



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO

ASSOCIAÇÃO DE COMPORTAMENTOS RELACIONADOS COM ATIVIDADE
FÍSICA VOLUNTÁRIA DURANTE A INFÂNCIA E JUVENTUDE COM O
ESTABELECIMENTO DE FENÓTIPO ATIVO DE RATOS NA IDADE ADULTA

ADRIANO BENTO SANTOS

Orientador: Prof. Dr. Raul Manhães de Castro (Nutrição – UFPE)

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Carol Virginia Góis Leandro (Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, CAV – UFPE)

RECIFE, 2016

ADRIANO BENTO SANTOS

**ASSOCIAÇÃO DE COMPORTAMENTOS RELACIONADOS COM ATIVIDADE
FÍSICA VOLUNTÁRIA DURANTE A INFÂNCIA E JUVENTUDE COM O
ESTABELECIMENTO DE FENÓTIPO ATIVO DE RATOS NA IDADE ADULTA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Raul Manhães de Castro, professor Associado do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Carol Virgínia Góis Leandro, professora Associado do Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco.

RECIFE, 2016

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

S237a Santos, Adriano Bento.
Associação de comportamentos relacionados com atividade física voluntária durante a infância e juventude com o estabelecimento de fenótipo ativo de ratos na idade adulta / Adriano Bento Santos. – 2016.
87 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Raul Manhães de Castro.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento. Recife, 2016.

Inclui referências e anexos.

1. Atividade física. 2. Estilo de vida sedentário. 3. Hábitos. 4. Crianças.
5. Adolescentes. I. Castro, Raul Manhães de (Orientador). II. Título.

612.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2016-049)

ADRIANO BENTO SANTOS

**ASSOCIAÇÃO DE COMPORTAMENTOS RELACIONADOS COM ATIVIDADE
FÍSICA VOLUNTÁRIA DURANTE A INFÂNCIA E JUVENTUDE COM O
ESTABELECIMENTO DE FENÓTIPO ATIVO DE RATOS NA IDADE ADULTA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento
da Universidade Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de Doutor
em Neurociências.

Aprovada em 24/02/2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Raul Manhães de Castro (Presidente da Banca)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. João Henrique da Costa Silva
Universidade Federal de Pernambuco - CAV

Prof^a. Dr^a. Raquel da Silva Aragão
Universidade Federal de Pernambuco - CAV

Prof^a. Dr^a. Ana Elisa Toscano
Universidade Federal de Pernambuco - CAV

Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima da Silva
Universidade Federal de Pernambuco - CAV

Dedico este trabalho aos meus pais que mesmo não tendo a oportunidade de estudar, sempre souberam que uma forma digna de mudança da nossa triste realidade social é através da educação e da humanização do ser. Gostaria de dedicar também a minha esposa por todo companheirismo e compreensão, porque, sem ela esta trajetória teria sido mais árdua e a felicidade não seria completa.

Agradecimentos especiais 1

À minha família: minha mãe **Maria Luzinete** e meu pai **José Manoel** (meus exemplos de que é possível lutar pela sobrevivência sem deixar de ser humano), meu irmão **Robson Bento** (meu exemplo de empenho e dedicação aos estudos), meu tio **Horesto** (o cara que sempre esteve conosco seja nos momentos de festa e, principalmente, nos momentos mais difíceis), meus amigos **Carlos Alberto, Hubert, Aneilza, Severino** (“mago safado”), meu tio **João** e minha prima **Deda** (que sempre me apoiaram neste desafio).

Agradecimento todo especial à **Adriana Aneilza**, porque como já dizia o filósofo... “por trás de um grande homem, há sempre uma grande mulher...”, no meu caso, a mulher responsável por me ajudar incondicionalmente, além de suportar tantos estresses e ausências de minha parte. Muito obrigado por tudo! Agora sim, prometo que irei me dedicar mais a nossa vida e a consolidação de outros sonhos nossos.

Agradecimentos especiais 2

Carol,

Minha querida, muito obrigado pelo acolhimento, comprometimento, ensinamentos, confiança, carinho, respeito e amizade.

Certa vez, eu estava ouvindo o filósofo Mario Sergio Cortela... e ele falou as três virtudes de um líder: “Generosidade Mental, Coerência Ética e Humildade Intelectual”... eis que vejo todas essas virtudes em você, isso me deixa muito feliz e honrado em ter conhecido e trabalhar com você.

Nesses nove anos de convivência aprendi muito com você... mas, vou sintetizar em três os ensinamentos que mais admiro e tento incorporar a minha cotidiana existência, pois acredito que me tornarei melhor tanto no ponto de vista científico quanto humano:

- “Ensinar o que se sabe”;
- “Praticar o que se ensina”;
- “Perguntar o que se ignora”.

Muito obrigado por tudo!

Prof. Raul,

Caro companheiro, obrigado pela seriedade, amor e respeito com que trata a ciência e tem tratado a mim... muito obrigado por toda confiança depositada e todos os questionamentos e reflexões... tudo isso são elementos que me possibilitam evoluir a cada dia.

Muito Obrigado!

Gerffeson,

Meu querido, você é uma pessoa muito especial, não tenho nenhuma dúvida que com este seu caráter, instituído em humildade, honestidade, seriedade, equilíbrio e muita força de vontade, você terá um futuro brilhante... gostaria de lhe dizer que tenho em você um amigo e que, sem você essa trajetória teria sido muito mais difícil e árdua.

Muito obrigado por tudo... e conte comigo para qualquer coisa!

Agradecimentos

Independente de nossas divergências ideológicas atuais, gostaria de agradecer a Marco Fidalgo, obrigado por ter agido diferente em meio a toda aquela estagnação... obrigado por me convidar e me dar uma nova possibilidade de conhecer pessoas que se tornaram essenciais para que esse sonho pudesse estar sendo realizado agora.

A Marcelus, por todo conhecimento compartilhado e nossas discussões filosóficas.

Aos Professores da minha banca de qualificação e defesa de tese João Henrique, Raquel Aragão, Ana Elisa e Adriano Eduardo pelas dicas e orientações essenciais que nos possibilitou e possibilitarão realizar os ajustes desse estudo.

A Filippe (PPE), Antônio (toin) e Diogo (cozinha) pelas discussões, companheirismo, sinceridade e amizade eterna.

A todos os integrantes do nosso grupo de pesquisa Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica.

Aos professores e funcionários da Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da UFPE.

Aos professores e alunos do Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte do CAV/UFPE.

A Dr. França pelas orientações no dia-dia.

Aos meus atemporais amigos: Leandro, Fernanda, Silvio, Thiago, Epitácio, Wilson, Marcio, Keila, Denis, Keka, Ana, Luciana, Alessandra, Patricia e Cristiano.

Aos companheiros Guilherme, Francyele, Allan, Jéssica, Diorginis, Renata, Giselia, Cinthia, Iberê, Marcos André, Francisco, Edilson, Kely, Isabelli, Suelí, Amandas (Sales e Sourgey), Louana, Tatiana, Lívia, Lúcia, Ludimila, Paula, Thyciara, Soledade e Jaqueline.

Obrigado!!!

...”a felicidade só é real quando partilhada” **(H. David Thoreau).**

Um Meio ou uma Desculpa

"Não conheço ninguém que conseguiu realizar seu sonho, sem sacrificar feriados e domingos pelo menos uma centena de vezes.

Da mesma forma, se você quiser construir uma relação amigável com seus filhos, terá que se dedicar a isso, superar o cansaço, arrumar tempo para ficar com eles, deixar de lado o orgulho e o comodismo.

Se quiser um casamento gratificante, terá que investir tempo, energia e sentimentos nesse objetivo.

O sucesso é construído à noite!

Durante o dia você faz o que todos fazem.

Mas, para obter um resultado diferente da maioria, você tem que ser especial.

Se fizer igual a todo mundo, obterá os mesmos resultados.

Não se compare à maioria, pois, infelizmente ela não é modelo de sucesso.

Se você quiser atingir uma meta especial, terá que estudar no horário em que os outros estão tomando chope com batatas fritas.

Terá de planejar, enquanto os outros permanecem à frente da televisão.

Terá de trabalhar enquanto os outros tomam sol à beira da piscina.

A realização de um sonho depende de dedicação, há muita gente que espera que o sonho se realize por mágica, mas toda mágica é ilusão, e a ilusão não tira ninguém de onde está, em verdade a ilusão é combustível dos perdedores pois...

Quem quer fazer alguma coisa, encontra um MEIO.

Quem não quer fazer nada, encontra uma DESCULPA."

Roberto Shinyashiki

“Sem a curiosidade que me move, que me inquieta, que me insere na busca, não aprendo nem ensino”.

Paulo Freire

RESUMO

O objetivo desta tese foi desenvolver um método de avaliar diferentes comportamentos relacionados com atividade física voluntária durante a infância e juventude de ratos, sem submetê-los ao isolamento social precoce. Em adição, a relação entre estes comportamentos foi avaliada e sua correlação com a atividade física na idade adulta foi testada. Ratos machos Wistar (n=30) provenientes de 10 fêmeas, foram divididos em grupos de 3 filhotes, por ninhada, e foram colocados em gaiolas de atividade física voluntária (GAFV) contendo três cicloergômetros para a realização de atividade física voluntária. O tempo despendido com os comportamentos de brincadeira (P), brincar de briga (PF), atividade física voluntária na roda (PA-WR), atividade física espontânea (SPA) e ausência de atividade física (N-PA) de todos os ratos foram registrados e mensurados diariamente dos 28 aos 62 dias de idade. Para a análise comportamental, foi desenvolvido um software marcador de tempo que permitiu a mensuração manual de comportamentos dos três ratos simultaneamente. De acordo com o tempo gasto semanalmente em cada comportamento, os animais foram classificados em “mais” (m) ou “menos” (l). Aos 65 dias de idade, todos os animais foram separados de seus irmãos e foram alojados individualmente em uma GAFV contendo apenas um cicloergômetro. Um ciclocomputador foi anexado a roda para mensurar o tempo despendido com atividade física voluntária diariamente por um período de três semanas (72 a 92 dias de idade). O teste do qui-quadrado (X^2) foi utilizado para avaliar a associação entre as variáveis comportamentais e os grupos experimentais durante a infância e juventude. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para correlacionar os comportamentos ao longo da infância e juventude, entre eles, e também com a atividade física na vida adulta. Nossos resultados demonstram que m-PA-WR foi associado com m-P, m-SPA e l-N-PA durante a infância e juventude. Ratos m-P foi associado com m-PF, m-SPA e l-N-PA. Animais m-PF e m-SPA foram associados com l-N-PA. Todos os comportamentos analisados durante a infância e juventude apresentaram forte correlação entre eles. Além disso, os grupos m-PA-WR e m-SPA apresentaram correlação positiva com atividade física na idade adulta. Em contrapartida, m-N-PA foi negativamente correlacionado com atividade física na idade adulta. No presente estudo, foi desenvolvido um método para avaliar diferentes comportamentos e hábitos de vida de três ratos simultaneamente. Além disso, foi demonstrado experimentalmente que a atividade física espontânea e atividade física voluntária na roda durante a infância e juventude influenciam positivamente no estabelecimento do fenótipo de atividade física de ratos na idade adulta.

Palavras chaves: Atividade física. Estilo de vida sedentário. Hábitos. Crianças. Adolescentes.

ABSTRACT

The aim of this thesis was developed a method of evaluate different behaviors during childhood and youth of rats, without submit it to premature social isolation. In addition, the relation among these behaviors were evaluated and their correlation with the physical activity in adulthood was tested. Wistar male rats (n=30) were obtained from ten females, were divided in groups of three pups per litter, and were placed in voluntary physical activity cages (VPAC) with three stainless steel wheel that allow them to practice of voluntary physical activity. The time spent with play (P), play fighting (PF), voluntary physical activity in wheel (VP-AW), spontaneous physical activity (SPA) and non-physical activity (N-PA) of all rats were recorded and evaluated daily of the 28 to 62 days old. For behavioral analysis, was developed a software time marker that allowed the manually measurement of behaviors of the three rats simultaneously. The time weekly spent in each behavior allowed us to classify rats as “more” (m) or “less” (l). At 65 days of age, all animals were separated from their brothers and were singly housed into a VPAC with just one wheel-running. A cyclocomputer was attached in the wheel to measurement of the time spent with physical activity for a period of three weeks (72 to 92 days old). The Chi-Square test was used to evaluate the association among variables behavioral and experimental groups during childhood and youth. Pearson correlation coefficient was used to correlate the behaviors throughout childhood and youth, among them, and also with the physical activity in adulthood. Our results show that m-PA-WR were associated to m-P, m-SPA and l-N-PA during childhood and youth. Rats m-P was associated to m-PF, m-SPA and l-N-PA. Rats m-PF and m-SPA were associated to l-N-PA. In addition, all behaviors presented strong correlations among them and m-PA-WR and m-SPA during childhood and youth presented correlation positively with physical activity in adulthood. In contrast, m-N-PA during childhood and youth was negatively correlated with physical activity in adulthood. In the present study, we developed a method to evaluate different behaviors and habits of life on three rats simultaneously, without submit to premature social isolation. Furthermore, we demonstrated experimentally that the spontaneous physical activity and voluntary physical activity during childhood and youth of rat, influence positively the phenotype of physical activity in adulthood.

Key words: Physical activity. Sedentary life style. Habits. Childhood. Adolescence.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

FIGURA 1 Gaiola de Atividade Física Voluntária (GAFV) com três cicloergômetros. 42

FIGURA 2 Software marcador de tempo construído na linguagem de programação C ++ e com a biblioteca OpenCV. 43

ARTIGO 1 FIGURA 1 **Circuitos cerebrais envolvidos na aquisição de hábitos.** 1. (setas vermelhas) Circuitos ativados pela exploração de um comportamento; 2. (Setas azuis) Conexões ativadas e fortalecidas pela repetição do comportamento, levando a fixação do hábito; 3. (Setas amarelas) Circuito que contribui para fortalecer o hábito armazenado como atividade cerebral semipermanente. * As linhas tracejadas representam ciclos de feedback positivo que ajudam na escolha e/ou manutenção do comportamento. 24

FIGURA 2 Prováveis efeitos da manutenção do “input” da prática de atividade física prazerosa durante a infância/adolescência sobre o fenótipo ativo no adulto. 5-HT, Serotonina; β -endorfina, Beta Endorfina; BDNF, Fatores Neurotróficos Derivados do Cérebro; ATV, Área Tegumentar Ventral. 33

ARTIGO 2 FIGURA 1 Voluntary physical activity cage (VPAC) with three cycle-ergometers. 66

FIGURA 2 Locomotor activity-related contextual behaviors during childhood and adolescence of rats. 70 - 74

SUPPLEMEN TARY Voluntary physical activity in the wheel running (PA-WR) during childhood and adolescence of rats. 67 - 69

FIGURE

LISTA DE TABELAS

TABELAS

TABELA 1	Características dos comportamentos relacionados com atividade física na prole durante a infância e juventude de ratos.	44
TABELA 2	Classificação dos grupos de acordo com o tempo semanal despendido com atividade física voluntária na roda (AFVR), brincadeira (B), brincar de briga (BB), atividade física espontânea (AFE) e ausência de atividade física (A-AF) dos 28 aos 62 dias de idade.	46

ARTIGO 2

TABELA 1	Characteristics of the locomotor activity-related contextual behaviors in pups during childhood and adolescence.	75
TABELA 2	Group's classification according to weekly time of physical activity in the running wheel (PA_WR), play (P), play fighting (PF), spontaneous physical activity (SPA) and non-physical activity (N-PA) from P28 to P62.	75
TABELA 3	Association among the physical activity in the wheel-running, play, play fighting, spontaneous physical activity and non- physical activity from P28 to P62.	76
TABELA 4	Pearson's correlation among the physical activity in the wheel-running, play, play fighting, spontaneous physical activity and non-physical activity from P28 to P62.	77
TABELA 5	Pearson's correlation among the physical activity in wheel-running, play, play fighting, spontaneous physical activity and non-physical activity during childhood and adolescence with voluntary physical activity in adulthood.	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GAFV	Gaiola de Atividade Física Voluntária
P	Play
PF	Play Fighting
SPA	Spontaneous Physical Activity
PA-WR	Physical Activity in Wheel-running
N-PA	Non- Physical activity
5-HT	Serotonina
BDNF	Fatores neurotróficos derivados do cérebro
POMC	Pro-opiomelanocortina
ATV	Tegmentary Area Ventral
PAMV	Physical activity of moderate to vigorous intensity
AFMV	Atividade física de intensidade moderada a vigorosa
“ <i>input</i> ”	Estímulo ambiental
VPAC	Voluntary Physical Activity Cage

GRUPOS EXPERIMENTAIS

m-P	More Play
l_P	Less Play
m-PF	More Play Fighting
l-PF	Less Play Fighting
m-SPA	More Spontaneous Physical Activity
l_SPA	Less Spontaneous Physical Activity
m-PA-WR	More Physical Activity in Wheel-running
l-PA-WR	Less Physical Activity in Wheel-running
m-N-PA	More Non- Physical activity
l-N-PA	Less Non- Physical activity

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	19
Pode a atividade física durante a infância/adolescência influenciar o estabelecimento de fenótipo ativo na idade adulta?.....	19
3. OBJETIVOS	39
3.1 Objetivo geral	39
3.2 Objetivos específicos	39
4. HIPÓTESE	40
5. MATERIAIS E MÉTODOS	41
5.1 Animais	41
5.2 Gaiola de Atividade Física Voluntária (GAFV)	42
5.3 Análise dos comportamentos relacionados com atividade física da prole durante a infância e juventude de ratos	43
5.4 Atividade Física Voluntária na Idade Adulta	46
5.5 Análise estatística	47
6. RESULTADOS	48
Establishment of locomotor activity-related contextual behavior during childhood and adolescence of rats: spontaneous and running-wheel physical activities during adolescence are determinant for adult active phenotype	48
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	79
REFERÊNCIAS	80
ANEXOS	87

1. APRESENTAÇÃO

O nível de atividade física tem sido progressivamente diminuído em resposta aos avanços tecnológicos, aumento no uso de transportes motorizados e o grande dispêndio de tempo em jogos eletrônicos e redes sociais. A infância e adolescência são períodos de grande vulnerabilidade para o desenvolvimento de comportamentos e o estabelecimento de hábitos de vida que podem influenciar o fenótipo comportamental ao longo da trajetória de vida do indivíduo. Em humanos, estudos têm sido realizados associando o estilo de vida durante a infância/adolescência com a atividade física do indivíduo adulto. Entretanto, estudos experimentais avaliando essa temática são poucos e têm utilizado métodos que submetem os animais ao isolamento social precoce. Diante disso, a presente tese teve como objetivo desenvolver um método de avaliar diferentes comportamentos relacionados com atividade física durante a infância e juventude de ratos sem submetê-los ao isolamento social precoce. Em adição, foi avaliada a correlação entre estes comportamentos e a atividade física de ratos na idade adulta. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Fisiologia da Nutrição Dra. Naíde Teodósio do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, tendo como orientadores o Prof. Dr. Raul Manhães de Castro e a Profa. Dra. Carol Virgínia Góis Leandro. Parte do trabalho foi realizado em colaboração com o Centro de Informática da Universidade Federal de Pernambuco.

O estudo gerou 2 artigos científicos que serão enviados para publicação após apreciação e sugestões da banca. O primeiro artigo, intitulado: “Pode a atividade física durante a infância/adolescência influenciar o estabelecimento de fenótipo ativo na idade adulta? ”, será submetido como artigo de revisão em revista ainda não definida. Neste estudo, que é utilizado como revisão da literatura para a tese, foi apresentada uma revisão sobre a influência da atividade física durante a infância/adolescência sobre o estabelecimento de

fenótipo ativo na idade adulta. Assim, a aquisição de hábitos de vida ativo durante a infância/adolescência parecem favorecer a construção e manutenção de um fenótipo ativo na idade adulta. Entretanto, o estabelecimento desta relação tem sido pouco estudado experimentalmente e os mecanismos biológicos subjacentes são desconhecidos.

O segundo artigo é apresentado como resultado da pesquisa e está disposto em sua versão original. Este artigo tem como título: “Establishment of locomotor activity-related contextual behavior during childhood and adolescence of rats: spontaneous and running-wheel physical activities during adolescence are determinant for adult active phenotype”, será submetido como artigo original em uma revista com qualis A1 no comitê de Medicina II da CAPES. Em resumo, neste artigo, desenvolvemos um método para avaliar diferentes comportamentos e hábitos de vida de 3 ratos simultaneamente, sem submetê-los ao isolamento social precoce. Assim, descrevemos o desenvolvimento dos comportamentos relacionados com atividade física e hábitos de vida ativo semanalmente, diariamente e a cada hora, durante a infância e adolescência de ratos. Além disso, neste estudo, demonstramos experimentalmente que os comportamentos relacionados com atividade física durante a infância e adolescência são fortemente correlacionados entre eles e que os hábitos de vida ativo apresentam correlação com a atividade física voluntária na idade adulta.

2. REVISÃO DA LITERATURA – Pode a atividade física durante a infância/adolescência influenciar o estabelecimento de fenótipo ativo na idade adulta?

Introdução

Atualmente, o nível de atividade física vem diminuindo progressivamente em resposta aos avanços tecnológicos, aumento do uso de transporte motorizado e a grande demanda de tempo em redes sociais e vídeo games (Sturm, 2005; Ortega, Konstabel *et al.*, 2013). O tempo despendido com atividade física de intensidade moderada a vigorosa (AFMV) diminui da infância para adolescência (anualmente de 21 a 22,5 min/dia, $p = 0.01$) e também da adolescência para idade adulta (20,8 a 22,2 min/dia, por ano, $p = 0.02$), em contrapartida o tempo despendido com comportamento sedentário cresce ao longo do tempo (Ortega, Konstabel *et al.*, 2013). No mundo, cerca de 31,1% dos adultos são fisicamente inativos, com proporções que variam de 17,0% no sudeste da Ásia até 43% nas Américas e no Mediterrâneo Oriental (Hallal, Andersen *et al.*, 2012). Em adolescentes, com idades entre 13 e 15 anos, a proporção de indivíduos fisicamente inativos é de 80,3% (Hallal, Andersen *et al.*, 2012). Neste estudo, a proporção de adolescentes que fazem menos de 30 min de AVMF por dia foi igual ou maior do que 80% em 56 de 105 países em meninos e 100 de 105 países para as meninas, correspondendo a 53% e 95% dos países avaliados, respectivamente (Hallal, Andersen *et al.*, 2012).

A infância e adolescência são períodos de grande vulnerabilidade para o desenvolvimento de comportamentos e aquisição de hábitos de vida que podem influenciar o estabelecimento de fenótipos comportamentais no adulto. O tempo que crianças/adolescentes dedicaram ao uso de televisão ou computador foi associado com o estabelecimento de comportamentos sedentários na idade adulta (Boone, Gordon-Larsen *et al.*, 2007). Em contrapartida, a prática regular de atividade física durante a infância/adolescência foi

positivamente correlacionada com a frequência de atividade física na vida adulta (Kjonnixsen, Anderssen *et al.*, 2009; Jose, Blizzard *et al.*, 2011; Mendoza, Watson, Nguyen *et al.*, 2011). Estudos que abordam esta temática tem sido desenvolvido e os prováveis mecanismos biológicos subjacentes têm sido estudados.

O estabelecimento de hábitos de vida ativo no indivíduo parecem envolver a integração dos sistemas nervoso e endócrino sobre as estruturas cerebrais e pode ser influenciado pela atividade física (Plomin, Owen *et al.*, 1994; Hariri, 2009). A prática de atividade física aumenta a secreção de biomoléculas como serotonina (5-HT), dopamina, β -endorfina e fatores neurotróficos derivados do cérebro (BDNF) (Chaouloff, 1997; Cunha, Ribeiro *et al.*, 2008; Lemaire, Tronel *et al.*, 2012; Bechara e Kelly, 2013). Estas biomoléculas atuam no hipotálamo, hipocampo, amígdala, núcleo *accumbens*, corpo estriado e no córtex pré-frontal, mediando a plasticidade sináptica, aprendizagem, memória, sensação de bem estar, recompensa e reforço (Garcia, Chen *et al.*, 2003; Yamada e Nabeshima, 2003; Cardinal, Winstanley *et al.*, 2004). Dessa forma, a atividade física no início da vida parece representar um agente indutor de plasticidade neural que pode estar envolvida com a manutenção e o estabelecimento de fenótipo ativo na idade adulta.

O objetivo desta revisão foi discutir a influência da atividade física durante a infância e adolescência sobre o estabelecimento de fenótipo ativo na idade adulta. Ademais, propomos o papel modulador de bioaminas e neurotransmissores como um possível mecanismo biológico subjacente ao favorecimento da formação e manutenção de hábitos de vida ativo em indivíduos adultos.

Métodos

Foi realizada busca nas bases de dados eletrônicas MedLine/PubMed, Lilacs e Bireme, com os termos de indexação: *exercise, physical activity, enriched environment, physical inactivity, sedentary, active behavior, wheel-running activity, brain, children, infancy, adolescents, childhood*. Recorreu-se à lógica booleana para realizar a combinação dos termos utilizados na localização das publicações. A análise dos estudos envolveu leitura de títulos, resumos e textos completos.

Foram incluídas as publicações que atendiam os seguintes critérios: (a) artigos que tenham como tema os hábitos de vida durante a infância ou adolescência e o fenótipo na vida adulta; (b) publicações entre 2000 e 2015; (c) estudos com humanos e modelos animais. Estudos clássicos sobre os processos de desenvolvimento cerebral e os efeitos neurobiológicos da atividade física foram utilizados. Além disso, foram incluídos artigos que não haviam sido encontrados nas buscas, mas que foram citados na lista de referência dos artigos selecionados e que preencheram os critérios.

Controle da expressão comportamental e a formação de hábitos

O comportamento corresponde ao conjunto de reações observáveis do indivíduo, decorrentes da sua interação com o ambiente (Wood e Neal, 2007). Em mamíferos, o comportamento pode ser lido, interpretado, armazenado e construído através do controle de estruturas cerebrais, como a amígdala, hipocampo e o córtex pré-frontal (Plomin, Owen *et al.*, 1994). A amígdala está centralmente envolvida na mediação da interpretação de sinais ambientais, como as expressões faciais de emoção que são enviadas ao córtex pré-frontal, intimamente ligado a áreas corticais envolvidas no controle motor (Johnstone, Somerville *et al.*, 2005; Lenard e Berthoud, 2008). O hipocampo é responsável pela consolidação de memória que é armazenada em regiões difusas do córtex cerebral e são evocadas pelo córtex pré-frontal (Lemaire, Tronel *et al.*, 2012). O córtex pré-frontal coordena um conjunto de habilidades cognitivas (como planejamento, inibição de respostas e atenção) necessárias para o controle do impulso e a construção do comportamento motor (Anderson, Anderson *et al.*, 2001). Essas habilidades permitem ao indivíduo analisar a situação, avaliar suas opções, planejar e construir o comportamento motor mais adequado às variações ambientais ou sociais (Johnson, Blum *et al.*, 2009).

Alterações em estruturas cerebrais envolvidas no controle da expressão comportamental induzem mudanças no comportamento (Pellis, Castaneda *et al.*, 1993; Winstanley, Theobald *et al.*, 2004; Rudebeck, Behrens *et al.*, 2008). Estudos experimentais têm demonstrado que lesões na amígdala de ratos e no córtex frontal de macacos levam a uma maior impulsividade e ao comprometimento na tomada de decisão, respectivamente (Winstanley, Theobald *et al.*, 2004; Rudebeck, Behrens *et al.*, 2008). Além disso, ratos neonatos submetidos a lesão do corpo estriado foram mais propensos a reduzir o contato lúdico entre seus pares e apresentaram menor capacidade para manter a organização sequencial dos comportamentos de brincadeira (Pellis, Castaneda *et al.*, 1993). A expressão

comportamental é regulada por estruturas cerebrais que possibilitam a formação, exploração e o armazenamento do comportamento no cérebro, podendo levar ao estabelecimento de hábitos no indivíduo.

Hábitos são comportamentos realizados automaticamente em resposta ao contexto ambiental e que podem ser adquiridos ao longo da vida (Wood e Neal, 2007). Por exemplo, automaticamente, algumas pessoas colocam o cinto de segurança (comportamento) quando entram no carro (contexto) ou lavam as mãos (comportamento) após usar o banheiro (contexto) (Gardner, Lally *et al.*, 2012). Para a consolidação de hábitos é necessário sua repetição por 3 meses em média, contudo, este tempo pode variar dependendo da pessoa e do hábito que se deseja adquirir (Lally, Van Jaarsveld *et al.*, 2010; Gardner, Lally *et al.*, 2012). Assim, a formação de hábitos não está relacionada apenas a mera repetição do comportamento, podendo ser influenciada pelo interesse e motivação do indivíduo. Além disso, tem sido proposto que deixar de repetir o comportamento por alguns dias não invalida o processo, desde que sua prática seja retomada com regularidade (Lally, Van Jaarsveld *et al.*, 2010; Gardner, Lally *et al.*, 2012).

A aquisição de hábitos parece ocorrer por meio de processos que envolvem a iniciação, a aprendizagem e a fixação de comportamentos de forma persistente ao longo do tempo [Figura 1] (Gardner, Lally *et al.*, 2012). O processo é iniciado através da exploração de um determinado comportamento por meio do córtex pré-frontal que se comunica com o corpo estriado. O corpo estriado interage com o mesencéfalo onde a dopamina media os processos de atribuição de valor aos objetivos e auxilia na aprendizagem (Van Kerkhof, Damsteegt *et al.*, 2013). A repetição do comportamento, leva ao aumento na força das conexões entre o córtex sensorio motor e o corpo estriado, que contribui para o processo de fixação do hábito de forma persistente ao longo do tempo e com o mínimo de esforço (Gardner, Lally *et al.*, 2012; Van Kerkhof, Damsteegt *et al.*, 2013). Assim, rotinas são gravadas como uma unidade

de atividade cerebral e parece alojar-se, em parte, no corpo estriado e depende da liberação de dopamina no mesencéfalo. Além disso, quando um hábito é armazenado, o córtex infralímbico parece contribuir com o corpo estriado para fortalecer como atividade cerebral semipermanente (Van Kerkhof, Damsteegt *et al.*, 2013). Os hábitos surgem naturalmente ao explorarmos ambientes físicos e sociais e tem uma importância para o funcionamento cerebral, pois, demandam pouco esforço consciente, permitindo que seja liberado mais espaço no cérebro para execução de outras atividades.

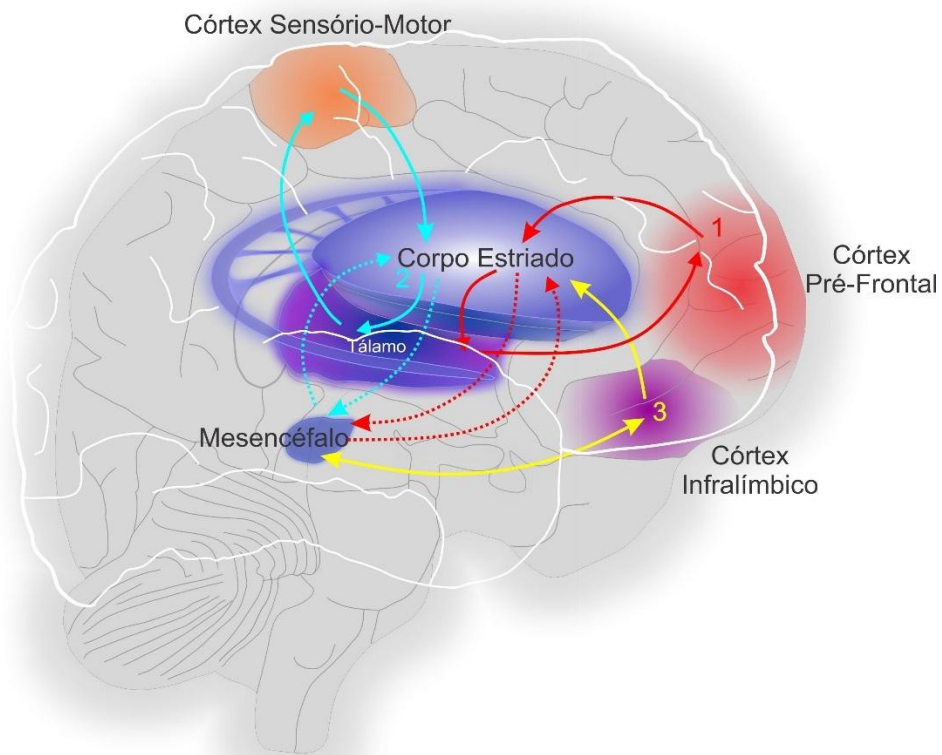


Figura 1. Circuitos cerebrais envolvidos na aquisição de hábitos. 1. (setas vermelhas) Circuitos ativados pela exploração de um comportamento; 2. (Setas azuis) Conexões ativadas e fortalecidas pela repetição do comportamento, levando a fixação do hábito; 3. (Setas amarelas) Circuito que contribui para fortalecer o hábito armazenado como atividade cerebral semipermanente. * As linhas tracejadas representam ciclos de feedback positivo que ajudam na escolha e/ou manutenção do comportamento.

A infância e adolescência são períodos de grande vulnerabilidade para o desenvolvimento de comportamentos e o estabelecimento de hábitos

Os períodos da infância e adolescência são marcados por intensas mudanças em estruturas cerebrais que controlam a expressão comportamental e a formação de hábitos no indivíduo (Cunningham, Bhattacharyya *et al.*, 2002; Gabard-Durnam, Flannery *et al.*, 2014). Áreas corticais do cérebro apresentam proliferação e desenvolvimento das conexões neurais (Lenroot e Giedd, 2006). Posteriormente, as conexões que não são utilizadas sofrem o processo de poda sináptica, caracterizada pela redução no número total de neurônios ou sinapses, em resposta à demanda ambiental (Craik e Bialystok, 2006; Giedd, 2008). A poda sináptica e a mielinização são fenômenos básicos da maturação neural que aumentam a capacidade do cérebro em transferir informações além de desenvolver habilidades como o controle de impulsos (Luna, Thulborn *et al.*, 2001). Embora as crianças possam demonstrar esta habilidade de forma rudimentar, é com o avanço da idade e a maturação neural que a impulsividade é controlada (Luna e Sweeney, 2004).

A maturação das conexões neurais entre amígdala e os lobos frontais possibilita uma maior capacidade ao adolescente interpretar e regular suas emoções, quando comparado com a infância (Cunningham, Bhattacharyya *et al.*, 2002; Gabard-Durnam, Flannery *et al.*, 2014). Entretanto, este processo de integração continua se desenvolvendo até a idade adulta e pode ser a base biológica para as estratégias comportamentais adotadas pelos adolescentes. O aumento dos comportamentos de risco e a predisposição ao início do uso de álcool e drogas em adolescentes pode ser decorrente da diferença temporal entre o desenvolvimento do sistema emocional e o sistema de controle cognitivo do cérebro (Benes, 1998; Spear, 2000; Cunningham, Bhattacharyya *et al.*, 2002; Steinberg, 2007).

Além dos processos fisiológicos de maturação que ocorrem naturalmente ao longo da infância e adolescência, o ambiente também pode afetar o desenvolvimento do cérebro e

influenciar a expressão comportamental (Sirevaag e Greenough, 1988; Leger, Paizanis *et al.*, 2014). Estudos experimentais têm demonstrado que animais expostos a ambiente amplo e que permite novas experiências sensoriais e sociais apresentam maior atividade locomotora, aumento no tamanho do cérebro, na espessura cortical, no tamanho dos neurônios, nas ramificações dendríticas e nas sinapses (Sirevaag e Greenough, 1988). Além disso, tem sido sugerido que a interação social que ocorre entre o período do desmame e o início da fase adulta de ratos, como nos comportamentos de brincadeira, estão relacionadas a maturação do córtex pré-frontal e do corpo estriado (Van Kerkhof, Damsteegt *et al.*, 2013). Estudo usando c-fos como marcador de atividade celular, demonstrou que após o comportamento de brincadeira há um aumento na atividade neuronal em regiões como o córtex pré-frontal, corpo estriado, núcleo *accumbens* e amígdala lateral (Van Kerkhof, Trezza *et al.*, 2014). Em contrapartida, isolamento social precoce em roedores induziu aumento da concentração de corticosterona no plasma, diminuição do conteúdo de dopamina no córtex frontal (Niwa, Matsumoto *et al.*, 2011) e redução na expressão gênica de receptores 5-HT no hipotálamo e no córtex pré-frontal (Bibancos, Jardim *et al.*, 2007). Estas alterações induzidas pelo isolamento social precoce foram associadas com distúrbios comportamentais na vida adulta como hiperatividade motora, desinibição comportamental e ansiedade (Bibancos, Jardim *et al.*, 2007; Hermes, Li *et al.*, 2011; Niwa, Matsumoto *et al.*, 2011). Neste sentido, os comportamentos construídos através da interação social durante a infância e adolescência parecem ter um papel essencial no processo de maturação cerebral e desenvolvimento do controle da expressão comportamental ao longo da vida.

Hábitos adquiridos durante a infância/adolescência podem influenciar o estabelecimento de fenótipo ativo ao longo da trajetória de vida

A prática de atividade física tem sido relacionada com a classificação de fenótipos comportamentais no indivíduo. De acordo com nível de atividade física semanal, o indivíduo pode ser classificado como “ativo” quando o gasto energético, acima dos níveis de repouso, é igual ou superior a 1.500 kcal por semana e “inativo” quando o dispêndio é menor que este valor. Neste sentido, o termo “comportamento sedentário” refere a qualquer comportamento caracterizado por baixo gasto energético, como ocorre nas posturas sentado ou deitado (Sedentary Behaviour Research, 2012).

Estilo de vida ativo adotado durante a infância/adolescência exerce benefícios à saúde e pode levar ao estabelecimento de fenótipo ativo (Bere, Seiler *et al.*, 2011; Mendoza, Watson, Baranowski *et al.*, 2011; Ostergaard, Grontved *et al.*, 2012). Um estudo longitudinal demonstrou que crianças, entre 9 e 10 anos de idade, que tem o hábito de deslocar-se até a escola de bicicleta apresentaram, seis anos depois, melhores taxas de colesterol/HDL, glicemia e menores valores nos scores de risco cardiovascular (Andersen, Wedderkopp *et al.*, 2011). Além disso, crianças da quarta série do ensino fundamental que participaram de um programa estruturado de caminhada até o ônibus escolar (cinco dias na semana e durante cinco semanas) apresentaram aumento diário da prática de AFMV (Mendoza, Watson, Baranowski *et al.*, 2011). Adolescentes de 12 a 19 anos de idade que fizeram o deslocamento para a escola de bicicleta ou caminhando, apresentaram aumento do tempo dedicado a prática diária de AFMV, quando comparados com os indivíduos que foram à escola de veículo automotivo (Mendoza, Watson, Nguyen *et al.*, 2011).

Além dos benefícios em curto prazo, adoção de estilo de vida ativo durante a infância/adolescência pode favorecer a construção de fenótipo ativo no indivíduo adulto (Kjonnixsen, Anderssen *et al.*, 2009; Jose, Blizzard *et al.*, 2011). Em humanos, estudo

prospectivo de 20 anos mostrou que a prática de esportes fora da escola (RR=1.47; IC=1.05,2.08; p=0.03) e ter pais ativos (RR=1.25; IC=1.01,1.54; p=0.04) durante a infância e adolescência são positivamente associados com o comportamento ativo durante a transição da adolescência para a idade adulta (Jose, Blizzard *et al.*, 2011). Além disso, estudo longitudinal de 10 anos relatou que a prática de esportes durante a infância e adolescência foi positivamente correlacionado com a frequência e o tempo dispendido com atividade física no lazer do indivíduo aos 23 anos de idade (análise de regressão, $r = 0,27$, $p < 0,001$) (Kjonnixsen, Anderssen *et al.*, 2009). Estudo transversal mostrou que indivíduos que praticam atividade física regularmente durante a adolescência eram mais propensos a terem fenótipo ativo na idade adulta (taxa de prevalência de 1,75; 95% CI: 1,51; 2,03) (Azevedo, Araujo *et al.*, 2007). Em adição, atividade física aos 35 anos de idade foi positivamente correlacionada ($r = 0,26$, $p < 0,05$) ao tempo despendido semanalmente com a prática de atividade física entre 10 e 12 anos de idade (Trudeau, Laurencelle *et al.*, 2004). No entanto, apenas um estudo experimental foi encontrado demonstrando o estabelecimento dessa relação (Acosta, Meek *et al.*, 2015). Nesse estudo, camundongos que tiveram acesso a roda de corrida logo após o desmame, por três semanas consecutivas, apresentaram aumento da atividade física voluntária na idade adulta (Acosta, Meek *et al.*, 2015). Assim, estudos experimentais avaliando esta temática são poucos e todos eles utilizam métodos que induzem os animais ao isolamento social.

Os mecanismos subjacentes a essa relação podem decorrer dos efeitos neurobiológicos da atividade física sobre a sensação de bem-estar, prazer e recompensa. A prática de atividade física pode estabelecer um circuito de auto recompensa e favorecer o estabelecimento de fenótipo ativo no indivíduo. Muitos estudos têm demonstrado que roedores são muito motivados a corrida em rodas e este pode ser um clássico comportamento de auto recompensa em ratos e camundongos de laboratório (Dewsbury, 1980; Lett, Grant *et*

al., 2000; Rhodes, Gammie *et al.*, 2005; Leasure e Jones, 2008). Estudo demonstrou a preferência de ratos por ambientes associados com a possibilidade de realizar corrida na roda e propôs que existe a ativação de sistema de recompensa e que este persiste após o término da corrida na roda (Lett, Grant *et al.*, 2000).

Tem sido proposto que o sistema dopaminérgico modula os mecanismos de recompensa, reforço de comportamentos e a formação de hábitos (Salamone e Correa, 2002; Reif e Lesch, 2003; Cardinal, Winstanley *et al.*, 2004; Hyman, Malenka *et al.*, 2006; Van Kerkhof, Damsteegt *et al.*, 2013). A realização de um determinado comportamento motor, ativa vias dopaminérgicas entre o corpo estriado e o mesencéfalo, e a repetição do comportamento leva ao aumento na força das conexões entre o córtex sensorio motor e o corpo estriado, favorecendo a consolidação de hábitos motores que são influenciados pela motivação do indivíduo (Van Kerkhof, Damsteegt *et al.*, 2013). Quando o cérebro recebe ou prediz a ocorrência de estímulo ambiental (“*input*”) hedônico, este atua excitando neurônios da área tegumentar ventral e da substância nigra que sintetizam e liberam dopamina (Merzenich, Van Vleet *et al.*, 2014). Assim, ativação das projeções dopaminérgicas da via mesolímbica induz aumento da liberação de dopamina no núcleo *accumbens* e tem sido associado com os efeitos de prazer (recompensa) similar a maioria das drogas (Joseph, Datta *et al.*, 2003). Com a liberação de dopamina, “*inputs*” que prevê recompensa são seletivamente reforçados enquanto que “*inputs*” competitivos, não relacionados com a previsão de recompensa são enfraquecidos (Merzenich, Van Vleet *et al.*, 2014).

A relação entre a sinalização dopaminérgica e a prática de atividade física parece bem estabelecida. Por exemplo, um estudo mostrou que a aplicação local de um antagonista dopaminérgico (cis-flupentixol) dentro do núcleo *accumbens* ou no corpo estriado reduz a atividade locomotora em ratos (Ahlenius, Hillegaart *et al.*, 1987). Outro estudo demonstrou que a depleção de dopamina dentro do núcleo *accumbens*, induzida por 6-hidroxidopamina,

reduziu a atividade espontânea no campo aberto (Correa, Carlson *et al.*, 2002). Em adição, estudos em ratos mostraram que sessões agudas de exercício físico aumenta as concentrações de dopamina no cérebro (Meeusen, Smolders *et al.*, 1997) e que atividade física voluntária por 6 semanas aumenta a transcrição de genes envolvidos na neurotransmissão dopaminérgica nos circuitos de recompensa mesolímbico (Greenwood, Foley *et al.*, 2011). Dessa forma, as vias de recompensa mesolímbica parece representar um possível alvo da plasticidade neuronal induzida pela atividade física e pode ser um dos principais mecanismos envolvidos com a construção e manutenção de hábitos de vida ativos.

Em adição aos efeitos sobre a neurotransmissão dopaminérgica, a prática de atividade física modula a síntese e a liberação de outras biomoléculas, tais como β -endorfina, 5-HT e BDNF, que podem também ser possíveis alvos no controle da expressão comportamental (Chaouloff, 1997; Cunha, Ribeiro *et al.*, 2008; Lemaire, Tronel *et al.*, 2012; Bechara e Kelly, 2013; Nakamura, 2013). A β -endorfina é sintetizada na zona intermediária da hipófise, é derivada da pró-opiomelanocortina (POMC), e atua na diminuição da dor, na percepção do esforço e na sensação de bem-estar (Bender, Nagy *et al.*, 2007). Durante o exercício físico, há aumento na liberação de β -endorfinas e estes efeitos são dependentes da intensidade do exercício (Cunha, Ribeiro *et al.*, 2008). Em exercício aeróbio, os níveis sanguíneos de β -endorfina se mantem inalterados até que a duração do exercício exceda aproximadamente uma hora, após isso, ocorre aumento exponencial (Schwarz e Kindermann, 1992). Em exercício anaeróbico, verificou-se aumento nos níveis de β -endorfina, de 40 pg/ml em repouso para 110 pg/ml após alguns minutos de teste, em indivíduos que corriam na esteira a 85% $VO_{2máx}$ (Taylor, Boyajian *et al.*, 1994). Dessa forma, a prática de atividade física induz liberação de neuropeptídios que tem ação analgésica e promove a sensação de bem-estar no indivíduo, possibilitando assim, que este comportamento ativo seja mantido.

O sistema serotoninérgico é formado por neurônios dos núcleos da rafe que sintetizam 5-HT e possuem projeções para diversas regiões do cérebro, incluindo hipotálamo, hipocampo, corpo estriado e núcleo *accumbens* (Berger, Gray *et al.*, 2009). A 5-HT está envolvida nos processos de regulação da plasticidade sináptica, sobrevivência e reparação neuronal, melhora do humor e media a fadiga central (Garcia, Chen *et al.*, 2003; Mattson, Maudsley *et al.*, 2004). A biosíntese e a liberação de 5-HT em regiões do cérebro (como corpo estriado, hipotálamo e hipocampo) é aumentada em resposta ao exercício físico através do aumento da disponibilidade de triptofano (Meeusen e De Meirleir, 1995; Chaouloff, 1997). Estudos experimentais demonstraram que o bloqueio dos receptores de 5-HT (5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}) aumentou o tempo de exercício físico e retardou o aparecimento da fadiga em ratos submetidos a corrida em esteira (20 m/min, 5% de inclinação) (Bailey, Davis *et al.*, 1993a; b). Assim, a 5-HT parece exercer um importante papel na redução da expressão comportamental e na interrupção do exercício, evitando possíveis danos ocasionados pelo excesso de exercício (Soares, Coimbra *et al.*, 2007; Leite, Rodrigues *et al.*, 2010). Além disso, seu papel na plasticidade neuronal pode favorecer a formação e manutenção de circuitos cerebrais envolvidos com o controle motor, os mecanismos de recompensa e reforço, e a formação de hábitos de vida ativo no indivíduo.

O BDNF é uma neurotrofina sintetizada primariamente no cérebro e que atua em regiões como o córtex cerebral e hipocampo mediando os processos de neurogênese, aprendizado e memória (Yamada e Nabeshima, 2003). Os níveis de BDNF e a memória de ratos parecem ser influenciados pela realização de exercício físico ou exposição a um ambiente enriquecido (Vedovelli, Silveira *et al.*, 2011; Bechara e Kelly, 2013). Ratos de 30 dias idade que foram expostos a um ambiente enriquecido (aumento das oportunidades para atividade física e experiências de aprendizagem), durante dez dias, apresentaram melhor desempenho no teste de memória (Vedovelli, Silveira *et al.*, 2011). Em outro estudo, ratos

adultos submetidos a corrida em esteira (velocidade de 1km/h, 1 hora/dia, 7 dias por semana e durante 3 semanas) apresentaram aumento da expressão de RNAm do BDNF e da proliferação de células no giro denteado do hipocampo (Bechara e Kelly, 2013). Dessa forma, a atividade física parece induzir mudanças nos sistemas neurais envolvidos na consolidação de memória, podendo influenciar o controle das expressões comportamentais tardiamente e favorecer a formação do fenótipo ativo.

A aquisição de hábitos de vida ativo durante a infância/adolescência e sua influência no estabelecimento de fenótipo ativo na vida adulta é pouco estudada e os mecanismos biológicos subjacentes ainda são desconhecidos. Recentemente, tem sido proposto que “*inputs*” atuam no cérebro jovem modulando a liberação de neurotransmissores e levam a mudanças duradouras nas forças de conexões cerebrais relacionadas com o estabelecimento de fenótipos comportamentais (Merzenich, Van Vleet *et al.*, 2014). Assim, o fortalecimento das conexões sinápticas ocorre ao longo da vida através da aquisição de qualquer habilidade ou capacidade por meio de experiências e aprendizagem progressiva (Merzenich, Van Vleet *et al.*, 2014).

Dessa forma, nós propomos que a manutenção do “*input*” da prática de atividade física prazerosa durante a infância e adolescência pode alterar a formação de circuitos neurais das vias de controle motor, de recompensa e reforço, que mediados por uma memória neural, facilitam o estabelecimento de fenótipo ativo na idade adulta (Figura 2). Os mecanismos envolvidos podem estar relacionados com o aumento na força das conexões neurais e com a “fixação” desse comportamento ativo nos circuitos de recompensa, de modo que, mesmo na ausência de sua prática por algum tempo, estes circuitos voltem a atuar com o reinício das atividades. Além disso, esta pode ser a base biológica envolvida na dificuldade encontrada por alguns indivíduos para iniciar a prática de atividade física e estabelecer um hábito de vida ativo na idade adulta.

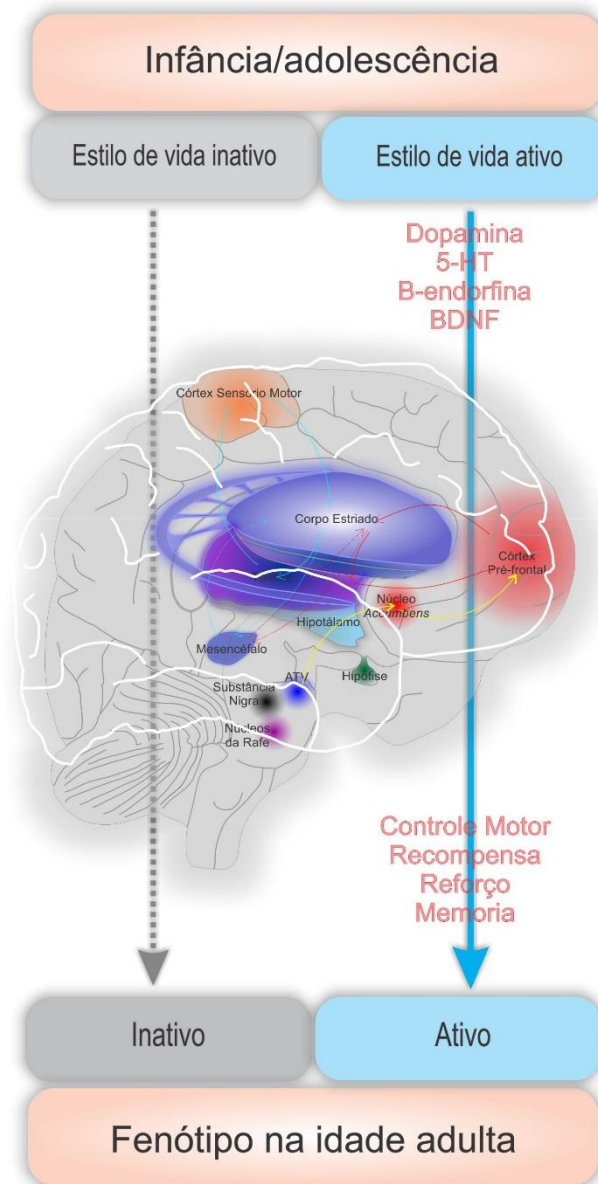


Figura 2. Prováveis efeitos da manutenção do “input” da prática de atividade física prazerosa durante a infância/adolescência sobre o fenótipo ativo no adulto. 5-HT, Serotonina; β -endorfina, Beta Endorfina; BDNF, Fatores Neurotróficos Derivados do Cérebro; ATV, Área Tegumentar Ventral.

Considerações Finais

Em resposta a interação do indivíduo com o ambiente, o cérebro pode ser alterado levando a mudanças moleculares, estruturais e comportamentais. Experiências vividas durante a infância e adolescência parecem modular o controle da expressão comportamental e influenciar o fenótipo e a saúde do indivíduo na idade adulta. Assim, a prática de atividade física prazerosa pode influenciar o desenvolvimento de conexões neurais das vias de controle motor e de recompensa, favorecendo a construção e manutenção de hábitos de vida ativo na idade adulta. Os mecanismos subjacentes podem estar relacionados com os efeitos da atividade física sobre os níveis de biomoléculas e sobre a força das conexões cerebrais que mediam os processos de prazer, reforço e memória.

Dessa forma, é possível que uma das principais estratégias que podem ser utilizadas para diminuir o sedentarismo no adulto é expor o indivíduo, desde a infância, a um ambiente que possibilite a prática de atividade física prazerosa e favoreça a aquisição de hábitos de vida ativo.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, W. *et al.* Effects of early-onset voluntary exercise on adult physical activity and associated phenotypes in mice. *Physiol Behav* [S.I.], v. 149, p. 279-86, Oct 1 2015.
- AHLENIUS, S. *et al.* Suppression of exploratory locomotor activity and increase in dopamine turnover following the local application of cis-flupenthixol into limbic projection areas of the rat striatum. *Brain Res* [S.I.], v. 402, n. 1, p. 131-8, Jan 27 1987.
- ANDERSEN, L. B. *et al.* Cycling to school and cardiovascular risk factors: a longitudinal study. *J Phys Act Health* [S.I.], v. 8, n. 8, p. 1025-33, Nov 2011.
- AZEVEDO, M. R. *et al.* Tracking of physical activity from adolescence to adulthood: a population-based study. *Rev Saude Publica* [S.I.], v. 41, n. 1, p. 69-75, Feb 2007.
- BAILEY, S. P. *et al.* Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. *J Appl Physiol (1985)* [S.I.], v. 74, n. 6, p. 3006-12, Jun 1993a.

_____. Serotonergic agonists and antagonists affect endurance performance in the rat. *Int J Sports Med* [S.I.], v. 14, n. 6, p. 330-3, Aug 1993b.

BECHARA, R. G.; KELLY, A. M. Exercise improves object recognition memory and induces BDNF expression and cell proliferation in cognitively enriched rats. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 245, p. 96-100, May 15 2013.

BERE, E. *et al.* The association between cycling to school and being overweight in Rotterdam (The Netherlands) and Kristiansand (Norway). *Scand J Med Sci Sports* [S.I.], v. 21, n. 1, p. 48-53, Feb 2011.

BERGER, M. *et al.* The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med* [S.I.], v. 60, p. 355-66, 2009.

BIBANCOS, T. *et al.* Social isolation and expression of serotonergic neurotransmission-related genes in several brain areas of male mice. *Genes Brain Behav* [S.I.], v. 6, n. 6, p. 529-39, Aug 2007.

BOONE, J. E. *et al.* Screen time and physical activity during adolescence: longitudinal effects on obesity in young adulthood. *Int J Behav Nutr Phys Act* [S.I.], v. 4, p. 26, 2007.

CARDINAL, R. N. *et al.* Limbic corticostriatal systems and delayed reinforcement. *Ann N Y Acad Sci* [S.I.], v. 1021, p. 33-50, Jun 2004.

CHAOULOFF, F. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], v. 29, n. 1, p. 58-62, Jan 1997.

CORREA, M. *et al.* Nucleus accumbens dopamine and work requirements on interval schedules. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 137, n. 1-2, p. 179-87, Dec 2 2002.

CRAIK, F. I.; BIALYSTOK, E. Cognition through the lifespan: mechanisms of change. *Trends Cogn Sci* [S.I.], v. 10, n. 3, p. 131-8, Mar 2006.

CUNHA, G. S. *et al.* [Levels of beta-endorphin in response to exercise and overtraining]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* [S.I.], v. 52, n. 4, p. 589-98, Jun 2008.

CUNNINGHAM, M. G. *et al.* Amygdalo-cortical sprouting continues into early adulthood: implications for the development of normal and abnormal function during adolescence. *J Comp Neurol* [S.I.], v. 453, n. 2, p. 116-30, Nov 11 2002.

DEWSBURY, D. A. Wheel-running behavior in 12 species of muroid rodents. *Behav Processes* [S.I.], v. 5, n. 3, p. 271-80, Sep 1980.

GABARD-DURNAM, L. J. *et al.* The development of human amygdala functional connectivity at rest from 4 to 23 years: a cross-sectional study. *Neuroimage* [S.I.], v. 95, p. 193-207, Jul 15 2014.

GARCIA, C. *et al.* The influence of specific noradrenergic and serotonergic lesions on the expression of hippocampal brain-derived neurotrophic factor transcripts following voluntary physical activity. *Neuroscience* [S.I.], v. 119, n. 3, p. 721-32, 2003.

GARDNER, B. *et al.* Making health habitual: the psychology of 'habit-formation' and general practice. *Br J Gen Pract* [S.I.], v. 62, n. 605, p. 664-6, Dec 2012.

GIEDD, J. N. The teen brain: insights from neuroimaging. *J Adolesc Health* [S.I.], v. 42, n. 4, p. 335-43, Apr 2008.

GREENWOOD, B. N. *et al.* Long-term voluntary wheel running is rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 217, n. 2, p. 354-62, Mar 1 2011.

HALLAL, P. C. *et al.* Global physical activity levels: surveillance progress, pitfalls, and prospects. *Lancet* [S.I.], v. 380, n. 9838, p. 247-57, Jul 21 2012.

HARIRI, A. R. The neurobiology of individual differences in complex behavioral traits. *Annu Rev Neurosci* [S.I.], v. 32, p. 225-47, 2009.

HERMES, G. *et al.* Post-weaning chronic social isolation produces profound behavioral dysregulation with decreases in prefrontal cortex synaptic-associated protein expression in female rats. *Physiol Behav* [S.I.], v. 104, n. 2, p. 354-9, Aug 3 2011.

HYMAN, S. E. *et al.* Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci* [S.I.], v. 29, p. 565-98, 2006.

JOHNSON, S. B. *et al.* Adolescent maturity and the brain: the promise and pitfalls of neuroscience research in adolescent health policy. *J Adolesc Health* [S.I.], v. 45, n. 3, p. 216-21, Sep 2009.

JOHNSTONE, T. *et al.* Stability of amygdala BOLD response to fearful faces over multiple scan sessions. *Neuroimage* [S.I.], v. 25, n. 4, p. 1112-23, May 1 2005.

JOSE, K. A. *et al.* Childhood and adolescent predictors of leisure time physical activity during the transition from adolescence to adulthood: a population based cohort study. *Int J Behav Nutr Phys Act* [S.I.], v. 8, p. 54, 2011.

KJONNIKSEN, L. *et al.* Organized youth sport as a predictor of physical activity in adulthood. *Scand J Med Sci Sports* [S.I.], v. 19, n. 5, p. 646-54, Oct 2009.

LALLY, P. *et al.* How are habits formed: Modelling habit formation in the real world. *European Journal of Social Psychology* [S.I.], v. 40, n. 6, p. 998-1009, 2010.

LEASURE, J. L.; JONES, M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience* [S.I.], v. 156, n. 3, p. 456-65, Oct 15 2008.

LEGER, M. *et al.* Environmental Enrichment Duration Differentially Affects Behavior and Neuroplasticity in Adult Mice. *Cereb Cortex* [S.I.], Jun 5 2014.

LEITE, L. H. *et al.* Central fatigue induced by losartan involves brain serotonin and dopamine content. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], v. 42, n. 8, p. 1469-76, Aug 2010.

LEMAIRE, V. *et al.* Long-lasting plasticity of hippocampal adult-born neurons. *J Neurosci* [S.I.], v. 32, n. 9, p. 3101-8, Feb 29 2012.

LENARD, N. R.; BERTHOUD, H. R. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. *Obesity (Silver Spring)* [S.I.], v. 16 Suppl 3, p. S11-22, Dec 2008.

LETT, B. T. *et al.* Pairings of a distinctive chamber with the aftereffect of wheel running produce conditioned place preference. *Appetite* [S.I.], v. 34, n. 1, p. 87-94, Feb 2000.

LUNA, B. *et al.* Maturation of widely distributed brain function subserves cognitive development. *Neuroimage* [S.I.], v. 13, n. 5, p. 786-93, May 2001.

MATTSON, M. P. *et al.* BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* [S.I.], v. 27, n. 10, p. 589-94, Oct 2004.

MEEUSEN, R.; DE MEIRLEIR, K. Exercise and brain neurotransmission. *Sports Med* [S.I.], v. 20, n. 3, p. 160-88, Sep 1995.

MEEUSEN, R. *et al.* Endurance training effects on neurotransmitter release in rat striatum: an in vivo microdialysis study. *Acta Physiol Scand* [S.I.], v. 159, n. 4, p. 335-41, Apr 1997.

MENDOZA, J. A. *et al.* The walking school bus and children's physical activity: a pilot cluster randomized controlled trial. *Pediatrics* [S.I.], v. 128, n. 3, p. e537-44, Sep 2011.

MENDOZA, J. A. *et al.* Active commuting to school and association with physical activity and adiposity among US youth. *J Phys Act Health* [S.I.], v. 8, n. 4, p. 488-95, May 2011.

MERZENICH, M. M. *et al.* Brain plasticity-based therapeutics. *Front Hum Neurosci* [S.I.], v. 8, p. 385, 2014.

NAKAMURA, K. The role of the dorsal raphe nucleus in reward-seeking behavior. *Front Integr Neurosci* [S.I.], v. 7, p. 60, 2013.

NIWA, M. *et al.* Vulnerability in early life to changes in the rearing environment plays a crucial role in the aetiopathology of psychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol* [S.I.], v. 14, n. 4, p. 459-77, May 2011.

ORTEGA, F. B. *et al.* Objectively measured physical activity and sedentary time during childhood, adolescence and young adulthood: a cohort study. *PLoS One* [S.I.], v. 8, n. 4, p. e60871, 2013.

OSTERGAARD, L. *et al.* Cycling to school is associated with lower BMI and lower odds of being overweight or obese in a large population-based study of Danish adolescents. *J Phys Act Health* [S.I.], v. 9, n. 5, p. 617-25, Jul 2012.

PELLIS, S. M. *et al.* The role of the striatum in organizing sequences of play fighting in neonatally dopamine-depleted rats. *Neurosci Lett* [S.I.], v. 158, n. 1, p. 13-5, Aug 6 1993.

PLOMIN, R. *et al.* The genetic basis of complex human behaviors. *Science* [S.I.], v. 264, n. 5166, p. 1733-9, Jun 17 1994.

REIF, A.; LESCH, K. P. Toward a molecular architecture of personality. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 139, n. 1-2, p. 1-20, Feb 17 2003.

RHODES, J. S. *et al.* Neurobiology of Mice Selected for High Voluntary Wheel-running Activity. *Integr Comp Biol* [S.I.], v. 45, n. 3, p. 438-55, Jun 2005.

RUDEBECK, P. H. *et al.* Frontal cortex subregions play distinct roles in choices between actions and stimuli. *J Neurosci* [S.I.], v. 28, n. 51, p. 13775-85, Dec 17 2008.

SALAMONE, J. D.; CORREA, M. Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 137, n. 1-2, p. 3-25, Dec 2 2002.

SEDENTARY BEHAVIOUR RESEARCH, N. Letter to the editor: standardized use of the terms "sedentary" and "sedentary behaviours". *Appl Physiol Nutr Metab* [S.I.], v. 37, n. 3, p. 540-2, Jun 2012.

SIREVAAG, A. M.; GREENOUGH, W. T. A multivariate statistical summary of synaptic plasticity measures in rats exposed to complex, social and individual environments. *Brain Res* [S.I.], v. 441, n. 1-2, p. 386-92, Feb 16 1988.

SOARES, D. D. *et al.* Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. *Neurosci Lett* [S.I.], v. 415, n. 3, p. 274-8, Mar 30 2007.

STURM, R. Childhood obesity - what we can learn from existing data on societal trends, part 1. *Prev Chronic Dis* [S.I.], v. 2, n. 1, p. A12, Jan 2005.

TRUDEAU, F. *et al.* Tracking of physical activity from childhood to adulthood. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], v. 36, n. 11, p. 1937-43, Nov 2004.

VAN KERKHOF, L. W. *et al.* Social play behavior in adolescent rats is mediated by functional activity in medial prefrontal cortex and striatum. *Neuropsychopharmacology* [S.I.], v. 38, n. 10, p. 1899-909, Sep 2013.

VAN KERKHOF, L. W. *et al.* Cellular activation in limbic brain systems during social play behaviour in rats. *Brain Struct Funct* [S.I.], v. 219, n. 4, p. 1181-211, Jul 2014.

VEDOVELLI, K. *et al.* Effects of increased opportunity for physical exercise and learning experiences on recognition memory and brain-derived neurotrophic factor levels in brain and serum of rats. *Neuroscience* [S.I.], v. 199, p. 284-91, Dec 29 2011.

WINSTANLEY, C. A. *et al.* Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice. *J Neurosci* [S.I.], v. 24, n. 20, p. 4718-22, May 19 2004.

WOOD, W.; NEAL, D. T. A new look at habits and the habit-goal interface. *Psychol Rev* [S.I.], v. 114, n. 4, p. 843-63, Oct 2007.

YAMADA, K.; NABESHIMA, T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. *J Pharmacol Sci* [S.I.], v. 91, n. 4, p. 267-70, Apr 2003.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral:

Avaliar o desenvolvimento e a correlação de diferentes comportamentos relacionados com atividade física voluntária durante a infância e juventude de ratos com o estabelecimento de fenótipo ativo na idade adulta.

3.2 Específicos:

- ✓ Padronizar um método de análise computacional de avaliar os diferentes comportamentos relacionados com atividade física durante a infância e juventude de ratos, sem submetê-los ao isolamento social precoce;
- ✓ Mensurar o tempo gasto diariamente com os diferentes comportamentos relacionados com atividade física dos 28 aos 62 dias de idade (brincadeira, brincar de briga, atividade física voluntária na roda, atividade física espontânea e ausência de atividade física);
- ✓ Realizar classificação dos grupos de acordo com o tempo despendido semanalmente em cada comportamento e verificar a associação entre eles;
- ✓ Verificar a relação entre todos os comportamentos relacionados com atividade física dos 28 aos 62 dias de idade;
- ✓ Avaliar a relação entre os diferentes comportamentos durante a infância e juventude de ratos com a atividade física voluntária na idade adulta.

4. HIPÓTESE

O fenótipo ativo na idade adulta está associado com o desenvolvimento de comportamentos relacionados com atividade física voluntária e o estabelecimento de hábitos de vida ativo durante a infância e juventude de ratos.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências Biológicas (Processo nº 23076018782/201205), da Universidade Federal de Pernambuco e a manipulação e os cuidados com os animais seguiram as Diretrizes para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (Bayne, 1996).

5.1. Animais

Foram utilizados 30 ratos machos albinos da linhagem *Wistar*, provenientes de 10 ratas, da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação, com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2$, ciclo claro-escuro invertido de 12/12 horas (ciclo escuro das 6:00 às 18:00hs). Ração padrão de biotério e água foram fornecidas *ad libitum* durante todo experimento.

Foram utilizadas 10 ratas como progenitoras e para escolha das ratas foram adotados os seguintes critérios: 1) as ratas não poderiam ter parentesco familiar, 2) possuir idade entre 90 e 120 dias de vida, 3) apresentar peso entre 220 e 250 gramas e 4) serem nulíparas (Bento-Santos, Santos *et al.*, 2012). Estes cuidados foram adotados para minimizar possíveis influências genéticas e fisiológicas nos resultados (Bautista, Garcia-Torres *et al.*; Zambrano, Bautista *et al.*, 2006). Em seguida, foi realizado um mapeamento do ciclo estral das ratas, através de esfregaço vaginal, e no período estro as fêmeas foram postas para acasalar (Marcondes, Bianchi *et al.*, 2002). Após o nascimento da prole, no segundo dia de vida, as ninhadas foram reduzidas a 8 filhotes por mãe, com pelo menos 3 machos por ninhada.

5.2 Gaiola de Atividade Física Voluntária (GAFV)

Aos 21 dias de idade, no desmame, com base na similaridade do peso corporal, foram escolhidos 3 filhotes machos de cada ninhada, estes animais foram transferidos para as GAFV. As GAFV são gaiolas de acrílico transparente medindo 60 cm de largura, 50 cm de altura e 80 cm de comprimento (figura 1). Três rodas de aço inoxidável (27 centímetros de diâmetro) foram colocadas na gaiola para a realização de atividade física voluntária na roda (PA-RW) dos 3 animais simultaneamente. Para a identificação dos animais, cada um deles foi pintado com tinta atóxica na cauda. Os animais foram submetidos a 7 dias de adaptação (21 aos 27 dias de idade) na GAFV. Após o período de adaptação, os animais foram filmados durante o ciclo escuro (12 horas por dia) por um período de cinco semanas (28 aos 62 dias de idade). As filmagens foram realizadas por uma câmera de infra-vermelho localizada a frente da gaiola, conectada a um computador que armazenou as filmagens para posterior análise comportamental.

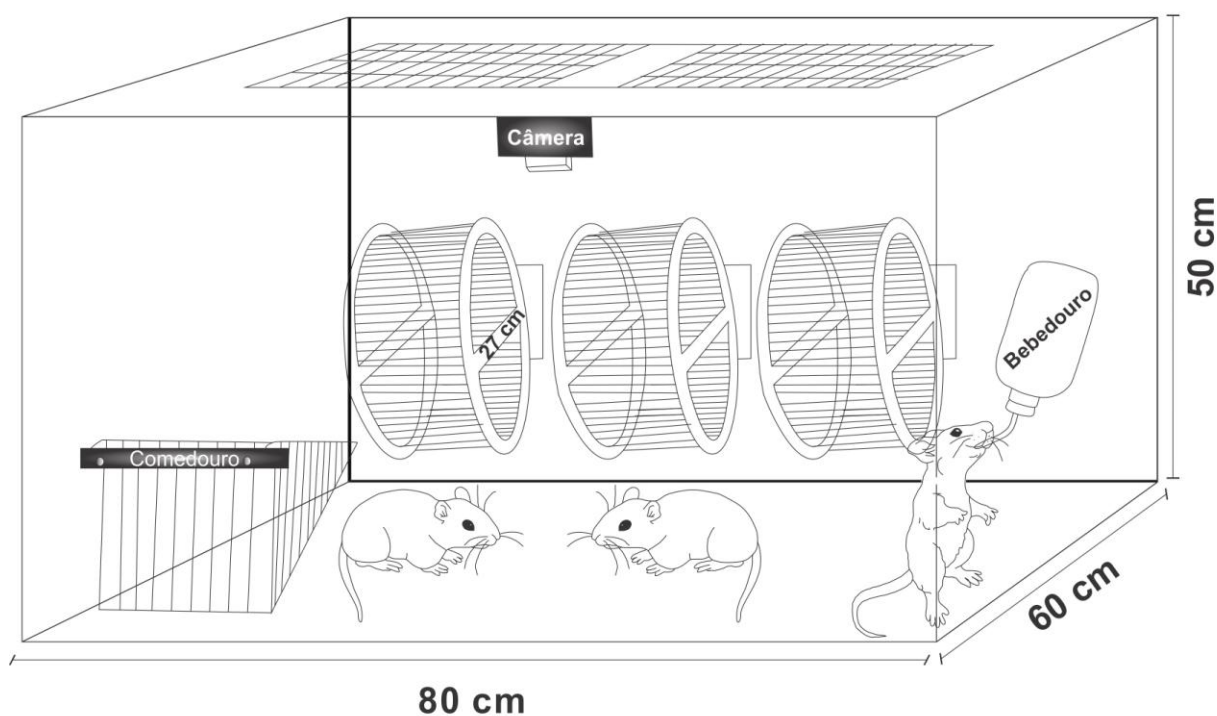


Figura 1: Gaiola de Atividade Física Voluntária (GAFV) com três cicloergômetros.

5.3 Análise dos comportamentos relacionados com atividade física da prole durante a infância e juventude de ratos

Para a análise comportamental, um software (contador de eventos e marcador de tempo), utilizando linguagem de programação C ++ e a biblioteca OpenCV 2.4.9 (Open Source Computer Vision) foi desenvolvido (Figura 2). Durante a preparação do software, testes e re-testes foram realizados a fim de verificar a reprodutibilidade e a confiabilidade dos dados, bem como para detectar bugs. O software permitiu a mensuração manual de comportamentos dos três ratos simultaneamente na GAFV. Com isso, diferentes comportamentos (brincadeira, brincar de briga, atividade física na roda, atividade física espontânea e ausência de atividade física) foram quantificados (Tabela 1). Com intuito de minimizar o erro de observação, todas as análises comportamentais foram realizadas pelo mesmo pesquisador e todo estudo ocorreu de forma duplo-cego.

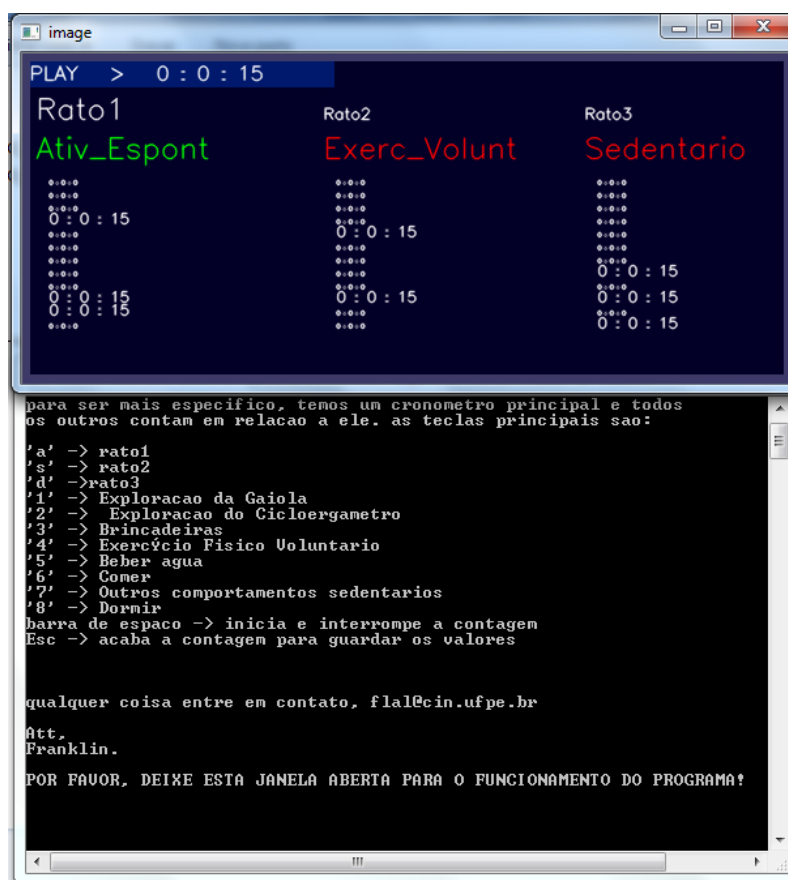


Figura 2: Software marcador de tempo construído na linguagem de programação C ++ e com a biblioteca OpenCV.

Tabela 1: Características dos comportamentos relacionados com atividade física na prole durante a infância e juventude de ratos.

Comportamento	Características
Brincadeira (P)	Corresponde a interação social com intenso contato físico. Os animais mantem a região ventral frente à frente e realizam movimentos rápidos e frequentes com as patas dianteira. Do mesmo modo, os animais podem assumir uma postura em que um animal está deitado de costas no chão, enquanto um outro animal permanece sobre ele (Vanderschuren, Niesink <i>et al.</i> , 1995). Neste sentindo, é muito comum ao animal que está por cima (dominante) tentar imobilizar o animal que se encontra por baixo (dominado). Durante esse tipo de interação social, é comum a inversão de papéis em relação a quem é dominante ou dominado. Também pode ocorrer comportamentos típicos de ataque, defesa e contra-ataque, no entanto, sem a ocorrência de submissão por um dos animais envolvidos (Pellis e Pellis, 1990).
Brincar de Briga (PF)	Também chamado de “ <i>play fighting</i> ”, é um comportamento adaptativo caracterizado por ações agressivas e defensivas, que ocorrem durante o conflito entre membros da mesma espécie (Scott, 1966). O comportamento de PF geralmente leva a um estabelecimento de uma hierarquia dominante-subordinado, que por sua vez tem um papel importante na socialização, na aquisição de recursos, no sucesso reprodutivo e até mesmo na sobrevivência (Scott and Fredericson, 1951).
Atividade Física Voluntária na Roda (PA-WR)	Corresponde ao comportamento de corrida no cicloergômetro sem qualquer reforço ou motivação por fatores externos (Garland, Schutz <i>et al.</i> , 2011).
Atividade Física Espontânea (SPA)	Corresponde a atividades de vida diária que demanda um dispêndio energético acima dos níveis de repouso (Garland, Schutz <i>et al.</i> , 2011). SPA é a soma de movimentos livres na gaiola, exploração ambiental e deslocamentos fora do cicloergômetro.
Ausência de Atividade Física (N-PA)	Corresponde as atividades de vida diária que não demanda dispêndio energético acima dos níveis de repouso (Garland, Schutz <i>et al.</i> , 2011). N-PA é a soma dos comportamentos de: comer, beber água, limpeza, ficar quieto e dormir.

Os diferentes comportamentos foram identificados e quantificados de acordo com a Tabela 1 e os procedimentos de análise estão descritos a seguir:

Atividade Física Voluntária na Roda (PA-WR)

Dos 28 aos 62 dias de idade, o tempo despendido com corrida na roda foi registrado diariamente e a PA-WR foi quantificada a cada hora (das 06:00hs às 18:00hs), com intuito de avaliar a oscilação ao longo do dia e o estabelecimento de hábitos de atividade física. O cálculo da mediana do tempo despendido semanalmente com PA-WR permitiu classificar os ratos como: menos atividade física voluntária na roda (l-PA-WR) ou mais atividade física voluntária na roda (m-PA-WR) (Tabela 2).

Brincadeira (P)

Dos 28 aos 43 dias de idade, o tempo despendido com o comportamento de brincadeira foi registrado diariamente (das 06:00hs às 18:00hs). Não houve comportamento de brincadeira após os 43 dias de idade. O cálculo da mediana do tempo despendido semanalmente com “brincadeira” permitiu classificar os ratos como: menos brincadeira (l-P) ou mais brincadeira (m-P) (Tabela 2).

Brincar de Briga (PF)

Dos 28 aos 62 dias de idade, o tempo despendido com o comportamento de “brincar de briga” foi registrado diariamente (das 06:00hs às 18:00hs). O cálculo da mediana do tempo despendido semanalmente com “PF”, permitiu classificar os ratos como: menos brincar de briga (l-PF) ou mais brincar de briga (m-PF) (Tabela 2).

Atividade Física Espontânea (SPA)

Dos 28 aos 62 dias de idade, o tempo despendido com o comportamento de “SPA” foi registrado diariamente (das 06:00hs às 18:00hs). O cálculo da mediana do tempo despendido semanalmente com “SPA”, permitiu classificar os ratos como: menos atividade física espontânea (l-SPA) ou mais atividade física espontânea (m-SPA) (Tabela 2).

Ausência de Atividade Física (N-PA)

Dos 28 aos 62 dias de idade, o tempo despendido com o comportamento de “N-PA” foi registrado diariamente (das 06:00hs às 18:00hs). O cálculo da mediana do tempo despendido semanalmente com “N-PA”, permitiu classificar os ratos como: menos Ausência de Atividade Física (l-N-PA) ou mais Ausência de Atividade Física (m-N-PA).

Todos os comportamentos foram classificados como menos (“less”) ou mais (“more”) e a distribuição de cada grupo é mostrado na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação dos grupos de acordo com o tempo semanal despendido com atividade física voluntária na roda (PA-WR), brincadeira (P), brincar de briga (PF), atividade física espontânea (SPA) e ausência de atividade física (N-PA) dos 28 aos 62 dias de idade.

Comportamentos	Tamanho da Amostra ("n")	Tempo (minutos / semana)			Classificação	
		Mínimo	Mediana	Máximo	Less n(%)	More n(%)
PA-WR	30	36,5	187,53	506,35	18 (60%)	12 (40%)
P	30	0	33,97	157,56	13 (43,3%)	17 (56,7%)
PF	30	10,23	56,34	206,75	8 (26,7%)	22 (73,3%)
SPA	30	87,68	265,98	880,11	15 (50,0%)	15 (50,0%)
N-PA	30	3710,07	4505,10	4863,38	14 (46,7%)	16 (53,3%)

l-PA-WR, menos atividade física voluntária na roda; m-PA-WR, mais atividade física voluntária na roda.

l-P, menos brincadeira; m-P, mais brincadeira.

l-PF, menos brincar de briga; m-PF, mais brincar de briga.

l-SPA, menos atividade física espontânea; m-SPA, mais atividade física espontânea.

l-N-PA, menos ausência de atividade física; m-N-PA, mais ausência de atividade física.

5.4 Atividade Física Voluntária na Idade Adulta

Aos 63 dias de idade, todos os animais foram separados de seus irmãos e foram alojados individualmente em uma GAFV. Uma roda de aço inoxidável (27 cm de diâmetro) foi colocada na gaiola e um ciclocomputador (Cateye, modelo CC-AT200W, Colorado, EUA) foi anexado a roda para medir a atividade física voluntária. Após o período de adaptação (63 aos 71 dias de idade), o tempo despendido com PA-WR foi registrado diariamente por um período de três semanas (72 a 92 dias de idade).

5.5 Análise estatística

A análise exploratória de dados foi realizada para identificar possíveis informações incorretas e para testar a normalidade dos dados. A estatística descritiva é apresentada com os valores de mediana, mínimo e máximo. O teste do qui-quadrado (X^2) foi utilizado para avaliar a associação entre as variáveis comportamentais e os grupos experimentais na infância e juventude. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para: 1) correlacionar os comportamentos ao longo da infância e juventude; 2) correlacionar todos comportamentos com a atividade física voluntária na idade adulta. Para a análise de correlação e de associação, as variáveis foram transformadas (normalizadas) binariamente para obter uma distribuição mais simétrica. Valor Normalizado = (valor atual - valor mínimo) / (valor máximo - valor mínimo). A significância estatística foi fixada em $p < 0,05$. A análise dos dados foi realizada utilizando os programas estatístico SPSS versão 20.0 e o GraphPad Prism 5 ® (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA).

6. RESULTADOS – Establishment of locomotor activity-related contextual behavior during childhood and adolescence of rats: spontaneous and running-wheel physical activities during adolescence are determinant for adult active phenotype

INTRODUCTION

Animals spend extensive portion of their time and energy on locomotor activities for seeking for food, shelter, hunting, interaction with competitors, reproducing and predators defense (Garland, Schutz *et al.*, 2011). Some locomotor activities are not related directly to survival or sexual behavior, but they are most linked to thermogenesis and energy balance, control of body weight and pleasure (Machado, Rodovalho *et al.*, 2015). Previous classical studies have shown that animals and humans are engaged in locomotor activities related to leisure, no predatory competition, exploration and curiosity, seek for novelty and recompense (Berlyne, 1966; Berlyne, Koenig *et al.*, 1966). Rats are keen to explore, to move and play, to run and to do spontaneous physical activities when they have no emergencies to deal with environment stimuli (Berlyne, 1966; Berlyne, Koenig *et al.*, 1966). For human beings, locomotor activities may be categorized as “recreation” or entertainment when the sense organs are brought into contact with biologically neutral or indifferent stimulus patterns, that is, with objects or events that do not seem to be inherently beneficial or noxious (Berlyne, 1966; Berlyne, Koenig *et al.*, 1966).

Locomotion activity-related contextual behavior include play, play fighting, running in the wheel, and spontaneous physical activity (SPA). Play is a common locomotor behavior in the childhood of a variety species of mammals and involves physical contacts in conjunction with others without the sense of competition (Himmler, Pellis *et al.*, 2013). Play fighting in the rat involves attack and defense of the nape of the neck, which if contacted, is gently nuzzled with the snout (Pellis e Mckenna, 1995; Pellis, Field *et al.*, 1997). The movements of

one animal during the play fighting are well characterized and can be measured by counting the number of playful nape attacks occurring per unit time (Himmler, Pellis *et al.*, 2013). Running-wheel was firstly describe as a rewarding or even addictive locomotor activity for rats in 1954 by Dr. Jerome Kagan and Mitchel Berkun (Kagan e Berkun, 1954). Then, a large number of studies are using running-wheel model to study voluntary physical activity and the mechanism of rewarding, addiction, habits, rituals, memory and learning (Dishman, Berthoud *et al.*, 2006; Graybiel, 2008; Eisenmann, Wickel *et al.*, 2009; Klaus, Hauser *et al.*, 2009; Garland, Schutz *et al.*, 2011; Morris, Na *et al.*, 2012). However, animals can engage in much physical activity that does not qualify as voluntary exercise in the running-wheel (walking, jumping, exploration, etc). This kind of locomotor behavior is termed spontaneous physical activity (SPA) and refers to physical activities of daily living, fidgeting, spontaneous muscle contraction, and maintaining posture (Garland, Schutz *et al.*, 2011). All these activities, not directly related to survival or homeostasis, constitute a key component of daily life and habits as individuals follow an internal motivation.

Habits may evoke a voluntary control over behavior (Burghardt, Fulk *et al.*, 2004). An extensive spectrum of behavioral routines and rituals can become habitual and stereotyped through learning (Burghardt, Fulk *et al.*, 2004). Repetitive behaviors can also appear determinant to the adult behavioral phenotype and many of these behaviors could emerge as a result of experience-dependent plasticity influencing the cognitive activity, social interaction, emotional, and action functions of the brain during adulthood (Graybiel, 2008). Locomotor activity-contextual behavior can favorably influence brain plasticity by facilitating neurogenerative, neuroadaptive, and neuroprotective processes (Graybiel, 2008). Children participated in “walking school bus” program showed an increase in their time of daily moderate-to-vigorous physical activity from 46.6 ± 4.5 to 48.8 ± 4.5 min. (Mendoza, Watson, Baranowski *et al.*, 2011). Longitudinal studies have provided support that physical

activity during childhood and adolescence are strong and positively associated with active behavior in adulthood (Kjonniksen, Anderssen *et al.*, 2009; Jose, Blizzard *et al.*, 2011). However, less is known about the mechanisms related to the association among locomotor-related behavior during childhood and adolescence, the time of appearance of each behavior, and the repercussion on adulthood. Experimental models could provide important insights about the development of locomotor behavior during childhood and adolescence, the individual and associative characteristic of each behavior and the correlation with active phenotype late in life.

In the present study, we described with detail the time spent on different locomotor activity-related contextual behaviors (play, play fighting, spontaneous physical activity, and physical activity in the wheel running) during childhood and adolescence of male Wistar rats. In order to test the hypothesis that each behavior has an intrinsic biological determinant, we categorized rats according to the time spent (“more” and “less”) on each behavior. Then, the association among behaviors was performed in order to see if rats paired the different behaviors related to locomotion during childhood and adolescence. Finally, the correlations between locomotor-related behaviors during childhood/adolescence and adulthood were performed in order to test the hypothesis that physical activity in the running-wheel and spontaneous physical activity are strong predictors of active phenotype in adulthood.

MATERIAL AND METHODS

The experimental protocol was approved by the Ethical Committee of the Biological Sciences Center (protocol no. 23076018782/201205), Federal University of Pernambuco, Brazil, and followed the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals (Bayne, 1996).

Animals

Thirty male pup albino Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were obtained from the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Brazil. Animals were maintained at a room temperature of 22 ± 2 °C with a controlled light–dark cycle (lights off at 06.00 a.m. – 06.00 p.m.). Standard laboratory chow and water were given *ad libitum* during all period of life. Pups were obtained from ten females selected to mate according to the following criteria: virgin, no family relationship, aged 90 to 120 days and weighing 220 to 250 grams (Bento-Santos, Santos *et al.*, 2012). At postnatal day 2, litters were reduced to 8 pups per mother, ensuring at least 3 males per litter. At postnatal day 21 (P21), based on similarity of body weight, three male pups (from the same mother) were housed in voluntary physical active cages (50 cm height, 60 cm width and 80 cm length) [Figure 1]. Three stainless steel wheels (27 cm diameter) were placed into the cage allowing rats to exercise in a wheel running. To identify each animal during the experiment, a non-toxic paint in the tail was used. Pups were submitted to 7 days of adaptation (P21 to P27) in the cage. After the period of adaptation, locomotor activity-related contextual behaviors (physical activity in the wheel running, play, play fighting, spontaneous physical activity and non-physical activity) were daily recorded during the dark cycle (6.00 a.m. to 6.00 p.m.) by an infrared camera for a period of five weeks (P28 to P62). The images were sent automatically to a computer for later behavioral analysis.

Locomotor activity-related contextual behaviors analysis of pups during childhood and adolescence

For behavioral analysis, a software (event counter and time marker) using C++ programming language and the OpenCV library 2.4.9 (Open Source Computer Vision) was developed. During the preparation of the software, tests and re-tests were performed in order to verify the reproducibility and reliability of data, as well as to detect bugs. The software allowed the manually measurement of behaviors of the three rats simultaneously in the cage. Registration was performed during the dark period of the light/dark cycle (6.00 a.m. to 6.00 p.m.). Because rodents have nocturnal habits, there was no registration during the light period (6.00 p.m. to 6.00 a.m.). The same researcher performed all analyses in order to minimize the error of observation. The different behaviors were identified for posterior analysis [Table 1]. The procedures of analysis are described below:

Physical activity in the wheel running (PA-WR)

During the period of P28 to P62, the time spent in the wheel running were daily recorded, and PA-WR were registered per hour (06.00 am to 06.00 p.m.) in order to evaluate a single day oscillation and the establishment of the habits of PA-WR. The calculation of the median of the time weekly spent in PA-WR allowed us to classify rats as: less PA-WR (l- PA-WR) or more PA-WR (m- PA-WR) (Table 2).

Play (P)

During the period of P28 to P43, the time spent in the activity “P” was daily recorded (06.00 a.m. to 06.00 p.m.). There was no “play” activity after P43. The calculation of the median of the time weekly spent in “play” allowed us to classify rats as: less play (l-F) or more play (m-P).

Play fighting (PF)

During the period of P28 to P62, the time spent in the activity “PF” was daily recorded (06.00 a.m. to 06.00 p.m.). The calculation of the median of the time weekly spent in “play fighting” allowed us to classify rats as: less play fighting (l-PF) or more play fighting (m-PF).

Spontaneous physical activity (SPA)

During the period of P28 to P62, the time spent in the activity “SPA” was daily recorded (06.00 a.m. to 06.00 p.m.). The calculation of the median of the time weekly spent in “SPA” allowed us to classify rats as: less SPA (l- SPA) or more SPA (m-SPA).

Non-physical activity (N-PA)

During the period of P28 to P62, the time spent in the activity “N-PA” was daily recorded (06.00 a.m. to 06.00 p.m.). The calculation of the median of the time weekly spent in “N-PA” allowed us to classify rats as: less N-PA (l- N-PA) or more N-PA (m-N-PA).

The sample was divided as “less” or “more” for all behaviors, and the number of pups on each group is shown in Table 2.

Voluntary Physical Activity (VPA) during Adulthood

At P63, animals were separated from their brothers and singly housed into a cage (same dimensions) with only one wheel running and a cyclecomputer (Cateye, model CC-AT200W, Colorado, USA) was attached the wheel to measure the voluntary physical activity. There was no registration during the period of adaptation to the new environment in the cage (P63 to P71). The time spent in the wheel running was registered until the P92.

STATISTICAL ANALYSIS

Exploratory data analysis was used to identify possible inaccurate information and to test the assumption of normality in all data distribution. Median with minimum and maximum values were taken to classify groups according to the time spent in each behavior. Values of the time (min) spent in each behavior are individually presented. The Chi-Square test was used to determine whether there are significant differences among the expected frequencies in each category of “less” and “more” for all behaviors. Pearson’s correlation coefficient was used: 1) to correlate the behaviors throughout childhood and adolescence; 2) to correlate all behaviors with physical activity in the adulthood. For the analysis of correlation and association, variables were binary transformed to obtain a more symmetrical distribution. $\text{Normalized Value} = (\text{current value} - \text{minimum value}) / (\text{maximum value} - \text{minimum value})$. Significance was set at $p < 0.05$. Data analysis was performed using the statistical program SPSS version 20.0 and GraphPad Prism 5® (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

RESULTS

Physical activity in the wheel running

We analyzed hour-by-hour the changes in the timeline of the establishment of habits of physical activity from P28 to P62 (supplementary figures S1 to S9). From P28 to P51, all rats spent more time in the wheel running after the dark-phase onset and in the end of dark-phase of the light/dark cycle (supplementary figures S1 to S6). From P52 to P62, all rats spent more time in the wheel running at the early hours (6.00 to 12.00 a.m.) of dark-phase (supplementary figures S7 to S9). Both groups (l-PA-WR and m-PA-WR) presented the same profile, however the difference was evident in terms of time spent on PA-WR by each group.

We also described the time spent in PA-WR per day and per week (Fig. 2A and B). Both groups (l-PA-WR and m-PA-WR) presented similar pattern of the time spent in daily PA-WR throughout the experiment. However, m-PA-WR group showed a progressive increase in the time spent on the wheel running throughout the weeks, while l-PA-WR showed a progressive reduction (around 35%) when compared to m-PA-WR.

Play and Play Fighting

The time spent in P and PF following the period of childhood and adolescence is presented in Fig 2C and 2E (daily) and 2D and 2F (weekly). All pups spent time playing at the onset of the childhood, but groups were rapidly distinguished as l-P and m-P at the first weeks post-weaning. The group m-P spent more time playing over the two first weeks with a sudden reduction of the time at the third week (P42 to P48), while l-P showed a progressive reduction over time until the third week. Then, at P35 all rats begun to present the behavior of play fighting. At the third week (when play behavior were not seen anymore), rats from m-PF showed an increase of the time spent to PF. In contrast, l-PF rats showed a progressive reduction over time spent to PF. The reduction of the time spent for m-PF was seen on the onset of maturity (P56 to P62).

Spontaneous physical activity (SPA)

The time spent in SPA following the period of childhood and adolescence is presented in Fig 2G (daily) and H (weekly). All pups spent a relatively constant time on the SPA, however m-SPA spent the double of the time when compared to l-SPA (l-SPA = 37 ± 3.2 min and m-SPA = 80 ± 10.1 min). When data were described per week, m-SPA rats showed a light reduction throughout the weeks, while l-SPA was constant during whole period of adolescence.

Non-physical activity

The time spent for N-PA following the period of childhood and adolescence is presented in Fig 2I (daily) and J (weekly). All pups spent a relatively constant time on the daily N-PA. m-N-PA spent a constant amount of time throughout the weeks, while l-N-PA spent a progressive increase from the first to the third week.

Intersection among behaviors categorized by groups (less and more) during infancy and adolescence

Table 3 presents the proportion of total of rats that paired the different behaviors. The proportion of m-PA-WR was high for pups that spent more time playing (m-P $\rightarrow$ m-PA-WR = 91.7%), did more spontaneous physical activity (m-SPA $\rightarrow$ m-PA-WR = 83.3%), did less non-physical activity (l-N-PA $\rightarrow$ m-PA-WR = 91.7%). A hundred percent of the group that spent more time playing during infancy also spent more time on play fighting. It was interesting to note that l-PF was associated with m-N-PA (100%). Play was also significantly associated with m-SPA (76.5%) and l-N-PA (82.4%). At least 93.3% of m-N-PA was also l-SPA.

Pearson's correlation among locomotor activity contextual behaviors during childhood and adolescence

There were strong correlations among the time spent for all locomotor-related contextual behaviors during childhood and adolescence (Table 4). PA-WR was positively correlated with P and SPA while the N-PA was negatively correlated with all locomotor-related contextual behaviors during childhood and adolescence.

Pearson's correlation among locomotor activity contextual behaviors during childhood and adolescence and voluntary physical activity (VPA) during adulthood

The correlations among behaviors during childhood and adolescence (each week) with VPA during adulthood (each week) were examined (Table 5). There were no correlations between play and VPA for groups, m-P and l-P. l-PF during P42-P48 was positively correlated with VPA at P79-P85. m-SPA was strongly and positively correlated with VPA during P79-P92. We have seen some correlation between PA-WR and VPA for the last weeks of analysis. m-N-PA was strong and negatively correlated with VPA from P79 to P92.

DISCUSSION

Apparently, no study has yet attempted to simultaneously examine play, play fighting, physical activity on the running-wheel, SPA and sedentary behaviors in a laboratory rodent. In addition, there are no studies that have attempted to quantify these behaviors simultaneously in rats living without social isolation. We demonstrated that young male Wistar rats spent time on five distinguished contextual behaviors related to locomotor activity with a clear different amount of time dedicated to each behavior. There was no reinforce for rats throughout the experiment, and groups were categorized as “more” or “less”, based on their propensity and motivation to spend time/week on each behavior. The individual response

for the same environmental stimuli has been described in previous studies (Freund, Brandmaier *et al.*, 2013; 2015). Indeed, two individuals may exhibit an innately different behavioral or physiological state, or may respond differently to the same environment stimuli (Garland, Schutz *et al.*, 2011).

In spite of the intra-individual response, an important finding of the present study was the association of five different types of behavior in the domain of physical activity that seemed to influence the active phenotype later in life. Indeed, m-P, m-PF, m-PA-WR, m-SLA and l-N-PA rats were strongly associated during childhood and adolescence. Previous study showed that the behaviors of “play” and “play fighting” depend on social interaction and seem to have an important role on the maturation and development process of others behaviors like voluntary physical activity during childhood and adolescence (Pellis e Mckenna, 1995). We also demonstrated that the time spent on SPA and PA-RW was strong and positively correlated with voluntary physical activity on the wheel running during adulthood. The maturation of these neural connections on different areas of the brain (prefrontal cortex, thalamic nuclei, striatum, nucleus *accumbens* and amygdala lateral) may increase the capacity to improve more complex behavior such as voluntary physical activity and SPA in adulthood (Cunningham, Bhattacharyya *et al.*, 2002; Gabard-Durnam, Flannery *et al.*, 2014).

Running-wheel seems to be rewarded and self-motivated behavior for rodents (Santana Muniz, Beserra *et al.*, 2014). With video analysis, features of distinctive running bouts and the degree of intermittent exercise were quantified during the dark period of the day. In the hour-per-hour analysis, both groups were progressively developing habits to perform PA-WR during the first six hours of darkness light/dark cycle. Accordingly to previous study, animals with nocturnal habits show peaks of physical activity during the early hours of environmental darkness (Blanchong, Mcelhinny *et al.*, 1999). The exercise-induced

thermogenesis, hormonal response (glucocorticoids and testosterone secretions), and dopaminergic projections of the mesolimbic pathway can be implied on the establishment of the habits (Greenwood, Foley *et al.*, 2011). Importantly, regardless of the time of day, our findings support the hypothesis that there are intrinsic mechanisms of ultradian modulation of the voluntary PA-RW that include primarily the motor cortex, but also the autonomic brain, hypothalamus and their neuromodulators, and the secretion of peripheral hormones (Garland, Schutz *et al.*, 2011). In addition, for the day-to-day and week-to-week variability by individual rats, we found to be similar to that observed for activity levels of free-living human children, adolescent and young adults according to previous study (Eisenmann, Wickel *et al.*, 2009). Once voluntary running-wheel in rats may be a reasonable model of human physical active behavior during infancy and adolescence, molecular mechanisms can be described in future studies with animal models.

In the present study, we described two components of play behavior: play and play fighting. Play behavior in rats begins during infancy and childhood and involves locomotor behavior without dispute that is performed in conjunction with other rats as described in our daily and weekly analysis. Play fighting or rough-and-tumble play is developed during the adolescence, and in rats, it appears to be involved in the development of sexual behavior and in the maintenance of dominance relationships amongst males (Pellis e Pellis, 1998). Aligned with previous studies (Pellis e Mckenna, 1995; Pellis, Field *et al.*, 1997; Pellis e Pellis, 1998), we identified the play behavior from P28 to P42 and play fighting occurring in the juvenile phase (P30) with a peak frequency between P40 and P51, and progressive declines in frequency until P62. There was a variation on the time spent on the play and play fighting behaviors, and some rats demonstrated less motivation to play and play fighting. For our knowledge, this is the first time that it is shown the existence of a biological variation in rats from the same strain and gender. Our findings provide new insights about the probable

individual biological variability that is related to the play-induced reward system. We can suggest the involvement of the dopaminergic neurotransmission in the mesolimbic reward circuitry of rats in which the “play behavior” induced an increase in neuronal activity of the striatum, nucleus *accumbens* and amygdala (Van Kerkhof, Trezza *et al.*, 2014).

Our findings demonstrated that rats varied widely in the amount of SPA, however, most of the time spent on their daily locomotor activities was dedicated to SPA for both m-SPA and l-SPA groups. The SPA was volitional and included ambulatory and non-ambulatory events, such as walking and standing behaviors. The advantage of including all activity in SPA other than that chosen as formal exercise is that it brings those activities where the movement has a substantial impact on energy balance and thermogenesis (Machado, Rodovalho *et al.*, 2015). The impact on energy balance and thermogenesis reinforce the hypothesis defended by previous studies about the existence of a neural control of the SPA (Kotz, 2006; Kotz, Wang *et al.*, 2006; Kotz, Teske *et al.*, 2008). Regardless to motor cortex, various brain areas have been identified as acting on locomotor activity, such as the ventral tegmental area and substantia nigra, with dopaminergic projections to the nucleus *accumbens* and striatum (Kotz, Teske *et al.*, 2008). In addition, there is a complex regulatory neural network that regulate levels of SPA, such as orexin, agouti gene-related protein (AgRP), ghrelin, and neuromedin U (NmU) (Kotz, Teske *et al.*, 2008). It is interesting to note that most of these neurotransmitter activated by SPA is shared with the central control of feeding behavior and body weight.

Locomotion is a defining characteristic of animal life including search for food, shelter and mates, walking and standing, play, fighting and avoidance of predators (Gramsbergen, Geisler *et al.*, 1999). Previous studies have analyzed each locomotion-related behavior in particular and less is known about the interaction among them. In the present study, we observed that male Wistar rats matched the different behaviors related to locomotion during

childhood and adolescence. Rats that spent more time on PA-WR and on SPA were that who played more and fought more (around 70% of consistent intersection among contextual behaviors). In addition, there were a strong and positive correlation between PA-WR, P and SPA while the N-PA was negatively correlated with all locomotion-related contextual behaviors during childhood and adolescence. It is possible that the interaction among these behavior increases the secretion of biomolecules such as dopamine, β -endorphin, serotonin (5-HT) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) that act in areas of the brain involved in the processes of reward, reinforcement, wellness sensation, synaptic plasticity, neurogenesis, learning and memory (Chaouloff, 1997; Cunha, Ribeiro *et al.*, 2008; Lemaire, Tronel *et al.*, 2012; Bechara e Kelly, 2013; Nakamura, 2013). Consistently, rats under laboratory conditions showed a motivation for physical activity and SPA even in the absence of any external stimuli, but probable reinforced by the time spent on play and play fighting. In addition, the presence of three rats at the same space increased the social interaction and the possibility to develop a wide variety of behavior inherent to the childhood and adolescence. In humans children, the motivation for locomotion-related behaviors (play, fighting, voluntary physical activity) are multifactorial, psychologically and/or physically rewarding and evidently dependent on social interaction (Garland, Schutz *et al.*, 2011).

Previous studies support the hypothesis that early-age exercise in rodents can have positive effects on adult levels of voluntary exercise (Pawlowicz, Demner *et al.*, 2010; Schroeder, Shbiro *et al.*, 2010). The novelty of this present study was to show that both PA-RW and SPA during childhood and adolescence were determinant for the active phenotype during adulthood when compared to the other locomotion-related behaviors. Our data suggest that elevated PA-RW and SPA during adolescence confer high level of voluntary physical activity in adulthood and that other locomotion-related behavior (play and play fighting) may account for individual differences in SPA. In humans, sports competency and

cardiorespiratory fitness, playing sport outside school and having active fathers in childhood and adolescence were positively associated with being persistently active during the transition from adolescence to adulthood (Jose, Blizzard *et al.*, 2011). The available literature on brain regulation of PA-RW, SPA and their associated energy expenditure, termed nonexercise energy expenditure (NEAT) has suggested a communication between peripheral mediators (testosterone, cholecystokinin, ghrelin, leptin) and central neuromodulators (orexin, AgRP, neuromedin U, neuropeptide Y, dopamine, and corticotrophin releasing hormone) (Garland, Schutz *et al.*, 2011). The identification of brain circuits underlying the locomotion-related contextual behavior will increase the studies of mechanistic targets necessary to motivate children and adolescent for an active lifestyle, which is critical given the current sedentary emergency.

CONCLUSION

We demonstrated that young male Wistar rats spent time on five distinguished contextual behaviors related to locomotor activity and countered differently to the same environmental stimuli with an intra-individual response. Play behaviors (play and play fight) begun in the onset of childhood with a peak frequency in the adolescence and a declination in the onset of youth (P62). Rats spent time on PA-RW and SPA in a constant way throughout the experiment. There was a strong association among behaviors and play and play fighting was strong and positively associated with PA-RW and SPA. There were strong correlations between PA-RW and SPA with voluntary physical activity in adulthood. We can conclude that PA-RW and SPA are the main predictors of active phenotype in adulthood, but play and play fight were important as associative behavior during childhood and adolescence.

Acknowledgment

This study was supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, GRANT n° 477915/2012-4), Coordination for the Improvement of Higher Level -or Education- Personnel (CAPES, GRANT n° 2317/2008) and State of Pernambuco Science and Technology Support Foundation (FACEPE, GRANT n° APQ-0877-4.09/12).

REFERENCES

- Bayne, K. (1996). "Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. American Physiological Society." Physiologist **39**(4): 199, 208-111.
- Bechara, R. G. and A. M. Kelly (2013). "Exercise improves object recognition memory and induces BDNF expression and cell proliferation in cognitively enriched rats." Behav Brain Res **245**: 96-100.
- Bento-santos, A., J. A. d. santos, A. i. d. silva, L. C. M. G. Novaes, K. N. Ferraz-Pereira, s. L. d. souza, C. v. G. Leandro and R. Manhães-de-Castro (2012). "CRITÉRIOS PARA ESCOLHA DA AMOSTRA EM EXPERIMENTOS COM RATOS WISTAR." RESBCAL **1**(1): 8.
- Berlyne, D. E. (1966). "Curiosity and exploration." Science **153**(3731): 25-33.
- Berlyne, D. E., I. D. Koenig and T. Hirota (1966). "Novelty, arousal, and the reinforcement of diversive exploration in the rat." J Comp Physiol Psychol **62**(2): 222-226.
- Blanchong, J. A., T. L. McElhinny, M. M. Mahoney and L. Smale (1999). "Nocturnal and diurnal rhythms in the unstriped Nile rat, *Arvicanthis niloticus*." J Biol Rhythms **14**(5): 364-377.
- Burghardt, P. R., L. J. Fulk, G. A. Hand and M. A. Wilson (2004). "The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats." Brain Res **1019**(1-2): 84-96.
- Chaouloff, F. (1997). "Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems." Med Sci Sports Exerc **29**(1): 58-62.
- Cunha, G. S., J. L. Ribeiro and A. R. Oliveira (2008). "[Levels of beta-endorphin in response to exercise and overtraining]." Arq Bras Endocrinol Metabol **52**(4): 589-598.
- Cunningham, M. G., S. Bhattacharyya and F. M. Benes (2002). "Amygdalo-cortical sprouting continues into early adulthood: implications for the development of normal and abnormal function during adolescence." J Comp Neurol **453**(2): 116-130.
- Dishman, R. K., H. R. Berthoud, F. W. Booth, C. W. Cotman, V. R. Edgerton, M. R. Fleshner, S. C. Gandevia, F. Gomez-Pinilla, B. N. Greenwood, C. H. Hillman, A. F. Kramer,

B. E. Levin, T. H. Moran, A. A. Russo-Neustadt, J. D. Salamone, J. D. Van Hoomissen, C. E. Wade, D. A. York and M. J. Zigmond (2006). "Neurobiology of exercise." Obesity (Silver Spring) **14**(3): 345-356.

Eisenmann, J. C., E. E. Wickel, S. A. Kelly, K. M. Middleton and T. Garland, Jr. (2009). "Day-to-day variability in voluntary wheel running among genetically differentiated lines of mice that vary in activity level." Eur J Appl Physiol **106**(4): 613-619.

Freund, J., A. M. Brandmaier, L. Lewejohann, I. Kirste, M. Kritzler, A. Kruger, N. Sachser, U. Lindenberger and G. Kempermann (2013). "Emergence of individuality in genetically identical mice." Science **340**(6133): 756-759.

Freund, J., A. M. Brandmaier, L. Lewejohann, I. Kirste, M. Kritzler, A. Kruger, N. Sachser, U. Lindenberger and G. Kempermann (2015). "Association between exploratory activity and social individuality in genetically identical mice living in the same enriched environment." Neuroscience **309**: 140-152.

Gabard-Durnam, L. J., J. Flannery, B. Goff, D. G. Gee, K. L. Humphreys, E. Telzer, T. Hare and N. Tottenham (2014). "The development of human amygdala functional connectivity at rest from 4 to 23 years: a cross-sectional study." Neuroimage **95**: 193-207.

Garland, T., Jr., H. Schutz, M. A. Chappell, B. K. Keeney, T. H. Meek, L. E. Copes, W. Acosta, C. Drenowatz, R. C. Maciel, G. van Dijk, C. M. Kotz and J. C. Eisenmann (2011). "The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives." J Exp Biol **214**(Pt 2): 206-229.

Gramsbergen, A., H. C. Geisler, H. Taekema and L. A. van Eykern (1999). "The activation of back muscles during locomotion in the developing rat." Brain Res Dev Brain Res **112**(2): 217-228.

Graybiel, A. M. (2008). "Habits, rituals, and the evaluative brain." Annu Rev Neurosci **31**: 359-387.

Greenwood, B. N., T. E. Foley, T. V. Le, P. V. Strong, A. B. Loughridge, H. E. Day and M. Fleshner (2011). "Long-term voluntary wheel running is rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway." Behav Brain Res **217**(2): 354-362.

Himmler, B. T., V. C. Pellis and S. M. Pellis (2013). "Peering into the dynamics of social interactions: measuring play fighting in rats." J Vis Exp(71): e4288.

Jose, K. A., L. Blizzard, T. Dwyer, C. McKercher and A. J. Venn (2011). "Childhood and adolescent predictors of leisure time physical activity during the transition from adolescence to adulthood: a population based cohort study." Int J Behav Nutr Phys Act **8**: 54.

Kagan, J. and M. Berkun (1954). "The reward value of running activity." J Comp Physiol Psychol **47**(2): 108.

Kjonnixsen, L., N. Anderssen and B. Wold (2009). "Organized youth sport as a predictor of physical activity in adulthood." Scand J Med Sci Sports **19**(5): 646-654.

Klaus, F., T. Hauser, L. Slomianka, H. P. Lipp and I. Amrein (2009). "A reward increases running-wheel performance without changing cell proliferation, neuronal differentiation or cell death in the dentate gyrus of C57BL/6 mice." Behav Brain Res **204**(1): 175-181.

Kotz, C. M. (2006). "Integration of feeding and spontaneous physical activity: role for orexin." Physiol Behav **88**(3): 294-301.

Kotz, C. M., J. A. Teske and C. J. Billington (2008). "Neuroregulation of nonexercise activity thermogenesis and obesity resistance." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **294**(3): R699-710.

Kotz, C. M., C. Wang, J. A. Teske, A. J. Thorpe, C. M. Novak, K. Kiwaki and J. A. Levine (2006). "Orexin A mediation of time spent moving in rats: neural mechanisms." Neuroscience **142**(1): 29-36.

Lemaire, V., S. Tronel, M. F. Montaron, A. Fabre, E. Dugast and D. N. Abrous (2012). "Long-lasting plasticity of hippocampal adult-born neurons." J Neurosci **32**(9): 3101-3108.

Machado, F. S., G. V. Rodovalho and C. C. Coimbra (2015). "The time of day differently influences fatigue and locomotor activity: is body temperature a key factor?" Physiol Behav **140**: 8-14.

Mendoza, J. A., K. Watson, T. Baranowski, T. A. Nicklas, D. K. Uscanga and M. J. Hanfling (2011). "The walking school bus and children's physical activity: a pilot cluster randomized controlled trial." Pediatrics **128**(3): e537-544.

Morris, M. J., E. S. Na and A. K. Johnson (2012). "Voluntary running-wheel exercise decreases the threshold for rewarding intracranial self-stimulation." Behav Neurosci **126**(4): 582-587.

Nakamura, K. (2013). "The role of the dorsal raphe nucleus in reward-seeking behavior." Front Integr Neurosci **7**: 60.

Pawlowicz, A., A. Demner and M. H. Lewis (2010). "Effects of access to voluntary wheel running on the development of stereotypy." Behav Processes **83**(3): 242-246.

Pellis, S. M., E. F. Field, L. K. Smith and V. C. Pellis (1997). "Multiple differences in the play fighting of male and female rats. Implications for the causes and functions of play." Neurosci Biobehav Rev **21**(1): 105-120.

Pellis, S. M. and M. McKenna (1995). "What do rats find rewarding in play fighting?--an analysis using drug-induced non-playful partners." Behav Brain Res **68**(1): 65-73.

Pellis, S. M. and V. C. Pellis (1998). "Play fighting of rats in comparative perspective: a schema for neurobehavioral analyses." Neurosci Biobehav Rev **23**(1): 87-101.

Santana Muniz, G., R. Beserra, P. da Silva Gde, J. Fragoso, O. Lira Ade, E. Nascimento, R. Manhaes de Castro and C. G. Leandro (2014). "Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny." Physiol Behav **129**: 1-10.

Schroeder, M., L. Shbiro, V. Gelber and A. Weller (2010). "Post-weaning voluntary exercise exerts long-term moderation of adiposity in males but not in females in an animal model of early-onset obesity." *Horm Behav* 57(4-5): 496-505.

van Kerkhof, L. W., V. Trezza, T. Mulder, P. Gao, P. Voorn and L. J. Vanderschuren (2014). "Cellular activation in limbic brain systems during social play behaviour in rats." *Brain Struct Funct* 219(4): 1181-1211.

Figure 1.

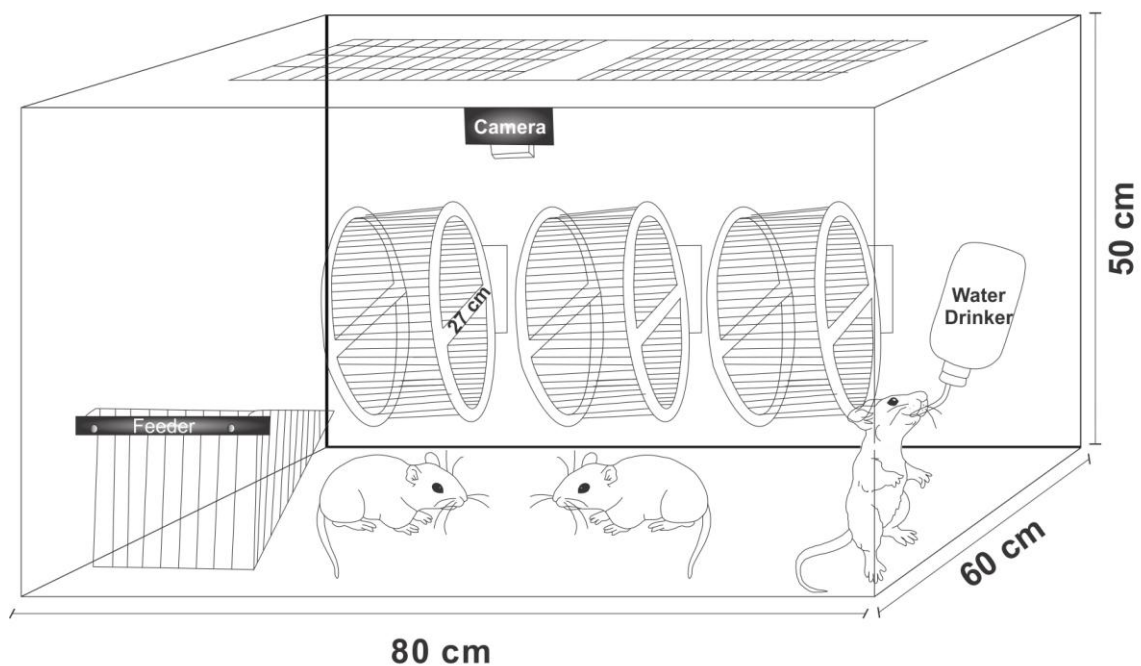
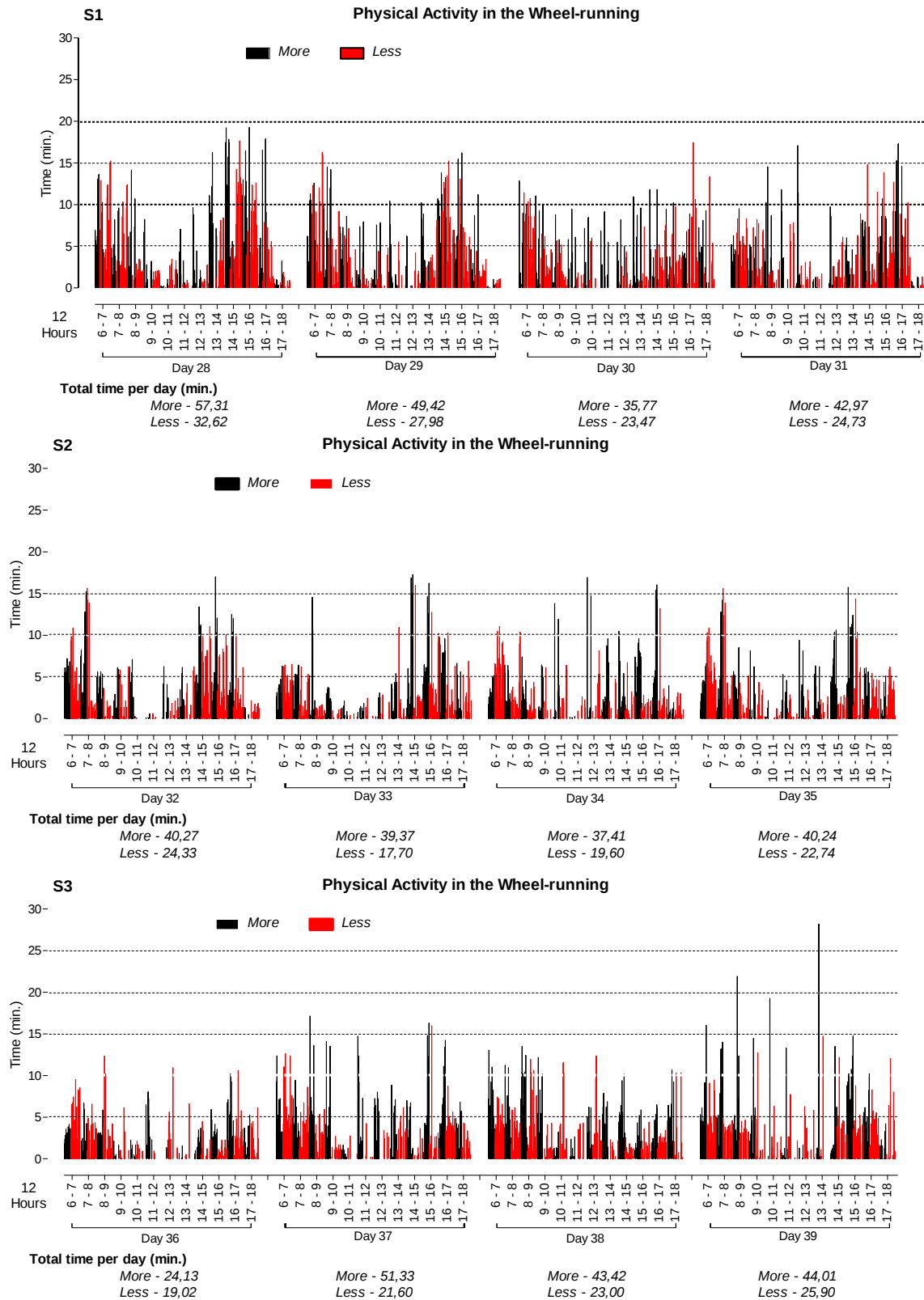
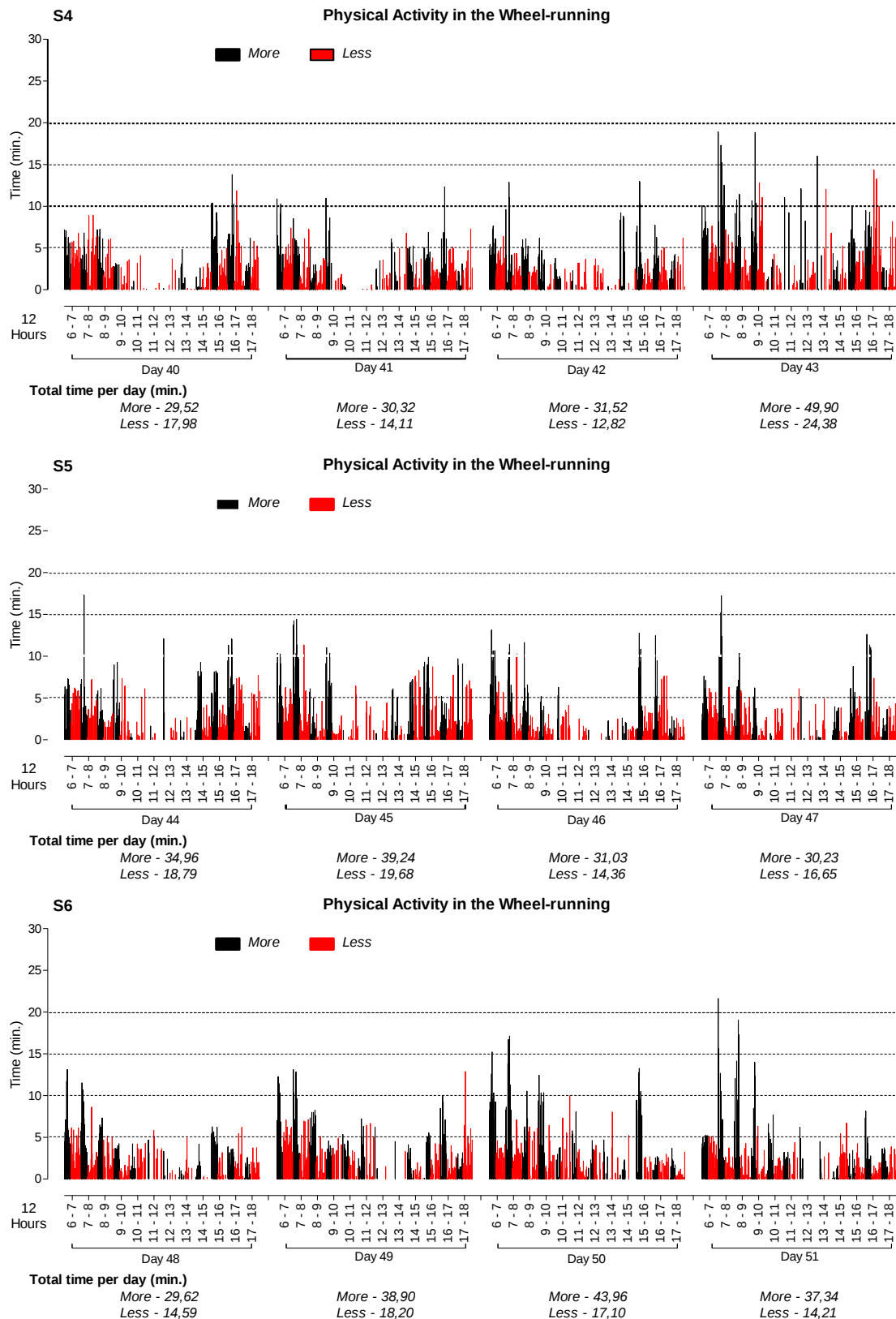


Figure 1: Voluntary Physical Activity Cage (VPAC) with three cycle-ergometers.

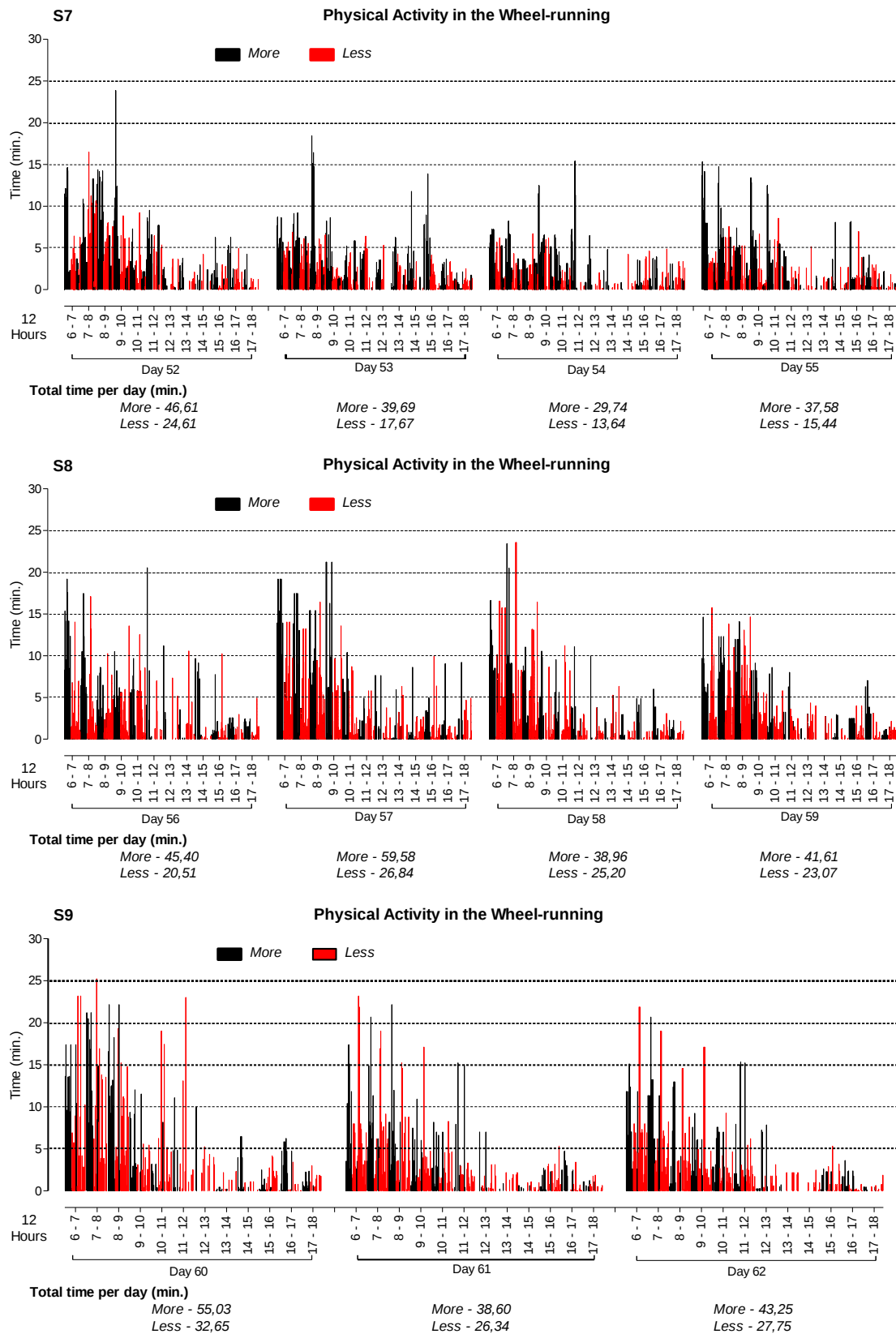
Supplementary figures.



Supplementary figure. Voluntary physical activity in the wheel running (PA-WR) during childhood and adolescence of rats. The evaluations occurred hourly from 28 to 31 days (S1), 32 to 35 days (S2) and 36 to 39 days old (S3). Data are expressed individually per each animal and the daily average of the group, more PA-WR (m- PA-WR, n=12) and less PA-WR (l- PA-WR, n=18).



Supplementary figure. Voluntary physical activity in the wheel running (PA-WR) during childhood and adolescence of rats. The evaluations occurred hourly from 40 to 43 days (S4), 44 to 47 days (S5) and 48 to 51 days old (S6). Data are expressed individually per each animal and the daily average of the group, more PA-WR (m- PA-WR, n=12) and less PA-WR (l- PA-WR, n=18).



Supplementary figure. Voluntary physical activity in the wheel running (PA-WR) during childhood and adolescence of rats. The evaluations occurred hourly from 52 to 55 days (S7), 56 to 59 days (S8) and 60 to 62 days old (S9). Data are expressed individually per each animal and the daily average of the group, more PA-WR (m- PA-WR, n=12) and less PA-WR (l- PA-WR, n=18).

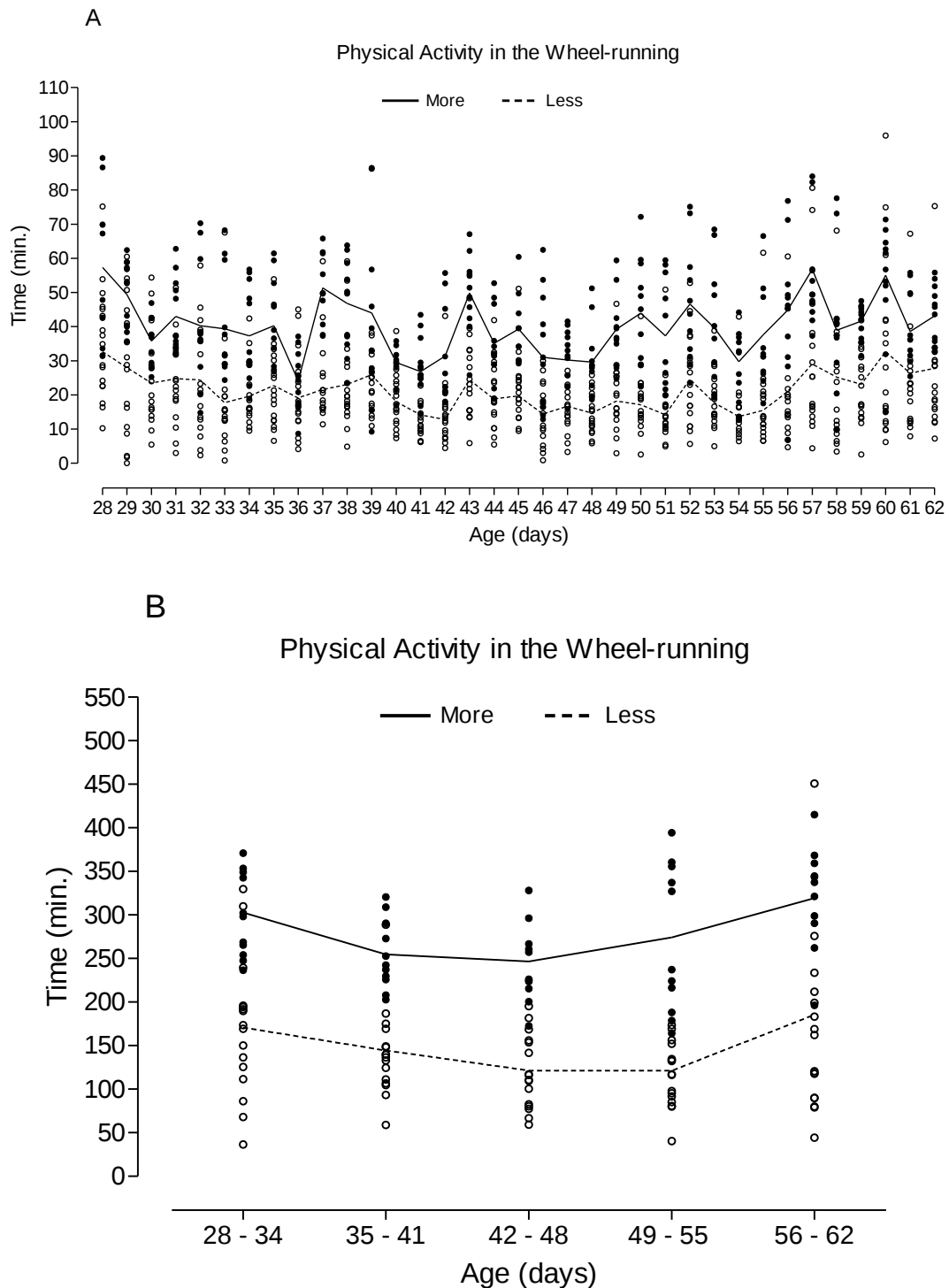
Figure 2.

Figure 2. Locomotor activity-related contextual behaviors during childhood and adolescence of rats. Physical activity in the wheel-running (PA-WR) daily [A] and weekly [B]. The evaluations occurred from 28 to 62 days old. Data are expressed individually for each animal and the daily average of each group, more PA-WR (m-PA-WR, n=12, continuous lines) and less PA-WR (l-PA-WR, n=18, dashed lines).

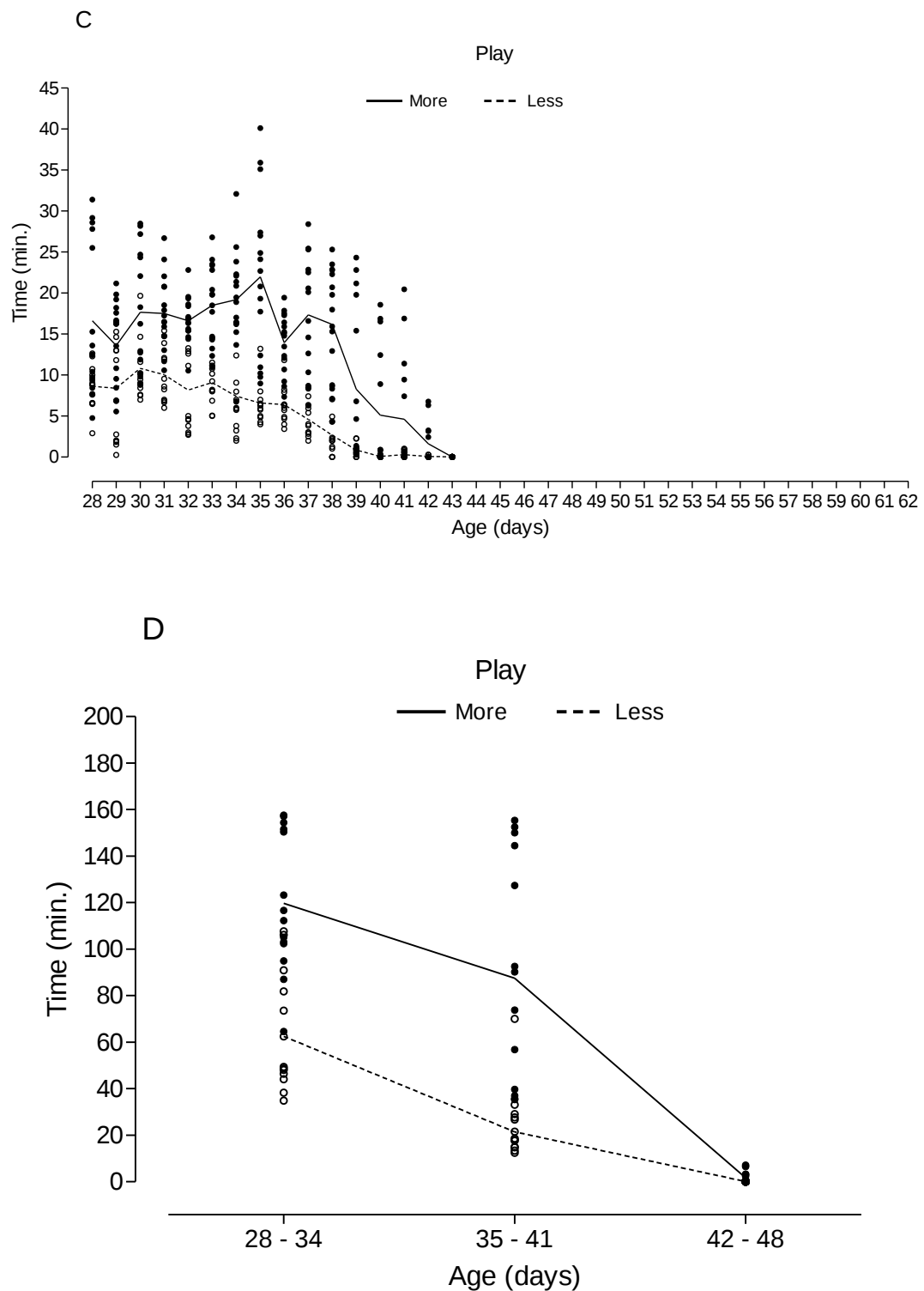


Figure 2. Locomotor activity-related contextual behaviors during childhood and adolescence of rats. Play (P) daily [C] and weekly [D]. The evaluations occurred from 28 to 48 days old. Data are expressed individually for each animal and the daily average of each group, more play (m-P, n=17, continuous lines) and less play (l-P, n=13, dashed lines).

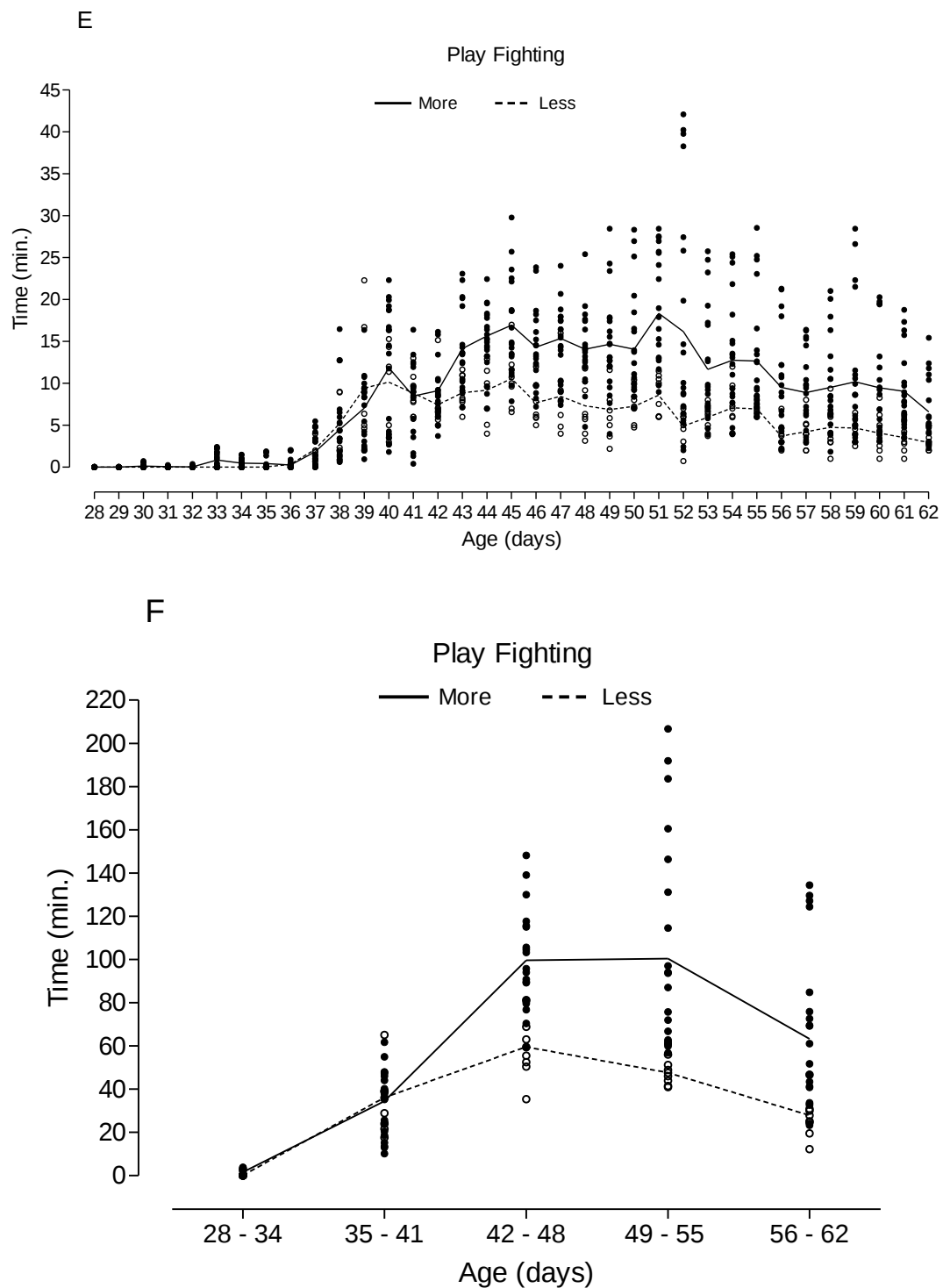


Figure 2. Locomotor activity-related contextual behaviors during childhood and adolescence of rats. Play fighting (PF) daily [E] and weekly [F]. The evaluations occurred from 28 to 62 days old. Data are expressed individually for each animal and the daily average of each group, more PF (m-PF, n=22, continuous lines) and less PF (l-PF, n=8, dashed lines).

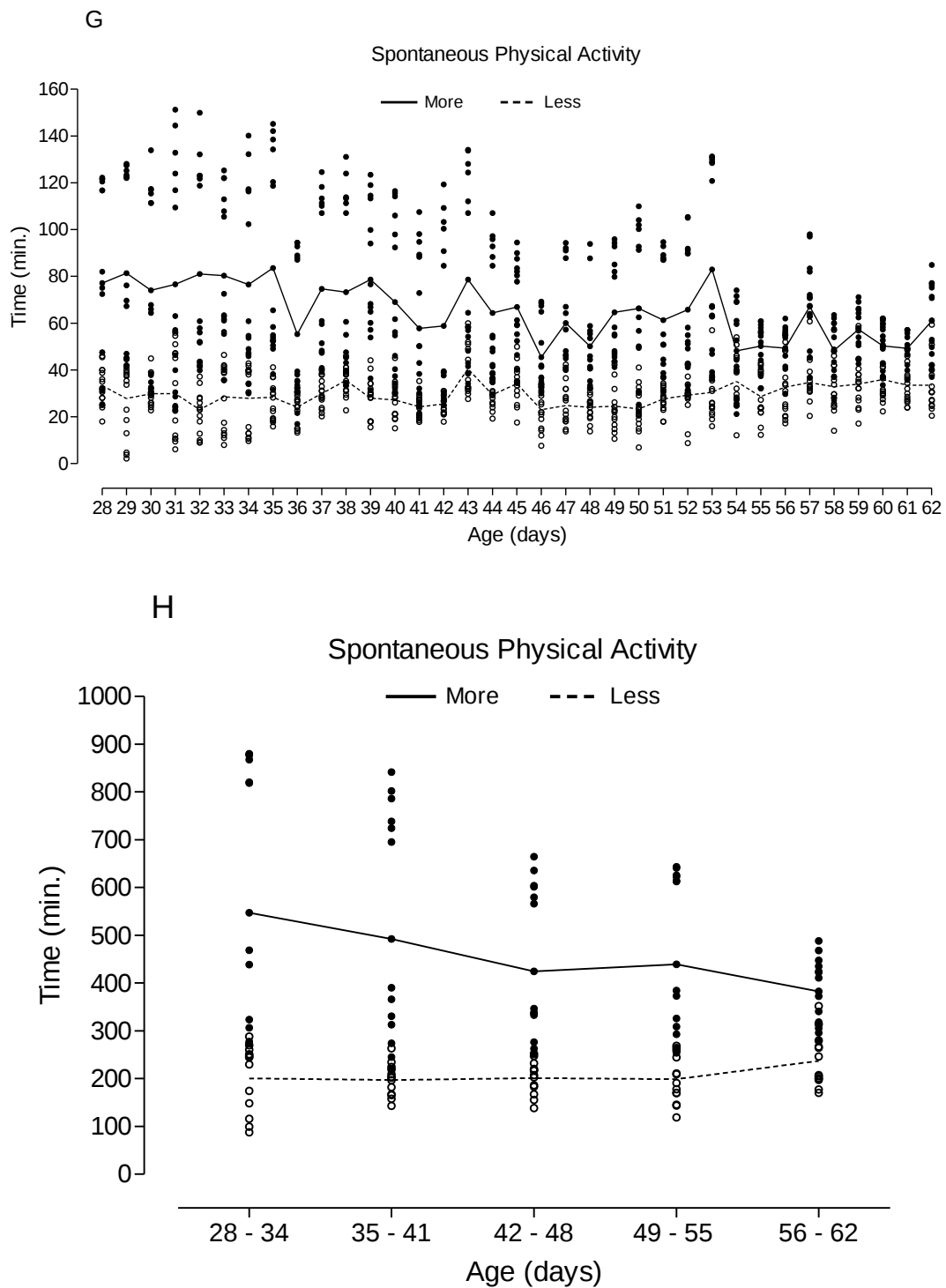


Figure 2. Locomotor activity-related contextual behaviors during childhood and adolescence of rats. Spontaneous physical activity (SPA) daily [G] and weekly [H]. The evaluations occurred from 28 to 62 days old. Data are expressed individually for each animal and the daily average of each group, more SPA (m-SPA, n=15, continuous lines) and less SPA (l-SPA, n=15, dashed lines).

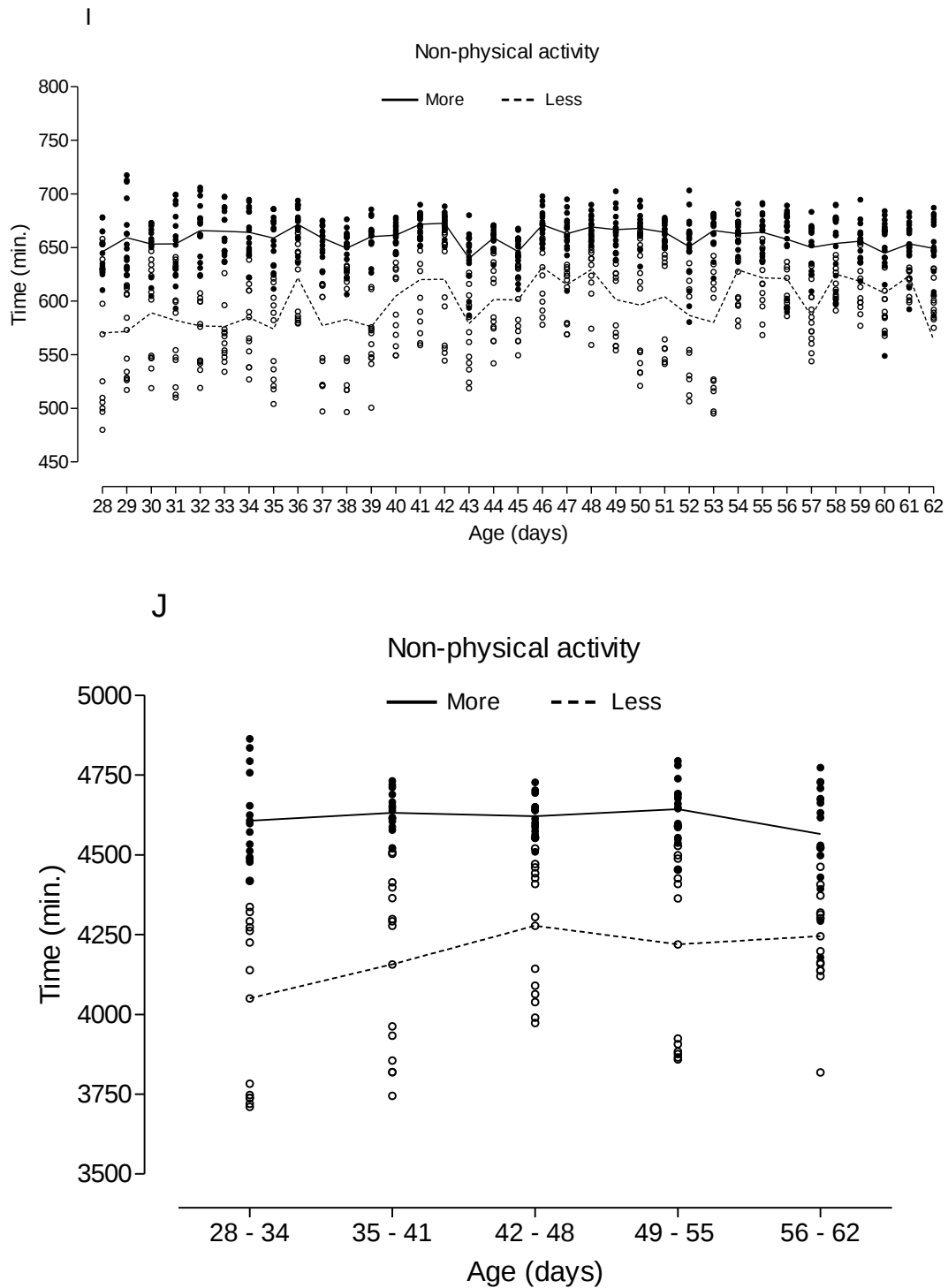


Figure 2. Locomotor activity-related contextual behaviors during childhood and adolescence of rats. Non-physical activity (N-PA) daily [I] and weekly [J]. The evaluations occurred from 28 to 62 days old. Data are expressed individually for each animal and the daily average of each group, more N-PA (m-N-PA, n=16, continuous lines) and less N-PA (l-N-PA, n=14, dashed lines).

Table 1: Characteristics of the locomotor activity-related contextual behaviors in pups during childhood and adolescence.

Behavior	Characteristics
Play (P)	Correspond to the time spent in social interaction with intense physical contact. Animals maintain the ventral region front to front and perform fast and frequent movements of front paw. Similarly, animals may assume a posture in which an animal is lying with his back on the ground, while another animal stays over it (Vanderschuren, Niesink <i>et al.</i> , 1995). This sense, is very common to the animal that is on top (dominant) try to immobilize the animal that is underneath (dominated). During this type of social interaction, it is common the role reversal of who is dominant or dominated. Play can also occur typical behaviors of attack, defense and counter-attack, however, without the occurrence of submission by one of the animals involved (Pellis e Pellis, 1990).
Play fighting (PF)	Correspond to the time spent in playful attack and playful defense. During play fighting, juveniles rats contact or attempt to contact, the partner's nape with the snout, while the partner uses various maneuvers to avoid or break free from, such contact (Pellis e Pellis, 1990). PF generally leads to an establishment of a dominant-subordinated hierarchy, which in turn has an important role in socialization and sexual behavior, acquiring resources, reproductive success and even survival (Pellis e Pellis, 1990).
Physical activity in the wheel-running (PA-WR)	Corresponded to the time spent in the wheel-running without any reinforce or motivation by external factors (Garland, Schutz <i>et al.</i> , 2011).
Spontaneous physical activity (SPA)	Correspond to the time spent in daily living activities that demand an energetic expenditure (Garland, Schutz <i>et al.</i> , 2011). SPA included the sum of the time spent in free movements around the cage, environmental exploration, movements out of the wheel-running.
Non-physical activity (N-PA)	Correspond to the time spent with daily activities without energetic expenditure above the basal metabolism (Garland, Schutz <i>et al.</i> , 2011). Non-physical activity included the sum of the time spent to: eat, drink water, cleaning, motionless and sleep.

Table 2. Group's classification according to weekly time of physical activity in the wheel running (PA_WR), play (P), play fighting (PF), spontaneous physical activity (SPA) and non-physical activity (N-PA) from P28 to P62.

Behaviors	Total Sample size <i>n</i>	Time (minutes / week)			Classification	
		Median	Min	Max	Less n (%)	More n (%)
PA –WR	30	187.53	36.5	506.35	18 (60%)	12 (40%)
P	30	33.97	0	157.56	13 (43,3%)	17 (56,7%)
PF	30	56.34	10.23	206.75	8 (26,7%)	22 (73,3%)
SPA	30	265.98	87.68	880.11	15 (50,0%)	15 (50,0%)
N - PA	30	4505.10	3710.07	4863.38	14 (46,7%)	16 (53,3%)

Table 3. Association among the physical activity in the wheel-running, play, play fighting, spontaneous physical activity and non- physical activity from P28 to P62.

<i>Behaviors</i>		Physical activity in the wheel-running			Play			Play fighting			Spontaneous physical activity		
		m-PA-WR	l-PA-WR	X^2	m-P	l_P	(X^2)	m-PF	l-PF	(X^2)	m-SPA	l-SPA	(X^2)
		n (%)	n (%)	(<i>P values</i>)	n (%)	n (%)	(<i>P values</i>)	n (%)	n (%)	(<i>P values</i>)	n (%)	n (%)	(<i>P values</i>)
Play	m-P	11 (91.7%)	6 (33.3%)	9.977									
	l_P	1 (8.3%)	12 (66.7%)	0.002									
Play fighting	m-PF	11 (91.7%)	11 (61.1%)	3.438	17 (100%)	5 (38.5%)	14.266						
	l-PF	1 (8.3%)	7 (38.9%)	0.064	0 (0%)	8 (61.5%)	0.000						
Spontaneous physical activity	m-SPA	10 (83.3%)	5 (27.8%)	8.889	13 (76.5%)	2 (15.4%)	10.995	13 (59.1%)	2 (25%)	2.727			
	l-SPA	2 (16.7%)	13 (72.2%)	0.003	4 (23.5%)	11 (84.6%)	0.001	9 (40.9%)	6 (75%)	0.099			
Non-Physical activity	m-N-PA	1 (8.3%)	15 (83.3%)	16.272	3 (17.6%)	13 (100%)	20.074	8 (36.4)	8 (100%)	9.545	2 (13.3%)	14 (93.3%)	19.286
	l-N-PA	11 (91.7%)	3 (16.7%)	0.000	14 (82.4%)	0 (0%)	0.000	14 (63.6%)	0 (0%)	0.002	13 (86.7%)	1 (6.7%)	0.000

m-P, more play; l-P, less play.

m-PF, more play fighting; l-PF, less play fighting.

m-SPA, more spontaneous physical activity; l-SPA, less spontaneous physical activity.

m-N-PA, more Non-physical activity; l-N-PA, less Non-physical activity.

m-PA-WR, more physical activity in the wheel-running; l-PA-WR, less physical activity in the wheel-running.

X^2 , Chi-Square value.

Table 4. Pearson's correlation among the physical activity in the wheel-running, play, play fighting, spontaneous physical activity and non-physical activity from P28 to P62.

Behaviors	Age (days)	Play fighting				Spontaneous physical activity				Physical activity in wheel-running				Non- Physical activity						
		35-41	42-48	49-55	56-62	28-34	35-41	42-48	49-55	56-62	28-34	35-41	42-48	49-55	56-62	28-34	35-41	42-48	49-55	56-62
Play	28 - 34	-.67	.42*	.83**	.68**	.89**	.87**	.89**	.90**	.92**	.72**	.58**	.58**	.77**	.46**	-.94**	-.88**	-.83**	-.89**	-0.75**
	35 - 41	-.50*	.58**	.92**	.80**	.89**	.92**	.91**	.88**	.90**	.65**	.66**	.74**	.85**	.41*	-.91**	-.96**	-.93**	-.91**	-0.63**
	42 - 48	-.61*	.18	.79**	.72**	.86**	.86**	.84**	.85**	.65**	.37*	.36*	.59**	.78**	.36	-.79**	-.80**	-.79**	-.86**	-0.50**
Play fighting	35 - 41					-.71**	-.63**	-.64**	-.73**	-.58**	-.34	-.14	-.22	-.54**	-.38*	.67**	.52**	.47**	.68**	0.54**
	42 - 48					.28	.37*	.33	.25	.49**	.50**	.70**	.54**	.34	.09	-.38*	-.54**	-.52**	-.31	-0.25
	49 - 55					.88**	.92**	.88**	.86**	.78**	.58**	.64**	.74**	.83**	.34	-.88**	-.94**	-.90**	-.89**	-0.58**
	56 - 62					.76**	.78**	.74**	.72**	.64**	.55**	.63**	.70**	.71**	.30	-.76**	-.83**	-.80**	-.76**	-0.48**
Spontaneous physical activity	28 - 34										.59**	.54**	.71**	.91**	.51**	-.97**	-.94**	-.92**	-.98**	-0.74**
	35 - 41										.55**	.55**	.74**	.92**	.45*	-.94**	-.97**	-.95**	-.98**	-0.70**
	42 - 48										.58**	.56**	.75**	.92**	.47**	-.95**	-.95**	-.96**	-.98**	-0.71**
	49 - 55										.58**	.51**	.70**	.91**	.51**	-.95**	-.92**	-.92**	-.99**	-0.75**
	56 - 62										.72**	.68**	.72**	.85**	.61**	-.90**	-.89**	-.88**	-.89**	-0.77**
Physical activity in wheel- running	28 - 34															-.76**	-.69**	-.66**	-.60**	-0.63**
	35 - 41															-.67**	-.74**	-.72**	-.57**	-0.56**
	42 - 48															-.75**	-.84**	-.89**	-.77**	-0.57**
	49 - 55															-.90**	-.93**	-.94**	-.95**	-0.74**
	56 - 62															-.52**	-.49**	-.49**	-.54**	-0.78**

Pearson Correlation is significant at the level of 0.01 (**) and 0.05 (*).

Table 5. Pearson's correlation among the physical activity in wheel-running, play, play fighting, spontaneous physical activity and non-physical activity during childhood and adolescence with voluntary physical activity in adulthood.

<i>Behaviors</i>		Age (days)	Physical activity in wheel-running		
			72 - 78	79 - 85	86 - 92
Play	m-P	28 - 34	.41	.47	.34
		35 - 41	.36	.40	.31
		42 - 48	.31	.46	.52
	l-P	28 - 34	-.31	-.29	-.28
		35 - 41	-.19	-.17	-.11
		42 - 48	-.28	-.35	-.35
Play fighting	m-PF	35 - 41	.14	-.02	-.08
		42 - 48	-.12	-.16	-.29
		49 - 55	.05	.19	.14
	l-PF	56 - 62	.13	.28	.21
		35 - 41	-.09	.08	.17
		42 - 48	.58	.73**	.70
Spontaneous physical activity	m-SPA	49 - 55	.51	.31	.48
		56 - 62	-.25	-.06	.01
		28 - 34	.45	.61*	.72**
	l-SPA	35 - 41	.42	.57*	.65**
		42 - 48	.49	.63*	.75**
		49 - 55	.50	.65**	.77**
Physical activity in wheel-running	m-PA-WR	56 - 62	.42	.50	.60*
		28 - 34	-.39	-.23	-.01
		35 - 41	.03	.07	.22
	l-PA-WR	42 - 48	.09	.14	.31
		49 - 55	-.18	-.15	.05
		56 - 62	-.30	-.28	-.04
Non- physical activity	m-N-PA	28 - 34	-.13	-.15	-.32
		35 - 41	-.18	-.20	-.42
		42 - 48	.62*	.63*	.57
	l-N-PA	49 - 55	.58*	.61*	.70*
		56 - 62	.23	.31	.348
		28 - 34	-.27	-.29	-.25
Physical activity in wheel-running	m-PA-WR	35 - 41	.21	.16	.22
		42 - 48	.40	.30	.26
		49 - 55	-.09	-.12	.05
	l-PA-WR	56 - 62	-.27	-.20	.11
		28 - 34	-.45	-.56*	-.65*
		35 - 41	-.40	-.47	-.53
Non- physical activity	m-N-PA	42 - 48	-.52	-.57*	-.65*
		49 - 55	-.46	-.57*	-.69**
		56 - 62	-.20	-.32	-.43
	l-N-PA	28 - 34	.42	.35	.13
		35 - 41	-.12	-.15	-.41
		42 - 48	-.44	-.42	-.49
Physical activity in wheel-running	m-PA-WR	49 - 55	.18	.22	.05
		56 - 62	.24	.19	-.09
		28 - 34	-.27	-.29	-.25
	l-PA-WR	35 - 41	.21	.16	.22
		42 - 48	.40	.30	.26
		49 - 55	-.09	-.12	.05
Non- physical activity	m-N-PA	56 - 62	-.27	-.20	.11
		28 - 34	-.45	-.56*	-.65*
		35 - 41	-.40	-.47	-.53
	l-N-PA	42 - 48	-.52	-.57*	-.65*
		49 - 55	-.46	-.57*	-.69**
		56 - 62	-.20	-.32	-.43

Pearson Correlation is significant at the level of 0.01 (**) and 0.05 (*).

m-P, more play; l-P, less play.

m-PF, more play fighting; l-PF, less play fighting.

m-SPA, more spontaneous physical activity; l-SPA, less spontaneous physical activity.

m-N-PA, more Non-physical activity; l-N-PA, less Non-physical activity.

m-PA-WR, more physical activity in wheel-running; l-PA-WR, less physical activity in wheel-running.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

No presente estudo, nós desenvolvemos um método de análise computacional para avaliar diferentes comportamentos relacionados com atividade física e hábitos de vida durante a infância e juventude de três ratos simultaneamente, sem submetê-los ao isolamento social precoce. Observamos que, durante a infância e juventude, os comportamentos são muito bem integrados entre eles e ocorrem de forma similar em termos de presença do comportamento, entretanto, a quantidade de tempo despendido em cada um deles é diferente. Além disso, demonstramos experimentalmente que os comportamentos de atividade física voluntária na roda e atividade física espontânea são os principais preditores do fenótipo ativo na idade adulta, mas as brincadeiras são importantes comportamentos associativos durante a infância e adolescência de ratos. Assim, é possível que uma das principais estratégias que podem ser adotadas para reduzir o sedentarismo e favorecer o estabelecimento de fenótipo ativo no adulto, é expor o indivíduo a ambientes que possibilitem a interação social, a pratica de atividade física prazerosa e aquisição de hábitos de vida ativo durante a infância e adolescência.

Assim, com este mesmo modelo experimental pretendemos:

- Expandir as avaliações para tentar entender os mecanismos neurobiológicos que mediam a relação entre hábitos de vida ativo durante a infância/adolescência e o estabelecimento de fenótipo ativo no adulto;
- Avaliar se o estilo de vida ativo adotado durante a infância e adolescência é dependente do nível de atividade física da mãe antes e durante a gestação;
- Verificar se o ambiente social precoce e o estabelecimento de hierarquia influenciam o nível de atividade física ao longo da trajetória de vida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, W. *et al.* Effects of early-onset voluntary exercise on adult physical activity and associated phenotypes in mice. *Physiol Behav* [S.I.], v. 149, p. 279-86, Oct 1 2015.

AHLENIUS, S. *et al.* Suppression of exploratory locomotor activity and increase in dopamine turnover following the local application of cis-flupenthixol into limbic projection areas of the rat striatum. *Brain Res* [S.I.], v. 402, n. 1, p. 131-8, Jan 27 1987.

ANDERSEN, L. B. *et al.* Cycling to school and cardiovascular risk factors: a longitudinal study. *J Phys Act Health* [S.I.], v. 8, n. 8, p. 1025-33, Nov 2011.

AZEVEDO, M. R. *et al.* Tracking of physical activity from adolescence to adulthood: a population-based study. *Rev Saude Publica* [S.I.], v. 41, n. 1, p. 69-75, Feb 2007.

BAILEY, S. P. *et al.* Neuroendocrine and substrate responses to altered brain 5-HT activity during prolonged exercise to fatigue. *J Appl Physiol* (1985) [S.I.], v. 74, n. 6, p. 3006-12, Jun 1993a.

_____. Serotonergic agonists and antagonists affect endurance performance in the rat. *Int J Sports Med* [S.I.], v. 14, n. 6, p. 330-3, Aug 1993b.

BAUTISTA, A. *et al.* Development of behavior in the litter huddle in rat pups: within- and between-litter differences. *Dev Psychobiol* [S.I.], v. 52, n. 1, p. 35-43, Jan.

BAYNE, K. Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. American Physiological Society. *Physiologist* [S.I.], v. 39, n. 4, p. 199, 208-11, Aug 1996.

BECHARA, R. G.; KELLY, A. M. Exercise improves object recognition memory and induces BDNF expression and cell proliferation in cognitively enriched rats. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 245, p. 96-100, May 15 2013.

BENTO-SANTOS, A. *et al.* CRITÉRIOS PARA ESCOLHA DA AMOSTRA EM EXPERIMENTOS COM RATOS WISTAR. *RESBCAL* [S.I.], v. 1, n. 1, p. 8, 2012.

BERE, E. *et al.* The association between cycling to school and being overweight in Rotterdam (The Netherlands) and Kristiansand (Norway). *Scand J Med Sci Sports* [S.I.], v. 21, n. 1, p. 48-53, Feb 2011.

BERGER, M. *et al.* The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med* [S.I.], v. 60, p. 355-66, 2009.

BERLYNE, D. E. Curiosity and exploration. *Science* [S.I.], v. 153, n. 3731, p. 25-33, Jul 1 1966.

BERLYNE, D. E. *et al.* Novelty, arousal, and the reinforcement of diversive exploration in the rat. *J Comp Physiol Psychol* [S.I.], v. 62, n. 2, p. 222-6, Oct 1966.

BIBANCOS, T. *et al.* Social isolation and expression of serotonergic neurotransmission-related genes in several brain areas of male mice. *Genes Brain Behav* [S.I.], v. 6, n. 6, p. 529-39, Aug 2007.

BLANCHONG, J. A. *et al.* Nocturnal and diurnal rhythms in the unstriped Nile rat, *Arvicanthis niloticus*. *J Biol Rhythms* [S.I.], v. 14, n. 5, p. 364-77, Oct 1999.

BOONE, J. E. *et al.* Screen time and physical activity during adolescence: longitudinal effects on obesity in young adulthood. *Int J Behav Nutr Phys Act* [S.I.], v. 4, p. 26, 2007.

BURGHARDT, P. R. *et al.* The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res* [S.I.], v. 1019, n. 1-2, p. 84-96, Sep 3 2004.

CARDINAL, R. N. *et al.* Limbic corticostriatal systems and delayed reinforcement. *Ann N Y Acad Sci* [S.I.], v. 1021, p. 33-50, Jun 2004.

CHAOULOFF, F. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], v. 29, n. 1, p. 58-62, Jan 1997.

CORREA, M. *et al.* Nucleus accumbens dopamine and work requirements on interval schedules. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 137, n. 1-2, p. 179-87, Dec 2 2002.

CRAIK, F. I.; BIALYSTOK, E. Cognition through the lifespan: mechanisms of change. *Trends Cogn Sci* [S.I.], v. 10, n. 3, p. 131-8, Mar 2006.

CUNHA, G. S. *et al.* [Levels of beta-endorphin in response to exercise and overtraining]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* [S.I.], v. 52, n. 4, p. 589-98, Jun 2008.

CUNNINGHAM, M. G. *et al.* Amygdalo-cortical sprouting continues into early adulthood: implications for the development of normal and abnormal function during adolescence. *J Comp Neurol* [S.I.], v. 453, n. 2, p. 116-30, Nov 11 2002.

DEWSBURY, D. A. Wheel-running behavior in 12 species of muroid rodents. *Behav Processes* [S.I.], v. 5, n. 3, p. 271-80, Sep 1980.

DISHMAN, R. K. *et al.* Neurobiology of exercise. *Obesity (Silver Spring)* [S.I.], v. 14, n. 3, p. 345-56, Mar 2006.

EISENMANN, J. C. *et al.* Day-to-day variability in voluntary wheel running among genetically differentiated lines of mice that vary in activity level. *Eur J Appl Physiol* [S.I.], v. 106, n. 4, p. 613-9, Jul 2009.

FREUND, J. *et al.* Emergence of individuality in genetically identical mice. *Science* [S.I.], v. 340, n. 6133, p. 756-9, May 10 2013.

_____. Association between exploratory activity and social individuality in genetically identical mice living in the same enriched environment. *Neuroscience* [S.I.], v. 309, p. 140-52, Nov 19 2015.

GABARD-DURNAM, L. J. *et al.* The development of human amygdala functional connectivity at rest from 4 to 23 years: a cross-sectional study. *Neuroimage* [S.I.], v. 95, p. 193-207, Jul 15 2014.

GARCIA, C. *et al.* The influence of specific noradrenergic and serotonergic lesions on the expression of hippocampal brain-derived neurotrophic factor transcripts following voluntary physical activity. *Neuroscience* [S.I.], v. 119, n. 3, p. 721-32, 2003.

GARDNER, B. *et al.* Making health habitual: the psychology of 'habit-formation' and general practice. *Br J Gen Pract* [S.I.], v. 62, n. 605, p. 664-6, Dec 2012.

GARLAND, T., JR. *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* [S.I.], v. 214, n. Pt 2, p. 206-29, Jan 15 2011.

GIEDD, J. N. The teen brain: insights from neuroimaging. *J Adolesc Health* [S.I.], v. 42, n. 4, p. 335-43, Apr 2008.

GRAMSBERGEN, A. *et al.* The activation of back muscles during locomotion in the developing rat. *Brain Res Dev Brain Res* [S.I.], v. 112, n. 2, p. 217-28, Feb 5 1999.

GRAYBIEL, A. M. Habits, rituals, and the evaluative brain. *Annu Rev Neurosci* [S.I.], v. 31, p. 359-87, 2008.

GREENWOOD, B. N. *et al.* Long-term voluntary wheel running is rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 217, n. 2, p. 354-62, Mar 1 2011.

HALLAL, P. C. *et al.* Global physical activity levels: surveillance progress, pitfalls, and prospects. *Lancet* [S.I.], v. 380, n. 9838, p. 247-57, Jul 21 2012.

HARIRI, A. R. The neurobiology of individual differences in complex behavioral traits. *Annu Rev Neurosci* [S.I.], v. 32, p. 225-47, 2009.

HERMES, G. *et al.* Post-weaning chronic social isolation produces profound behavioral dysregulation with decreases in prefrontal cortex synaptic-associated protein expression in female rats. *Physiol Behav* [S.I.], v. 104, n. 2, p. 354-9, Aug 3 2011.

HIMMLER, B. T. *et al.* Peering into the dynamics of social interactions: measuring play fighting in rats. *J Vis Exp* [S.I.], n. 71, p. e4288, 2013.

HYMAN, S. E. *et al.* Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci* [S.I.], v. 29, p. 565-98, 2006.

JOHNSON, S. B. *et al.* Adolescent maturity and the brain: the promise and pitfalls of neuroscience research in adolescent health policy. *J Adolesc Health* [S.I.], v. 45, n. 3, p. 216-21, Sep 2009.

JOHNSTONE, T. *et al.* Stability of amygdala BOLD response to fearful faces over multiple scan sessions. *Neuroimage* [S.I.], v. 25, n. 4, p. 1112-23, May 1 2005.

JOSE, K. A. *et al.* Childhood and adolescent predictors of leisure time physical activity during the transition from adolescence to adulthood: a population based cohort study. *Int J Behav Nutr Phys Act* [S.I.], v. 8, p. 54, 2011.

KAGAN, J.; BERKUN, M. The reward value of running activity. *J Comp Physiol Psychol* [S.I.], v. 47, n. 2, p. 108, Apr 1954.

KJONNIKSEN, L. *et al.* Organized youth sport as a predictor of physical activity in adulthood. *Scand J Med Sci Sports* [S.I.], v. 19, n. 5, p. 646-54, Oct 2009.

KLAUS, F. *et al.* A reward increases running-wheel performance without changing cell proliferation, neuronal differentiation or cell death in the dentate gyrus of C57BL/6 mice. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 204, n. 1, p. 175-81, Dec 1 2009.

KOTZ, C. M. Integration of feeding and spontaneous physical activity: role for orexin. *Physiol Behav* [S.I.], v. 88, n. 3, p. 294-301, Jun 30 2006.

KOTZ, C. M. *et al.* Neuroregulation of nonexercise activity thermogenesis and obesity resistance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* [S.I.], v. 294, n. 3, p. R699-710, Mar 2008.

KOTZ, C. M. *et al.* Orexin A mediation of time spent moving in rats: neural mechanisms. *Neuroscience* [S.I.], v. 142, n. 1, p. 29-36, Sep 29 2006.

LALLY, P. *et al.* How are habits formed: Modelling habit formation in the real world. *European Journal of Social Psychology* [S.I.], v. 40, n. 6, p. 998-1009, 2010.

LEASURE, J. L.; JONES, M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience* [S.I.], v. 156, n. 3, p. 456-65, Oct 15 2008.

LEGER, M. *et al.* Environmental Enrichment Duration Differentially Affects Behavior and Neuroplasticity in Adult Mice. *Cereb Cortex* [S.I.], Jun 5 2014.

LEITE, L. H. *et al.* Central fatigue induced by losartan involves brain serotonin and dopamine content. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], v. 42, n. 8, p. 1469-76, Aug 2010.

LEMAIRE, V. *et al.* Long-lasting plasticity of hippocampal adult-born neurons. *J Neurosci* [S.I.], v. 32, n. 9, p. 3101-8, Feb 29 2012.

LENARD, N. R.; BERTHOUD, H. R. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. *Obesity (Silver Spring)* [S.I.], v. 16 Suppl 3, p. S11-22, Dec 2008.

LETT, B. T. *et al.* Pairings of a distinctive chamber with the aftereffect of wheel running produce conditioned place preference. *Appetite* [S.I.], v. 34, n. 1, p. 87-94, Feb 2000.

LUNA, B. *et al.* Maturation of widely distributed brain function subserves cognitive development. *Neuroimage* [S.I.], v. 13, n. 5, p. 786-93, May 2001.

MACHADO, F. S. *et al.* The time of day differently influences fatigue and locomotor activity: is body temperature a key factor? *Physiol Behav* [S.I.], v. 140, p. 8-14, Mar 1 2015.

MARCONDES, F. K. *et al.* Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol* [S.I.], v. 62, n. 4A, p. 609-14, Nov 2002.

MATTSON, M. P. *et al.* BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* [S.I.], v. 27, n. 10, p. 589-94, Oct 2004.

MEEUSEN, R.; DE MEIRLEIR, K. Exercise and brain neurotransmission. *Sports Med* [S.I.], v. 20, n. 3, p. 160-88, Sep 1995.

MEEUSEN, R. *et al.* Endurance training effects on neurotransmitter release in rat striatum: an in vivo microdialysis study. *Acta Physiol Scand* [S.I.], v. 159, n. 4, p. 335-41, Apr 1997.

MENDOZA, J. A. *et al.* The walking school bus and children's physical activity: a pilot cluster randomized controlled trial. *Pediatrics* [S.I.], v. 128, n. 3, p. e537-44, Sep 2011.

MENDOZA, J. A. *et al.* Active commuting to school and association with physical activity and adiposity among US youth. *J Phys Act Health* [S.I.], v. 8, n. 4, p. 488-95, May 2011.

MERZENICH, M. M. *et al.* Brain plasticity-based therapeutics. *Front Hum Neurosci* [S.I.], v. 8, p. 385, 2014.

MORRIS, M. J. *et al.* Voluntary running-wheel exercise decreases the threshold for rewarding intracranial self-stimulation. *Behav Neurosci* [S.I.], v. 126, n. 4, p. 582-7, Aug 2012.

NAKAMURA, K. The role of the dorsal raphe nucleus in reward-seeking behavior. *Front Integr Neurosci* [S.I.], v. 7, p. 60, 2013.

NIWA, M. *et al.* Vulnerability in early life to changes in the rearing environment plays a crucial role in the aetiopathology of psychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol* [S.I.], v. 14, n. 4, p. 459-77, May 2011.

ORTEGA, F. B. *et al.* Objectively measured physical activity and sedentary time during childhood, adolescence and young adulthood: a cohort study. *PLoS One* [S.I.], v. 8, n. 4, p. e60871, 2013.

OSTERGAARD, L. *et al.* Cycling to school is associated with lower BMI and lower odds of being overweight or obese in a large population-based study of Danish adolescents. *J Phys Act Health* [S.I.], v. 9, n. 5, p. 617-25, Jul 2012.

PAWLOWICZ, A. *et al.* Effects of access to voluntary wheel running on the development of stereotypy. *Behav Processes* [S.I.], v. 83, n. 3, p. 242-6, Mar 2010.

PELLIS, S. M. *et al.* The role of the striatum in organizing sequences of play fighting in neonatally dopamine-depleted rats. *Neurosci Lett* [S.I.], v. 158, n. 1, p. 13-5, Aug 6 1993.

PELLIS, S. M. *et al.* Multiple differences in the play fighting of male and female rats. Implications for the causes and functions of play. *Neurosci Biobehav Rev* [S.I.], v. 21, n. 1, p. 105-20, Jan 1997.

PELLIS, S. M.; MCKENNA, M. What do rats find rewarding in play fighting?--an analysis using drug-induced non-playful partners. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 68, n. 1, p. 65-73, Apr 1995.

PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C. Differential rates of attack, defense, and counterattack during the developmental decrease in play fighting by male and female rats. *Dev Psychobiol* [S.I.], v. 23, n. 3, p. 215-31, Apr 1990.

_____. Play fighting of rats in comparative perspective: a schema for neurobehavioral analyses. *Neurosci Biobehav Rev* [S.I.], v. 23, n. 1, p. 87-101, 1998.

PLOMIN, R. *et al.* The genetic basis of complex human behaviors. *Science* [S.I.], v. 264, n. 5166, p. 1733-9, Jun 17 1994.

REIF, A.; LESCH, K. P. Toward a molecular architecture of personality. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 139, n. 1-2, p. 1-20, Feb 17 2003.

RHODES, J. S. *et al.* Neurobiology of Mice Selected for High Voluntary Wheel-running Activity. *Integr Comp Biol* [S.I.], v. 45, n. 3, p. 438-55, Jun 2005.

RUDEBECK, P. H. *et al.* Frontal cortex subregions play distinct roles in choices between actions and stimuli. *J Neurosci* [S.I.], v. 28, n. 51, p. 13775-85, Dec 17 2008.

SALAMONE, J. D.; CORREA, M. Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav Brain Res* [S.I.], v. 137, n. 1-2, p. 3-25, Dec 2 2002.

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* [S.I.], v. 129, p. 1-10, Apr 22 2014.

SCHROEDER, M. *et al.* Post-weaning voluntary exercise exerts long-term moderation of adiposity in males but not in females in an animal model of early-onset obesity. *Horm Behav* [S.I.], v. 57, n. 4-5, p. 496-505, Apr 2010.

SCOTT, J. P. Agonistic behavior of mice and rats: a review. *Am Zool* [S.I.], v. 6, n. 4, p. 683-701, Nov 1966.

SEDENTARY BEHAVIOUR RESEARCH, N. Letter to the editor: standardized use of the terms "sedentary" and "sedentary behaviours". *Appl Physiol Nutr Metab* [S.I.], v. 37, n. 3, p. 540-2, Jun 2012.

SIREVAAG, A. M.; GREENOUGH, W. T. A multivariate statistical summary of synaptic plasticity measures in rats exposed to complex, social and individual environments. *Brain Res* [S.I.], v. 441, n. 1-2, p. 386-92, Feb 16 1988.

SOARES, D. D. *et al.* Tryptophan-induced central fatigue in exercising rats is related to serotonin content in preoptic area. *Neurosci Lett* [S.I.], v. 415, n. 3, p. 274-8, Mar 30 2007.

STURM, R. Childhood obesity - what we can learn from existing data on societal trends, part 1. *Prev Chronic Dis* [S.I.], v. 2, n. 1, p. A12, Jan 2005.

TRUDEAU, F. *et al.* Tracking of physical activity from childhood to adulthood. *Med Sci Sports Exerc* [S.I.], v. 36, n. 11, p. 1937-43, Nov 2004.

VAN KERKHOF, L. W. *et al.* Social play behavior in adolescent rats is mediated by functional activity in medial prefrontal cortex and striatum. *Neuropsychopharmacology* [S.I.], v. 38, n. 10, p. 1899-909, Sep 2013.

VAN KERKHOF, L. W. *et al.* Cellular activation in limbic brain systems during social play behaviour in rats. *Brain Struct Funct* [S.I.], v. 219, n. 4, p. 1181-211, Jul 2014.

VANDERSCHUREN, L. J. *et al.* Influence of environmental factors on social play behavior of juvenile rats. *Physiol Behav* [S.I.], v. 58, n. 1, p. 119-23, Jul 1995.

VEDOVELLI, K. *et al.* Effects of increased opportunity for physical exercise and learning experiences on recognition memory and brain-derived neurotrophic factor levels in brain and serum of rats. *Neuroscience* [S.I.], v. 199, p. 284-91, Dec 29 2011.

WINSTANLEY, C. A. *et al.* Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice. *J Neurosci* [S.I.], v. 24, n. 20, p. 4718-22, May 19 2004.

WOOD, W.; NEAL, D. T. A new look at habits and the habit-goal interface. *Psychol Rev* [S.I.], v. 114, n. 4, p. 843-63, Oct 2007.

YAMADA, K.; NABESHIMA, T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. *J Pharmacol Sci* [S.I.], v. 91, n. 4, p. 267-70, Apr 2003.

ZAMBRANO, E. *et al.* A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J Physiol* [S.I.], v. 571, n. Pt 1, p. 221-30, Feb 15 2006.

ANEXO – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

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



Ofício nº 498/12

Recife, 29 Outubro 2012

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Raul Manhaes de Castro**
Departamento de Nutrição do CCS-UFPE
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076018782/2012-05

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, ***“Controle hipotalâmico do comportamento alimentar e o metabolismo energético no músculo esquelético: efeitos da desnutrição materna e da atividade física voluntária na prole de ratos”***.

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

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

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

Origem dos animais: Biotério da UFPE; Animais: Sexo: Macho e Fêmea; Idade: 90 e 120 dias; Peso: 5 a 7g; Número de animais previsto no protocolo: 8 Ratos Lactantes fêmeas e 96 animais machos.

Atenciosamente,


Prof. Maria Teresa Jansen
Presidente do CEEA
