ para o tempo gasto na área central em comparação

com o grupo inativo, * $p = 0,037$ para entradas nos braços abertos em comparação com o grupo inativo, * $p = 0,038$ para o tempo gasto nos braços abertos em comparação com o grupo inativo. Não houve diferença estatística para distância percorrida e $p = 0,906$ e tempo de imobilidade $p = 0,839$ entre os grupos (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Holm-Sidak).

6.1.7 Parâmetros relacionados à DAC

6.1.7.1 Velocidade de propagação da DAC

Em todos os grupos experimentais, a estimulação com 2% de KCl (aproximadamente 270 mM) em um ponto da superfície cortical frontal durante 1 minuto provocou, em regra, uma única onda de DAC que se propagou sem interrupção e foi registrado e gravado nos dois pontos da região parietal. Durante todo período de registro, a variação lenta de voltagem (VLV), e a diminuição da atividade elétrica espontânea cortical ECoG, confirmaram a presença da DAC após a estimulação com KCl.

Em todos os grupos experimentais, muito ativo (*very active*), ativo (*active*) e inativo (*inactive*), os valores obtidos da DAC (médias \pm desvio padrão) foram respectivamente $2,76 \pm 0,09$; $3,02 \pm 0,15$; $3,36 \pm 0,14$. A ANOVA indicou diferenças entre os grupos, e o teste *post-hoc* (Holm-Sidak) revelou que as velocidades foram menores na condição de muita atividade física voluntária (grupo muito ativo) em comparação com as condições de menos atividade (grupos ativo e inativo).

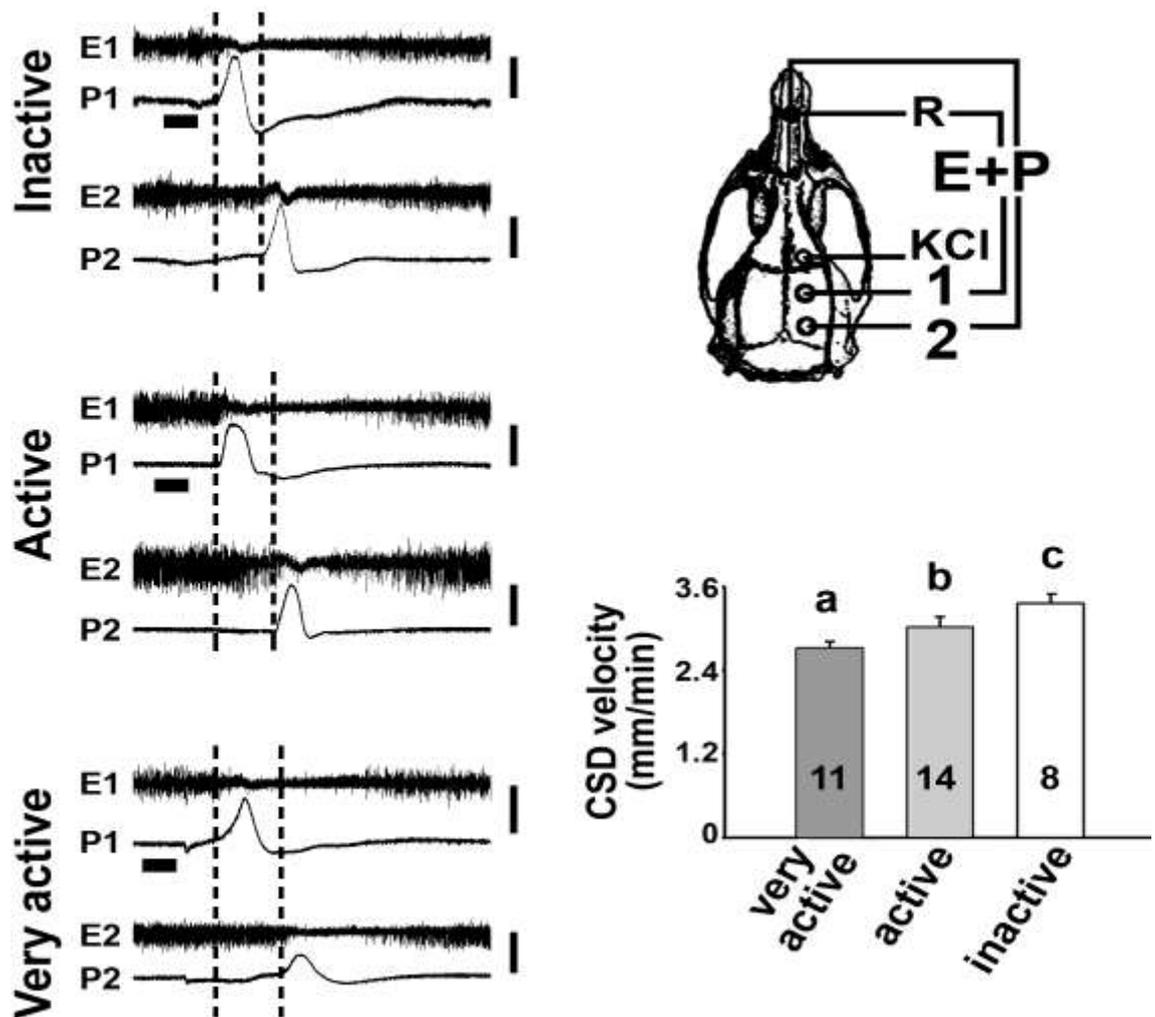


Figura 14. Eletrocorticograma (E) e variação negativa lenta do potencial (P) em dois pontos da superfície do hemisfério direito em três ratos previamente submetidos à roda de corrida voluntária antes, durante a gestação até a lactação. As três ilustrações no parte esquerda da figura são das ratas inativa (ilustração superior esquerda), rata ativa (ilustração central esquerda), rata muito ativa (ilustração inferior esquerda). O diagrama do crânio (ilustração superior direita) mostra as posições de registro 1 e 2, de onde foram obtidos os registros eletrofisiológicos (E e P) marcados com os mesmos números. A posição do eletrodo de referência comum (R) nos ossos nasais e o ponto de aplicação do estímulo deflagrador da DAC (KCl) também são mostrados. A DAC foi deflagrada no córtex frontal por estimulação química (uma bola de algodão de 1 a 2 mm de diâmetro embebida em KCl a 2%) aplicada por 1 min na dura-máter intacta, conforme indicado pelas barras horizontais. O gráfico inferior direito mostra a velocidade da depressão alastrante cortical (mm / min) das mães inativas ($n = 8$), ativas ($n = 14$) e muito ativas ($n = 11$) que foram previamente submetidas à roda de corrida voluntária. Barras com letras diferentes representam valores significativamente diferentes (a, b, c; $p < 0,001$). ANOVA seguida pelo teste de Holm-Sidak. O número em cada barra do gráfico inferior direito indica o tamanho da amostra.

6.1.7.2 Amplitude e duração da variação negativa lenta de potencial da DAC

A tabela 5 mostra os dados sobre amplitude e duração da variação lenta negativa do potencial da DAC, nos animais segundo condição experimental da presente tese. A ANOVA indicou um efeito principal da condição de atividade física sobre a amplitude da onda da DAC [F (2,28) = 39.490; $p < 0,001$] e o *post hoc* (Holm–Sidak) mostrou que as amplitudes foram inversamente correlacionado com a atividade física voluntária (grupo muito ativo < grupo ativo < grupo inativo; $p < 0.001$).

Em relação a duração, ANOVA indicou um efeito da condição de atividade física [F (2,30) = 142,755; $p < 0,001$] e o *post hoc* (Holm–Sidak) mostrou uma duração maior nas ratas muito ativas, seguida pelas ratas ativas, comparadas ao grupo de ratas inativas ($p < 0.001$).

Tabela 5 – Amplitude e Duração da variação negativa lenta do potencial da DAC em ratas previamente submetidas à atividade física voluntária seguida por um período de gestação e lactação.

Group	Amplitude (mV)	Duration (s)
Very Active	5.5 ± 1.1 ^a	86.2 ± 1.4 ^a
Active	8.3 ± 1.1 ^b	81.0 ± 1.3 ^b
Inactive	10.9 ± 1.8 ^c	74.7 ± 1.8 ^c

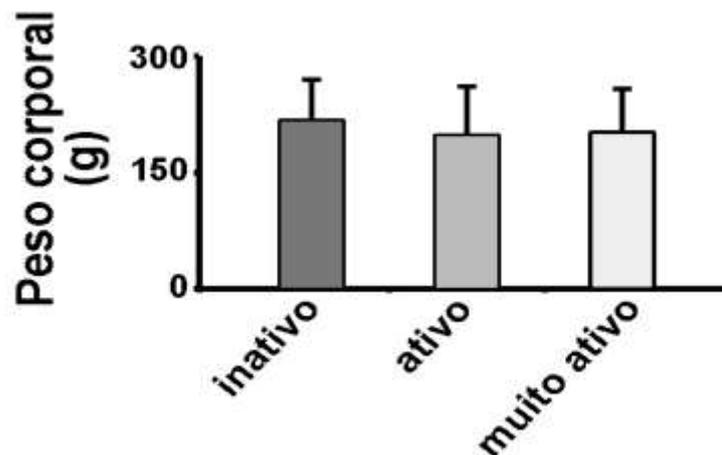
Os grupos são: Inativo (*inactive*), n=8; ativo (*active*), n=14 e muito ativo (*very active*), n=11. Os dados são expressos como médias ± desvio padrão (DP).

6.2 RESULTADOS A PARTIR DAS ANÁLISES REALIZADAS NOS FILHOTES COM 60 DIAS DE VIDA DAS RATAS MÃES INATIVAS, ATIVAS E MUITO ATIVAS

6.2.1 Peso corporal dos filhotes

Ao final do experimento, os filhotes machos e fêmeas dos três grupos apresentaram pesos corporais semelhantes (Figura 15). Os pesos médios (\pm desvio-padrão) foram: $222,0 \pm 55,4$ g para o grupo inativo, $212,0 \pm 62,7$ g para o grupo ativo e $213,7 \pm 54,5$ g para o grupo muito ativo. Esses dados sugerem que a atividade física voluntária materna durante a gestação não influencia os pesos corporais da prole adulta jovem.

Figura 15. Pesos corporais dos filhotes de ratas exercitadas voluntariamente antes e durante a gestação, e no período de lactação.



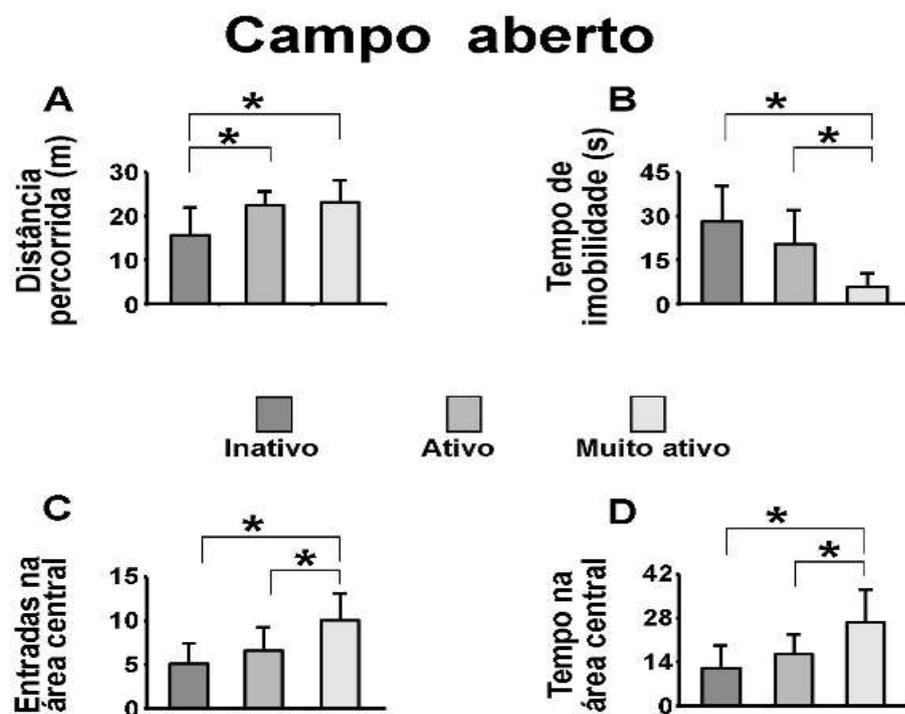
Pesos corporais (média \pm desvio-padrão) dos filhotes adultos jovens (60-70dias) de ratas exercitadas voluntariamente antes e durante a gestação, e no período de lactação. Os grupos são: Inativo (filhotes de mães inativas); ativo (filhotes de mães ativas) e muito ativo (filhotes de mães muito ativas). Não há diferenças significantes entre os grupos.

6.2.2 Atividade comportamental no campo aberto de filhotes de mães submetidas a atividade física voluntária

O efeito da atividade física voluntária materna sobre a atividade locomotora e comportamento ansioso no teste de campo aberto está disposto na figura 16. Os

filhotes de mães muito ativas (que se exercitavam muito na roda de corrida) apresentaram uma maior distância percorrida (23,23 m), e conseqüentemente menor tempo de imobilidade (5,66 s), em comparação com o grupo inativo (15,68 m e 28,08 s, respectivamente), nos 5 minutos que durou o teste do campo aberto. Houve ainda, no grupo muito ativo, um maior número de entradas na área central do campo aberto ($10,1 \pm 3,1$) e maior tempo de permanência nessa área central ($26,7 \pm 10,6$ s), o que é interpretado como um comportamento que indica pouca ansiedade, em relação ao grupo pouco ativo ($5,1 \pm 2,3$ e $12,1 \pm 7,3$ respectivamente).

Figura 16 - Atividade comportamental e locomotora no teste de campo aberto da prole



Atividade comportamental e locomotora no teste de campo aberto da prole a partir de 60 dias de vida de ratas previamente submetidas à atividade física voluntária seguida por um período de gestação e lactação. Os grupos são: Inativo (filhotes de mães inativas); ativo (filhotes de mães ativas) e muito ativo (filhotes de mães muito ativas). A - Distância percorrida (m); B - Tempo de imobilidade (s); C - Número de entradas na área central e D - Tempo na área central (s). Os dados são expressos como médias \pm desvio padrão (DP). Os asteriscos indicam diferenças significantes ($p < 0,05$). (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Holm-Sidak).

6.2.3 Teste comportamental de reconhecimento de objeto de filhotes de mães submetidas a atividade física voluntária

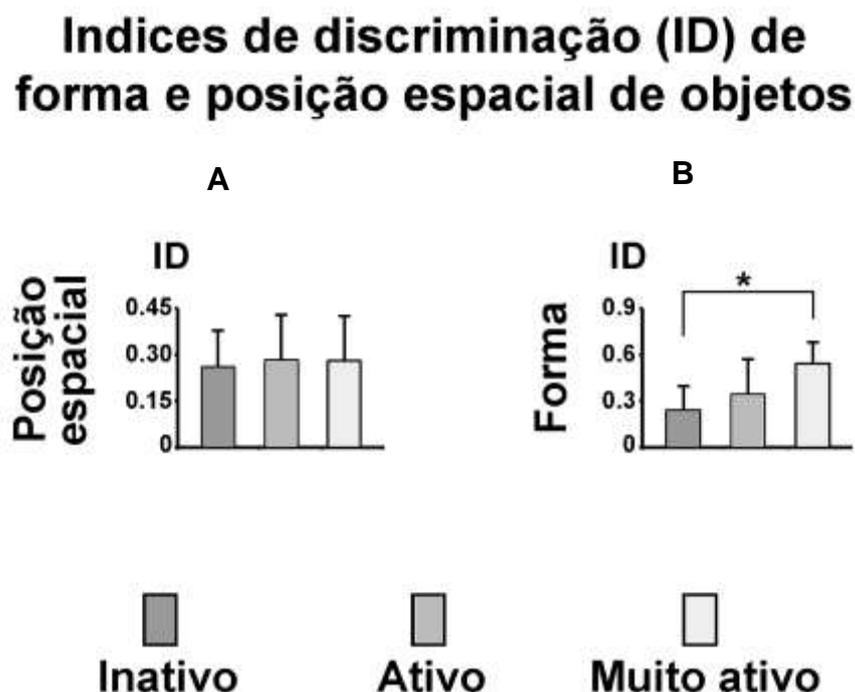
6.2.4.1 Reconhecimento Espacial

Nos testes de reconhecimento da posição espacial de um objeto, não houve diferença entre os grupos de filhotes (Figura 17, gráfico A); os índices de discriminação entre os grupos de filhotes de mães inativas, ativas e muito ativa foram, $0,260 \pm 0,118$ para o grupo inativo e $0,281 \pm 0,187$ para os grupos ativo e muito ativo.

6.2.4.1 Reconhecimento de forma

Neste teste, o grupo muito ativo apresentou uma discriminação significativamente maior ($ID = 0,539 \pm 0,144$), em comparação com o grupo inativo ($ID = 0,237 \pm 0,160$), mas não no grupo ativo, que apresentou $ID = 0,339 \pm 0,231$. Esses dados estão representados na Figura 17, gráfico da direita.

Figura 17 - Testes da memória de reconhecimento da posição espacial e da forma de objetos

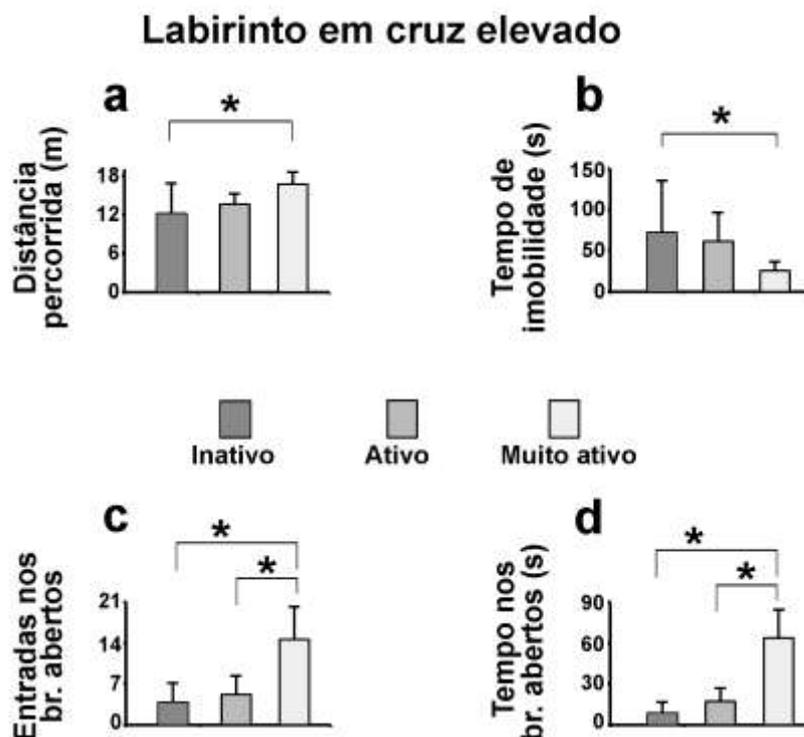


Testes da memória de reconhecimento da posição espacial (gráfico à esquerda) e da forma de objetos (direita). Os dados são expressos como médias \pm desvio padrão (DP).

6.2.4 Atividade comportamental no labirinto em cruz elevado de filhotes de mães submetidas a atividade física voluntária

A figura 16 ilustra o efeito da atividade física voluntária materna durante o período pré e pós gestacional sobre o comportamento ansioso dos filhotes, avaliado através do labirinto em cruz elevado. O grupo de filhotes de mães fisicamente muito ativas percorreram distância significativamente maior no labirinto do que o grupo inativo ($16,7 \pm 1,9$ m *versus* $12,2 \pm 4,7$ m); igualmente, permaneceram imóveis por menos tempo ($25,1 \pm 11,3$ s *versus* $72,0 \pm 63,4$ s), entraram um maior número de vezes nos braços abertos ($14,6 \pm 5,6$ *versus* $3,8 \pm 3,4$ vezes) e permaneceram mais tempo nesses braços ($63,6 \pm 20,7$ s *versus* $8,3 \pm 8,2$ s).

Figura 18 - Atividade comportamental no teste de labirinto em cruz elevado dos filhotes

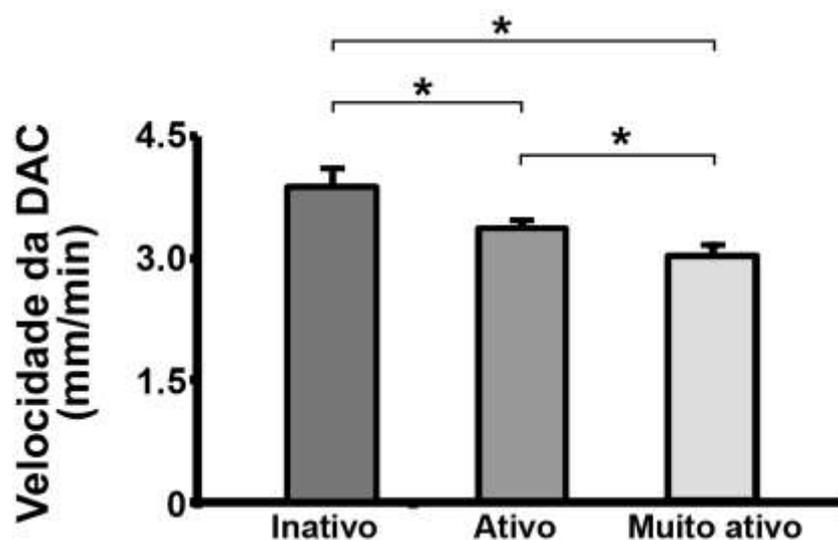


Atividade comportamental no teste de labirinto em cruz elevado dos filhotes de ratas exercitadas voluntariamente antes e durante a gestação, e no período de lactação. Os grupos são: Inativo (filhotes de mães inativas); ativo (filhotes de mães ativas) e muito ativo (filhotes de mães muito ativas). **a** - Distância percorrida (m); **b** - Tempo de imobilidade (s); **c** - Número de entradas nos braços abertos; **d** - Tempo nos braços abertos (s). Os asteriscos indicam diferenças significantes ($p < 0,05$). Os dados são expressos como médias \pm desvio padrão (DP). (ANOVA seguida pelo teste de Holm–Sidak).

6.2.5 Velocidade de propagação da DAC de filhotes de mães submetidas a atividade física voluntária

Quando os filhotes ($n = 38$) atingiram idade entre 70 a 80 dias, foram submetidos ao registro eletrofisiológico da DAC. O exercício físico voluntário materno esteve inversamente associado à velocidade de propagação da DAC, de tal modo que os três grupos de filhotes (provenientes de mães muito ativas, ativas e inativas) foram estatisticamente diferentes na seguinte ordem: muito ativo < ativo < inativo. As velocidades médias de propagação da DAC para os grupos muito ativo, ativo e inativo foram, respectivamente: $3,02 \pm 0,13$ mm/min, $3,37 \pm 0,09$ mm/min e $3,87 \pm 0,23$ mm/min ($p < 0,05$). Esses resultados, que são mostrados na Figura 19, sugerem que o exercício físico materno exerceu no cérebro dos filhotes um efeito antagônico à propagação da DAC. Esse efeito da atividade física voluntária mostrou-se semelhante ao descrito por suas respectivas mães (ver figura 14).

Figura 19 - Velocidades da DAC dos filhotes



Velocidades da DAC dos filhotes de ratas previamente submetidas à atividade física voluntária seguida por um período de gestação e lactação. Os grupos são: Inativo (filhotes de mães inativas); ativo (filhotes de mães ativas) e muito ativo (filhotes de mães muito ativas). Os dados são expressos como médias \pm desvio padrão (DP). ANOVA de uma via seguida pelo teste de Holm–Sidak.

7 DISCUSSÃO

Está bem estabelecido que a atividade física materna antes e durante a gravidez tem efeitos metabólicos, hormonais e cardiovasculares positivos na mãe e no feto (NOGUEIRA *et al.*, 2019; SANTANA-MUNIZ *et al.*, 2014; JONES *et al.*, 2021). Neste estudo, foi reforçada a hipótese de que o exercício materno promove adaptações neurofisiológicas maternas em mães e filhotes. Nossos dados mostraram que a atividade física espontânea materna foi benéfica para respostas comportamentais do tipo ansiolítico, retenção de memória de curto prazo e padrão eletrofisiológico, tanto em mães quanto em filhotes. Estudos anteriores relataram que a atividade física materna espontânea induz a resposta transcricional adaptativa de fatores neurotróficos no cérebro e na placenta de mães e filhos de ratos (FRAGOSO *et al.*, 2019). Além disso, filhotes de mães ativas e muito ativas apresentaram melhor neurodesenvolvimento, atividade locomotora e habilidades motoras básicas do que seus pares de mães sedentárias ou inativas (FRAGOSO *et al.*, 2017). Os mecanismos pelos quais os estímulos da atividade física afetam a programação do neurodesenvolvimento não são bem conhecidos, mas acredita-se que o sistema placentário-fetal desempenhe um papel central (FRAGOSO *et al.*, 2021).

Neste estudo experimental, confirmamos que a atividade física previamente à gestação (período de adaptação), é importante para categorizar as ratas em diferentes níveis de atividade: inativas, ativas e muito ativas, em resposta às mesmas condições ambientais, bem como também, estimular a manutenção da atividade em períodos posteriores (gestação e lactação). Essas mudanças podem ser consideradas multifatorial e complexa, bem como envolver mecanismos neuroquímicos que incluem os sistemas dopaminérgicos e endocanabíóides (GARLAND *et al.*, 2011; THOMPSON *et al.*, 2017; MEE *et al.*, 2018).

No período gestacional e de lactação as mães ativas e muito ativas relataram diminuição dos níveis de atividade, ganho regular de peso corporal, mas aumento da ingestão de alimentos. Estudos anteriores relataram resultados semelhantes para altos níveis de atividade associados à alta ingestão de alimentos (ANDERSSON-HALL *et al.*, 2021; SAKAKIMA *et al.*, 2016). A elevada quantidade de atividade física e o aumento da ingestão alimentar podem estar relacionados às adaptações metabólicas e endócrinas que permitem às mães cumprir o balanço energético para

garantir o crescimento do feto (MOORE, 2012; NASCIMENTO, SURITA, CECATTI, 2012; SANTANA MUNIZ *et al.*, 2014; GOBINATH *et al.*, 2017).

O ambiente durante a gestação é crítico para o desenvolvimento fetal e os estímulos perinatais podem influenciar o desenvolvimento da prole (DAVENPORT *et al.*, 2018). Alterações psicológicas, físicas, metabólicas e hormonais durante a gestação podem frequentemente levar à ansiedade (KHAMBADKONE KHAMBADKONE; CORDNER; TAMASHIRO, 2020). Em humanos, a ansiedade durante a gravidez foi associada a resultados de desenvolvimento cognitivo e social prejudicados, impacto adverso na relação da mulher com o feto, o bebê recém-nascido e, posteriormente, com a criança (ZHOU e LI, 2011). Prévios estudos mostraram que a atividade física regular tem resultados benéficos nos sintomas de ansiedade em mulheres grávidas (DAVENPORT *et al.*, 2018; YAN *et al.*, 2020).

No presente estudo, as ratas que executaram atividade física voluntária antes, durante a gestação e lactação apresentaram respostas comportamentais do tipo ansiolítico tanto no campo aberto quanto nos testes de labirinto em cruz elevado. Estudos mostram que além da atividade voluntária, o exercício físico involuntário (natação) demonstram efeito ansiolítico e anti-depressivo (TORABI *et al.*, 2017; BELVIRANLI e OKUDAN, 2019; FARZAD *et al.*, 2020). Estudo analisando o impacto da atividade voluntária em cicloergômetro durante a gestação, mostrou maior retenção de memória e aumento significativo no número de neurônios no giro dentado hipocampal em filhotes machos jovens (YAU *et al.*, 2019). Exercício com ratos em esteira por oito semanas (50 min/dia; 5 dias por semana a 50% – 70% do VO₂ máximo), melhorou o comprometimento na memória de curto e longo prazo (avaliado pelo teste de reconhecimento de objetos) e danos oxidativos (peroxidação lipídica) no hipocampo e córtex pré-frontal induzido pelo estresse da separação materna (NEVES *et al.*, 2015).

Os estudos que permitem compreender o papel do exercício físico sobre o neurodesenvolvimento são úteis para prevenir e atenuar processos degenerativos associado a um desequilíbrio redox, tendo em vista seu impacto sobre a ansiedade e memória durante a gestação (GARCIA-MESA *et al.*, 2015; RADAK *et al.*, 2016). Em linha com esses resultados, nossos estudos anteriores, utilizando o exercício físico (esteira e natação) em ratos machos jovens e adultos, confirmam sua ação eficaz para contrariar desordens neurais e minimizar as consequências negativas

sobre o comportamento ansioso (SILVA-GONDIM *et al.*, 2017; VITOR-DE-LIMA *et al.*, 2017).

Coletivamente, nossas análises traçam um quadro integrado dos benefícios que a atividade parental (materna) tem sobre a prole: não apenas reduz ansiedade e melhora o desempenho cognitivo da mãe e da prole, como também induz respostas eletrofisiológicas significativas, expressadas pela análise da DAC. Pesquisas recentes levantam a possibilidade de que a atividade física parental (materno e paterno) trazem benefícios para a prole, sobretudo quando realizado antes da gestação (YANG *et al.*, 2021). E neste contexto, nosso trabalho confirma e mostra que os efeitos benéficos intergeracionais da atividade física sobre o comportamento e a DAC ocorre em toda a ontogenia, em curto e longo prazo, como observado nos filhotes jovens das mães muito ativas.

Mecanismos potenciais subjacentes à transmissão dos benefícios da atividade voluntária materna aqui observados, são atribuídos especialmente a três fatores expressos no cérebro: (I) neurogênese hipocampal; (II) aumento na expressão de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e (III) modificações epigenéticas. A neurogênese hipocampal induzida pelo exercício parental nos filhos pode ocorrer em estágio pós-natal inicial e adolescência, acompanhadas de um melhor comportamento neurológico no aprendizado e na memória e redução da ansiedade (YAU *et al.*, 2019; MCGREEVY *et al.*, 2019; SEGABINAZI *et al.*, 2019; YAN *et al.*, 2020).

O VEGF é um fator de crescimento que está ligado à formação e ao desenvolvimento das células endoteliais vasculares no cérebro, sua expressão aumentada pode facilitar a angiogênese no cérebro da prole, fornecendo os nutrientes e oxigênio necessários para apoiar o desenvolvimento e a função do cérebro, incluindo neurogênese no hipocampo e córtex cerebral (SANCHES *et al.*, 2018), modulando o comportamento e não só isso, mas também o fenômeno da DAC, uma vez que este é influenciado por uma rede de neurônios e acompanhado da vasodilatação dos vasos sanguíneos corticais (GUEDES e ABADIE-GUEDES, 2019).

É importante ressaltar que a expressão de fatores de crescimento do cérebro (por exemplo, BDNF e VEGF) está positivamente relacionada a um melhor desenvolvimento cerebral e cognitivo da prole de pais exercitados (AKSU *et al.*, 2012; YANG *et al.*, 2021). Estudos anteriores mostraram que a atividade materna

antes e durante a gravidez resultou em aumento significativo na expressão de IGF-1r e BDNF mRNA no hipotálamo, IGF-1r e NTRK2 no hipocampo, BDNF, NTRK2, IGF-1 e IGF-1r no córtex, aumentou a sobrevivência das células do hipocampo e melhorou a capacidade de memória de curto prazo nos filhotes em comparação com seus pares inativos (KIM *et al.*, 2007; FRAGOSO *et al.*, 2021; FRAGOSO *et al.*, 2019). Além de melhorias nas características relacionadas à cognição (melhor retenção de memória), nossos resultados também mostram que maiores níveis de atividade física materna reduziu significativamente a ansiedade da mãe e sua prole. Em experimentos animais, o déficit de BDNF está relacionado a transtornos de humor, como depressão e ansiedade (COTMAN *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2020).

Os efeitos do exercício físico na transcrição de fatores de crescimento cerebral na prole são potencialmente mediados por mecanismos epigenéticos, como metilação de DNA, acetilação de histonas e RNAs não codificantes (GOMEZ-PINILLA *et al.*, 2011; IERACI *et al.*, 2015; SLEIMAN *et al.*, 2016). Isso abre a possibilidade de que as modificações epigenéticas resultantes da atividade exercida pela mãe sejam hereditárias e regulem a expressão gênica de fatores de crescimento na prole (por exemplo, BDNF e VEGF) para a função cerebral e cognição (SHORT *et al.*, 2017; BENITO *et al.*, 2018; MCGREEVY *et al.*, 2019). Outro mecanismo que emergiu como reguladores epigenéticos potentes da plasticidade cerebral e da função da memória foi um grupo de pequenos RNAs não-codificantes, particularmente microRNAs (miRNAs), e essa informação abriu o caminho para uma melhor compreensão do mecanismo epigenético subjacente à ação do exercício no cérebro (KONOPKA *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012; SAAB e MANSUY, 2014).

Com inovação, o presente estudo demonstrou que o comportamento ansiolítico, maior retenção de memória de curto prazo e reduzidas velocidades de propagação da DAC, induzidos pela atividade física materna foram também observadas na prole aos 60 dias de vida. Em humanos, bebês de mães ativas durante a gravidez (três vezes por semana, pelo menos 20 min / dia a 55% de sua capacidade aeróbia máxima) mostraram uma melhor resposta à discriminação de som e memória auditiva medida por eletroencefalografia (LABONTE-LEMOYNE *et al.*, 2017).

Os resultados eletrofisiológicos, expressos pela velocidade da DAC, mostram que a atividade física voluntária exerce igualmente a outros modelos experimentais de exercício (esteira e natação) uma ação resistente à propagação do fenômeno

eletrofisiológico. Alguns mecanismos de ação que relacionam o papel do exercício físico sobre a DAC têm sido sugeridos, como por exemplo, melhor produção antioxidante, tendo em vista que, agentes antioxidantes naturais (vitamina C, astaxantina, alfa-tocoferol), exercem efeito desacelerante sobre a propagação da DAC no tecido cortical (ABADIE-GUEDES *et al.*, 2016, 2012; MENDES-DA-SILVA *et al.*, 2014, 2018). E não só isso, mas o desequilíbrio redox também influencia, em certa medida, o comportamento ansioso (OTSUKA *et al.*, 2016). Dessa forma, somos tentados a postular que os efeitos da atividade física voluntária sobre os parâmetros comportamentais e eletrofisiológicos aqui demonstrados, estão envolvidos numa melhor produção antioxidante (CHUNG *et al.*, 2017; YÜKSEL *et al.*, 2019).

Outro possível fator que poderia explicar as velocidades de propagação da DAC reduzidas nas ratas muito ativas é o aumento da atividade serotoninérgica. Estudos mostram que o aumento na disponibilidade de serotonina se correlaciona inversamente com a propagação da DAC no cérebro de ratos (AMANCIO-DOS-SANTOS *et al.*, 2006; GUEDES *et al.*, 2017). Gobinath *et al.*, 2017, mostraram que quanto maior o nível de atividade física voluntária nas ratas mães, isoladamente ou em combinação com fluoxetina (inibidor seletivo da recaptação da serotonina - ISRS), aumentou a neurogênese hipocampal durante o período pós-parto nas mães e resultou em menor comportamento depressivo induzido pela corticosterona.

Em linha com esse entendimento, outro estudo avaliando a atividade física voluntária em associação com o citalopram (outra classe de ISRS), mostrou aumento significativo sobre a excitabilidade média dos neurônios 5-HT (DREMENCOV *et al.*, 2017). Curiosamente, em trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa, foi mostrado que o citalopram tem uma ação antagônica sobre a depressão alastrante cortical (GUEDES *et al.*, 2002). Assim, coletivamente, esses estudos leva-nos a postular uma possível relação entre as respostas eletrofisiológicas induzidas pela atividade física materna voluntária nas ratas muito ativas com o envolvimento do sistema serotoninérgico.

8 CONCLUSÃO

Este estudo com inovação mostrou que a atividade física voluntária materna tem efeito cerebral, que se expressa em parâmetros eletrofisiológicos relacionados à DAC. Além disso, reforça dados anteriores a respeito da ação desaceleradora do exercício físico (esteira e natação) sobre a DAC e endossa o papel da atividade física regular nos períodos pré-gestacional, gestacional e puerpério, como janela oportuna para otimizar a saúde, reduzindo possíveis quadros de ansiedade, além de melhorar aspectos cognitivos como a retenção de memória. Consideramos que nossos resultados podem sugerir uma relação benéfica da atividade física voluntária materna para mães e para os filhotes durante o desenvolvimento. A procura dos mecanismos bioquímicos, histológicos e moleculares subjacentes a este efeito, bem como da sua importância para a saúde humana, serão necessárias futuras investigações.

REFERÊNCIAS

- ABADIE-GUEDES, R.; GUEDES, R.C.A.; BEZERRA, R.S. The impairing effect of acute ethanol on spreading depression is antagonized by astaxanthin in rats of 2 young-adult ages. **Alcohol Clin**, v. 36, p.1563–1567, 2012. doi: 10.1111/j.1530-0277.2012.01766.x.
- ABADIE-GUEDES, R.; BEZERRA, R.S.; GUEDES, R.C.A. Alpha-tocopherol counteracts the effect of ethanol on cortical spreading depression in rats of various ages, with and without ethanol abstinence. **Alcohol Clin**, v. 40, p.728-33, 2016. doi: 10.1111/acer.12998.
- ACOG - American College of Obstetricians and Gynecologists. Physical activity and exercise during pregnancy and the postpartum period. Committee Opinion No. 650. **Obstet Gynecol**, v.126, p.135–42, 2015. doi:10.1097/AOG.0000000000001214.
- ACCIOLY, N.E. *et al.* Ovariectomy in the developing rat decelerates cortical spreading depression in adult brain. **International Journal of Developmental**, v. 30, p. 405-10, 2012. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2012.01.012
- ACCIOLY, N.E.; GUEDES, R.C.A. Topical cortical application of ovarian hormones and modulation of brain electrical activity: analysis of spreading depression in well-nourished and malnourished female rats. **Nutr Neurosci**, v. 23, p.887-895, 2019. doi: 10.1080/1028415X.2019.1575574.
- 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**, v.516, n.2, p.221–225, 2012. doi:10.1016/j.neulet.2012.03.091.
- AMÂNCIO-DOS-SANTOS, A. *et al.* Fluoxetine inhibits cortical spreading depression in weaned and adult rats suckled under favorable and unfavorable lactation conditions. **Exp. Neurol**, v.200, p.275–282, 2006. doi:10.1016/j.expneurol.2006.02.014.
- AMORIM, M.F. *et al.* Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? **Exp Physiol**, v.94, p.906–913, 2009. doi: 10.1113/expphysiol.2009.047621
- ANDOH, M. *et al.* Exercise Reverses Behavioral and Synaptic Abnormalities after Maternal Inflammation. **Cell Rep**, v. 27, p. 2817-2825, 2019. doi:10.1016/j.celrep.2019.05.015.
- ANDERSSON-HALL, U. *et al.* Physical activity during pregnancy and association with changes in fat mass and adipokines in women of normal-weight or with obesity. **Sci Rep**, v.11, p.12549, 2021. doi: 10.1038/s41598-021-91980-z.

- ANTUNES, P. *et al.* Effects of physical exercise on outcomes of cardiac (dys) function in women with breast cancer undergoing anthracycline or trastuzumab treatment: study protocol for a systematic review. **Syst Rev**, v.8, p.239, 2019. doi: 10.1186/s13643-019-1154-x.
- ANTUNES M, BIALA G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. **Cogn Process**, v.13:93–110, 2012. DOI 10.1007/s10339-011-0430-z
- ANDRADE-SOUZA, V. A. *et al.* Exercise twice-a-day potentiates markers of mitochondrial biogenesis in men. **FASEB J**, v.34, p.1602-1619, 2020. doi: 10.1096/fj.201901207R
- BATISTA-de-OLIVEIRA, M. *et al.* Aging-dependent brain electrophysiological effects in rats after distinct lactation conditions, and treadmill exercise: a spreading depression analysis. **Exp Gerontol**, v.47, p.452-457, 2012. doi: 10.1016/j.exger.2012.03.016.
- BELFIORE, P. *et al.* Adapted physical activity and stroke: a systematic review. **J Sports Med Phys Fitness**, v.58, p.1867-1875, 2018. doi: 10.23736/S0022-4707.17.07749-0.
- BELVIRANLI M, OKUDAN N. Voluntary, involuntary and forced exercises almost equally reverse behavioral impairment by regulating hippocampal neurotrophic factors and oxidative stress in experimental Alzheimer's disease model. **Behavioural Brain Researc**, v.364, p.245–255, 2019. doi: 10.1016/j.bbr.2019.02.030.
- BENEVIDES, R.D.L. *et al.* Lactation in large litters influences anxiety, memory, and spreading depression in adult male rats that were chronically subjected to a nonconvulsive pilocarpine dose. **Nutr Neurosci**, v.11, p.1-11, 2020. doi: 10.1080/1028415X.2020.1819103.
- BENITO, E. *et al.* RNA-dependent intergenerational inheritance of enhanced synaptic plasticity after environmental enrichment. **Cell Reports**, v.23, p.546– 554, 2018. doi: 10.1016/j.celrep.2018.03.059.
- BERCHTOLD, N.C.; CASTELLO, N.; COTMAN, C.W. Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. **Neuroscience**, v.167, p. 588-597, 2010. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.02.050.
- BETTIO, L. *et al.* Modulation of synaptic plasticity by exercise. **Int Rev Neurobiol**, v. 147, p.295-322, 2019. doi: 10.1016/bs.irn.2019.07.002.
- BICK-SANDER, A. *et al.* Running in pregnancy transiently increases postnatal hippocampal neurogenesis in the offspring. **Proc. Natl. Acad. Sci**, v.103, p.3852–3857, 2006.

BRUNELLI, A. *et al.* Acute exercise modulates BDNF and pro-BDNF protein content in immune cells. **Med Sci Sports Exerc**, v.44, p.1871–80, 2012. doi: 10.1249/MSS.0b013e31825ab69b.

BRUINVELS, G. *et al.* Sport, exercise and the menstrual cycle: where is the research? **Br J Sports Med**, v.51, p.487–488, 2017. doi. org/10.1136/bjsports-2016-096279.

CARRIZOSA-MOOG, J. *et al.* Epilepsy, Physical Activity and Sports: A Narrative Review. **Can J Neurol Sci**, v.45, p.624-632, 2018. doi: 10.1017/cjn.2018.340.

CARTER, L. G. *et al.* Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 303, n. 8, p. E1061-8, 2012. doi: 10.1152/ajpendo.00213.2012.

CASPERSEN, C.J.; POWELL, K.E.; CHRISTENSON, G.M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Rep**, v. 100, p. 126-31, 1985. PMID: 3920711

CASSILHAS, R.C.; TUFIK S.; DE MELLO M.T. Physical exercise, neuroplasticity, spatial learning and memory. **Cell. Mol. Life Sci. V.5**, p.975-83, 2016. doi: 10.1007/s00018-015-2102-0.

CHIN, L.M. *et al.* Improved cognitive performance following aerobic exercise training in people with traumatic brain injury. **Arch. Phys. Med. Rehabil**, v.96, p.754–759, 2015. doi: 10.1016/j.apmr.2014.11.009.

CHRONICLE B. *Pregnancy Brain: Lists and To-Dos for the Forgetful Mom-to-Be.* San Francisco: Chronicle Books; 2018.

CHUNG, E. *et al.* Maternal exercise upregulates mitochondrial gene expression and increases enzyme activity of fetal mouse hearts. **Physiol Rep**, v.5, E13184. doi: 10.14814/phy2.13184.

CLAPP, J.F. 3rd; LOPEZ, B.; HARCAR-SEVCIK, R. Neonatal behavioral profile of the offspring of women who continued to exercise regularly throughout pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**, v.180, p.91-4, 1999. doi: 10.1016/s0002-9378(99)70155-9. PMID: 9914584.

CONTARTEZE, R.V. *et al.* Stress biomarkers in rats submitte to swimming and treadmill running exercises. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v.151, p. 415-2, 2008. doi: 10.1016/j.cbpa.2007.03.005.

COSTA-SILVA, J.H.; SIMOES-ALVES A.C.; FERNANDES M.P. Developmental origins of cardiometabolic diseases: role of the maternal diet. **Front Physiol**, v. 7, p.504. 2016. doi: 10.3389/fphys.2016.00504.

COSTELLO, J.T.; BIEUZEN, F; BLEAKLEY, C. M. Where are all the female participants in Sports and Exercise Medicine research? **Eur J Sport Sci**, v.14, p.847–851, 2014. https://doi.org/10.1080/17461391.2014.911354.

COTMAN, C.W.; BERCHTOLD, N.C.; CHRISTIE, L-A. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*, v.30, p.464–472, 2007. doi: 10.1016/j.tins.2007.06.011.

CRAWLEY, R.A. Self-perception of cognitive changes during pregnancy and the early postpartum: salience and attentional effects. *Appl Cogn Psychol*, v.16, p.617–633, 2002.

DAVENPORT, M.H. *et al.* Prenatal exercise for the prevention of gestational diabetes mellitus and hypertensive disorders of pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med*, 52:1367-1375, 2018. doi: 10.1136/bjsports-2018-099355.

DAVIES, S.J. *et al.* Cognitive impairment during pregnancy: a meta-analysis. *Med J Aust*. 208:35–40, 2018. doi: 10.5694/mja17.00131.

DE ALMEIDA, A.A. *et al.* Resistance exercise reduces seizure occurrence, attenuates memory deficits and restores BDNF signaling in rats with chronic epilepsy. *Neurochem. Res*, v.42, p.1230–1239, 2017. doi: 10.1007/s11064-016-2165-9.

DESPRÉS, J.P. Physical Activity, Sedentary Behaviours, and Cardiovascular Health: When Will Cardiorespiratory Fitness Become a Vital Sign? *Can J Cardiol*, v. 32, p. 505-13, 2016. doi: 10.1016/j.cjca.2015.12.006.

DIETZ, P. *et al.* The influence of physical activity during pregnancy on maternal, fetal or infant heart rate variability: a systematic review. *BMC Pregnancy Childbirth*, v.16, p.326, 2016. doi: 10.1186/s12884-016-1121-7.

DIPIETRO, L. *et al.* Benefits of Physical Activity during Pregnancy and Postpartum: An Umbrella Review. *Med Sci Sports Exerc*, v.51, p.1292-1302, 2019. doi: 10.1249/MSS.0000000000001941.

DOBBING, J. The Influence of Early Nutrition on the Development and Myelination of the Brain. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, v. 159, p. 503-509, 1964. doi: 10.1098/rspb.1964.0016.

DREIER, J.P. *et al.* Terminal spreading depolarization and electrical silence in death of human cerebral cortex. *Ann. Neurol*, 83, 295–310, 2018. doi: 10.1002/ana.25147

DREMENCOV, E. *et al.* Effect of Physical Exercise and Acute Escitalopram on the Excitability of Brain Monoamine Neurons: In Vivo Electrophysiological Study in Rats. *Int J Neuropsychopharmacol*, v.20, p.585-592, 2017. doi: 10.1093/ijnp/pyx024.

EBINE, T. *et al.* Alterations in the threshold of the potassium concentration to evoke cortical spreading depression during the natural estrous cycle in mice.

Neuroscience Research, v.112, p.57–62, 2016. Doi: 10.1016/j.neures.2016.06.001.

EID, R.S. *et al.* Early and late effects of maternal experience on hippocampal neurogenesis, microglia, and the circulating cytokine milieu. **Neurobiol Aging**, v.78, p.1-17, 2019. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2019.01.021.

EIKERMANN-HAERTER, K.; MOSKOWITZ, M.A. Animal models of migraine headache and aura. **Curr. Opin. Neurol**, v. 21, p. 294-300, 2008. doi: 10.1097/WCO.0b013e3282fc25de.

ELDOMIATY, M.A. *et al.* Voluntary running improves depressive behaviours and the structure of the hippocampus in rats: A possible impact of myokines. **Brain Res**, v.1657, p.29-42, 2017. doi: 10.1016/j.brainres.2016.12.001.

ESTEBAN-CORNEJO, I. *et al.* Maternal physical activity before and during the prenatal period and the offspring's academic performance in youth. **J. Matern. Fetal Neonatal Med**, v.29, n.9, p.1414–1420, 2016. doi: 10.3109/14767058.2015.1049525.

ESTES, M.L., MCALLISTER, A.K. Maternal immune activation: implications for neuropsychiatric disorders. **Science**, v.353, p.772–777, 2016. doi.org/10.1126/science. aag3194.

EVENSON K.R., MOTTOLA M.F., ARTAL R. Review of Recent Physical Activity Guidelines During Pregnancy to Facilitate Advice by Health Care Providers. **Obstet Gynecol Surv**, v.74, p.481-489, 2019. doi: 10.1097/OGX.0000000000000693.

FALCÃO-TEBAS, F. *et al.* Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. **Br. J. Nutr**, v.107, p.372–377, 2012. doi: 10.1017/S0007114511002947

FARES, A. Pharmacological and Non-pharmacological Means for Prevention of Fractures among Elderly. **Int J Prev Med**, v.9, p.78, 2018. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_114_18.

FARZAD P, *et al.* The Effect of Voluntary Exercise and Prenatal Exposure to Sodium Valproate on Learning, Memory, and Anxiety of Rats' Offspring. **Iran J Med Sci**, v.45, p.32-40, 2020. doi: 10.30476/ijms.2019.45314.

FERNANDES, J. *et al.* A single bout of resistance exercise improves memory consolidation and increases the expression of synaptic proteins in the hippocampus. **Hippocampus**, V.26, n.8, p.1096–103, 2016. doi: 10.1002/hipo.22590.

FERNANDES J.; ARIDA R.M.; GOMEZ-PINILLA F. Physical exercise as an epigenetic modulator of brain plasticity and cognition. **Neurosci Biobehav Rev**, v.80, p.443-456, 2017. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.06.012.

- FERRARI, M.D. *et al.* Migraine pathophysiology: lessons from mouse models and human genetics. **Lancet Neurol**, v.14, p. 65-80, 2015. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70220-0.
- FERREIRA, D.S. *et al.* Perinatal lowprotein diet alters brainstem antioxidant metabolism in adult offspring. **Nutr. Neurosci**, v.19, p.369–375, 2015. doi: 10.1179/1476830515Y.0000000030
- FERREIRA, D.J. *et al.* Mitochondrial bioenergetics and oxidative status disruption in brain stem of weaned rats: immediate response to maternal protein restriction. **Brain Res**, v.1642, p.553–561, 2016. doi:10.1016/j.brainres.2016.04.049
- FIDALGO, M. *et al.* Efeito do treinamento físico e da desnutrição durante a gestação sobre os eixos cranianos de ratos neonatos. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, p. 441-444, 2010. doi.org/10.1590/S1517-86922010000600009
- FRAGOSO, J. *et al.* Maternal voluntary physical activity attenuates delayed neurodevelopment in malnourished rats. **Exp Physiol**, v.102, p.1486-1499, 2017. doi: 10.1113/EP086400.
- FRAGOSO, J. *et al.* Maternal physical activity-induced adaptive transcriptional response in brain and placenta of mothers and rat offspring. **J Dev Orig Health Dis**, v.11, p.108-117, 2019. doi: 10.1017/S2040174419000333.
- FRAGOSO, J. *et al.* Effects of maternal low-protein diet and spontaneous physical activity on the transcription of neurotrophic factors in the placenta and the brains of mothers and offspring rats. **J Dev Orig Health Dis**, v.12, p.505-512, 2021. doi: 10.1017/S2040174420000756.
- FRANCISCO, E.D.S. *et al.* Taurine/Pilocarpine Interaction in the Malnourished Rat Brain: A Behavioral, Electrophysiological, and Immunohistochemical Analysis. **Front Neurosci**, v.13, p.981, 2019. doi: 10.3389/fnins.2019.00981.
- FRANCISCO, E.D.S.; GUEDES, R.C.A. Neonatal taurine and alanine modulate anxietylike behavior and decelerate cortical spreading depression in rats previously suckled under different litter sizes. **Amino Acids**, v.47, p.2437–2445, 2015. doi: 10.1007/s00726-015-2036-8.
- GALEA, L.A.M. *et al.* Premarin has opposing effects on spatial learning, neural activation, and serum cytokine levels in middle-aged female rats depending on reproductive history. **Neurobiology of Aging**, v.70, p.291-307, 2018. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.030.
- GARCIA-MESA, Y. *et al.* Oxidative stress is a central target for physical exercise neuroprotection against pathological brain aging, **J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci**, v.71, p.40-9, 2015. doi: 10.1093/gerona/glv005.
- GARLAND, T.J. *et al.* The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. **J Exp Biol**, v.214, p.206-29, 2011. doi: 10.1242/jeb.048397.

- GLYNN, L.M. Giving birth to a new brain: hormone exposures of pregnancy influence human memory. **Psychoneuroendocrinology**, v.35, p.1148–1155, 2010. doi: 10.1016/j.psyneuen.2010.01.015.
- GOBINATH, A.R. *et al.* Voluntary running influences the efficacy of fluoxetine treatment in a model of postpartum depression. **Neuropharmacology**, v.128 p.106-118, 2017. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.09.017.
- GOH, J.; LADIGES, W. Voluntary wheel running in mice. **Curr Protoc Mouse Biol**, v.5, p.283–290, 2015. doi: 10.1002/9780470942390.mo140295.
- GOMES DA SILVA, S.; ARIDA, R.M. Physical activity and brain development. **Expert Rev Neurother**, v.15, p.1041-51, 2015. doi: 10.1586/14737175.2015.1077115.
- GOMEZ-PINILLA, F. *et al.* Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. **Eur. J. Neurosci**, v.33, p.383–390, 2011. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07508.x.
- GREGG, V.H.; FERGUSON, J.E. Exercise in Pregnancy. **Clin Sports Med**, v.36, p.741-752, 2017. doi: 10.1016/j.csm.2017.05.005.
- GUEDES, R.C.A. *et al.* Citalopram has an antagonistic action on cortical spreading depression in well-nourished and early-malnourished adult rats. **Nutr. Neurosci**, v.5, p.115–123, 2002. doi: 10.1080/10284150290018937.
- GUEDES R.C.A. Cortical Spreading Depression: A Model for Studying Brain Consequences of Malnutrition. In: Preedy VR, Watson RR, Martin CR (eds.) Handbook of Behavior, **Food and Nutrition**, p.2343-2355, 2011.
- GUEDES, R.C.A. *et al.* Evidence of an inverse correlation between serotonergic activity and spreading depression propagation in the rat cortex. **Brain Research**, v.1672, p. 29–34, 2017. doi: 10.1016/j.brainres.2017.07.011.
- GUEDES, R.C.A.; ABADIE-GUEDES, R. Brain Aging and Electrophysiological Signaling: Revisiting the Spreading Depression Model. **Front Aging Neurosci**, v.7, p.11:136, 2019. doi: 10.3389/fnagi.2019.00136.
- GYLLING, A.T. *et al.* The influence of prolonged strength training upon muscle and fat in healthy and chronically diseased older adults. **Exp Gerontol**, v.136, p.110939. doi: 10.1016/j.exger.2020.110939.
- HARRISON, C.L. *et al.* The Role of Physical Activity in Preconception, Pregnancy and Postpartum Health. **Semin Reprod Med**, v.34, p.28-37, 2016. doi: 10.1055/s-0036-1583530
- HATCHARD, T.; TING, J.J.; MESSIER, C. Translating the impact of exercise on cognition: methodological issues in animal research. **Behav Brain Res**, v.273, p.177-88, 2014. doi: 10.1016/j.bbr.2014.06.043.

HARTINGS, J. A. *et al.* The continuum of spreading depolarizations in acute cortical lesion development: examining Leão's legacy. **J. Cereb. Blood Flow Metab**, v.37, p.1571–1594, 2017. doi: 10.1177/0271678X16654495.

HILLERER, K.M. *et al.* The maternal brain: an organ with peripartal plasticity. **Neural Plast**, v.2014, p.574159, 2014. doi: 10.1155/2014/574159.

HINMAN, S.K. *et al.* Exercise in Pregnancy: A Clinical Review. **Sports Health**, v.7, p.527-31, 2015. doi: 10.1177/1941738115599358.

HOEKZEMA, E. *et al.* Pregnancy leads to long lasting changes in human brain structure. **Nat Neurosci**, v.20, p.287–296, 2016. doi: 10.1038/nn.4458.

IERACI, A. *et al.* Physical exercise and acute restraint stress differentially modulate hippocampal brain-derived neurotrophic factor transcripts and epigenetic mechanisms in mice. **Hippocampus**, v.25, n.11, p.1380–1392. 2015. doi: 10.1002/hipo.22458

INTZANDT, B.; BECK, E.N.; SILVEIRA, C.R.A. The Effects of Exercise on Cognition and Gait in Parkinson's disease: A Scoping Review. **Neurosci Biobehav Rev**, v.95, p.136-169, 2018. doi: 10.1016/j.neubiorev.2018.09.018.

JACOTTE-SIMANCAS, A. *et al.* Effects of voluntary physical exercise, citicoline, and combined treatment on object recognition memory, neurogenesis, and neuroprotection after traumatic brain injury in rats. **J Neurotrauma**, v.32, p.739-51, 2015. doi: 10.1089/neu.2014.3502.

JAYAKODY, K.; GUNADASA S.; HOSKER C. Exercise for anxiety disorders: systematic review. **Br. J. Sports Med**, v.48, n.3, p.187–196. 2014. doi: 10.1136/bjsports-2012-091287.

JUKIC, A.M. *et al.* Physical activity during pregnancy and language development in the offspring. **Paediatr Perinat Epidemiol**, v.27, p.283-93, 2013. doi: 10.1111/ppe.12046.

LABONTE-LEMOYNE, E.; CURNIER, D.; ELLEMBERG D. Exercise during pregnancy enhances cerebral maturation in the newborn: A randomized controlled trial. **J Clin Exp Neuropsychol**, v.39, p. 347-354, 2017. doi: 10.1080/13803395.2016.1227427.

LAKER, R. C. *et al.* Exercise Prevents Maternal High-Fat Diet–Induced Hypermethylation of the Pgc-1a Gene and Age-Dependent Metabolic Dysfunction in the Offspring. **Diabetes**, v. 63, p.1605-11, 2014. doi: 10.2337/db13-1614.

LAURITZEN, M.; STRONG, A.J. 'Spreading depression of Leão' and its emerging relevance to acute brain injury in humans. **J. Cereb. Blood Flow Metab**, v.37, p.1553–1570, 2016. doi: 10.1177/0271678x16657092

- KANDOLA, A. *et al.* Physical activity and depression: Towards understanding the antidepressant mechanisms of physical activity. **Neurosci Biobehav Rev**, v.107, p.525-539, 2019. doi: 10.1016/j.neubiorev.2019.09.040
- KHAMBADKONE, S.G.; CORDNER, Z.A.; TAMASHIRO, K.L.K. Maternal stressors and the developmental origins of neuropsychiatric risk. **Front Neuroendocrinol**, v.57, p.100834, 2020. doi: 10.1016/j.yfrne.2020.100834.
- KELLEY, E. *et al.* Cardiorespiratory Fitness Is Inversely Associated With Clustering of Metabolic Syndrome Risk Factors: The Ball State Adult Fitness Program Longitudinal Lifestyle Study. **Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes**, v.8, p.155-164. doi:10.1016/j.mayocpiqo.2018.03.001.
- KIM, H. *et al.* The influence of maternal treadmill running during pregnancy on short-term memory and hippocampal cell survival in rat pups. **Int J Dev Neurosci**, v.25, p.243-249, 2007. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2007.03.003
- KRAMER, D.R. *et al.* Cortical spreading depolarization: Pathophysiology, implications, and future directions. **Clin Neurosci**, v.24, p.22-7, 2016. doi: 10.1016/j.jocn.2015.08.004
- KREGEL, K. *et al.* Resource book for the design of animal exercise protocols. **American Physiological Society**, 2006.
- KVAM, S. *et al.* Exercise as a treatment for depression: a meta-analysis. **J. Affect. Disord**, v.202, p.67–86, 2016. doi: 10.1016/j.jad.2016.03.063.
- KING, M. *et al.* Serum levels of insulin-like growth factor-1 and brain-derived neurotrophic factor as potential recovery biomarkers in stroke. **Neurol Res**, v.41, p.354-363, 2019. doi: 10.1080/01616412.2018.1564451.
- KONOPKA, W.; SCHÜTZ, G.; KACZMAREK, L. The microRNA contribution to learning and memory. **Neuroscientist**, v.17, p.468–474, 2011. doi: 10.1177/1073858411411721
- LARSEN, M.K.; MATCHKOV, V.V. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. **Medicina**, v. 2, p.19-27, 2016. doi: 10.1016/j.medici.2016.01.005.
- LEAL, G.; COMPRIDO, D.; DUARTE, C. B. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity. **J. Neuropharmacology**, v. 76, p.639–656, 2014. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.04.005.
- LEÃO, A.A.P. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. **J. Neurophysiol.**, v.7, p.359–390, 1944a.
- LEÃO, A.A.P. Pial circulation and spreading depression of activity in the cerebral cortex. **Journal of Neurophysiology**. v. 7, p. 391-396, 1944b.

LEÃO, A.A.P. Further observations on the spreading depression of activity in the cerebral cortex. **J. Neurophysiol.** v.10, p.409-414, 1947.

LEÃO, A.A.P. The slow voltage variation of cortical spreading depression of activity. **Journal of Neurophysiology.** v. 3 (3), p. 315-321, 1951.

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. **J Biomed Biotechnol**, v.2012, p.805418. doi: 10.1155/2012/805418.

LEMES, I.R. *et al.* Sedentary behaviour is associated with diabetes mellitus in adults: findings of a cross-sectional analysis from the Brazilian National Health System. **J Public Health (Oxf)**, v.41, p.742-749, 2018. doi: 10.1093/pubmed/fdy169

LEUNER B. *et al.* Maternal experience inhibits the production of immature neurons in the hippocampus during the postpartum period through elevations in adrenal steroids. **Hippocampus**, v.17, p.434–442, 2007. doi: 10.1002/hipo.20278.

LIMA, C.B. *et al.* Spreading depression features and Iba1 immunoreactivity in the cerebral cortex of developing rats submitted to treadmill exercise after treatment with monosodium glutamate. **Int. J. Devl Neuroscience**, v.33, p.98-105, 2014. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2013.12.008.

LYONS, C.L.; KENNEDY, E.B.; ANDROCHE, H.M. Metabolic inflammation-differential modulation by dietary constituents. **Nutrients**, v.8: p.E247, 2016. doi: 10.3390/nu8050247

MACBETH A.H.; LUINE, V.N. Changes in anxiety and cognition due to reproductive experience: a review of data from rodent and human mothers. **Neurosci Biobehav Ver**, v.34, p.452–467, 2010. doi: 10.1016/j.neubiorev.2009.08.011.

MANZANARES, G.; BRITO-DA-SILVA, G.; GANDRA, P.G. Voluntary wheel running: patterns and physiological effects in mice. **Braz J Med Biol Res**, v.52, p.e7830, 2018. doi: 10.1590/1414-431X20187830.

MARCELINO, T.B. *et al.* Evidences that maternal swimming exercise improves antioxidant defenses and induces mitochondrial biogenesis in the brain of young Wistar rats. **Neuroscience**, v.246, p.28–39, 2013. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.04.043.

MARCONDES, F.K.; BIANCHI, F.J.; TANNO, A.P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Braz J Biol.** v. 62, p. 609-14, 2002. doi: 10.1590/s1519-69842002000400008.

MCGREEVY, K.R. *et al.* Intergenerational transmission of the positive effects of physical exercise on brain and cognition. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.116, p.10103-10112, 2019. doi: 10.1073/pnas.1816781116.v.116.

MCMULLAN, R.C. *et al.* Long-term exercise in mice has sex-dependent benefits on body composition and metabolism during aging. **Physiol Rep**, v.4, p.e13011, 2016. doi: 10.14814/phy2.13011.

MEE, D.J.V.D. *et al.* Dopaminergic Genetic Variants and Voluntary Externally Paced Exercise Behavior. **Med Sci Sports Exerc**, v.50, p.700-708, 2018. doi: 10.1249/MSS.0000000000001479.

MEDEIROS, L.B. *et al.* Neonatal administration of goat whey modulates memory and cortical spreading depression in rats previously suckled under different litter sizes: Possible role of sialic acid. **Nutr Neurosci**, v.21, p.108-115, 2016. doi: 10.1080/1028415X.2016.1227762.

MENDES-DA-SILVA, R.F. *et al.* Prooxidant versus antioxidant brain action of ascorbic acid in well-nourished and malnourished rats as a function of dose: a cortical spreading depression and malondialdehyde analysis. **Neuropharmacology**, v.86, p.155-160, 2014. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.06.027.

MENDES-DA-SILVA, R.F. *et al.* Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) oil during pregnancy and lactation influences brain excitability and cortex oxidative status in the rat offspring. **Nutr Neurosci**, v.21, p.753-760, 2018. doi: 10.1080/1028415X.2017.1360549.

MOLNÁR, Z. *et al.* New insights into the development of the human cerebral cortex. **J. Anat**, v. 202, p.102054, 2021. <https://doi.org/10.1111/joa.13055>.

MONTEIRO, H.M.C., *et al.* Differential effects of physical exercise and L-arginine on cortical spreading depression in developing rats. **Nutr Neurosci**, v.14, p.112-8, 2011. doi: 10.1179/1476830511Y.0000000008.

MONTEIRO, H.M.C., *et al.* Physical exercise versus fluoxetine: antagonistic effects on cortical spreading depression in Wistar rats. **Eur J Pharmacol**, v.762, p.49-54, 2015. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.05.027.

MONTEIRO, H.M.C. *et al.* Physical exercise counteracts the increase in velocity of propagation of cortical spreading depression imposed by early over-nutrition in rats. **Nutr Neurosci**, v.23, p.161-169, 2018. doi:10.1080/1028415X.2018.1481180.

MOORE, T. Review: parent-offspring conflict and the control of placental function. **Placenta**, v.33 (Suppl), p.33–36, 2012. doi: 10.1016/j.placenta.2011.11.016.

MORGANE, P.J.; MOKLER, D.J.; GALLER, J.R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 26, p. 471-483, 2002. doi: 10.1016/s0149-7634(02)00012-x.

MURKOFF H. 'Pregnancy brain' or forgetfulness during pregnancy. Available at: <https://www.whattoexpect.com/pregnancy/symptoms-and-solutions/forgetfulness.aspx>. Accessed October 10, 2018.

NASCIMENTO, S.L.; SURITA, F.G.; CECATTI J.G. Physical exercise during pregnancy: a systematic review. **Curr Opin Obstet Gynecol**, v.24, p.387-94, 2012. doi: 10.1097/GCO.0b013e328359f131.

NEVES, B-H. *et al.* Physical exercise prevents short and long-term deficits on aversive and recognition memory and attenuates brain oxidative damage induced by maternal deprivation. **Physiology & Behavior**, v.152, p.99–105, 2015.

NILSON, E.A.F. *et al.* [Costs attributable to obesity, hypertension, and diabetes in the Unified Health System, Brazil, 2018/Costos atribuibles a la obesidad, la hipertensión y la diabetes en el Sistema Único de Salud de Brasil, 2018]. **Rev Panam Salud Publica**, v.44, p.e32, 2018. doi.org/10.26633/RPSP.2020.32

OATRIGE, A. *et al.* Change in brain size during and after pregnancy: study in healthy women and women with preeclampsia. **AJNR Am J Neuroradiol**, v.23, p.19–26, 2002. PMID: 11827871

OTSUKA, T. *et al.* Effects of acute treadmill running at different intensities on activities of serotonin and corticotropin-releasing factor neurons, and anxiety and depressive-like behaviors in rats. **Behav Brain Res**, v.298, p.44–51, 2016. doi: 10.1016/j.bbr.2015.10.055.

PARSONS, C., REDMAN, S. Self-reported cognitive change during pregnancy. **Aust J Adv Nurs**, v.9, p.20–29, 1991. PMID: 1823795

PAWLUSKI, J.L.; GALEA L.A. Reproductive experience alters hippocampal neurogenesis during the postpartum period in the dam. **Neuroscience**, v.149, p.53–67, 2007. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.07.031.

PIN-BARRE, C.; LAURIN, J. Physical Exercise as a Diagnostic, Rehabilitation, and Preventive Tool: Influence on Neuroplasticity and Motor Recovery after Stroke. **Neural Plasticity**, v. 2015, p.608581, 2015. doi: 10.1155/2015/608581.

POSER, C.M., KASSIRER, M.R., PEYSER, J.M. Benign encephalopathy of pregnancy: preliminary clinical observations. **Acta Neurol Scand**, v.73, p.39–43, 1986. doi: 10.1111/j.1600-0404.1986.tb03239.x.

PRATHER, H.; SPITZNAGLE, T.; HUNT, D. Benefits of exercise during pregnancy. **PM R**, v.4, p.845–850. doi: 10.1016/j.pmrj.2012.07.012.

PUSIC, D.A. *et al.* Spreading depression transiently disrupts myelin via interferon-gamma signaling. **Experimental Neurology**, v. 264, p. 43-54, 2015. doi: 10.1016/j.expneurol.2014.12.001

- RADAK, Z. *et al.* Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. **Free Radic Biol Med**, v.98, p.187-196, 2016. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.01.024
- REEVES, P.G. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. **J Nut**, v. 127, p. 838-841, 1997. doi: 10.1093/jn/127.5.838S.
- REZENDE, L.F. *et al.* Effect of physical inactivity on major non communicable diseases and life expectancy in Brazil. **J Phys Act Health**, v.3, p.299-306, 2015. doi: 10.1123/jpah.2013-0241.
- RIECHER-RÖSSLER, A. Sex and gender differences in mental disorders. **Lancet Psychiatry**, v.4, p.8-9, 2017.
- SAAB, B.J.; MANSUY, I.M. Neuroepigenetics of memory formation and impairment: the role of microRNAs. **Neuropharmacology**, v.80, p.61–69, 2014. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.01.026.
- SABLE, P. *et al.* Maternal micronutrients and brain global methylation patterns in the offspring. **Nutr Neurosci**, v.18, p.30–6, 2015. doi: 10.1179/1476830513Y.0000000097.
- SAKAKIMA, G.M. *et al.* Treadmill walking differently affects body composition and metabolic parameters of female rats from normal or small litters. **Physiol Int**, v.103, p.169-182, 2016. doi: 10.1556/036.103.2016.2.4.
- SANCHES, E.F. *et al.* Brain Metabolism Alterations Induced by Pregnancy Swimming Decreases Neurological Impairments Following Neonatal Hypoxia-Ischemia in Very Immature Rats. **Front Neurol**, v.25, p.9:480. doi: 10.3389/fneur.2018.00480.
- SAINT-MAURICE, P.F. *et al.* Association of Leisure-Time Physical Activity Across the Adult Life Course With All-Cause and Cause-Specific Mortality. **JAMA Netw Open**, v. 2, p.e190355, 2019. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.0355.
- 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**, v. 129, p.1-10, 2014. doi: 10.1016/j.physbeh.2014.02.027.
- SEGABINAZI, E. *et al.* Effects of Maternal Physical Exercise on Global DNA Methylation and Hippocampal Plasticity of Rat Male Offspring. **Neuroscience**, v.418, p.218-230, 2019. doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.08.036.
- SHARP, K. *et al.* Memory loss during pregnancy. **Br J Obstet Gynaecol**, v.100, p.209–215, 1993. doi: 10.1111/j.1471-0528.1993.tb15232.x.
- SCHMITT, A. *et al.* The impact of environmental factors in severe psychiatric disorders. **Front. Neurosci**, v.8, p.19, 2014. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00019>.

SILVA-GONDIM, M.B. *et al.* Suckling in litters with diferente sizes, and early and late swimming exercise differentially modulates anxiety-like behavior, memory and electrocorticogram potentiation after spreading depression in rats. **Nutritional Neuroscience**, v22, p.464-473, 2017. doi: 10.1080/1028415X.2017.1407472.

SHORT, A. *et al.* Exercise alters mouse sperm small noncoding RNAs and induces a transgenerational modification of male offspring conditioned fear and anxiety. **Translational Psychiatry**, v.7, p.e1114, 2017. doi: 10.1038/tp.2017.82. e1114.

SOARES, C.N. Depression and Menopause: An Update on Current Knowledge and Clinical Management for this Critical Window. **Med Clin North Am**, v.103, p.651-667, 2019. doi: 10.1016/j.mcna.2019.03.001.

STAPLES, M.C.; SOMKUWAR, S.S.; MANDYAM, C.D. Developmental effects of wheel running on hippocampal glutamate receptor expression in young and mature adult rats. **Neuroscience**, v. 305, p. 248-56, 2015. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.07.058.

STUBBS, B. *et al.* An examination of the anxiolytic effects of exercise for people with anxiety and stress-related disorders: A meta-analysis. **Psychiatry Res**, v.249, p.102-108, 2017. doi: 10.1016/j.psychres.2016.12.020.

SUMEC, R. *et al.* Psychological Benefits of Nonpharmacological Methods Aimed for Improving Balance in Parkinson's Disease: A Systematic Review. **Behav Neurol**, v.2015, p.620674, 2015. doi: 10.1155/2015/620674.

THOMPSON, Z. *et al.* Circulating levels of endocannabinoids respond acutely to voluntary exercise, are altered in mice selectively bred for high voluntary wheel running, and differ between the sexes. **Physiol Behav**, v.170, p.141-150, 2017. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.11.041.

TORABI, M. *et al.* Maternal swimming exercise during pregnancy attenuates anxiety/ depressive-like behaviors and voluntary morphine consumption in the pubertal male and female rat offspring born from morphine dependent mothers. **Neurosci Lett**, v. 659, p.110–114, 2017. doi:10.1016/j.neulet.2017.08.074

TOSCANO, A. E.; MANHAES-DE-CASTRO, R.; CANON, F. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. **Nutrition**, v. 24, n. 3, p. 270-278, 2008. doi: 10.1016/j.nut.2007.12.004.

VALLS, M.R.B. *et al.* Explosive type of moderate-resistance training induces functional, cardiovascular, and molecular adaptations in the elderly. **AGE**, v.36, p. 759–772, 2014. doi: 10.1007/s11357-013-9584-1

VAN DEN BERGH, B.R.H., DAHNKE, R., MENNES, M. Prenatal stress and the developing brain: risks for neurodevelopmental disorders. **Dev. Psychopathol**, v.30, p.743–762, 2018. doi: 10.1017/S0954579418000342.

VARMA, V.R. *et al.* Low-intensity daily walking activity is associated with hippocampal volume in older adults. **Hippocampus**, v. 25, p. 605-15, 2015. doi: 10.1002/hipo.22397.

VASCONCELOS, A.B.S. *et al.* Functional and traditional training exercises improves muscle power and reduces proinflammatory cytokines in older women: A randomized controlled trial. **Experimental Gerontology**, v 135, p. 110920, 2020. doi: 10.1016/j.exger.2020.110920.

VASISTHA NA e KHODOSEVICH K. The impact of (ab)normal maternal environment on cortical development. **Prog Neurobiol**, v.202, p.102054, 2021. doi: 10.1016/j.pneurobio.2021.102054.

VERONESE, *et al.* Role of physical activity in ameliorating neuropsychiatric symptoms in Alzheimer disease: A narrative review. **Int J Geriatr Psychiatry**, v.34, p.1316-1325. doi: 10.1002/gps.4962.

VIANA, L.C. *et al.* Litter size, age-related memory impairments, and microglial changes in rat dentate gyrus: stereological analysis and three dimensional morphometry. **Neuroscience**, v.238, p.280-296, 2013. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.02.019.

VITOR-DE-LIMA, S.M. *et al.* Monosodium glutamate and treadmill exercise: Anxiety-like behavior and spreading depression features in young adult rats. **Nutr Neurosci**, v.22, p. 435-443, 2017. doi: 10.1080/1028415X.2017.1398301.

WALSH, E.I. *et al.* Towards an understanding of the physical activity-BDNF-cognition triumvirate: a review of associations and dosage. **Ageing Research Reviews**, v.60, p.101044, 2020. doi: 10.1016/j.arr.2020.101044.

WALSH, J.J. e TSCHAKOVSKY, M.E. Exercise and circulating BDNF: Mechanisms of release and implications for the design of exercise interventions. **Appl Physiol Nutr Metab**, v.18, p.1-10, 2018. doi: 10.1139/apnm-2018-0192.

WANG, J. *et al.* Effects of exercise on stress induced changes of norepinephrine and serotonin in rat hippocampus. **Chin J Physiol**, v.56, p.245-52, 2013. doi: 10.4077/CJP.2013.BAB097.

WANG, W.; KWON, E.J.; TSAI, L.H. MicroRNAs in learning, memory, and neurological diseases. **Learn. Mem**, v.19, n.9, p.359-368, 2012. doi: 10.1101/lm.026492.112.

WEI, Y.; ULLAH, G.; SCHIFF, S.J. Unification of neuronal spikes, seizures, and spreading depression. **Journal of Neuroscience**, v. 35, p.11733-11743, 2014. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0516-14.2014.

WEISSGERBER, T.L. *et al.* Exercise in the prevention and treatment of maternal-fetal disease: a review of the literature. **Appl. Physiol. Nutr. Metab**, v.31, p.661-674, 2006. doi: 10.1139/h06-060.

WENSVEEN, F. M. *et al.* NK cells link obesity – induced adipose stress to inflammation and insulin resistance. **Nat.Immunol**, 16,376–385, 2015. doi:10.1038/ni.3120

WEST-EBERHARD, M. J. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. **Annu. Rev. Ecol. Syst**, v.20, p. 249-278, 1989. doi.org/10.1146/annurev.es.20.110189.001341

WOLFE, L.A.; BRENNER, I.K.; MOTTOLA, M.F. Maternal exercise, fetal well-being and pregnancy outcome. **Exerc. Sport Sci, Rev**, v.22, p.145–194, 1994. PMID: 7925542

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Physical activity: Fact sheet. 2018. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs385/en/>. Accessed April 16 2020.

WU, Z. *et al.* Maternal Treadmill Exercise Reduces the Neurotoxicity of Prenatal Sevoflurane Exposure in Rats via Activation of p300 Histone Acetyltransferase. **Neurochem Res**, v.45, p. 1626-1635, 2020. doi:10.1007/s11064-020-03023-0.

YAN, W. *et al.* Physical activity and blood pressure during pregnancy: Mediation by anxiety symptoms. **J Affect Disord**, v.264, p.376-382, 2020. doi: 10.1016/j.jad.2019.11.056.

YAN, G Y. *et al.* Beneficial intergenerational effects of exercise on brain and cognition: a multilevel meta-analysis of mean and variance. **Biol Rev Camb Philos Soc**, 2021 Mar 29. doi: 10.1111/brv.12712.

YAU, S.Y. *et al.* Effects of Maternal Voluntary Wheel Running During Pregnancy on Adult Hippocampal Neurogenesis, Temporal Order Memory, and Depression-Like Behavior in Adult Female and Male Offspring. **Front. Neurosci**, v.13, p.470, 2019. doi: 10.3389/fnins.2019.00470.

YONG, H.Y. *et al.* High physical activity and high sedentary behavior increased the risk of gestational diabetes mellitus among women with excessive gestational weight gain: a prospective study. **BMC Pregnancy Childbirth**, v.20, p.597, 2020. doi: 10.1186/s12884-020-03299-8.

YÜKSEL, O. *et al.* Regular Aerobic Voluntary Exercise Increased Oxytocin in Female Mice: The Cause of Decreased Anxiety and Increased Empathy-Like Behaviors. **Balkan Med J**, v.36, p.257-62, 2019. doi:10.4274/balkanmedj.galenos.2019.2018.12.87.

ZHANG, X. *et al.* Effects of BDNF Signaling on Anxiety-Related Behavior and Spatial Memory of Adolescent Rats in Different Length of Maternal Separation. **Front Psychiatry**, v.11, p.709, 2020. doi: 10.3389/fpsy.2020.00709.

ZHOU, X.; LI, L. [Prenatal anxiety and its influence on delivery outcome]. **Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban**, v.36, p.803-808. doi: 10.3969/j.issn.1672-7347.2011.08.020

ANEXO A – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-430 / Recife - PE - Brasil
 Fone: (51) 321-1114 / 3211-3333

Ofício nº124/17 Recife, 11 de dezembro de 2017

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
 Para: Prof.ª Carol Virginia Gois Leandro
 Centro de Acadêmico de Vitória - Cav
 Universidade Federal de Pernambuco
 Processo nº **23076.011811/2017-12**

Certificamos que a proposta intitulada "**Atividade Física Voluntária Materna e Dieta Hipoprotéica: Efeito Sobre a Depressão Alastrante Cortical e o Padrão Neuro-Glial de Imuno-Marcação**" registrada com o nº**23076.011811/2017-12** sob a responsabilidade de Prof.ª **Carol Virginia Gois Leandro** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo conselho nacional de controle de experimentação animal (concea), e foi aprovada pela comissão de ética no uso de animais (ceua) da universidade federal de pernambuco (UFPE), em reunião de 06/12/2017.

Finalidade:	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	31/05/2017 a 01/02/2021
Especie/inhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Nº de animais	100
Peso/idade	220-260g/ 85 -95 dias
Sexo	Macho (10) e fêmea (90)
Origem	Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE

ANEXO B – PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PIBIC) DESENVOLVIDO A PARTIR DA PRESENTE TESE



DECLARAÇÃO

Declaramos que **IZAURA DE SOUZA TAVARES** participa, como aluno (a) pesquisador (a), do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq/UFPE, com projeto, período e orientador (a) abaixo discriminados:

Projeto do Aluno	EFEITOS ELETROFISIOLÓGICOS CEREBRAIS, DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA, NA PROLE DE RATAS EXERCITADAS DURANTE O PERÍODO PERI-NATAL
Período	01 de julho de 2019 a 31 de agosto de 2020 Com carga horária de 20 horas semanais
Orientador (a)	RUBEM CARLOS ARAUJO GUEDES

- Pendente de entrega do relatório final

Recife, 01 de dezembro de 2020

ANEXO C – SUBMISSÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO.

Physiology & Behavior Behavioural and brain electrophysiological effects of the maternal voluntary exercise on the mother-infant dyad in the rat. --Manuscript Draft--	
Manuscript Number:	
Article Type:	Research Paper
Keywords:	Neuroplasticity; physical exercise; anxiety-like behaviour; memory; cortical spreading depression; rats
Corresponding Author:	Rubem C.A. Guedes, M.D., Ph.D. Universidade Federal de Pernambuco Recife, PE BRAZIL
First Author:	Suênia Marcelle Vitor-de-Lima, Ph.D.
Order of Authors:	Suênia Marcelle Vitor-de-Lima, Ph.D. Maria Luisa Figueira-de-Oliveira, M.Sc. Izaura de Souza Tavares, M.Sc. Carol Virginial Góis Leandro, Ph.D. Rubem C.A. Guedes, M.D., Ph.D.
Abstract:	Maternal physical activity (MPA) may impact behavioural and electrophysiological aspects of brain function, with short- and long-term effects on pre- and postnatal neurodevelopment of the offspring. This study evaluated the effects of MPA on anxiety-like behaviour, retention of short-term memory and electrophysiological recording of the excitability-related phenomenon known as cortical spreading depression (CSD) in the rat brain. Female Wistar rats (n=33) were individually housed in voluntary physical activity cages, containing a running wheel, for 4 weeks (period of adaptation) before gestation. Rats were classified as inactive (I); active (A) or very active (VA) according to the distance spontaneously travelled daily. During gestation, the dams continued to have access to the running wheel. Mothers and their respective pups (at least 1 female and 1 male from each mother) were evaluated in terms of locomotor activity in the open field test (OFT), object recognition test (ORT), elevated plus maze test and the CSD propagation features. MPA was directly associated with maternal anxiolytic-like behavioural responses in the OFT. Pups from VA mothers showed a high discrimination index for shape recognition memory (ORT) and decreased propagation velocities of CSD, when compared with the inactive group. The data suggest that voluntary maternal running during the gestational period induces neuroplasticity and may modulate the brain functions of the mother-infant dyad in the rat.