



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

GERFFESON WILLIAN MARTINS

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA MATERNA SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR
DAS MÃES, EXPRESSÃO DE COMPORTAMENTOS RELACIONADOS AO
DISPÊNDIO ENERGÉTICO E AMBIENTE SOCIAL DA PROLE DE RATOS**

Recife
2023

GERFFESON WILLIAN MARTINS

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA MATERNA SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR
DAS MÃES, EXPRESSÃO DE COMPORTAMENTOS RELACIONADOS AO
DISPÊNDIO ENERGÉTICO E AMBIENTE SOCIAL DA PROLE DE RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, na área de concentração Bases Experimentais da Nutrição para a obtenção do título de Doutor em Nutrição.

Orientador: Prof^ª. Dr. Carol Virgínia Góis Leandro.

Coorientador: Prof^º. Dr. Rubem Carlos Araújo Guedes.

Recife

2023

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Rodrigo Leopoldino Cavalcanti I, CRB4-1855

M386e Martins, Gerffeson Willian.
Efeito da atividade física materna sobre o consumo alimentar das mães, expressão de comportamentos relacionados ao dispêndio energético e ambiente social da prole de ratos / Gerffeson Willian Martins. – 2023.
127 f. : il. ; tab. ; 30 cm.

Orientadora : Carol Virgínia Góis Leandro.
Coorientador : Rubem Carlos Araújo Guedes.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2023.

Inclui referências, apêndices e anexo.

1. Adaptação Fisiológica. 2. Comportamento Materno. 3. Ratos Wistar. 4. Comportamento Social. 5. Roda de Corrida. I. Leandro, Carol Virgínia Góis (Orientadora). II. Guedes, Rubem Carlos Araújo (Coorientador). III. Título.

613 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2023-104)

GERFFESON WILLIAN MARTINS

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA MATERNA SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR
DAS MÃES, EXPRESSÃO DE COMPORTAMENTOS RELACIONADOS AO
DISPÊNDIO ENERGÉTICO E AMBIENTE SOCIAL DA PROLE DE RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, na área de concentração Bases Experimentais da Nutrição para a obtenção do título de Doutor em Nutrição.

Aprovada em: 28/02/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr. Carol Virgínia Góis Leandro (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. João Henrique da Costa Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Adriano Bento Santos (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Isabele Góes Nobre (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Ricardo Abadie Guedes (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à **Deus**, que nos dá todos os dias a oportunidade de realizarmos as nossas metas e sonhos.

À minha família: minha mãe, **Maria Lúcia da Silva Martins**, que sempre me orientou desde cedo a priorizar o engrandecimento como ser humano e respeito acima de tudo. Ao meu pai, **Genivaldo Felinto Martins**, que sempre será um exemplo a ser seguido por sua simplicidade e paciência, tendo a família sempre como principal ponto de apoio. A minha irmã, **Geniffer Estefany Martins**, que desde o preparatório para o vestibular, apoiou cada novo passo dado por mim. Sem a sua presença para ouvir as minhas reclamações e os seus conselhos tudo seria mais complicado e incerto. Não posso esquecer dos meus primos: **Wanderson, William, Mateus e Guilbert**, sempre contem comigo. Com vocês estarei sempre em débito, e perdoem por toda a ausência.

Carol Leandro, que com toda a sua paciência, disponibilidade, compreensão e ensinamentos demonstrou como seguir adiante, mesmo quando tudo o que recebíamos eram críticas ao nosso trabalho. A partir dos seus ensinamento, me forneceu a base necessária para poder desenvolver ideias que permearam todo o trabalho desenvolvido ao longo desses 4 anos. Sem o apoio ideal, esse processo não teria avançado um “passo”, ou melhor dizendo uma linha. Obrigado por todo o investimento, incentivo e confiança, que proporcionaram amadurecimento intelectual e pessoal, portanto, muito obrigado.

Rubem Guedes, que acolheu a ideia do meu projeto de doutorado desde o primeiro momento, dando direcionamentos para a condução do trabalho. O apoio de forma intelectual e literalmente físico, fornecendo o espaço para condução desta pesquisa, foram imprescindíveis para o meu processo de doutoramento. Por isso, serei sempre grato.

Adriano Bento, que me acolheu durante o meu primeiro contato com o “fazer” pesquisa, dando importantes concelhos e direcionamentos. Muitas das coisa desenvolvidas, ao longo desses anos, também possuem influência dos seus ensinamentos. Por isso, não poderia deixar de agradecê-lo pelo apoio, de forma direta e indireta, na resolução dos problemas que surgiram nesse processo. Tenho o senhor como grande amigo e pode contar comigo sempre.

Agradeço por ter conhecido e mantido contato, durante esse processo, com pessoas que de certa forma, através do seu apoio, contribuíram para a condução do meu doutorado. A estas pessoas que chamo de “chefe”, serei sempre grato, pois sem eles esse processo seria bem mais difícil. Agradeço pela disponibilidade dos professores **José Antônio e Raquel Aragão**, por suas caronas e auxiliarem na minha formação, através de concelhos e apontamentos muito

relevantes. A professora **Mariana Pinheiro** e ao seu esposo **Fernando Teixeira**, que me acolheram como amigo e passageiro em seu carro, obrigado por toda atenção e amizade. Agradeço aos professores do laboratório de Fisiologia do Esforço: **Marcos, Leandro e Guilherme**, que além de parceiros de laboratório, tornaram-se amigos sempre dispostos a tirar dúvidas. A vocês muito obrigado, e tenho em vocês um grande exemplo de profissionais.

Agradecer a **Ravi, Luvanor, Kleber e Isael** pela camaradagem em todos os dias que nos encontrávamos dentro e fora do laboratório para conversar sobre coisas diversas. A conversa com vocês, sempre rendeu muita risada e bastante troca de conhecimentos. Agradeço aos demais companheiros e amigos de turma, mas principalmente a **Aline Nunes e Renata Santos**, que estavam sempre prontas para ajudar em qualquer ocasião. Aos meus **amigos da graduação** que se tornaram irmãos para toda a vida. Aos meus velhos **amigos de infância e adolescência**, que durante os períodos mais difíceis de alguma forma se fizeram presentes, sintam-se abraçados.

Aos **professores e funcionários da Pós-graduação em Nutrição** da UFPE.

Agradeço a todos que de alguma forma me ajudaram a seguir e conquistar esse sonho, saibam que esta conquista também é de vocês.

“Não é nenhuma vergonha ser-se feliz; vergonhoso é ser feliz sozinho” (*Albert Camus*).

RESUMO

Durante a gestação, lactação e primeira infância estímulos ambientais, como a prática de atividade física voluntária (AFV) materna, podem alterar o consumo alimentar da mãe e o comportamento da prole. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da AFV materna sobre o consumo alimentar materno e o tempo despendido em comportamentos ativos (atividade física voluntária e espontânea, e brincadeira social) pela prole de ratos. Ratas *Wistar* (n=9) foram alocadas em gaiolas de AFV materna, 30 dias antes do acasalamento. O peso e consumo alimentar foram registrados a cada três dias. Através da quantificação diária da distância percorrida, gasto calórico e tempo de corrida na roda, as ratas foram classificadas como ativas (A, n=3) e muito ativas (MA, n=3). Três ratas foram expostas a gaiolas de AFV materna com a roda de corrida travada, sendo o grupo RT (n=3). Dados secundários, de ratas progenitoras mantidas em gaiola padrão de biotério, foram utilizados para compor o grupo controle (C, n=3). Após o desmame, 3 filhotes machos de cada ninhada foram alocados em gaiolas coletivas de AFV, dos 21 aos 62 dias pós-natal. O tempo despendido em AFV, atividade física espontânea (AFE) e brincadeira social (BS) foram registrados diariamente. A expressão de componentes da BS: ataques lúdicos, postura supina e boxe foram quantificados diariamente. Maiores níveis de AFV materna resultou em maior controle do peso corporal, consumo alimentar e ingestão calórica materna, durante a gestação e lactação. O nível de tempo despendido pela prole nos comportamentos analisados, apresentou associação global (Qui-quadrado de Pearson, $p < 0,05$) e local (resíduos padronizados ajustados, $> 1,96$) com o nível de AFV materna. Prole de ratas A foi classificada com maior frequência em muito ativos para AFV e BS, e ativos para AFE. Prole de ratas MA apresentou maior frequência de classificação em muito ativos para BS e pouco ativos para AFE. Prole de ratas RT teve maior frequência de classificação como ativos para AFV e BS, e muito ativos para AFE. Prole de ratas C teve maior frequência de classificação como pouco ativos em todos os comportamentos. A prole de ratas A apresentou a maior frequência de classificação em alto número da expressão de todos os componentes da BS. Estes resultados, permitiram observar que o investimento materno no desenvolvimento da prole, parece ser influenciado pela AF materna antes da gestação. A prole apresentou maior tempo despendido em comportamentos ativos e proficiência em interações sociais, expressando mais comportamentos sociais que ocorrem frequentemente na idade adulta, de maneira dependente do nível de AF materna.

Palavras-chave: adaptação fisiológica; comportamento materno; ratos wistar; comportamento social; roda de corrida

ABSTRACT

During pregnancy, lactation and early childhood, environmental stimuli, such as maternal voluntary physical activity (VPA), can alter the mother's food intake and the offspring's behavior. The aim of this study was to evaluate the effect of maternal VPA on maternal food consumption and time spent in active behaviors (voluntary and spontaneous physical activity, and social play) by rat offspring. *Wistar* female rats (n=9) were placed in maternal VPA cages 30 days before mating. Weight and food consumption were recorded every three days. Through the daily quantification of the distance covered, caloric expenditure and running time on the wheel, the rats were classified as active (A, n=3) and very active (VA, n=3). Three rats were exposed to maternal VPA cages with the racing wheel locked, being the WL group (n=3). Secondary data, from mother rats kept in a standard bioterium cage, were used to compose the control group (C, n=3). After weaning, three male pups from each litter were allocated to collective VPA cages, from 21 to 62 postnatal days. Time spent in PA, spontaneous physical activity (SPA) and social play (SP) were recorded daily. The expression of SP components: ludic attacks, supine posture and boxing were quantified daily. Higher levels of maternal VPA resulted in greater control of maternal body weight, food consumption and caloric intake during pregnancy and lactation. The level of time spent by the offspring in the analyzed behaviors showed global (Pearson's chi-squared, $p < 0.05$) and local (adjusted standardized residuals, > 1.96) association with the level of maternal VPA. Offspring of A rats were more frequently classified as very active for VPA and SP, and active for SPA. Offspring of VA rats presented a higher frequency of classification in very active for SP and little active for SPA. Offspring of WL rats were more frequently classified as active for VPA and SP, and very active for SPA. Offspring of C rats had a higher frequency of classification as less active in all behaviors. The offspring of A rats showed the highest frequency of high number classification of the expression of all SP components. These results allowed us to observe that maternal investment in the development of offspring seems to be influenced by maternal PA before pregnancy. The offspring showed more time spent in active behaviors and proficiency in social interactions, expressing more social behaviors that frequently occur in adulthood, depending on the level of maternal PA.

Keywords: adaptation, physiological; maternal behavior; rats, wistar; social behavior; wheel running

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Desenho experimental	35
Figura 2.	Dimensões da gaiola de atividade física voluntária materna; roda de corrida, Esquema do funcionamento do ciclocomputador com os sensores [Cateye, model CC-VL810, Osaka, Japan].....	35
Figura 3.	Gaiola de Atividade Física Voluntária (GAFV) com três rodas de corrida. Exemplo de imagem obtida a partir das filmagens.....	37
Figura 4.	Software marcador de tempo construído na linguagem de programação C++ e com a biblioteca OpenCV.....	38
Figura 5.	Representação de Ataque lúdico (AL) lançado a nuca do parceiro pelo animal atacante e adoção da postura supina (PS). Postura de defesa em pé ou boxe.....	39

Artigo Original

Figura 1.	Gráfico da atividade física voluntária materna.....	43
Figura 2.	Gráfico do Peso corporal e Percentual de ganho de peso materno...	44
Figura 3.	Gráfico do Consumo alimentar e Necessidade de consumo de ração materno.....	45
Figura 4.	Gráfico da ingestão calórica e necessidade calórica materna.....	47
Figura 5.	Gráfico da frequência de classificação dos filhotes quanto ao tempo despendido em comportamentos ativos.....	49
Figura 6 e 6.1.	Gráfico da frequência de classificação dos filhotes quanto ao número de vezes da expressão de componentes da Brincadeira Social.....	53-54

Figuras Suplementares

Figura S1.	Tempo médio diário despendido em Atividade física voluntária pela prole.....	86
Figura S2.	Tempo médio diário despendido em Brincadeira social pela prole.....	87
Figura S3.	Tempo médio diário despendido em Atividade física espontânea pela prole.....	88
Figura S4.	Gráfico do número médio diário de Ataques lúdicos lançados pela prole.....	89

Figura S5.	Gráfico do número médio diário de adoção da Postura supina lançados pela prole.....	90
Figura S6.	Gráfico do número médio diário de Ataques lúdicos seguidos de Postura supina da prole.....	91
Figura S7.	Gráfico do número médio diário de Reversões da Postura supina da prole.....	92
Figura S8.	Gráfico do número médio diário da expressão de boxe pela prole.....	93
Figura S9.	Gráfico do número médio diário de Contra-ataques da prole.....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação dos grupos experimentais de acordo com a atividade física diária (distância percorrida, gasto calórico e tempo de atividade) na roda de corrida.....	35
Tabela 2	Descrição das características da ninhada de ratas muito ativas (n=3), ativas (n=3) e roda travada (n=3), antes do ajuste do n para 8 filhotes por ninhada.....	36
Tabela 3	Composição química da ração padrão de biotério NUVILAB CR1 (Quimtia S.A.) usada durante todo o experimento.....	37
Tabela 4	Valores de referência de quilocalorias para manutenção em condições basais nas diferentes fases fisiológicas de ratas.....	37
Tabela 5	Características dos comportamentos relacionados à atividade física na prole durante a infância e juventude de ratos.....	39
Tabela 6	Classificação dos filhotes de acordo com o tempo diário despendido em atividade física voluntária, espontânea e brincadeira social, dos 28 aos 62 dias.....	40
Tabela 7	Classificação dos filhotes de acordo com o número de vezes em que foram expressos comportamentos sociais durante a brincadeira social, dos 28 aos 62 dias.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT1A	Receptor de serotonina
A	Ratas do grupo ativo
AF	Atividade física
AFE	Atividade física espontânea
AFV	Atividade física voluntária
AL	Ataques lúdicos
ALPS	Ataque lúdico seguido de postura supina
AMPc	Adenosina 3,5 – monofosfato cíclico
ATV	Área tegmental ventral
AVT	Peptídeo hormônio arginina vasotocina
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
Brn3a	Proteína 3a do domínio homeobox / POU específico do cérebro
BrdU ⁺ /NeuN ⁺	Marcador mitótico celular
BS	Brincadeira social
C	Prole de mães controle
CA2 e CA3	Região CA2 e CA3 do hipocampo
D1 e D2	Receptor para dopamina -1 e -2
DA	Dopamina
DCX ⁺	Marcador para expressão de <i>doublecortin</i>
DHL	Dieta hiperlipídica
DHP	Dieta hipoproteica
DoHAD	Origem desenvolvimentista da saúde e da doença
DOM	Dominante
DPN	Dia pós-natal
EF	Exercício físico
FC _{máx}	Frequência cardíaca máxima
GAFV	Gaiola de atividade física voluntária
GAFVM	Gaiola de atividade física voluntária materna
RT	Ratas com a roda de corrida travada
IGF-1	Fator de crescimento semelhante a insulina
MA	Ratas do grupo muito ativo
mRNA	RNA mensageiro

NAc	Núcleo <i>accumbens</i>
NeuN	Biomarcador de neurônios
NPY Y1	Receptor para o neuropeptídeo Y
NTF4	Neurotrofina-4
NTRK2	Receptor quinase B de tirosina
Nurr1	Receptor nuclear de fatores de transcrição
PFC	Córtex pré-frontal
PGC-1 α	Coativador 1- α do receptor γ ativado por proliferador de peroxissoma
PM _{2,5}	Partícula em suspensão com diâmetro inferior a 2,5 μ m
PS	Postura supina
RPA	Resíduo padronizado ajustado
RPS	Reversão da postura supina
SB	Subordinado
SNC	Sistema nervoso central
STAT-3	Transdutor de sinalização e ativador de transcrição 3
TrkB	Receptor quinase B da tirosina
VBS	<i>Visible burrow system</i> (sistema de toca visível)
vCA1	Área CA1 da porção ventral do hipocampo
VO _{2máx}	Consumo máximo de oxigênio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	HIPÓTESE	18
1.2	OBJETIVOS.....	18
1.2.1	Objetivo geral	18
1.2.2	Objetivos específicos	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1	FASES INICIAIS DA VIDA E ESTÍMULOS AMBIENTAIS.....	19
2.2	NUTRIÇÃO MATERNA E ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS DA PROLE.....	20
2.3	ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA E REPERCUSSÕES NA PROLE.....	22
2.3.1	Definição e parâmetros para classificação dos níveis de atividade física	22
2.3.2	Atividade física voluntária materna e os benefícios para mãe e prole	24
2.4	AMBIENTE SOCIAL E EXPRESSÃO COMPORTAMENTAL.....	27
2.4.1	Ambiente social e fases iniciais da vida	29
2.4.2	Fatores que podem influenciar o ambiente social	32
3	MÉTODOS	34
3.1	ANIMAIS.....	34
3.2	PROTOCOLO DE ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA.....	34
3.3	PARÂMETROS RELACIONADOS AO CONSUMO ALIMENTAR MATERNO.....	36
3.3.1	Peso corporal e consumo alimentar	36
3.3.2	Necessidades energéticas e de consumo	36
3.4	GAIOLA DE ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA (GAFV).....	37
3.5	PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS DA PROLE.....	38
3.5.1	Categorização da prole referente ao tempo despendido em comportamentos ativos e a expressão de comportamentos sociais durante a brincadeira	40
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
4	RESULTADOS	42
4.1	ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA E PARÂMETROS RELACIONADOS AO CONSUMO ALIMENTAR MATERNO.....	42
4.2	PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS RELACIONADOS A ATIVIDADE FÍSICA DA PROLE.....	48
5	DISCUSSÃO	59
5.1	ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA E PARÂMETROS RELACIONADOS AO CONSUMO ALIMENTAR MATERNO.....	59
5.2	PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS RELACIONADOS A ATIVIDADE FÍSICA DA PROLE.....	60

6	CONCLUSÃO.....	68
	REFERÊNCIAS.....	70
	APÊNDICE A – FIGURAS SUPLEMENTARES REFERENTES AO TEMPO MÉDIO DIÁRIO DESPENDIDO EM COMPORTAMENTOS ATIVOS PELA PROLE.....	86
	APÊNDICE B – FIGURAS SUPLEMENTARES REFERENTES AO NÚMERO MÉDIO DA EXPRESSÃO DE COMPONENTES DA BRINCADEIRA SOCIAL DA PROLE.....	89
	APÊNDICE C - ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA BEHAVIOURAL PROCESSES (FL.: 1,8).....	95
	APÊNDICE D – CAPÍTULO 8 DO LIVRO: NUTRIÇÃO NO INÍCIO DA VIDA - EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS PARA PREVENÇÃO DE DOENÇAS 1ª EDIÇÃO.....	115
	ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA...	127

1 INTRODUÇÃO

As fases de gestação e lactação são críticas para o desenvolvimento fisiológico, marcadas por um intenso processo de maturação de órgãos e sistemas. Estímulos ambientais durante estas fases podem repercutir em respostas adaptativas imediatas e preditivas ao longo do desenvolvimento da prole (GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A., 2004). Estudo europeu, através de quatro coortes, verificou que padrões de estilo de vida maternos (tabagismo, má nutrição e sedentarismo) antes e durante a gestação, predizem o risco para a expressão de comportamentos associados ao sedentarismo em crianças de 5 a 12 anos (LECORGUILLÉ, M. *et al.*, 2023). Em um estudo realizado com mulheres da Arábia Saudita foi observado que a exposição a metais tóxicos (mercúrio e metilmercúrio), durante a lactação, levou ao déficit no desempenho cognitivo dos seus filhos na idade de 5 a 8 anos (AL-SALEH, I. *et al.*, 2020). Em animais, a exposição de ratas a estímulos estressores (privação de água ou natação forçada) durante a gestação, aumentou a concentração plasmática de corticosterona aos 21 e 50 dias pós-natal (DPN) da prole, com redução da capacidade de aprendizado e do fator de crescimento semelhante a insulina 2 no hipocampo (GUAN, S. Z. *et al.*, 2021). Dessa forma, parece que a exposição do organismo materno à estímulos ambientais diversos, resulte em alterações comportamentais nos filhos.

Ao longo da última década, estudos têm verificado uma relação entre estímulos ambientais no início da vida e consequências no sistema nervoso central (SNC), particularmente no que refere ao comportamento e ao ambiente social (LAVIOLA, G.; BUSDRAGHI, L. M., 2021; SCAROLA, S. *et al.*, 2020). Em ratos, a maior incidência de cuidados maternos direcionados à prole, como lambar-limpar, aos 5 e 16 DPN, reduziu a expressão de comportamentos relacionados à ansiedade e aumentou a expressão de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) na amígdala da prole, aos 95 DPN (BERMAN, A. K.; LOTT, R. B.; DONALDSON, S. T., 2014). A exposição de ratos a diferentes estímulos estressores (natação forçada e estresse de contenção) dos 25-27 DPN, reduziu o número de abordagens sociais e emissão de vocalizações de estado afetivo positivo na presença de outro animal (BRYDGES, N. M. *et al.*, 2019). Por outro lado, estímulos ambientais que geram respostas positivas, como a atividade física (AF) voluntária, estão associados a um melhor desempenho da mãe durante a gestação como controle do peso e redução da ansiedade (SYED, H.; SLAYMAN, T.; DUCHENE THOMA, K., 2021). Em uma revisão sistemática, que reuniu 25 estudos, foi observado que a prática de AF durante a gestação reduz o risco de diabetes gestacional, hipertensão e distúrbios comportamentais pós-parto, e melhora o desenvolvimento neural da prole (MORALES-SUÁREZ-VARELA, M. *et al.*, 2021). Assim, parece que a prática

de AF por mulheres gestantes está associada à melhora nas funções cognitivas (testes de inteligência geral e habilidade de linguagem oral) e antecipação no desenvolvimento comportamental dos filhos (CLAPP, J. F., 3RD, 1996; ESTEBAN-CORNEJO, I. *et al.*, 2016).

A prática de AF durante a gestação e lactação tem sido recomendada com frequência para a manutenção de um ambiente saudável para a mãe e para a prole (ACOG, 2020). Em mulheres gestantes, a prática de AF, reduz o risco de doenças hipertensivas na mãe (pré-eclâmpsia), associado à redução da rigidez dos vasos sanguíneos, aumento de fatores de crescimento endotelial e perfusão uteroplacentária (SKOW, RACHEL J. *et al.*, 2017). Em um estudo realizado com 1.555 gestantes com obesidade, foi observado que a prática de AF pré-natal reduziu a ingestão materna de gordura saturada e o ganho de adiposidade aos 6 meses de idade dos filhos (PATEL, N. *et al.*, 2017). A AF antes e durante a gestação, parece melhorar funções cardiovasculares e controle do ganho de peso materno, que pode reduzir os efeitos da má nutrição sobre o desenvolvimento dos filhos (MORALES-SUÁREZ-VARELA, M. *et al.*, 2021).

O acesso à roda de corrida permitindo a prática voluntária de AF por roedores, sem a necessidade de estímulos adicionais, reduz os efeitos da má nutrição materna sobre a prole (GOH, J.; LADIGES, W., 2015; ZHOU, L. *et al.*, 2020). Em ratas, a prática de corrida na roda durante a gestação e lactação, atenuou os efeitos do consumo materno de dieta hipoproteica (caseína 8%) sobre a maturação do SNC, atividade locomotora e exploratória aos 23, 45 e 60 DPN da prole (FRAGOSO, J. *et al.*, 2017). A corrida na roda por ratas reduziu os efeitos negativos do consumo materno de dieta hiperlipídica (60% de ácido graxo) sobre a aprendizagem espacial da prole adulta, com melhora em parâmetros morfológicos no hipocampo (orientação axonal e fatores neurotróficos) (KIM, T. W.; PARK, H. S., 2018; MOSER, V. C. *et al.*, 2017). Os mecanismos subjacentes podem estar associados à manutenção de processos metabólicos da placenta, por atividade da diacilglicerol lipase β , e da eficiência hemodinâmica fetoplacentária em fornecer nutrientes para o crescimento e desenvolvimento adequado da prole (BERGER, N. *et al.*, 2023; GARNER, K. L. *et al.*, 2022).

O aporte inadequado de nutrientes, durante as fases da gestação e lactação, apresenta relação com distúrbios comportamentais nos descendentes. O consumo de dietas hipoproteicas (10% caseína), durante a gestação e lactação de ratas, aumentou a responsividade ao estresse, expressão de comportamentos relacionados à ansiedade e reduziu a atividade exploratória da prole jovem (LESAGE, J. *et al.*, 2002; REYES-CASTRO, L. A. *et al.*, 2012). Em ratos, a ingestão de dietas hiperlipídicas (30–85% de ácido graxo) e densa em calorias (dieta de cafeteria), durante a gestação e lactação, aumentou a expressão de comportamentos antissociais

e reduziu a mielinização de neurônios da prole (BONFIM, T. *et al.*, 2021; PINHEIRO-CASTRO, N. *et al.*, 2019). Assim, flutuações nutricionais podem aumentar a predisposição da prole a desenvolver distúrbios comportamentais, mas não em padrões determinísticos (BURDGE, G. C.; LILLYCROP, K. A., 2010). Estudos que associem a AF e o consumo alimentar durante a gestação, e as repercussões comportamentais no ambiente social em curto e longo prazo na prole ainda são escassos.

O termo ambiente social pode ser definido como situações em que ocorrem interações entre dois ou mais indivíduos (MCNEILL, L. H.; KREUTER, M. W.; SUBRAMANIAN, S. V., 2006). Estas interações no ambiente social podem ocorrer de forma direta (fisicamente ou pela comunicação) e indireta (percepção de características nos parceiros). Estudos sobre o ambiente social analisam como que decorrente de interações sociais, ocorrem alterações comportamentais e fisiológicas dos indivíduos envolvidos (MARRES, N.; STARK, D., 2020). A exposição a ambientes sociais marcados por situações de estresse social (agressão verbal e física ou exclusão social) durante a infância, reduziu a expressão de comportamentos afiliativos na idade adulta, durante interações com pessoas de fora do convívio diário (TZANOULINO, S.; SANDI, C., 2017). Em adolescentes, durante um teste de tomada de decisão, foi observado que o grau de afeto entre indivíduos de um grupo, altera a predisposição à expressão de comportamentos de risco (uso de entorpecentes e dirigir em alta velocidade) (VAN HOORN, J. *et al.*, 2019). Em adultos, a inferência subjetiva de características de parceiros pela expressão facial, levou ao ajuste da distância interpessoal durante interações sociais e alteração na excitação simpática (atividade eletrodérmica) (CARTAUD, A. *et al.*, 2020). Interações sociais, dos 30-45 DPN de ratos, com um parceiro de gaiola com estereotípias persistentes e agressividade, resultou na expressão de mais comportamentos ansiosos, depressivos e hiperativos durante a adolescência (PARVOPASSU, A. *et al.*, 2021).

A associação entre comportamento e ambiente social parecem ter uma relação com estímulos ambientais durante a gestação e lactação. A prática voluntária de AF nestas fases, sem o estresse adicional de modelos de AF forçada, permite verificar a influência isolada desse estímulo no comportamento da prole, e parece ter relação com a provisão materna eficiente e adequada de nutrientes para a prole. A nossa hipótese é de que o melhor suporte para o processo de desenvolvimento da prole, decorrente da prática de AF materna, aumente a expressão de comportamentos ativos e antecipe a maturação de comportamentos sociais. Além disso, de acordo com os níveis de AF, as mães passam a apresentar alterações em parâmetros nutricionais (consumo alimentar e ingestão calórica) com a finalidade de manter o aporte adequado de nutrientes para a prole. Assim, o objetivo deste estudo foi de verificar a influência dos diferentes

níveis de AF materna sobre parâmetros nutricionais da mãe, e repercussões sobre a expressão de comportamentos ativos e sociais da prole.

1.1 HIPÓTESE

Altos níveis de atividade física voluntária de ratas antes da gestação, resultam em aumento do consumo alimentar e ingestão calórica durante a gestação e lactação, aumentando a curto e médio prazo a expressão de comportamentos ativos e a complexidade das interações sociais por meio das brincadeiras, ao longo do desenvolvimento da prole de ratos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Analisar o efeito da prática de atividade física voluntária materna no consumo alimentar e ingestão calórica de mães e na expressão de comportamentos de atividade física voluntária, espontânea e de brincadeira social da prole.

1.2.2 Objetivos Específicos

Descrever os parâmetros nutricionais (peso, consumo alimentar, ingestão calórica e necessidade energética) das mães.

Avaliar nos filhotes, os efeitos da atividade física materna no tempo despendido em comportamentos relacionados à atividade locomotora (atividade física voluntária na roda, atividade física espontânea e brincadeira social).

Quantificar o número de vezes que foram expressos ataques lúdicos, postura supina, contra-ataques e de defesa em pé (boxe) durante a brincadeira social, dos 28 aos 62 dias pós-natal da prole.

Avaliar se os diferentes níveis de atividade física materna afetam componentes da brincadeira social, como o número de ataques lúdicos, postura supina, contra-ataques e de defesa em pé (boxe), dos 28 aos 62 dias pós-natal da prole.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FASES INICIAIS DA VIDA E ESTÍMULOS AMBIENTAIS

Seres vivos são altamente responsivos a alterações que ocorrem no ambiente, levando a modificações específicas em função destes estímulos ambientais. Em abelhas, alteração na temperatura ambiental é capaz de alterar o comportamento dos enxames, como por exemplo, em ambientes quentes grupos de abelhas são menos densos e mais porosos (OCKO, S. A.; MAHADEVAN, L., 2014). Em peixes da espécie *Cyprinodon nevadensis*, a instabilidade ambiental, com variação de temperatura e salinidade podendo chegar a 3 partes por milhão, reduziu a secreção do peptídeo hormônio arginina vasotocina (AVT) (LEMA, S. C., 2006). Em borboletas da espécie *Araschnia levana*, a forma de suas asas mudam de acordo com a humidade relativa do ar, sendo esta a diferença mais evidente entre o verão e primavera (NIJHOUT, H. F., 2003). Assim, de maneira dependente dos estímulos ambientais, podem ser observadas alterações comportamentais, fisiológicas e morfológicas, sem necessidade de variações gênicas, conferindo vantagens a estes animais em condições ambientais específicas (WEST-EBERHARD, M. J., 2005).

Estímulos ambientais durante as fases da gestação, lactação e primeira infância levam a respostas adaptativas no organismo mais facilmente, pois nestas fases ocorrem o desenvolvimento e maturação de órgãos e sistemas. As respostas orgânicas observadas durante estas fases em função de estímulos ambientais, estão atreladas à capacidade de resposta preditiva adaptativa do organismo (GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; SPENCER, H. G., 2005). As adaptações que ocorrem no organismo dependem da transmissão de sinais precisos das condições maternas para a prole, levando a ajustes no desenvolvimento, predizendo as condições do ambiente na vida tardia da prole. Por exemplo, em ratos do campo (*Microtus pennsylvanicus*) foi observado que de acordo com a duração dos dias durante a gestação, a prole adulta exibiu alterações na espessura da pelagem, predizendo o ambiente pós-natal referente a alterações sazonais de temperatura (LEE, T. M.; ZUCKER, I., 1988). Em lebres (*Lepus americanos*), quando a gestação e lactação ocorreram em períodos de alto risco de predação, a prole durante a infância e idade adulta expressou mais comportamentos vigilantes, aumentando as suas chances de fuga (SHERIFF, M. J.; KREBS, C. J.; BOONSTRA, R., 2010). Estas alterações durante fases iniciais da vida podem gerar vantagens, permitindo que o indivíduo seja mais apto a sobreviver nas condições atuais ou até atingir a idade reprodutiva.

A resposta preditiva adaptativa a estímulos ambientais no início da vida nem sempre corresponde às condições ambientais subsequentes, gerando uma incompatibilidade entre o que foi predito e a realidade atual. Quando ocorre essa incompatibilidade entre o ambiente nas fases

iniciais e tardias da vida é o que potencialmente explica as origens do desenvolvimento da saúde e da doença (DOHaD) em seres vivos (GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BEEDLE, A. S., 2007). Em humanos e primatas não humanos, a baixa disponibilidade de recursos e exposição a patógenos, na gestação, parece melhorar o sistema imune inato da prole na infância, porém, infecções são mais recorrentes na idade adulta pela ineficácia da memória imunológica (BERGHÄNEL, A. *et al.*, 2016; MCDADE, T. W.; GEORGIEV, A. V.; KUZAWA, C. W., 2016). Em 1469 crianças, com idade média de 4 anos, a exposição a poluentes atmosféricos (PM_{2,5}), da 24^a-36^a semana de gestação, aumentou o risco de asma na infância e idade adulta, decorrente de alterações durante a fase sacular do desenvolvimento pulmonar fetal (HAZLEHURST, M. F. *et al.*, 2021). Dessa forma, estímulos ambientais adversos, durante as fases iniciais da vida, geram respostas adaptativas que parecem aumentar o risco de desenvolvimento de algum tipo de doença em curto e longo prazo.

Estímulos ambientais, durante fases iniciais da vida, parecem levar a respostas adaptativas do SNC e a alterações na expressão comportamental. Estudo conduzido nos Estados Unidos, observou que quanto maior a exposição à poluição relacionada ao tráfego de carros durante a gestação, maior o risco de epilepsia no cérebro de crianças com até 5 anos de idade (DANYSH, H. E. *et al.*, 2016). Em ratos, a exposição crônica a agentes estressores durante a gestação, simulando situações de estresse pós-traumático, aumentou a expressão de receptores de glicocorticoides no hipocampo e comportamentos relacionados à ansiedade na prole, dos 28 aos 30 DPN (CHAGAS, L. A. *et al.*, 2021). Em humanos, a partir da aplicação de um questionário sobre experiências adversas dos 0-5 anos de idade, foi observado uma relação inversa entre o score de eventos negativos, volume de massa cinzenta e interações sociais aos 17 anos de idade (TYBOROWSKA, A. *et al.*, 2018). Assim, estímulos ambientais adversos durante fases iniciais da vida, parecem resultar em disfunções neurocomportamentais, sendo a nutrição desequilibrada um importante fator de risco.

2.2 NUTRIÇÃO MATERNA E ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS DA PROLE

Fases da gestação e lactação são períodos que exigem alto investimento materno, para manutenção da gestação e bem-estar da prole. Em humanos, durante a gestação, ocorre aumento do metabolismo basal materno, suprimindo principalmente as demandas de glicose para o cérebro do feto (DUNSWORTH, H. M. *et al.*, 2012). Para a manutenção do aporte adequado de energia para a prole durante a lactação, que se dá basicamente pelo fornecimento de triglicerídeos através do leite materno, ocorre aumento de tecido adiposo nas mães desde o início da gestação (ELLISON, P., 2008). As demandas energéticas, tanto na fase fetal quanto pós-natal, excedem

a capacidade do metabolismo materno em fornecer energia, por isso ocorre maior mobilização dos estoques de gordura associado a outros mecanismos compensatórios para conservar energia (WELLS, J. C. K., 2018).

Durante a gestação e lactação, as mães parecem assumir diferentes estratégias, com a finalidade de garantir o aporte adequado de nutrientes para a prole. Em humanos, próximo ao terceiro trimestre de gestação, um estudo realizado com mulheres do Reino Unido e Cingapura demonstrou uma redução em 26% do tempo despendido em comportamentos ativos relacionados ao gasto energético (PADMAPRIYA, N. *et al.*, 2015; ROUSHAM, E. K.; CLARKE, P. E.; GROSS, H., 2006). Durante a lactação, mulheres passaram a ingerir mais alimentos com alta densidade energética, resultando em aumento no consumo relativo de macronutrientes e de cerca de 360 kcal/dia ingeridas pelas mães (BUTTE, N. F.; KING, J. C., 2005; MCLENNAN, S. L.; HENRY, A., 2021). Da mesma forma, ratas e camundongos com o avançar da idade gestacional, reduzem o deslocamento ativo na gaiola, corrida na roda, termogênese e aumentam em 56% o seu consumo alimentar (GAMO, Y. *et al.*, 2013; SANTANA MUNIZ, G. *et al.*, 2014). Contudo, os estudos parecem desconsiderar como a expressão de comportamentos ativos, em diferentes níveis, antes e durante a gestação e lactação, podem afetar o consumo, ingestão calórica e necessidades energéticas da mãe para manutenção do desenvolvimento da prole.

Em condições em que a mãe não consegue suprir de forma adequada as necessidades nutricionais da prole, como em casos de desnutrição ou supernutrição, a prole pode apresentar distúrbios neurocomportamentais. Em 118 humanos com 68 anos de idade, provenientes de mães que passaram pela fome holandesa (1944-1945) durante a gestação e lactação, foi observado um menor volume cerebral intracraniano e total, associado ao envelhecimento cerebral prematuro (DE ROOIJ, S. R. *et al.*, 2016; FRANKE, K. *et al.*, 2018). Em ratos, o consumo materno de dieta hipoproteica (DHP; 6% de proteína), durante a gestação, levou à expressão de genes associados à desregulação do desenvolvimento do hipocampo na prole adulta, e pareceu elevar o risco de autismo e doença de Alzheimer (CHEN, J. *et al.*, 2020). Em ratos, proles de mães que ingeriram DHP (6-8% de caseína), na gestação e lactação, apresentaram redução do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e receptor quinase B de tirosina (NTRK2) no cérebro, e tempo gasto em interações sociais durante a infância e adolescência da prole (BATISTA, T. H.; GIUSTI-PAIVA, A.; VILELA, F. C., 2019; FRAGOSO, J. *et al.*, 2021).

O consumo materno de dietas hiperlipídicas (DHL) ou de alta palatabilidade e densidade energética, também está associado a disfunções neurocomportamentais na prole. Em humanos,

foi observado que o ganho excessivo de peso em gestantes, decorrente da ingestão de dietas de alta densidade energética, levou a déficits em habilidades intelectuais e verbais, e à expressão de traços de autismo nos filhos (CASAS, M. *et al.*, 2017; VARCIN, K. J.; NEWNHAM, J. P.; WHITEHOUSE, A. J. O., 2019). Em camundongos, o consumo materno de DHL (32% de ácido graxo), durante a gestação e lactação, levou a hiperatividade e reduziu a capacidade de memória e aprendizado da prole, associado a um menor tamanho e número de neurônios no hipocampo (FERNANDES, C. *et al.*, 2012; TOZUKA, Y. *et al.*, 2010). Em camundongos, o consumo materno de DHL (60% de ácidos graxos) ou de alta palatabilidade atrasou a ontogenia reflexa (preensão palmar e estimulação de vibrissas) e mielinização em áreas cerebrais aos 21 DPN da prole, acompanhado por menor tempo investido em interações sociais na juventude (GRAF, A. E. *et al.*, 2016; RIBEIRO, A. *et al.*, 2018). Assim, o consumo materno desbalanceado de nutrientes pode aumentar o risco da prole em desenvolver distúrbios comportamentais, mas não em padrões determinísticos.

2.3 ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA E REPERCUSSÕES NA PROLE

2.3.1 Definição e parâmetros para classificação dos níveis de atividade física

A atividade física (AF) é definida como qualquer movimento do músculo esquelético que resulta em gasto energético acima dos níveis basais, onde o indivíduo pode ser classificado como ativo ou inativo dependendo do nível de AF (CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M., 1985; GARBER, C. E. *et al.*, 2011). Um indivíduo é considerado ativo quando o seu dispêndio energético semanal é ≥ 1.500 kcal/semana e inativo quando inferior a este valor (GARBER, C. E. *et al.*, 2011). A prática de AF pode ser classificada como incidental ou estruturada, onde a principal diferença está relacionada ao controle de algumas variáveis para a prática (STRATH, S. J. *et al.*, 2013).

A prática incidental de AF não é planejada e, na maioria das vezes, resulta de atividades diárias, enquanto a estruturada é planejada com o objetivo da promoção de benefícios à saúde ou aptidão física (STRATH, S. J. *et al.*, 2013). A prática incidental está relacionada a tarefas de trabalho manual e doméstico, locomoção a pé, ou de bicicleta e atividades em momentos de lazer (STRATH, S. J. *et al.*, 2013). A AF estruturada, ou exercício físico (EF), é a prática sistematizada com o controle do tipo de esforço (aeróbio ou anaeróbio), frequência (número de sessões por dia ou semana), duração (longa ou curta) e intensidade (indicador de demanda metabólica de uma atividade) (HOWLEY, E. T., 2001). Com relação aos parâmetros

fisiológicos, a prática de exercício pode ser classificada em diferentes níveis de esforço físico, que correspondem à intensidade da execução de determinado EF.

A intensidade do EF pode ser leve, moderada e intensa, com base na resposta de parâmetros fisiológicos como: consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), frequência cardíaca máxima ($FC_{máx}$) e concentrações séricas de lactato, em testes progressivos máximos ou submáximos (MANN, T.; LAMBERTS, R. P.; LAMBERT, M. I., 2013). A resposta do $VO_{2máx}$ e da $FC_{máx}$ se correlacionam durante a prática de EF, onde a intensidade é dada pelo percentual de seus valores máximos, sendo a intensidade leve de 25% - 44% do $VO_{2máx}$ e 30% - 49% da $FC_{máx}$, moderada de 45% - 59% do $VO_{2máx}$ e 50% - 69% da $FC_{máx}$ e intensa de 60% - 84% do $VO_{2máx}$ e 70% - 89% da $FC_{máx}$ (LEANDRO, C. G. *et al.*, 2007). A concentração sérica de lactato aumenta em resposta à intensidade do EF, sendo de 1 a 4 mmol/L em intensidades leve e moderada, elevando suas concentrações em resposta a exercícios intensos, que corresponde à ineficiência em sua remoção da corrente sanguínea (IRVING, B. A. *et al.*, 2006). O controle destes parâmetros fisiológicos permite que se possa estabelecer e trabalhar sobre faixas de intensidade conhecidas, que está relacionado ao planejamento de objetivos a serem alcançados através da prática de EF.

Em humanos e em roedores, a prática de AF pode ser definida, também, como espontânea (AFE) e voluntária (AFV) (FEDER, M. E. *et al.*, 2010). A AFE corresponde a atividades da vida diária, que tendem a elevar o gasto energético acima das condições de repouso (GARLAND, T., JR. *et al.*, 2011). Em humanos, a AFE pode ser representada pela contração espontânea do músculo, tarefas diárias, manutenção da postura quando não deitado e conversar (LEVINE, J. A. *et al.*, 2003). Com respeito a roedores, a AFE consiste em atividades de exploração do ambiente, locomoção e atividades estacionárias como de limpeza (NOVAK, C. M.; LEVINE, J. A., 2007). Em humanos, a quantificação do tempo despendido em AFE pode ser realizada através de questionários, acelerômetros, pedômetros e análise de vídeo (LEVINE, J. A.; KOTZ, C. M., 2005). Em ratos, a AFE pode ser mensurada através de sensores, plataforma de força, detectores infravermelhos instalados na gaiola ou por análise de vídeo (MALISCH, J. L. *et al.*, 2009; VAANHOLT, L. M. *et al.*, 2008).

A AFV corresponde a atividades locomotoras que não estão relacionadas à sobrevivência ou homeostase, e não são motivadas diretamente por fatores externos (GARLAND, T., JR. *et al.*, 2011). Em humanos, a AFV pode ser representada por atividades realizadas durante momentos de lazer, por exemplo a prática de algum esporte (MACLAREN, V. V.; BEST, L. A., 2010). Em roedores, tanto no laboratório quanto na natureza, a AFV é usualmente representada pela prática de corrida na roda (GARLAND, T., JR. *et al.*, 2011;

MEIJER, J. H.; ROBBERS, Y., 2014). Semelhante à AFE, em humanos a quantificação de AFV também pode ser realizada a partir de questionários, acelerômetros ou pedômetros (WESTERTERP, K. R., 2009). Em roedores, pode ser quantificada a partir do número de revoluções dado pela roda de corrida, a partir da análise de vídeo ou do uso de ciclocomputadores (GARLAND, T., JR. *et al.*, 2011; SANTANA MUNIZ, G. *et al.*, 2014).

Em modelos experimentais, a partir da quantificação de algumas variáveis, podem ser identificados diferentes níveis de AFV. Camundongos podem ser classificados em inativos quando o gasto energético diário na prática de AFV é insignificante, e em ativos quando a energia gasta em AFV corresponde aproximadamente a um terço do gasto energético diário (GARLAND, T., JR. *et al.*, 2011). A partir da quantificação do tempo despendido, distância percorrida e gasto calórico na prática de corrida na roda, ratas podem ser classificadas em muito ativas (>120min.dia; >5km.dia; >40kcal.dia), ativas (>20 ≤120min.dia; >1 ≤5km.dia; >10 ≤40kcal.dia) e inativas (<20min.dia; <1km.dia; <10kcal.dia) (SANTANA MUNIZ, G. *et al.*, 2014).

2.3.2 Atividade física voluntária materna e benefícios para mãe e prole

A prática de AF por indivíduos de forma habitual é recomendada em todas as fases da vida, pois reduz o risco de aparecimento de disfunções metabólicas e neurocomportamentais. Particularmente na fase da gestação e lactação são observados benefícios tanto para a mãe quanto para o feto (ACOG, 2020). Na ausência de complicações e contraindicações obstétricas ou médicas, mulheres gestantes devem ser estimuladas a iniciar ou manter a prática de atividades, como: caminhada, exercícios aeróbios, de resistência e alongamento (BERGHELLA, V.; SACCONI, G., 2017). Em humanos, a manutenção da prática de AF durante a gestação reduziu o risco de diabetes mellitus gestacional, tempo de recuperação e de transtornos depressivos pós-parto (CORDERO, Y. *et al.*, 2015; NAKAMURA, A. *et al.*, 2019). Em 2.203 mulheres gestantes suecas, foi aplicado um questionário referente ao tempo despendido em AF, sendo observada relação positiva entre o tempo despendido em AF com a redução do risco de pré-eclâmpsia, acarretando em melhora na perfusão sanguínea uteroplacentária (MEANDER, L. *et al.*, 2021). A prática de AF por mulheres gestantes, de intensidade leve a moderada, aumentou a expressão de angiogenina 1 na placenta e a vasodilatação da artéria cerebral média do feto, evidenciando o redirecionamento de fluxo sanguíneo e oxigenação para o cérebro (ERTAN, A. K. *et al.*, 2004; HARDY, D. B. *et al.*, 2021). Estas respostas à prática de AF materna geram benefícios para a saúde da mãe, e promovem melhor fornecimento de fluxo sanguíneo para o feto.

A prática de AFV materna parece favorecer o desenvolvimento da prole, através do aumento da função placentária e de fatores neurotróficos, e.g. neurotrofinas. Em humanos, o nível de AFV durante a gestação, mensurado a partir de acelerômetros, foi associado ao aumento da expressão de genes envolvidos no transporte de água e captação de glicerol na placenta (LOISELLE, J. *et al.*, 2020). Em ratos, a prática de AFV materna, antes e até o 20º dia de gestação, aumentou a expressão de neurotrofina 4 (NTF4) em 24,3% na placenta e a antecipação no aparecimento de indicadores maturacionais (abertura do pavilhão e canal auditivo e erupção dos incisivos) na prole (FRAGOSO, J. *et al.*, 2020; SANTANA MUNIZ, G. *et al.*, 2014). Em ratos, a AFV materna, antes e durante a gestação, aumentou a neurogênese e a presença de glicoproteínas (auxiliadoras no processo de migração e posicionamento neuronal) no hipocampo e o aprendizado espacial aos 23 DPN da prole (SEGABINAZI, E. *et al.*, 2019). A prole adulta (125 DPN) proveniente de ratas que tiveram acesso à roda de corrida durante a gestação, apresentou aumento da neurogênese na porção dorsal do hipocampo e menor responsividade ao estresse (GOBINATH, A. R. *et al.*, 2018). Além de favorecer o desenvolvimento da prole, a prática de AFV também atua como fator protetor a estímulos ambientais adversos (CASTRO-RODRÍGUEZ, D. C. *et al.*, 2020).

A prática de AFV materna ou pela prole parece atenuar os efeitos da exposição precoce a estímulos ambientais, levando a danos no processo de desenvolvimento do organismo. Em camundongos, a prática de corrida na roda pelas mães, antes da gestação, atenuou os efeitos da exposição ao estresse de contenção pré-natal, sobre a expressão hipocampal de BDNF na prole adulta (LUFT, C. *et al.*, 2021). Em ratos que foram expostos ao estresse de privação materna durante a lactação, a prática de AFV, dos 21 até os 98 DPN, reduziu a expressão de comportamentos relacionados à ansiedade e depressão, normalizando também a expressão dos receptores de glicocorticoide e serotonina (5HT1A), e de BDNF no hipocampo (MANIAM, J.; MORRIS, M. J., 2010). Em roedores, a prática de AFV pela prole de mães que consumiram álcool durante a gestação e até o 10º dia de lactação, resultou na redução da expressão de comportamentos relacionados à depressão e marcadores de estresse oxidativo no hipocampo e cerebelo da prole (BROCARD, P. S. *et al.*, 2012). Este efeito protetor da AFV também pode ser observado com relação a estímulos referentes à nutrição materna.

Os efeitos do consumo materno inadequado de nutrientes parecem ser atenuados pela prática de AFV materna. Proles de ratas que consumiram DHP (8% de caseína) e praticaram AFV na gestação e lactação, não apresentaram atraso na ontogenia reflexa (aversão ao precipício e geotaxia negativa), crescimento somático (eixo latero-lateral e anteroposterior do crânio), atividade locomotora e atividade exploratória aos 23, 45 e 60 DPN da prole

(FRAGOSO, J. *et al.*, 2017). Em ratos, foi observado que a prática de AFV por mães alimentadas com DHP (8% de caseína), durante a gestação e lactação, atenuou os efeitos da dieta sobre a expressão do receptor quinase B de tirosina no cérebro da prole no 20º dia de gestação (FRAGOSO, J. *et al.*, 2021). Ainda em roedores, o consumo materno de DHL (60% de ácido graxo) associado à prática de corrida na roda pela mãe durante a gestação, reduziu os efeitos deletérios da dieta sobre a capacidade de aprendizado da prole no teste de labirinto aquático de Morris (MOSER, V. C. *et al.*, 2017). Já no que diz respeito à expressão gênica de neurotransmissores no SNC de roedores, filhotes provenientes de mães que consumiram DHL (45% de ácido graxo) e praticaram AFV durante a gestação, apresentaram aumento da expressão de genes relacionados à dopamina (DA) e opioides no sistema central de recompensa, associado a um menor risco de depressão durante a infância e idade adulta (SONG, L. *et al.*, 2020). Assim, a AFV materna além de promover o desenvolvimento da prole, também atua reduzindo a influência de estímulos ambientais adversos sobre os filhotes.

Adicionalmente, o efeito positivo sobre a prole pela exposição do organismo materno a estímulos ambientais, não é limitado unicamente à prática de AFV. A exposição materna a ambientes que mudam dinamicamente (enriquecidos), incentivando a socialização, atividade motora, estimulação sensorial e cognitiva, também beneficia o desenvolvimento da prole (MCDONALD, M. W. *et al.*, 2018). Em mulheres gestantes europeias, foi observado que o acesso frequente à áreas naturais (parques e bosques) e a qualidade do ambiente doméstico (amplitude e variedade de estímulos cognitivos), resultou em menos risco do feto ser pequeno para a idade gestacional e melhora transitória do desempenho escolar dos filhos, aos 5 anos de idade (ORRI, M. *et al.*, 2019; TORRES TODA, M. *et al.*, 2022). Ratas gestantes expostas à gaiolas enriquecidas com objetos (túneis e tocas), apresentaram melhora na qualidade da lactação, aumento de prolactina plasmática, triglicerídeos e diversidade microbiana no leite, e da sobrevivência da prole com nascimento prematuro (DEROSA, H. *et al.*, 2022; NÚÑEZ-MURRIETA, M. A. *et al.*, 2023). Com isso, a exposição materna a ambientes mais complexos e mutáveis, estimulando a exploração sensorial e cognitiva, também parece guiar ao desenvolvimento saudável da prole.

A prática de AFV durante os períodos da gestação e lactação confere vantagens para o adequado crescimento e desenvolvimento da prole. A manutenção dos níveis de atividade física materna favorece um ambiente intrauterino saudável, permitindo que o feto se desenvolva sem restrições (MORALES-SUÁREZ-VARELA, M. *et al.*, 2021). As alterações observadas parecem estar associadas a uma melhor função uteroplacentária, por melhora da perfusão sanguínea e transporte de nutrientes para o feto em desenvolvimento (LOISELLE, J. *et al.*,

2020). Decorrente destas alterações, através da prática de AFV materna, mesmo na presença de estímulos ambientais adversos, a prole tende a apresentar melhor capacidade de aprendizado, memória, atividade exploratória e risco reduzido de transtornos comportamentais. Estas características são importantes durante interações com seus pares em ambientes sociais, porém, ainda não foi feita associação entre AFV materna e a expressão de comportamentos sociais da prole.

2.4 AMBIENTE SOCIAL E EXPRESSÃO COMPORTAMENTAL

Ambientes sociais emergem naturalmente através da interação entre animais e seu convívio em grupo, que leva a vantagens associadas à sobrevivência. Na natureza, a vigilância para predação é mais eficiente quando em grupo, cobrindo uma área maior em busca de predadores (HEATHCOTE, R. J. *et al.*, 2017). O gerenciamento de recursos torna-se mais eficiente, pois dependendo das características do recurso (demanda, sazonalidade e quantidade) membros de um mesmo grupo podem coordenar a proteção contra coespecíficos não pertencentes ao grupo (BROWN, M., 2013; MAHER, C. R.; LOTT, D. F., 2000). Além disso, o aparecimento de sociedades em multiníveis (um grupo maior formado por mais de dois grupos originais), em primatas não humanos, melhora o gerenciamento de recursos, busca por alimentos, e a possibilidade de gerar e transferir melhores genes aos descendentes (PISOR, A. C.; SURBECK, M., 2019). Estes benefícios apenas são possíveis a partir da manutenção da coesão entre os membros do grupo, dependendo de como as interações sociais ocorrem, são percebidas e interpretadas.

Interações sociais podem ter características pró-sociais, fortalecendo a coesão do grupo através de ações empáticas (cuidar, compartilhar e voluntariar-se), ou antissociais que envolvem ações egocêntricas (disputas por recursos ou poder) (PLANAS-SITJÀ, I. *et al.*, 2018). Um estudo no Reino Unido observou que a inserção de adolescentes em um novo grupo, no ambiente escolar, aumentou a expressão de comportamentos pró-sociais com a finalidade de fortalecer as relações interpessoais (AHMED, S. *et al.*, 2020). Em ratos, a exposição do parceiro de gaiola a situações aflitivas (estresse de contenção ou isolamento social) estimulou a expressão de comportamentos pró-sociais pelo outro animal, levando à formação de laços afiliativos (BURKETT, J. P. *et al.*, 2016; WARDWELL, J. *et al.*, 2020). Em humanos, foi observado a expressão de comportamentos egocêntricos por crianças, que não compartilhavam mais de 40% dos recursos (brinquedos ou doces) com seus parceiros de grupo, reterdo maior quantidade para si (BENENSON, J. F.; PASCOE, J.; RADMORE, N., 2007; BLAKE, P. R.;

RAND, D. G., 2010). Além disso, a partir de interações entre indivíduos em ambientes sociais, podem ser observadas respostas comportamentais distintas.

A exposição a ambientes sociais leva a alterações na expressão comportamental, que parece ter por finalidade a manutenção da identidade positiva do indivíduo dentro do grupo (KWASNICKA, D. *et al.*, 2016). Em humanos, isto fica mais evidente na fase da adolescência, pois indivíduos engajam com maior frequência em interações sociais fora da unidade familiar primária (LARSON, R. W. *et al.*, 1996). Em adolescentes, a predisposição para a expressão de comportamentos de risco (ex. dirigir em alta velocidade e uso de entorpecentes) apresentou correlação positiva com o grau de afinidade observado entre membros do grupo (VAN HOORN, J. *et al.*, 2019). Em adolescentes, com 9-17 anos de idade, as respostas comportamentais durante interações sociais foram dependentes do grau de engajamento afetivo de terceiros, revelando processamento socioafetivo durante a seleção de comportamentos a serem expressos ou reprimidos (GUYER, A. E. *et al.*, 2009). Assim, alterações na expressão comportamental, principalmente durante a adolescência, que ocorram em função do ambiente social parecem visar à formação e manutenção de relações afiliativas.

Em primatas não humanos e ratos, alterações na expressão comportamental também podem ser observadas, buscando a coesão e bem-estar do grupo. Em chimpanzés podem ser observadas ações colaborativas, em que membros do grupo alinham a sua expressão comportamental para facilitar a aquisição de recursos ou transpor obstáculos físicos na natureza (NEWTON-FISHER, N. E., 2015). Durante um paradigma, com a finalidade de avaliar o comportamento cooperativo, foi observado que chimpanzés após acessarem um recurso desejado, permaneceram dando suporte ao seu parceiro de grupo na tentativa dele também obter o recurso (MELIS, A. P.; TOMASELLO, M., 2013). Em ratos, constantemente é observada a tolerância de coespecíficos pertencentes a um grupo comum durante as refeições, mesmo quando dividem a mesma fonte de alimento (CALHOUN, J. B., 1963). Em ratos, em um teste de resposta cooperativa (iterado dilema do prisioneiro), entre membros de um mesmo grupo, ratos mantiveram a expressão de comportamento cooperativo para resolver o teste, mesmo quando resultou em menos *pellets* de açúcar como recompensa (DONOVAN, A.; RYAN, E.; WOOD, R. I., 2020). Essas respostas comportamentais favorecem a coesão do grupo, que também pode ser mantida através de interações agonísticas, pela renúncia de privilégios por uma das partes durante disputas por recursos limitados (WATANABE, N.; YAMAMOTO, M., 2015).

Espécies sociais, frequentemente, organizam-se em uma estrutura social estratificada em diferentes níveis de poder, que leva à redução de conflitos, lesões intensas e à estabilidade

social (SCHJELDERUP-EBBE, T., 1922). A estratificação do grupo resulta de encontros agonísticos, que correspondem a situações de luta, fuga, perseguição e conciliação, permitindo a classificação de membros do grupo em dominante (DOM) e subordinado (SB) (WANG, F.; KESSELS, H. W.; HU, H., 2014). Membros DOM vencem com maior frequência encontros agonísticos, enquanto os SB assumem comportamentos de submissão com frequência, que em ratos são caracterizados pela adoção da postura supina (um animal em decúbito dorsal com o outro parado sobre ele) (WANG, F. *et al.*, 2011; WILLIAMSON, C. M.; LEE, W.; CURLEY, J. P., 2016). Em humanos, foi observado que a ausência de liderança, entre membros de um grupo de empregados, resultou em menor coesão, produtividade e mais ações conflitantes no ambiente de trabalho (ROUSSEL, L., 2019). Em chimpanzés e ratos, a estratificação em níveis diferentes de poder, reduziu a disputa por recursos entre os membros do grupo, particularmente durante os períodos de acasalamento, onde machos SB evitam as fêmeas reduzindo os conflitos (VIGILANT, L. *et al.*, 2001). Assim, através da demonstração de poder e a concessão feita pelos outros membros, por ser mais vantajoso viver em grupo, ocorre a manutenção do bem-estar social.

2.4.1 Ambiente social e fases iniciais da vida

O ambiente social pode ser considerado como um importante agente modulador durante o processo de desenvolvimento em espécies sociais. Após o nascimento, a primeira forma de interação social a que animais são expostos, principalmente mamíferos, é a interação mãe-filho que consiste basicamente de ações de cuidados da mãe com a prole (GUDSNUK, K.; CHAMPAGNE, F. A., 2012). Em *macacos-vervet*, o tempo dispendido em interações sociais pela mãe com seus filhos, durante os 6 primeiros meses de vida da prole, foi associado à expressão de comportamentos pró-sociais (cuidado e auxílio) durante a juventude da prole (FAIRBANKS, L. A., 1989). Em ratos (*Long-Evans*), foi observado que a frequência com que ratas cuidaram (lambendo, limpando e aquecendo) da sua prole, durante o período pós-natal, estava associada à atenuação da responsividade ao estresse, atividade exploratória do ambiente e desempenho em tarefas cognitivas da prole (CALDJI, C.; DIORIO, J.; MEANEY, M. J., 2000; LIU, D. *et al.*, 2000). Por outro lado, a interrupção da qualidade das interações entre mãe-filho parece repercutir negativamente sobre a expressão comportamental da prole.

A exposição a um ambiente social marcado por negligência ou abuso emocional, nas fases iniciais da vida, pode resultar em transtornos comportamentais. Em humanos, baixos níveis de afeto durante interações mãe e filho, até os dois primeiros anos de vida, aumentaram a probabilidade da expressão de comportamentos compulsivos, ansiosos e depressivos pelos

filhos na infância e na idade adulta (STRATHEARN, L. *et al.*, 2020). Em uma revisão sistemática, que reuniu 23 artigos, foi observado que interações menos afetuosas (negligência emocional) entre pais e filhos, parece aumentar o risco de transtornos alimentares (anorexia nervosa e compulsão alimentar) durante a idade adulta dos filhos (KIMBER, M. *et al.*, 2017). Em ratos, a restrição de materiais de nidificação durante o período pós-natal levou ao aumento de interações agressivas entre mãe e filhotes, resultando em maior responsividade ao estresse e deficiência na memória espacial da prole (RAINEKI, C. *et al.*, 2010). Da mesma forma, a exposição da prole a sessões (duração de 1-24 horas) de privação materna, resultou na expressão de comportamentos relacionados à ansiedade e depressão ao longo da vida da prole (MIRAGAIA, A. S. *et al.*, 2018). Assim, a interrupção das interações entre mãe e filho, através de negligência emocional ou privação, pode influenciar o desenvolvimento da prole, implicando transtornos comportamentais.

Durante a infância e adolescência, animais, incluindo humanos, engajam com frequência em interações sociais, também conhecidas como brincadeira social (BS) ou jogo-bruto ou de luta (*rough-and-tumble play*) (VANDERSCHUREN, L. J.; TREZZA, V., 2014). De modo geral, a BS serve para facilitar o desenvolvimento de habilidades sociais, cognitivas, emocionais e motoras, favorecendo o uso destas habilidades de forma flexível em ambientes mutáveis e imprevisíveis (PELLIS, S.; PELLIS, V., 2009). Em humanos, a BS começa a ser observada próximo ao primeiro ano de vida, onde as crianças executam ações como passar por cima umas das outras, agarram-se, rolam e simulam lutas (HEESEN, R. *et al.*, 2017). Em crianças de 2-5 anos de idade, foi observado que o aumento de tempo despendido em BS melhorou o desempenho em um Inventário de Comportamento Social Adaptativo, pois apresentaram maior motivação para início de interações sociais, frequência de diálogos expositivos, cooperação e mais ações comedidas em interações “hostis” (HINKLEY, T. *et al.*, 2018). Então, a partir da BS crianças podem testar possibilidades de interação social, explorando mudanças no ambiente físico e emocional dos parceiros de brincadeira.

Em ratos, a BS emerge próximo dos 17-19 DPN, com a frequência e intensidade das interações atingindo seu pico entre os 28-40 DPN (PANKSEPP, J., 1981). Normalmente as interações iniciam a partir da tentativa de um dos animais em alcançar a nuca do seu parceiro de brincadeira com seu focinho (ataque lúdico, AL). A partir dessa tentativa o animal recipiente pode fugir, levando a situações de perseguição pelo animal atacante, assumir a postura de defesa em pé (mais evidente com a aproximação da maturidade sexual) ou a postura supina de defesa (PS), sendo esta a resposta mais comum (PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C., 2017). A expressão destes comportamentos sociais, durante a BS, são de fácil identificação e quantificação, e a

partir deles pode-se inferir o grau de motivação para início da interação (AL) e maturação comportamental através de características como assertividade e uso de estratégias comportamentais mais eficientes (PANKSEPP, J.; BEATTY, W. W., 1980). Assertividade é uma característica desenvolvida ao longo do tempo, em que animais atacantes passam a ter maior eficiência em alcançar a nuca do parceiro, resultando com maior frequência em adoção da PS pelo parceiro de BS (PELLIS, S. M. *et al.*, 1997; REINHART, C. J.; PELLIS, S. M.; MCINTYRE, D. C., 2004). Além disso, com o avançar da idade a resposta ao AL muda, de apenas assumir a PS para adoção de estratégias mais complexas (rotação parcial do tronco e defesa em pé ou boxe) que facilitam o contra-ataque, sendo um indicador de maturação comportamental (PELLIS, S. M.; MCKENNA, M. M., 1992).

O processo de maturação de comportamentos sociais, através da BS durante a infância e adolescência, tem sido observado principalmente em díades de ratos, em sessões com duração e frequência controladas (PANKSEPP, J., 1981; PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C., 1990). Nesses estudos, antes das sessões de BS, ocorre a indução de isolamento social para aumentar a motivação dos ratos para iniciar interações sociais (PAPILLOUD, A. *et al.*, 2018; REINHART, C. J.; PELLIS, S. M.; MCINTYRE, D. C., 2004). Porém, sessões de BS em díades, precedidas por isolamento social, não permitem verificar como a exposição de forma crônica a ambientes sociais afetam a maturação e expressão comportamental. Além disso, o isolamento social antes das sessões de BS, também pode levar os ratos a respostas comportamentais exageradas ou inadequadas. Como observado em ratos, sessões de isolamento social na infância levaram ao aumento da frequência de interações agressivas, o número de feridas recebidas e tempo para assumir a PS frente a um animal previamente DOM (VON FRIJTAG, J. C. *et al.*, 2002). Assim, a formação de grupos sociais, da infância até a adolescência, pode ser um melhor modo de se estudar o processo maturacional de comportamentos sociais, já que interações sociais ocorrem espontaneamente entre membros do grupo sem a necessidade de estímulos adicionais (isolamento social).

Desta forma, interações sociais que ocorrem desde o nascimento até a adolescência parecem estar associadas ao processo de aquisição e maturação de comportamentos sociais. A partir de interações com a própria mãe ou coespecíficos durante a infância e adolescência, indivíduos apresentam maior experiência em interações sociais desde a infância, resultando em melhor repertório de habilidades sociais. Por isso, o isolamento ou estresse social, durante as fases iniciais da vida, pode levar a um menor repertório de habilidades sociais, ocasionando em menor flexibilidade na expressão comportamental frente a estímulos provenientes do ambiente social (TREZZA, V.; CAMPOLONGO, P.; VANDERSCHUREN, L. J., 2011). Então,

interações sociais que ocorrem nas fases iniciais da vida, parecem estar associadas ao desenvolvimento de habilidades sociais ricas e flexíveis, as quais são importantes para a vida em grupo.

2.4.2 Fatores que podem influenciar o ambiente social

Além das interações sociais dentro de um grupo, outros fatores, que não estão inteiramente associados ao ambiente social, também podem influenciar o contexto do grupo. Em humanos, a forma como relações interpessoais ocorrem envolve diferentes aspectos intrínsecos do indivíduo. Em humanos, foi observado que o grau de afeto empregado durante interações sociais parece aumentar quando as interações interpessoais não ocorrem de forma forçada, por possuírem um caráter menos obrigatório, reduzindo a sensação de dever (MCCONNELL, A. R., 2011). Em humanos com grau leve de transtorno bipolar, foi observado maior expressão de comportamentos relacionados à abordagem e avaliação positiva de terceiros durante interações sociais, refletindo nessas pessoas uma maior sensibilidade ou tendência a contextos sociais positivos (CAMPELLONE, T. R.; PECKHAM, A. D.; JOHNSON, S. L., 2018). Em humanos, o grau de afeto empregado durante interações sociais entre membros de um grupo, aumentou de acordo com a sensação de satisfação de indivíduos com o ambiente físico (casa ou bairro) no qual eles estavam inseridos (VLADISAVLJEVIĆ, M.; MENTUS, V., 2018). Em modelos animais, a espécie e as linhagens utilizadas podem alterar as interações no ambiente social.

O ambiente social em primatas não humanos e roedores varia de acordo com as espécies e linhagens utilizadas, respectivamente. Em primatas não humanos, a capacidade de flexibilidade e inibição da expressão de comportamentos dentro do ambiente social varia de acordo com a espécie dos animais, sendo os orangotangos os mais hábeis quanto à expressão dessas capacidades (AMICI, F.; CALL, J.; WATZEK, J., 2018). Em ratos, a linhagem *Long-Evans* é mais propícia à territorialidade, por isso são as mais utilizadas em modelos que pretendem induzir ambientes sociais marcados por interações hostis, como o sistema de toca visível (*Visible burrow system-VBS*) (FEKETE, E. M. *et al.*, 2009). Outras linhagens, como *Sprague-Dawley* e *Wistar*, que são linhagens mais dóceis, são utilizadas na formação de grupos com contextos sociais mais estáveis e em testes de cooperação, por expressarem mais comportamentos pró-sociais e menos brigas intensas (MANDUCA, A. *et al.*, 2014). Além disso, eventos que ocorreram ainda nas fases da gestação e lactação podem modificar o ambiente social da prole.

Durante as fases da gestação e lactação, a exposição a estímulos adversos parece levar a alterações na expressão de comportamentos sociais pela prole. Em humanos, foi observado que a ocorrência de depressão materna perinatal durante o período da gestação, ou entre as 4 semanas pós-nascimento e até um ano de vida da criança, prejudica as interações mãe-filho, que parece reduzir o engajamento social dos filhos durante a infância (GOODMAN, J. H., 2019). Em gestantes, com auxílio de um questionário sobre experiências com eventos estressantes, foi observado que altos níveis de estresse no início da gestação reduziu o desempenho em testes sociais, com aumento do risco de transtornos de humor durante a fase adulto jovem das filhas (MARECKOVA, K.; MILES, A., 2020). A prole proveniente de ratas que foram expostas durante a gestação a condições que simulam estresse pós-traumático, apresentou redução da sua capacidade de abordagem social a coespecíficos, e parece estar associado a uma maior expressão de comportamentos relacionados à ansiedade (CHAGAS, L. A. *et al.*, 2021). Em ratos, em um modelo de indução de inflamação alérgica sistêmica durante a gestação, foi observado na prole a expressão anormal de comportamentos durante interações sociais, marcadas por hiperlocomoção e baixa frequência de abordagem social (BREACH, M. R. *et al.*, 2021). Assim, estímulos ambientais adversos, durante a gestação e lactação, podem influenciar a expressão comportamental da prole durante interações sociais, porém, estudos sobre as associações entre aspectos nutricionais e a AFV materna sobre o componente social da prole ainda não foram realizados.

3 MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 9 ratas não irmãs da linhagem *Wistar* (peso corporal 220-260g, idade entre 85-95 dias) provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação no Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão - UFPE (CAV), com temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2$, num ciclo invertido 12/12h [ciclo claro (20:00 às 08:00 h) e ciclo escuro (08:00 às 20:00 h)] com livre acesso à água e alimentação durante todo o experimento. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais (Processo nº 0031/2019) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). A manipulação e os cuidados com os animais seguiram as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Este estudo recebeu apoio financeiro no âmbito do projeto: “Mecanismos celulares e moleculares associados à origem perinatal de doenças cardiometabólicas na vida adulta: papel da nutrição e da atividade física durante o crescimento e desenvolvimento de ratos” que foi aprovado no Edital APQ/FACEPE/PRONEM (Edital-0797-4.05/14) e Edital PNPD Facepe/Capes (Processo número 88881.159189/2017-01).

3.2 PROTOCOLO DE ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA

A gaiola de atividade física voluntária materna (GAFVM) é feita de acrílico com 27 cm de largura, 34 cm de altura e 61 cm de comprimento (Figura 2a). Em uma das extremidades foi posicionada uma roda de corrida com 27 cm de diâmetro, feita de acrílico e raios em fibra de vidro (Figura 2b). Um ciclocomputador (Cateye, modelo CC-AT200W, Colorado, EUA) foi anexado à roda de corrida para medir a AFV (Figura 2c). A AFV das ratas foi avaliada pela movimentação da roda de corrida, sendo quantificada diariamente pelos sensores, permitindo o registro da distância percorrida (km), tempo de atividade (min) e estimativa do gasto calórico (kcal). A velocidade média de corrida não foi quantificada, pois segundo

O desenho experimental está descrito na figura 1. As ratas nulíparas foram colocadas individualmente nas GAFVM com livre acesso à roda de corrida (n=6) ou com a roda travada (n=3) durante 30 dias para adaptação. Após esse período, as ratas com acesso à roda de corrida foram classificadas em ativas (A, n=3) e muito ativas (MA, n=3) de acordo com os parâmetros e valores apresentados na tabela 1. A classificação das ratas seguiu o protocolo de SANTANA MUNIZ, G. *et al.* (2014), o qual não considera a velocidade média de corrida, por isso essa variável não foi quantificada no estudo atual. O grupo de ratas expostas a GAFVM com a roda de corrida travada (RT, n=3), induziu a não prática de corrida na roda e expôs as ratas a um ambiente semelhante ao grupo A e MA. Após a adaptação, as ratas foram colocadas para

acasalar em gaiolas padrão de biotério (33x40x17cm) durante quatro dias, com a confirmação da gestação através do ganho de peso corporal. O acasalamento foi realizado com diferentes machos, evitando que a prole de diferentes ratas compartilhassem de um mesmo pai. Após o acasalamento, as ratas foram recolocadas individualmente nas GAFVM, com livre acesso à roda de corrida (MA e A) durante a gestação até o 14º dia da lactação, e também foram quantificadas as variáveis de AFV. Dados referentes à ninhada de cada rata, antes do ajuste do n de filhotes para 8, estão presentes na tabela 2. A partir do 14º dia de lactação, todas as rodas foram travadas evitando que os filhotes se machucassem na roda de corrida. O desmame foi realizado aos 21 dias de idade da prole.

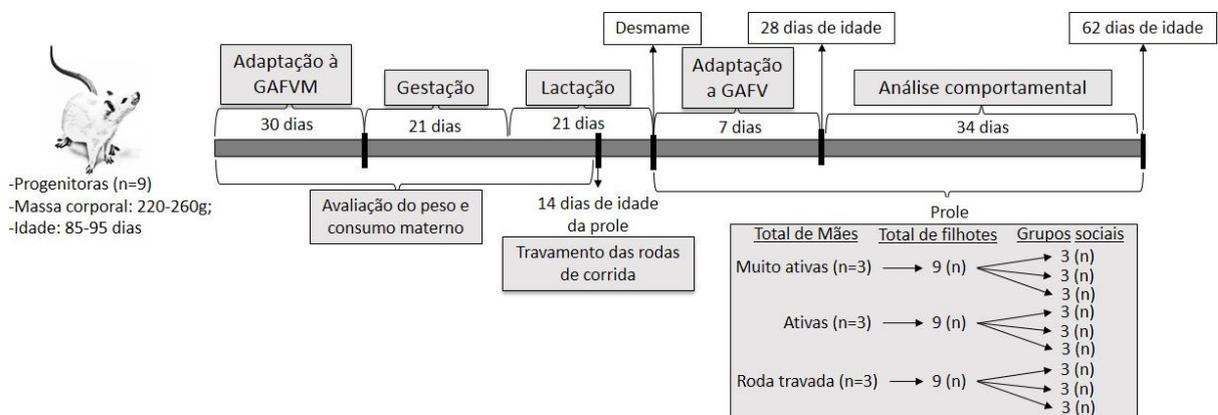


Figura 1. Desenho experimental. Gaiola de atividade física voluntária materna (GAFVM); Gaiola de atividade física voluntária (GAFV). Fonte: elaboração própria

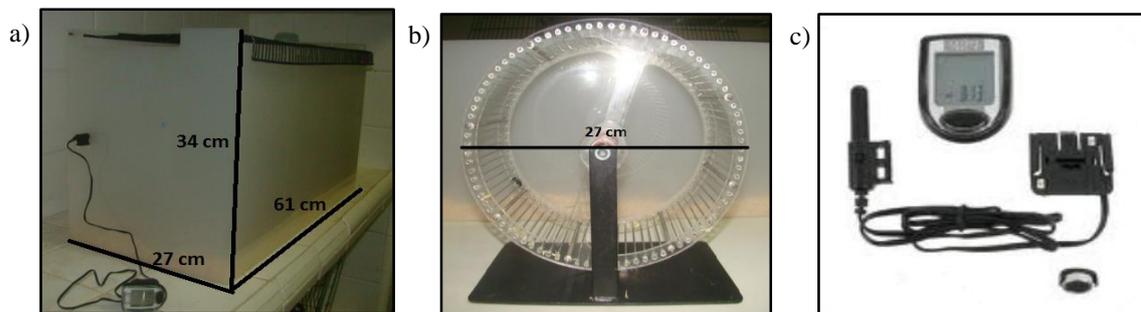


Figura 2. Dimensões da gaiola de atividade física voluntária materna (a); Roda de corrida (b), Esquema do funcionamento do ciclocomputador com os sensores [Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan] (c).

Tabela 1. Classificação dos grupos experimentais de acordo com a atividade física diária (distância percorrida, gasto calórico e tempo de atividade) na roda de corrida.

Grupos experimentais	n	Distância percorrida (km.dia ⁻¹)	Gasto calórico (km.s ⁻¹ .dia ⁻¹)	Tempo de atividade (min.dia ⁻¹)
Ativo	3	> 1.0 ≤ 5.0	> 10.0 ≤ 40.0	> 20 ≤ 120.0
Muito Ativo	3	>5.0	>40.0	>120.0

(SANTANA MUNIZ *et al.*, 2014)

Tabela 2. Descrição das características da ninhada de ratas muito ativas (n=3), ativas (n=3) e roda travada (n=3), antes do ajuste do n para 8 filhotes por ninhada

Característica da ninhada	Grupos experimentais								
	Muito ativas			Ativas			Roda travada		
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 1	Rata 2	Rata 3
Número de filhotes	15	13	10	13	13	10	14	11	10
Peso (g)	90	108	67	77	89	75	129	99	91
Número de machos	6	5	7	7	10	3	7	8	6
Número de fêmeas	9	8	3	6	3	7	7	3	4

Fonte: elaboração própria

3.3 PARÂMETROS RELACIONADOS AO CONSUMO ALIMENTAR MATERNO

3.3.1 Peso corporal e consumo alimentar

O registro do peso corporal e consumo alimentar das ratas foi realizado a cada três dias durante o período de adaptação, gestação e lactação utilizando uma balança Marte (BL3200H) com precisão de 0,01g. O percentual de ganho de peso corporal (%GPC) foi calculado da seguinte forma: $\%GPC = (\text{Peso corporal final (g)} \times 100 / \text{Peso corporal inicial (g)}) - 100$. O cálculo do consumo alimentar (g) foi determinado pela diferença entre a quantidade de ração ofertada e a quantidade de ração restante, três dias após a oferta. A ingestão calórica foi calculada através da multiplicação da quantidade de ração ingerida, durante os períodos de adaptação, gestação e lactação, pelo valor calórico da ração ingerida. As ratas consumiram durante todo o experimento ração padrão de biotério da marca NUVILAB CR1 (Quimtia S.A.), e sua composição química está descrita na tabela 3.

3.3.2 Necessidade energética e de consumo

A necessidade energética das ratas foi calculada através da seguinte fórmula: $H_{kcal} = M_{kcal} \times PV^{0,75}$. Onde H_{kcal} refere-se à necessidade energética para a manutenção do metabolismo basal, M_{kcal} a valores de referência para manutenção em condições basais segundo o Conselho Nacional de Pesquisa de Nutrição de Animais de Laboratório (EUA) (1995), expressos na tabela 4; e $PV^{0,75}$ ao peso metabólico que equivale à raiz quarta do peso corporal elevado ao cubo. A quantidade de dieta necessária a ser ingerida pelas ratas foi calculada a partir da divisão da necessidade energética pelo valor calórico (tabela 3) da ração ofertada. O cálculo da variação percentual foi realizado entre os valores referentes às necessidades e à quantidade de ração e calorias ingeridas pelas ratas durante os períodos de adaptação, gestação e lactação.

Tabela 3. Composição química da ração padrão de biotério NUVILAB CR1 (Quimtia S.A.) usada durante todo o experimento

Composição química	Ração NUVILAB CR1
Proteína (N x 6,25) (g/100 g)	22,51
Carboidrato (g/100 g)	56,30
Lipídeos (g/100 g)	5,12
Humidade e substâncias voláteis (g/100 g)	9,26
Cinzas (g/100 g)	6,81
Energia total (kJ/g)	15,10
Energia total (kcal/g)	3,61
Proteína (% VET)	24,92
Carboidrato (% VET)	62,33
Lipídeo (% VET)	12,75

kJ, quilojoule; VET, valor energético total.

Tabela 4. Valores de referência de quilocalorias para manutenção em condições basais nas diferentes fases fisiológicas de ratas

Fase fisiológica	Valores de referência para manutenção
Manutenção	114 Kcal
Gestação	265 Kcal
Lactação	311 Kcal

Kcal, quilocaloria; Fonte: Concelho Nacional de Pesquisa de Nutrição de Animais de Laboratório (EUA) (1995).

3.4 GAIOLA DE ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA (GAFV)

Após o desmame da prole (21 DPN), todos os animais continuaram recebendo ração padrão de biotério durante todo o experimento. De acordo com a similaridade do peso corporal, foram escolhidos três ratos machos de cada ninhada (n total de filhotes=27) para a formação dos grupos sociais, que foram transferidos para as GAFV. As GAFV são gaiolas de acrílico transparente com 60 cm de largura, 50 cm de altura e 80 cm de comprimento (Figura 3). A GAFV, comporta 3 animais, com 3 rodas de corrida para a prática de AFV de forma simultânea. A identificação dos animais foi feita através da marcação da calda por uma tinta atóxica (violeta genciana). Os animais foram submetidos a 7 dias de adaptação (21 aos 27 DPN) à GAFV. Após a adaptação, os animais foram filmados durante o ciclo escuro (12 horas por dia) por um período de cinco semanas (28 aos 62 DPN) (figura 1). As filmagens foram realizadas por uma câmera de infravermelho, conectada a um computador que armazenou as filmagens para análise.

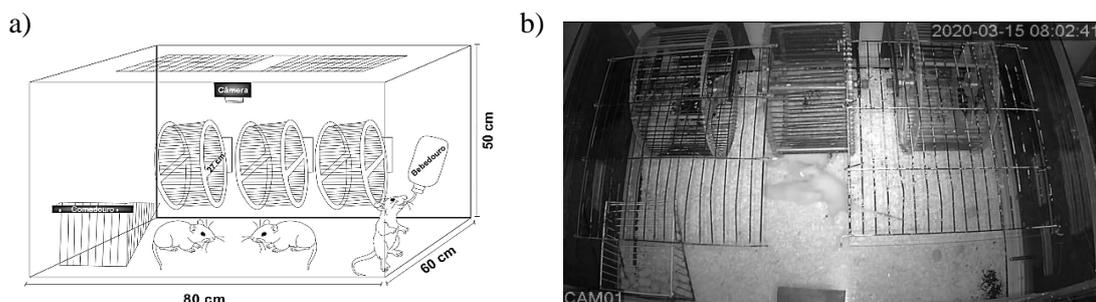


Figura 3. Gaiola de Atividade Física Voluntária (GAFV) com três rodas de corrida (a). Exemplo de imagem obtida a partir das filmagens (b). Fonte: Figura “a” BENTO-SANTOS, 2016; Figura “b” MARTINS, G.W., 2022.

3.5 PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS DA PROLE

Para a análise comportamental foi utilizado um contador de eventos e marcador de tempo (Figura 4) (linguagem de programação C++ e biblioteca Open CV 2.4.9). A mensuração manual de comportamentos dos três ratos foi realizada simultaneamente na GAFV a cada hora (das 8:00hs às 20:00hs). Com isso, o tempo despendido em diferentes comportamentos, como brincadeira social (BS) (PANKSEPP, 1981), atividade física voluntária na roda (AFV) e atividade espontânea (AFE) (GARLAND *et al.*, 2011) foram quantificados diariamente dos 28 aos 62 DPN. Estes comportamentos estão descritos na tabela 5. Todas as análises comportamentais foram realizadas pelo mesmo pesquisador e todo o estudo ocorreu de forma duplo-cega. Um total de 21 filhotes foram analisados, sendo 6 provenientes de MA, 9 de A e 6 de RT.

Dados secundários foram incluídos no estudo atual, de filhotes provenientes de mães mantidas em gaiolas padrão de biotério (33x40x17cm), sendo o nosso grupo controle (n=9). Os filhotes passaram por todos os procedimentos citados anteriormente, sendo utilizados os dados referentes ao tempo despendido em BS e AFV na roda, dos 28 aos 62 DPN. As análises comportamentais foram realizadas utilizando o mesmo software e diretrizes para quantificação do tempo despendido em BS e AFV, evitando disparidades entre as análises do estudo atual e da base de dados secundária. Dados referentes à atividade física espontânea e componentes da BS não foram utilizados.



Figura 4. Software marcador de tempo construído na linguagem de programação C++ e com a biblioteca OpenCV. Fonte: BENTO-SANTOS, 2016

Tabela 5. Características dos comportamentos relacionados à atividade física na prole durante a infância e juventude de ratos.

Comportamentos	Características
Brincadeira Social (BS)	Corresponde à forma inicial de interação social com intenso contato físico, sem um parceiro específico. As interações ocorrem de forma aleatória, sem uma intenção específica ou objetivo final. Esse tipo de interação inicia, normalmente, quando um rato (atacante) toca, ou tenta tocar, a nuca de seu parceiro com o focinho (ataque lúdico, AL), enquanto o parceiro (recipiente) usa várias manobras para evitar ou se libertar desse contato. Durante estes encontros, é comum um dos animais (dominado) assumir uma postura deitada com a superfície dorsal em contato com o chão (postura supina de defesa, PS), enquanto um outro animal (dominante) permanece sobre ele (VANDERSCHUREN <i>et al.</i> , 1995). Essa relação dominante-dominado muda de forma constante durante esse tipo de interação social. Porém, com o avançar da idade, esta aleatoriedade reduz e os animais tendem a responder de forma mais eficiente aos ataques lúdicos, assumindo a postura de defesa em pé (boxe), com contra-ataques e revertendo a PS (PELLIS e PELLIS, 1990).
Atividade Física Voluntária na Roda (AFV)	Corresponde ao comportamento de corrida na roda sem qualquer tipo de reforço ou motivação por fatores externos (GARLAND <i>et al.</i> , 2011).
Atividade Física Espontânea (AFE)	Corresponde a atividades de vida diária que demandam um dispêndio energético acima dos níveis de repouso (GARLAND <i>et al.</i> , 2011). AFE é a soma de movimentos livres na gaiola, exploração ambiental e deslocamentos fora da roda de corrida.

Fonte: MARTINS, G.W., 2019

Durante a BS, alguns comportamentos associados à motivação e maturação da expressão de comportamentos sociais foram quantificados diariamente dos 28 aos 62 DPN. Foram quantificados: o número de ataques lúdicos (AL), postura supina de defesa (PS), postura em pé de defesa (boxe) (Figura 5), contra-ataques e reversão da PS (RPS) (Tabela 5). A partir da quantificação diária do número de AL, identificamos a motivação para início da BS. Com a quantificação diária da frequência de adoção da PS, postura em pé de defesa ou boxe, contra-ataque e RPS foi identificada a maturação da expressão comportamental durante a BS. A quantificação destes comportamentos foi realizada individualmente para cada animal em seu grupo social.

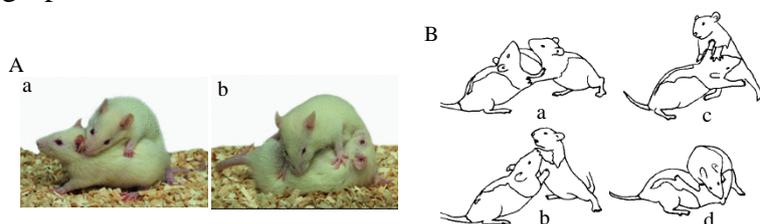


Figura 5. Representação de Ataque lúdico (AL) lançado na nuca do parceiro pelo animal atacante (**A**; a) e adoção da postura supina (PS) pelo rato recipiente (**A**; b). O rato que recebe o AL realiza uma rotação completa do tronco ficando de decúbito dorsal (PS), com o outro rato sobre ele. Postura de defesa em pé ou boxe (**B**), os ratos ficam em pé sobre as patas traseiras de frente um para o outro, movimentando rapidamente as patas dianteiras ou tentando desequilibrar o parceiro (**B**; a, b) para alcançar sua nuca (**B**; c, d).

Fonte: figura **A** adaptada de Vanderschuren e Trezza (2014) Copyright (2013), com a permissão da Springer Nature (número da licença: 4504410079286). Figura **B** adaptada de PELLIS *et al.* (1997) Copyright (2018), com a permissão da Elsevier (número da licença: 4463021197417).

3.5.1 Categorização da prole referente ao tempo despendido em comportamentos ativos e a expressão de comportamentos sociais durante a brincadeira

Os valores utilizados para a categorização diária quanto ao tempo despendido em comportamentos ativos dos animais estão presentes na tabela 6. Através do cálculo da mediana de todos os animais ($n = 30$), incluindo dados secundários, e identificação dos percentis 25 e 75 para o tempo de AFV e BS dos 28 aos 62 DPN, os filhotes de forma individual foram classificados diariamente em pouco, ativo e muito ativo. Para o cálculo da mediana e identificação dos percentis 25 e 75 para o tempo de AFE, foi considerado apenas os dados de tempo da prole de ratas MA, A e RT ($n = 21$) dos 28 aos 62 DPN, sem a inclusão de dados secundários.

Os valores utilizados para a categorização diária dos animais quanto a expressão de componentes da BS estão presentes na tabela 7. A categorização foi realizada a partir do cálculo da mediana da prole de ratas MA, A e RT ($n = 21$), e dos percentis 25 e 75 do número diário de vezes que foram expressos AL, PS, AL seguidos de PS, boxe, contra-ataque e RPS, permitindo a classificação dos filhotes em baixo, médio e alto número de expressão desses componentes da BS dos 28 aos 62 DPN.

Tabela 6. Classificação dos filhotes de acordo com o tempo diário despendido em atividade física voluntária, espontânea e brincadeira social, dos 28 aos 62 dias.

Comportamentos ativos	Tempo diário despendido (min.dia)		
	Pouco ativo	Ativo	Muito ativo
Atividade física voluntária (AFV)	$\leq 20,63$	$> 20,63 \leq 31,32$	$> 31,32$
Atividade física espontânea (AFE)	$\leq 9,94$	$> 9,94 \leq 21,12$	$> 21,12$
Brincadeira social (BS)	$\leq 12,24$	$> 12,24 \leq 17,48$	$> 17,48$

Fonte: elaboração própria

Tabela 7. Classificação dos filhotes de acordo com o número de vezes em que foram expressos comportamentos sociais durante a brincadeira social, dos 28 aos 62 dias.

Comportamento social	Número de vezes que foi observado		
	Baixo	Médio	Alto
Ataque lúdico (AL)	≤ 38	$> 38 \leq 51$	> 51
Postura supina (PS)	≤ 18	$> 18 \leq 28$	> 28
Ataque lúdico seguido de postura supina (ALPS)	≤ 13	$> 13 \leq 22$	> 22
Reversão da postura supina (RPS)	0	$> 0 \leq 2$	> 2
Boxe (postura de defesa em pé)	≤ 1	$> 1 \leq 3$	> 3
Contra-ataques	≤ 2	$> 2 \leq 3$	> 3

Fonte: elaboração própria

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do SPSS versão 23 (IBM® SPSS Statistics) e os gráficos foram montados no GraphPad Prism 7® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Dados maternos estão expressos de forma individual e a média do grupo, de acordo com o nível

de AFV. Para identificar a frequência diária de classificação dos filhotes, de acordo com a expressão de comportamentos ativos e sociais, foi utilizado o teste de Qui-quadrado de associação. O teste do Qui-quadrado de Pearson foi utilizado para verificar a associação global entre a frequência diária de classificação dos filhotes em uma das categorias e o nível de atividade física materna. Para verificar a associação local, foram considerados os valores residuais padronizados ajustados para cada célula. Dados da prole estão expressos de acordo com a frequência observada da classificação dos filhotes durante o período dos 28 aos 62 dias pós-natal.

O teste Kolmogorov-Sminorv foi utilizado para identificar se os dados da prole, referentes aos comportamentos analisados, apresentaram distribuição normal. Após identificar que os dados não possuíam distribuição normal, foi realizada a transformação logarítmica. Para a comparação entre os grupos do tempo despendido em AFV, AFE, BS e comportamentos sociais, foi utilizado a média e o desvio padrão, analisado pelo teste de variância ANOVA de duas vias seguido do teste de comparações múltiplas TUKEY, tendo como fatores o nível de atividade física materna e idade da prole. Os resultados foram considerados significantes para valores com alfa de 5% ($p \leq 0,05$).

4. RESULTADOS

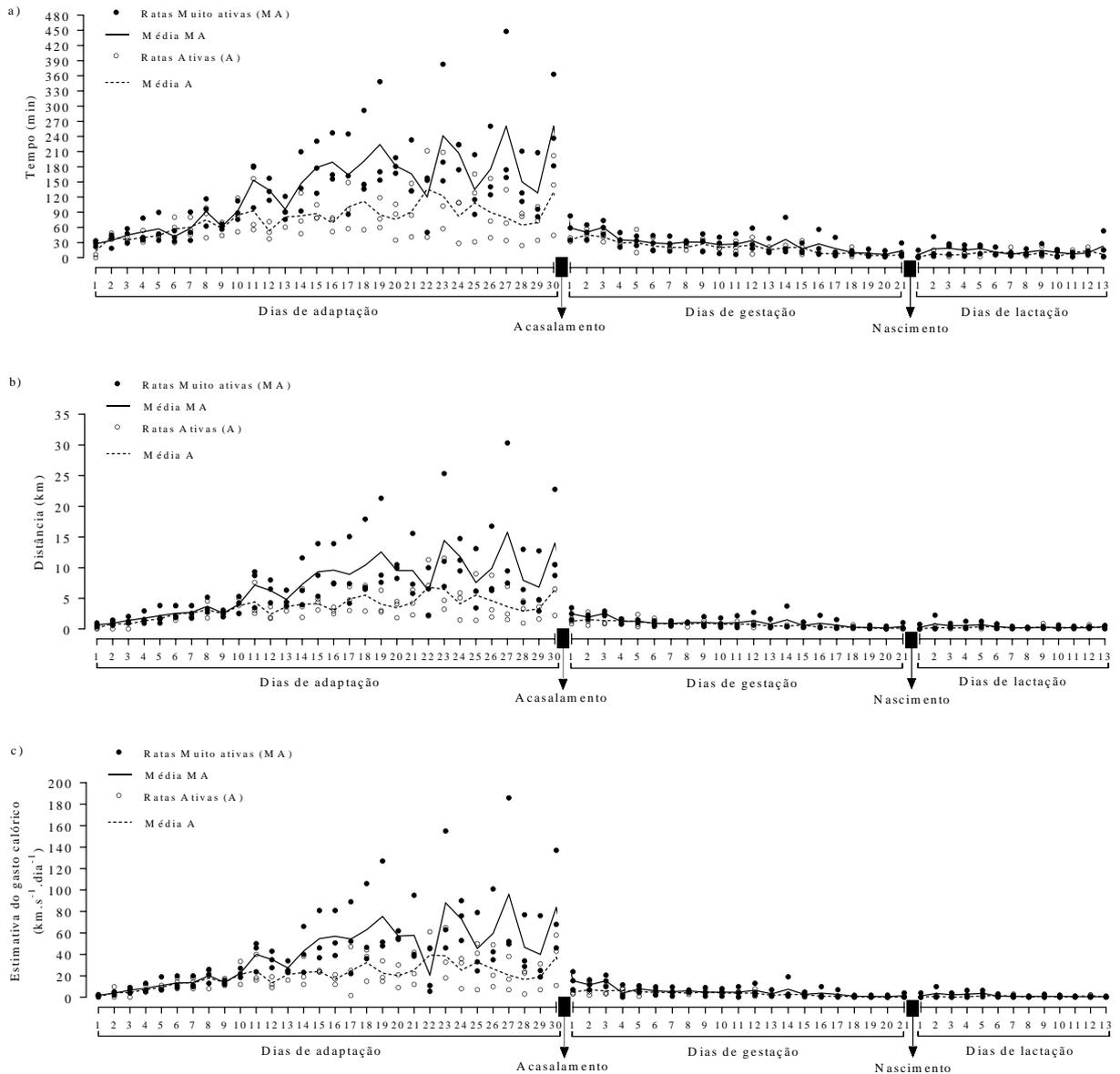
4.1 ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA E PARÂMETROS RELACIONADOS AO CONSUMO ALIMENTAR MATERNO

Diariamente, foi quantificado o tempo, a distância e a estimativa de gasto calórico. Este acompanhamento foi feito durante as 4 semanas antes do acasalamento (período de adaptação), a gestação e até o 13º dia de lactação (Figura 1). Ratas, após o 12º dia de adaptação, apresentaram padrões distintos de AFV, permitindo a classificação em A (n=3) e MA (n=3) (SANTANA MUNIZ *et al.*, 2014). Dos 12 aos 30 dias de adaptação, ratas MA despenderam entre 50,2 – 447,8 minutos por dia, enquanto que as ratas A de 23,97 - 211,62 minutos em corrida na roda por dia (Figura 1.a). A distância percorrida diariamente por ratas MA variou de 2,26 - 30,32 km e A de 0,94 à 11,53 km, dos 12 aos 30 dias de adaptação (Figura 1.b). A estimativa de gasto calórico por dia em ratas MA variou de 5,6 – 186 $\text{km.s}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ e A de 1,6 - 65 $\text{km.s}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ durante o período de adaptação (Figura 1.c).

Tanto as ratas MA como A, reduziram a média diária dos parâmetros de AFV de forma similar com o início da gestação e durante os 13 primeiros dias de lactação. Durante o período de adaptação e gestação as ratas MA e A reduziram respectivamente em: 67% e 72% o tempo, 85% e 80,6% a distância percorrida, 86,3% e 83,3% a estimativa de gasto calórico. Durante o período de adaptação e lactação, ratas MA e A reduziram respectivamente em: 87% e 82% o tempo despendido em AFV, 92,6% e 94% a distância percorrida, 97% e 96% a estimativa de gasto calórico (figura 1.c).

O peso corporal e o percentual de ganho de peso durante o período de adaptação, gestação e lactação estão representados na figura 2. Ao longo do período de adaptação, o peso corporal das ratas aumentou gradativamente. Uma das ratas do grupo MA manteve seu peso corporal inferior ao das outras ratas (MA, A e RT), durante o período de adaptação, apresentando um ganho de aproximadamente de 3,4 g a cada 3 dias (Figura 2.a). Ao longo da gestação foi observado um aumento do peso corporal de todas as ratas principalmente a partir do 10º dia, (Figura 2.a). Uma rata MA manteve seu peso corporal próximo à 200g do 1º ao 10º dia de gestação, atingindo um peso de 265g ao final da gestação (Figura 2.a). A partir do 1º dia de lactação todas as ratas apresentaram redução do peso corporal, com aumento gradativo ao longo dos dias, onde uma das ratas MA manteve seu peso corporal sempre abaixo das demais e próximo à 200g (Figura 2.a).

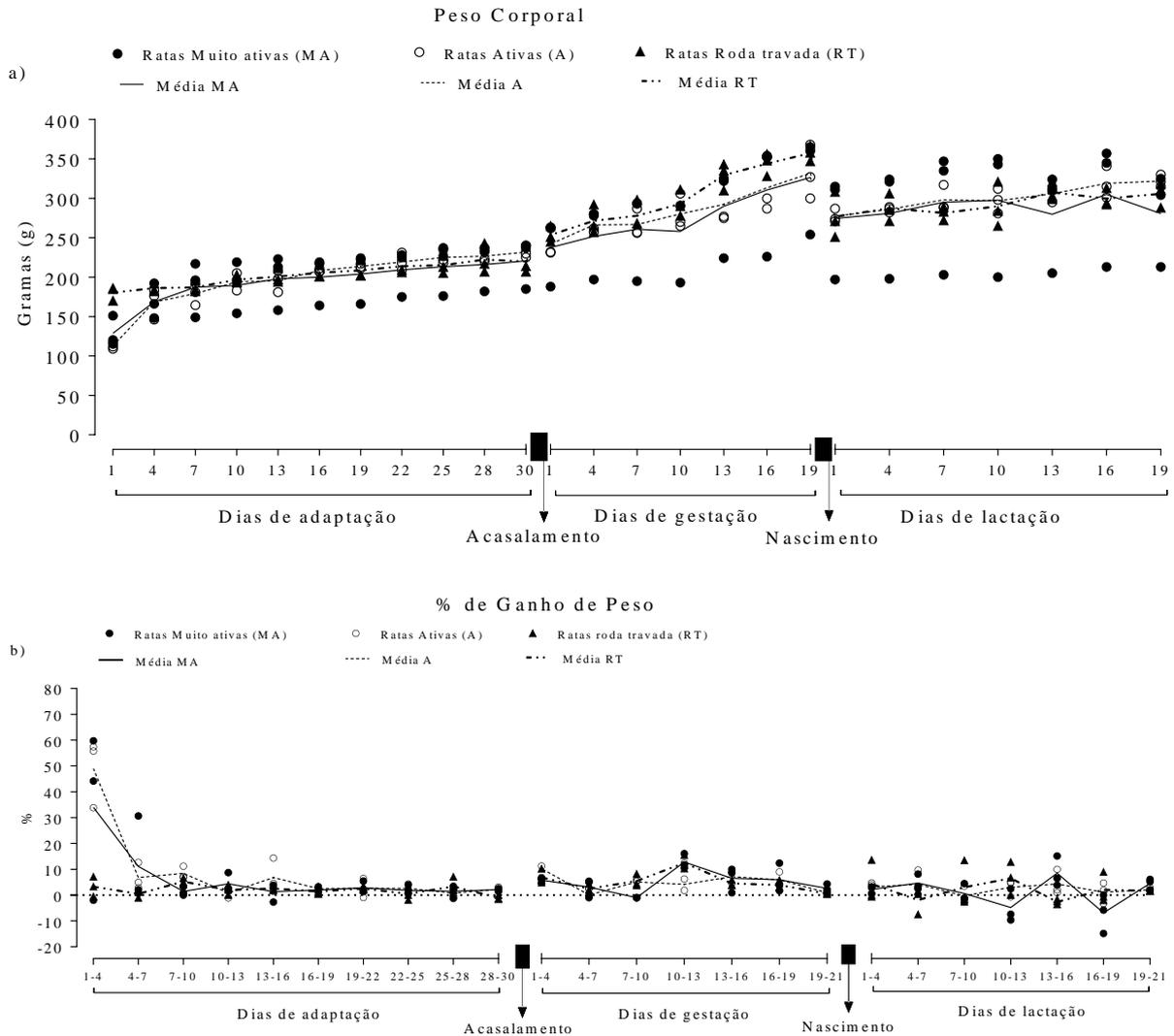
Figura 1. Gráfico da Atividade física voluntária materna



Tempo de atividade (a), distância percorrida (b) e estimativa de gasto calórico (c) diário durante os 30 dias de adaptação, gestação e lactação. Durante o período de adaptação as ratas foram classificadas em muito ativas ($n=3$) e ativas ($n=3$). Os valores estão representados individualmente para cada rata e como média.

O percentual do ganho de peso de duas ratas MA aumentou em 44,18% e 59,73%, do 1º ao 4º dia de adaptação (Figura 2.b). Em ratas A, ocorreu um ganho de peso corporal de 33,79%, 55,74% e 57,42%, e em duas ratas RT os ganhos foram de 3,23% e 7,06%, do 1º ao 4º dia de adaptação. Do 4º - 7º dia de adaptação uma rata MA ganhou 30,6% de peso corporal. Dos 19 aos 30 dias de adaptação, o ganho de peso das ratas não passou dos 10% e os valores de perda de peso foram inferiores a 2,69% (Figura 2.b).

Figura 2. Gráfico do Peso corporal e Percentual de ganho de peso materno

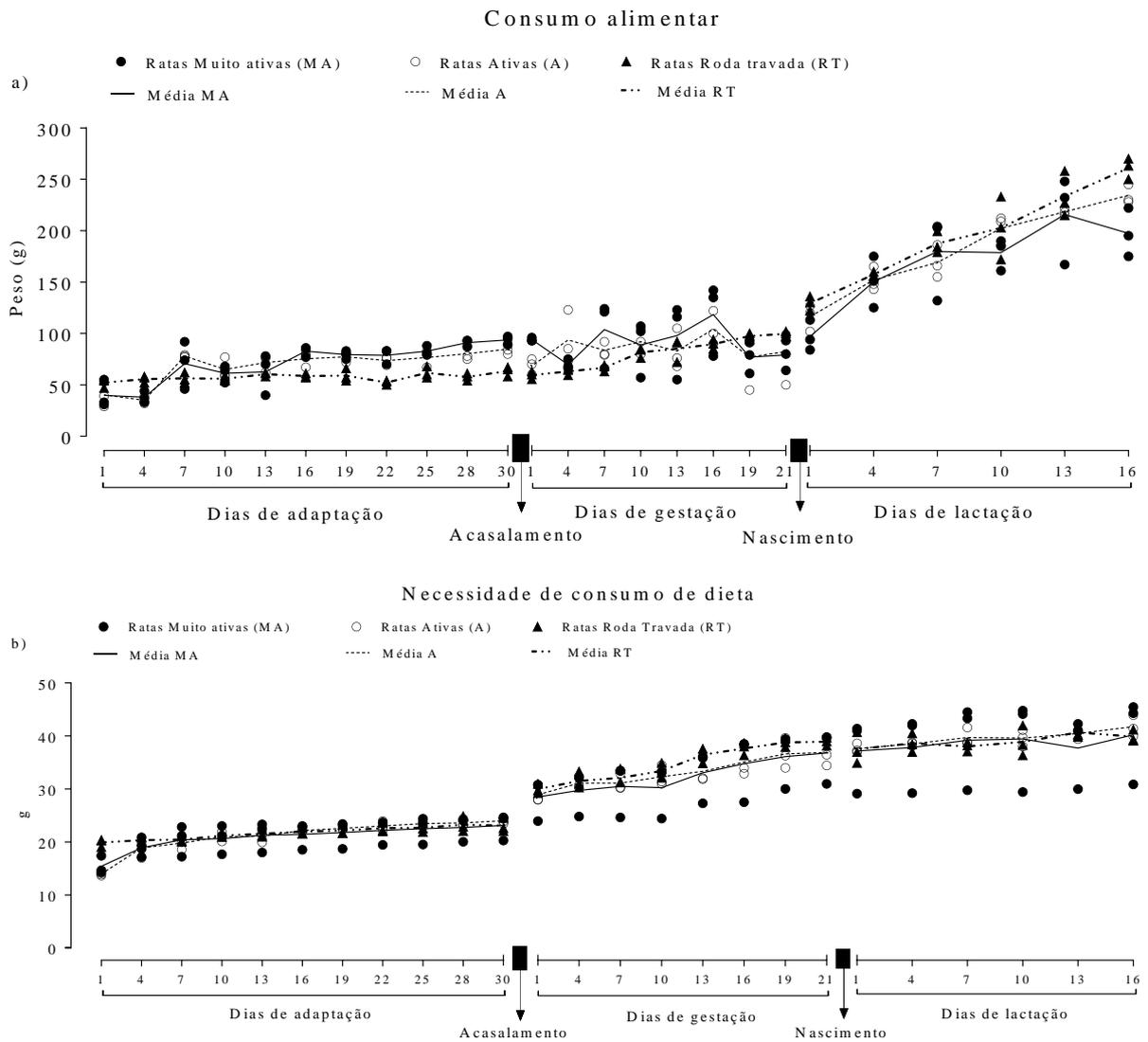


Peso corporal em gramas (a) e percentual do ganho de peso corporal (b) materno durante os 30 dias de adaptação, gestação e lactação. Os grupos foram constituídos por ratas muito ativas (MA, n=3), ativas (A, n=3) e rodas travadas (RT, n=3). Os valores estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rata.

Do 1º ao 4º dia de gestação foi observado ganho de peso nas ratas MA (4,79% - 6,46%), A (6,46% - 12,93%) e RT (4,9% - 10,19%). Ratas MA e RT ganharam cerca de 10,29% à 16,06% de peso corporal do 10º ao 13º dia de gestação. Do 1º ao 13º dia de lactação foi observado maior ganho de peso corporal em uma das ratas RT, próximo à 13% (Figura 2.b). Na lactação, reduções de peso corporal mais acentuadas ocorreram principalmente em ratas MA do 10º - 13º dia (redução de 7,43% - 9,62%) e do 16º - 19º dia (redução de 14,85%) (Figura 2.b).

O consumo alimentar de ratas MA, A e RT durante o período de adaptação, gestação e lactação está representado na figura 3.a. No 7º dia de adaptação todas as ratas A e duas MA apresentaram valores de consumo superior ao de ratas RT, com valores próximos a 80g de ração ingerida. Após o 13º dia de adaptação, o consumo alimentar de ratas MA e A foi superior ao de ratas RT até o final do período de adaptação, onde as ratas MA consumiram aproximadamente 84,67g e A 78g de ração. O consumo de ração por ratas RT ficou próximo à 57,55g durante todo o período de adaptação.

Figura 3. Gráfico do consumo alimentar e Necessidade de consumo de ração materno



Consumo alimentar em gramas (a) e Necessidade de consumo de ração (b) materno durante os 30 dias de adaptação, gestação e lactação. Os grupos foram constituídos por ratas muito ativas (MA, $n=3$), ativas (A, $n=3$) e roda travada (RT, $n=3$). Os valores estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rata.

Ratas RT durante a gestação aumentaram de forma gradativa o seu consumo alimentar, ingerindo no início da gestação aproximadamente 59,5g e ao final 99,67g de ração (Figura 3.a).

Do 7º ao 16º dia de gestação, o consumo de ração de duas ratas MA foi de 102 – 142g de ração ingerida neste período. Após o 16º dia de gestação as duas ratas MA reduziram o seu consumo para valores próximos à 72,5g de ração. Diferente das outras duas ratas MA que aumentaram seu consumo a partir do 7º dia de gestação, uma rata MA reduziu seu consumo de 69 para 55g do 7º ao 13º dia de gestação, com posterior aumento para 93g. No 4º dia de gestação uma das ratas A consumiu 123g de ração, e a partir do 7º dia aumentou gradativamente de 92 para 122g até o 16º dia, com redução aos 19 dias de gestação para 47,5g.

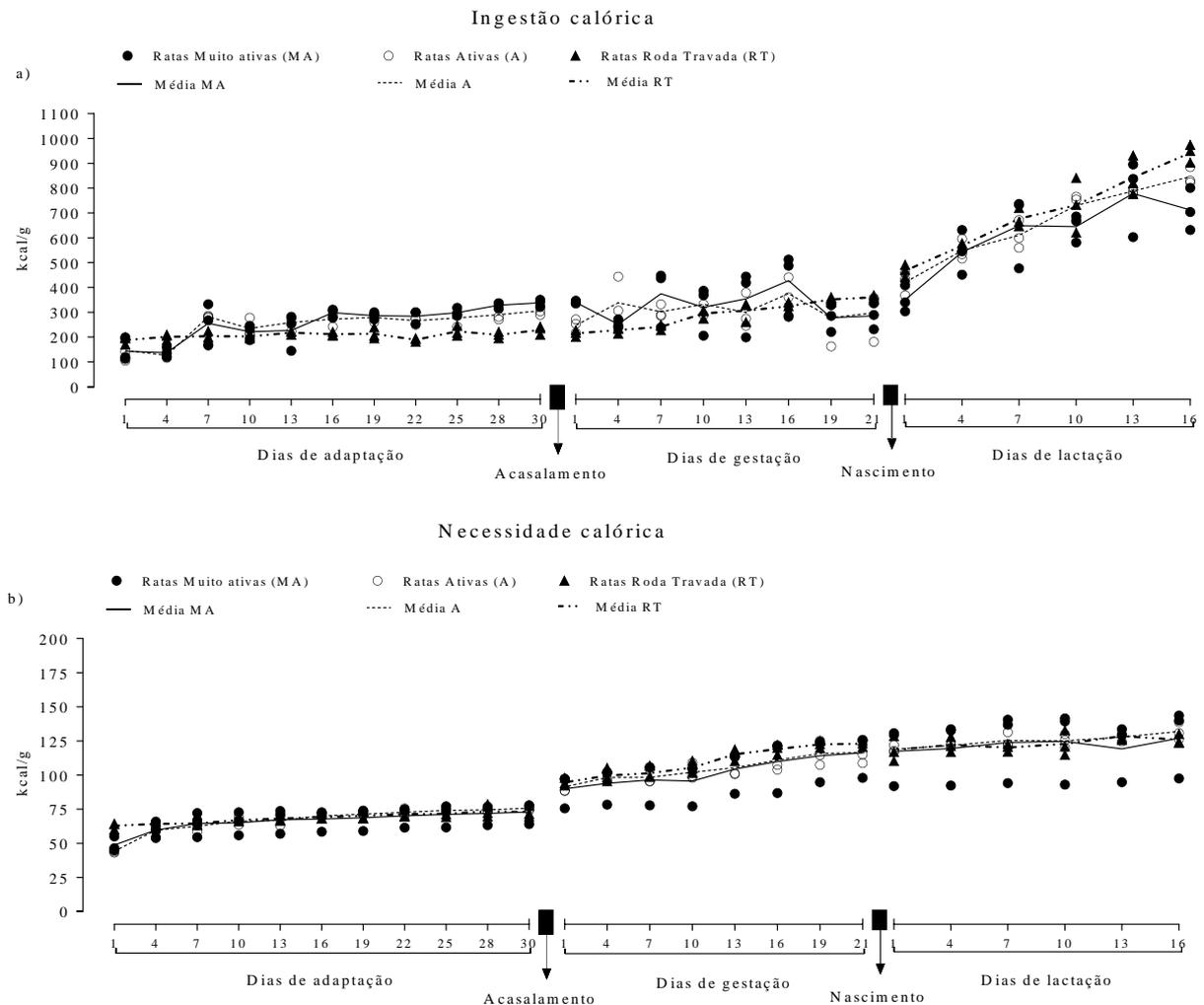
Durante a lactação todas as ratas passaram a consumir mais ração, sendo observado aumento mais acentuado em ratas RT e A no 1º dia de lactação (Figura 3.a). O consumo de ração de ratas RT aumentou de 122 - 136g no início da lactação, para 250 - 270g no 16º dia de lactação. Ratas A aumentaram sua ingestão de 102 - 127g no 1º dia, para 228 - 245g no 16º dia de lactação. Duas ratas MA do 1º ao 7º dia de lactação aumentaram seu consumo de 89g para 203,5g, e aos 13 dias de lactação passaram a consumir de 232 - 248g de ração. Aos 16 dias de lactação estas duas ratas MA reduziram seu consumo para valores próximos a 208,5g. Durante toda a lactação, uma rata MA manteve seu consumo alimentar inferior ao de todas as outras ratas, com aumento gradativo de 84g no 1º dia para 175g ao final do período.

Durante a lactação todas as ratas passaram a consumir mais ração, sendo observado aumento mais acentuado em ratas RT e A no 1º dia de lactação (Figura 3.a). O consumo de ração de ratas RT aumentou de 122 - 136g no início da lactação, para 250 - 270g no 16º dia de lactação. Ratas A aumentaram sua ingestão de 102 - 127g no 1º dia, para 228 - 245g no 16º dia de lactação. Duas ratas MA do 1º ao 7º dia de lactação aumentaram seu consumo de 89g para 203,5g, e aos 13 dias de lactação passaram a consumir de 232 - 248g de ração. Aos 16 dias de lactação estas duas ratas MA reduziram seu consumo para valores próximos a 208,5g. Durante toda a lactação, uma rata MA manteve seu consumo alimentar inferior ao de todas as outras ratas, com aumento gradativo de 84g no 1º dia para 175g ao final do período.

A partir do cálculo do quanto as ratas deveriam ingerir de ração para manutenção do metabolismo basal, foi observado que a prática de AFV (MA e A) e a exposição a uma gaiola mais ampla (RT) resultou em aumento do consumo de ração (Figura 3.b). Ratas MA, A e RT consumiram durante o período de adaptação de 2 – 4 vezes mais ração do que a quantidade necessária para a manutenção do metabolismo basal. Na gestação, as ratas MA, A e RT ingeriram de 2 – 3 vezes mais ração do que o consumo necessário para manutenção do metabolismo basal. Durante a lactação, ratas MA e A ingeriram de 4 - 5 vezes mais ração do que os valores calculados a partir de condições basais, já ratas RT consumiram de 4 – 7 vezes mais.

A ingestão calórica de ratas MA, A e RT durante o período de adaptação, gestação e lactação está representada na figura 4.a. Do dia 1 ao 4 de adaptação, ratas MA (n=2) e A (n=2) apresentaram valores de ingestão calórica menores do que as de ratas RT (Figura 4.a). Após o 13º dia de adaptação a ingestão calórica de ratas MA (294,3 kcal/g) e A (278,31 kcal/g) apresentou valores superiores ao de ratas RT (207,74 kcal/g) até o final do período.

Figura 4. Gráfico da ingestão calórica e necessidade calórica materna



Ingestão calórica em kcal/g (a) e Necessidade calórica (b) materna durante os 30 dias de adaptação, gestação e lactação. Os grupos foram constituídos por ratas muito ativas (MA, n=3), ativas (A, n=3) e roda travada (RT, n=3). Os valores estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rata.

Durante a gestação, ratas RT aumentaram de forma gradativa a sua ingestão calórica, ingerindo no início da gestação aproximadamente 214,8 kcal/g e ao final 359,8 kcal/g de ração (Figura 4.a). Do 7º ao 16º dia de gestação, a ingestão calórica de duas ratas MA apresentou valores superiores ao de ratas A e RT, variando de 418,76 – 499,99 kcal/g neste período. Após

o 16º dia de gestação duas ratas MA reduziram sua ingestão calórica para valores próximos à 261,73 kcal/g até o final da gestação.

Diferente das outras duas ratas MA, que aumentaram a ingestão calórica a partir do 7º dia de gestação, uma rata MA reduziu seu consumo de 238,26 para 198,55 kcal/g, do 7º ao 13º dia de gestação, com posterior aumento alcançando valores próximos ao de ratas RT (281,58 - 335,73 kcal/g). No 4º dia de gestação uma das ratas A consumiu 444,03 kcal/g, e sua ingestão calórica a partir do 7º dia se aproximou ao de duas ratas MA, aumentando gradativamente de 332,12 para 440,42 kcal/g aos 16 dias de gestação. A partir dos 19 dias de gestação, esta rata A reduziu seu consumo de calorias para 171,48 kcal/g.

Durante a lactação todas as ratas aumentaram sua ingestão calórica, sendo observado aumento mais acentuado em ratas RT e A no 1º dia de lactação (Figura 4.a). O consumo de calorias pelas 3 ratas RT aumentou de 440,42 – 490,96 kcal/g no início da lactação, para 1018,02 – 1108,27 kcal/g no 16º dia de lactação. As ratas A aumentaram gradativamente de 368,22 – 458,47 kcal/g no 1º dia para 844,74 – 924,16 kcal/g no 16º dia de lactação a sua ingestão de calorias. A ingestão de calorias das ratas quando comparado às necessidades calóricas para manutenção do metabolismo em condições basais (figura 4.b), foi superior em todos os períodos analisados.

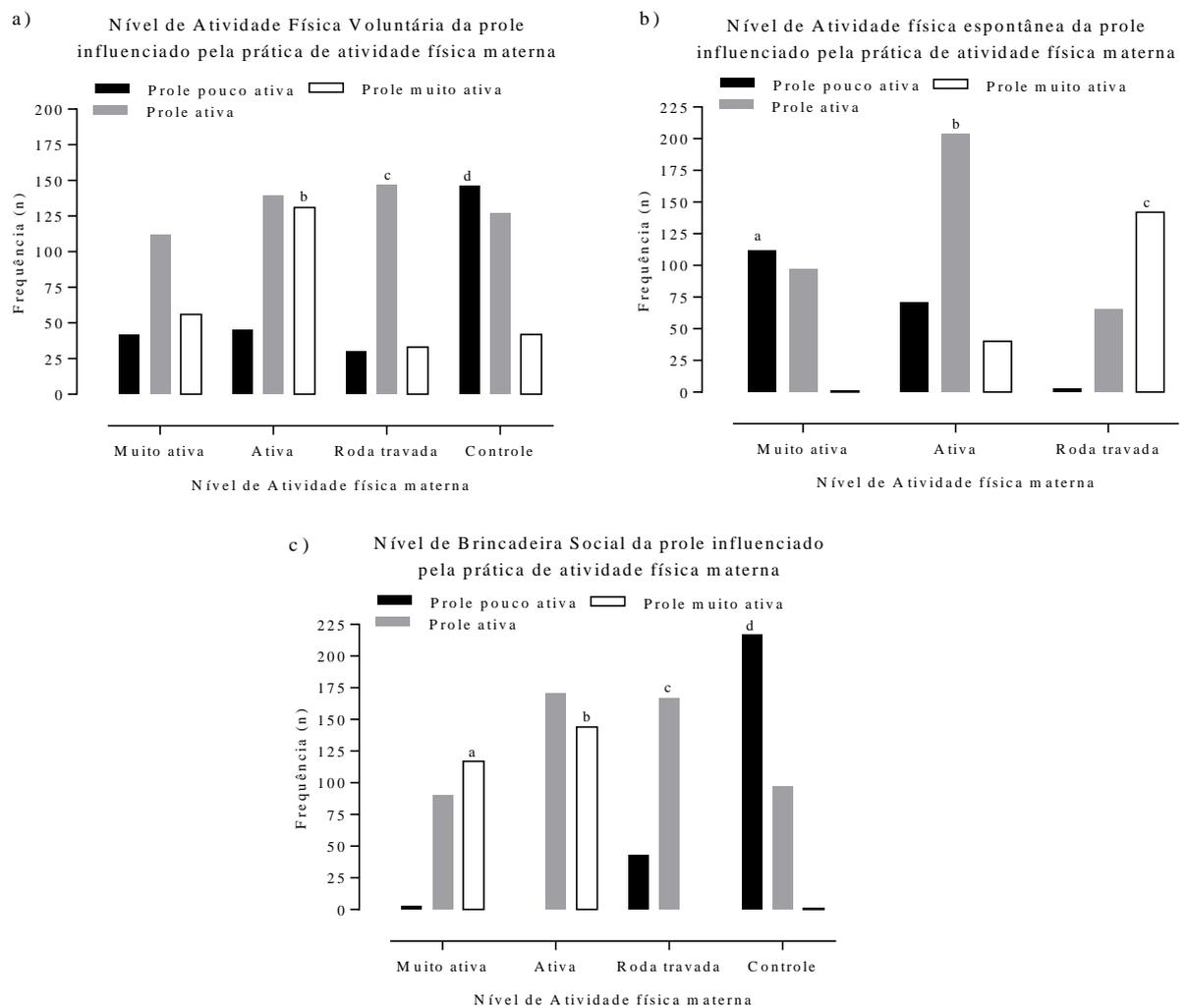
4.2 PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS RELACIONADOS À ATIVIDADE FÍSICA DA PROLE

Dos 28 aos 62 dias de idade, os filhotes foram classificados em pouco ativo, ativo e muito ativo em função do tempo despendido nos comportamentos de AFV, AFE e BS. A frequência observada de classificação dos filhotes de mães MA, A, RT e C está representada na figura 5. A classificação da prole em uma das categorias, referente ao tempo despendido em comportamentos ativos, foi associada à prática de atividade física materna ($p < 0,05$). A prole de rata A foi a que apresentou a maior frequência observada de classificação em muito ativos (41,6%, $n=131$) para a AFV, com resíduo padronizado ajustado de +8,2 (figura 5.a). Dos filhotes classificados como ativos para AFV, a prole de rata RT foi a que apresentou maior frequência observada (70%, $n=147$) com resíduo padronizado ajustado de +6,5 (figura 5.a). Animais classificados como pouco ativos para AFV, com maior frequência observada foram provenientes de ratas C (46,3%, $n=146$) com resíduo padronizado ajustado de +10,4 (figura 5.a).

Com relação a AFE, filhotes de ratas RT foram os que apresentaram maior frequência observada de classificação como muito ativos (67,6%, $n=142$), com resíduo padronizado

ajustado de +16,9 (figura 5.b). Dentre os ratos classificados como ativos para AFE, animais provenientes de mães A apresentaram maior frequência observada (64,8%, n=204) com resíduo padronizado ajustado de +7 (figura 5.b). A frequência de classificação de ratos em pouco ativo para AFE, foi maior em filhotes provenientes de mães MA (53,3%, n=112), com resíduo padronizado ajustado de +11,1 (figura 5.b).

Figura 5. Gráfico da frequência de classificação dos filhotes quanto ao tempo despendido em comportamentos ativos



Frequências observadas da classificação da prole em pouco, ativa e muito de acordo com o tempo despendido em Atividade Física Voluntária (a), Atividade Física Espontânea (b) e Brincadeira Social (c), dos 28 aos 62 dias de idade, em função da prática de atividade física materna. Os grupos foram compostos pela prole de ratas muito ativas (n=6), ativas (n=9), roda travada (n=6) e controle (n=9). Qui-quadrado de Pearson; p (associação global) < 0,05 e Resíduo Padronizado Ajustado (RPA, associação local). **a** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe muito ativa. **b** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe ativa. **c** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe de roda travada. **d** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe controle.

Quanto a BS, os filhotes de ratas MA (55,7%, n=117) e A (45,7%, n=144) apresentaram a maior frequência observada de classificação em muito ativos, com resíduo padronizado ajustado de +11,5 e +10,2 respectivamente (figura 5.c). Filhotes classificados como ativos para a BS, foram com maior frequência observada (79,5%, n=167) provenientes de ratas RT e o valor residual ajustado padronizado foi de +9,6 (figura 5.c). A frequência observada de classificação em pouco ativo para BS, foi maior entre filhotes provenientes de ratas C (68,9%, n=217), com valor residual de +21,5 (figura 5.c).

No apêndice A, encontram-se as figuras suplementares (figura S) com relação ao tempo médio diário despendido em AFV, BS e AFE, que serviram de base para a classificação da prole e comparação entre os grupos dos 28 aos 62 DPN. O tempo médio em minutos despendido em AFV prole de mães MA, A, RT e C, dos 28 aos 62 DPN, ficou próximo à 27,02, 32,01, 27,28 e 22,41 minutos, respectivamente (figura S1). A idade dos animais apresentou efeito sobre o tempo despendido em AFV pela prole [$F(34, 910) = 48,3$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p = 0,64$]. Durante o período dos 28 aos 36 DPN foi o período em que os animais despenderam mais tempo em AFV (figura S1). A média diária de tempo de AFV da prole de rata MA foi marcada por oscilações, nos dias em que ocorreram reduções na média de tempo despendido em AFV (37, 40, 46, 49 e 57 DPN), a média ficou próxima à 20 minutos. Filhotes de mães MA despenderam aproximadamente 28,67 minutos em AFV dos 43 aos 56 DPN, reduzindo dos 57 aos 62 DPN para 20,09 minutos.

Na prole de rata A, ocorreu redução do tempo médio despendido em AFV de 63,2 para 29,94 minutos, dos 28 aos 37 DPN (figura S1). Dos 37 aos 49 DPN, o tempo médio despendido em AFV pela prole de ratas A ficou próximo à 30,59 minutos de forma quase constante. Após esse período, aos 50 DPN o tempo médio de AFV reduziu para 25,5 minutos, atingindo aos 56 DPN um tempo médio de 20,26 minutos. Na prole de rata RT, ocorreu redução do tempo médio despendido em AFV de 49,54 para 28,42 minutos, dos 28 aos 31 DPN (figura S1). Após a redução observada no dia 34, até os 50 DPN, o tempo médio despendido em AFV pela prole de ratas RT ficou próximo a 26,09 minutos de forma quase constante. Dos 50 aos 62 DPN o tempo médio de AFV ficou próximo à 23,35 minutos.

A prole de ratas C reduziu o tempo médio diário de AFV de 32,99 para 19,75 minutos, dos 28 aos 36 DPN (figura S1). Dos 36 aos 56 DPN, o tempo médio ficou próximo a 19,55 minutos. Dos 57 aos 62 DPN, a média diária de AFV da prole proveniente de mães C aumentou para aproximadamente 28,42 minutos por dia.

A prática e o nível de atividade física materna apresentaram efeito sobre o tempo despendido em AFV pela prole [$F(3, 910) = 187,6$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p = 0,38$] (figura S1). Filhotes

de mães A quando comparados às proles de ratas MA, RT e C, despenderam mais tempo em AFV na maior parte dos dias analisados. Durante o período dos 28 aos 49 DPN a prole de ratas A despendeu tempo médio próximo a $37,48 \pm 10,05$ minutos, enquanto a prole de ratas MA $28,74 \pm 7,25$ minutos, RT $27,28 \pm 7,56$ minutos e C $22,41 \pm 4,93$ minutos. A prole de ratas MA quando comparada a de mãe RT, apresentou diferenças pontuais no tempo médio despendido em AFV, ficando acima ou abaixo de forma transitória (figura S1). Em um total de 21 dos 35 dias analisados, as proles de ratas MA e RT despenderam mais tempo em AFV do que a prole de ratas C.

O tempo médio diário em minutos despendido em BS pela prole de mães MA, A, RT e C, dos 28 aos 62 DPN, ficou próximo a 22,12, 20,88, 12,17 e 8,36 minutos, respectivamente (Figura S2). A idade dos animais apresentou efeito sobre o tempo despendido em BS [$F(34, 910) = 5,105$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p = 0,16$]. Com o avançar da idade a prole de MA, apresentou uma trajetória de aumento no tempo médio de BS a partir dos 30 DPN ($15,69 \pm 1,91$ minutos) com reduções pontuais até os 46 DPN ($28,18 \pm 3,46$ minutos) (figura S2). Dos 46 aos 56 DPN foi o período em que a prole de ratas MA mais despendeu tempo em brincadeira, com o tempo médio diário permanecendo acima de 22,75 minutos. Ao final do período, dos 58 aos 62 DPN, o tempo despendido em BS manteve-se próximo à $23,33 \pm 4,23$ minutos pela prole de ratas MA. A prole de rata A apresentou menos variações no tempo médio despendido em BS com o avançar da idade (figura S2). Após os 28 DPN ($26,43 \pm 6,91$ minutos) a média de tempo despendido em BS pela prole de ratas A reduziu, ficando próximo à $18,86 \pm 2,56$ minutos dos 29 aos 40 DPN. A partir dos 42 DPN, o tempo médio despendido em BS manteve-se praticamente estável, com valores próximos à $24,23 \pm 3,94$ minutos até os 62 DPN.

Proles de rata RT dos 28 aos 37 DPN despenderam $12,21 \pm 1,18$ minutos em BS, seguido por redução dos 38 aos 39 DPN ($9,49 \pm 1,81$ minutos) (figura S2). Dos 40 aos 62 DPN o tempo médio diário despendido pela prole de RT em BS ficou próximo à $12,39 \pm 1,88$ minutos. Prole de ratas C dos 28 aos 34 DPN, despenderam aproximadamente 12,03 minutos em BS, reduzindo a partir dos 35 até os 40 DPN para valores próximos a 7,55 minutos (figura S2). Dos 41 aos 51 DPN, o tempo despendido em BS por ratos provenientes de mães C aumentou e manteve-se quase estável durante este período, com valores próximos a $9,65 \pm 1,18$ minutos. A partir dos 55 DPN, os ratos provenientes de mãe C passaram a brincar menos ($7,49 \pm 1,18$ minutos), com o tempo médio de BS de $3,78 \pm 1,36$ minutos, dos 56 aos 62 DPN.

A prática e o nível de atividade física materna apresentaram efeito sobre o tempo despendido em BS pela prole [$F(3, 910) = 926,2$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p = 0,75$] (Figura S2). Proles de mães MA ($22,12 \pm 4,1$ minutos) e A ($20,88 \pm 2,47$ minutos) quando comparadas a prole de ratas

RT ($12,17 \pm 1,77$ minutos) e C ($8,36 \pm 2,99$ minutos) despenderam mais tempo médio diário em BS, dos 28 até os 62 DPN. O tempo médio diário da prole de mães MA comparado ao de filhotes de mães A, foi maior durante o período dos 48 – 54 DPN (prole de MA: $26,31 \pm 2,26$ minutos; prole de A: $20,37 \pm 1,41$ minutos). A prole de rata RT apresentou tempo médio superior despendido em BS quando comparado aos filhotes de mães C, principalmente dentro do período dos 55 – 62 DPN (prole de RT: $12,83 \pm 2,44$ minutos; prole de C: $4,25 \pm 1,46$ minutos).

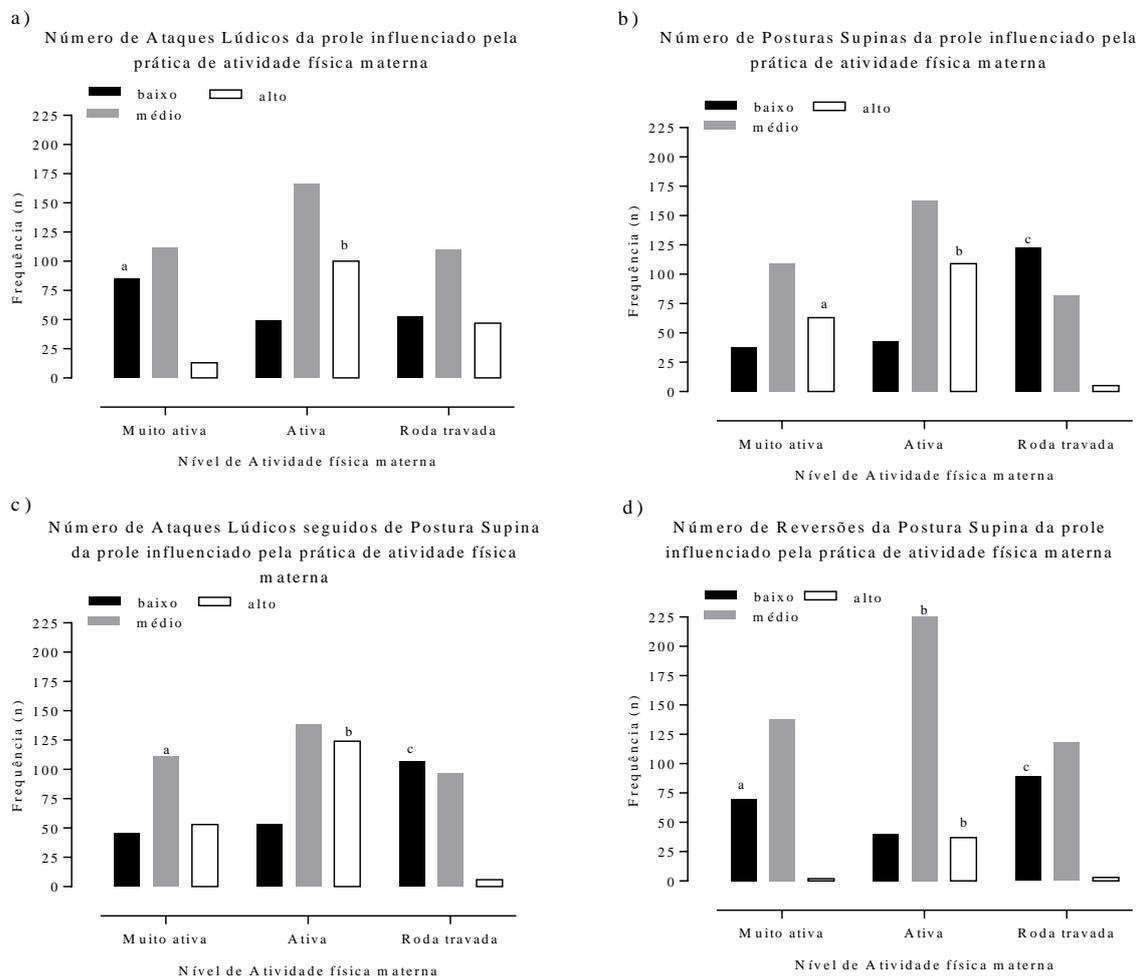
A idade dos animais apresentou efeito sobre o tempo despendido em AFE [$F(34, 630) = 2,954$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,14$] (figura S3). Dos 28 aos 62 DPN a prole de MA despendeu aproximadamente $12,3 \pm 1,21$ minutos, atingindo aos 36 DPN o tempo médio máximo de $14,24 \pm 2,58$ minutos. A prole de rata A apresentou dos 28 aos 44 DPN uma média de $15,55 \pm 1,16$ minutos, e a partir dos 45 até os 62 DPN uma média de $13,29 \pm 0,89$ minutos. A prole de rata RT após os 30 DPN ($20,29 \pm 2,33$ minutos) reduziu o tempo médio despendido em AFE, chegando a $15,51 \pm 2,84$ minutos aos 37 DPN. Dos 40 aos 44 DPN o tempo médio despendido em AFE pela prole de RT aumentou, ficando próximo à $19,24 \pm 2,83$ minutos. Aos 48 DPN, a prole de rata RT despendeu em AFE o tempo médio de $22,27 \pm 2,53$ minutos, e dos 49 aos 62 DPN próximo à $19,97 \pm 1,04$ minutos.

A prática e o nível de atividade física materna apresentaram efeito sobre o tempo despendido em AFE pela prole [$F(2, 630) = 534,1$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,63$] (figura S3). Quando comparada a prole de ratas MA com A, diferenças foram observadas em dias alternados, com a prole de ratas A despendendo mais tempo em AFE do que filhotes de MA. A prole de ratas RT quando comparadas a prole de MA ($12,3 \pm 1,21$ minutos), despendeu praticamente dos 28 aos 62 DPN mais tempo médio em AFE ($18,85 \pm 1,66$ minutos), exceto pelo dia 36 em que não ocorreu diferença entre as médias. A prole de ratas RT diferiu da prole de A principalmente dos 44 aos 62 DPN, com a prole de ratas RT ($19,59 \pm 1,59$ minutos) despendendo mais tempo em AFE do que a de A ($13,37 \pm 0,94$ minutos).

Durante interações sociais na forma de BS pela prole foi quantificado diariamente o número de vezes em que ocorreram ataques lúdicos (AL), adoção da postura supina (PS), AL seguidos de PS (ALPS), reversão da PS (RPS), boxe e contra-ataques. Os filhotes foram classificados em baixo, médio e alto número de expressão desses componentes da BS. A frequência observada de classificação dos filhotes de mães MA, A e RT está representada nas figuras 6 e 6.1. A classificação da prole em uma das categorias, referente ao número de expressão de AL, PS, ALPS, RPS, Boxe e contra-ataques, foi associado a prática de atividade física materna ($p < 0,05$). A prole de rata A apresentou a maior frequência observada de

classificação em alto (31,7%, n=100) para AL, com resíduo padronizado ajustado (RPA) de +5,7 (figura 6.a). Animais classificados como baixo número de AL, com maior frequência observada foram provenientes de ratas MA (40,5%, n=85) com RPA de +5,9 (figura 6.a). As proles de ratas A e MA apresentaram a maior frequência observada de classificação em alto para PS, respectivamente: 34,6%, n=109; RPA +5,8 e 30%, n=63; RPA +2,4 (figura 6.b). Animais classificados como baixo número de PS, com maior frequência observada foram provenientes de ratas RT (58,6%, n=123) com RPA de +11,8 (figura 6.b).

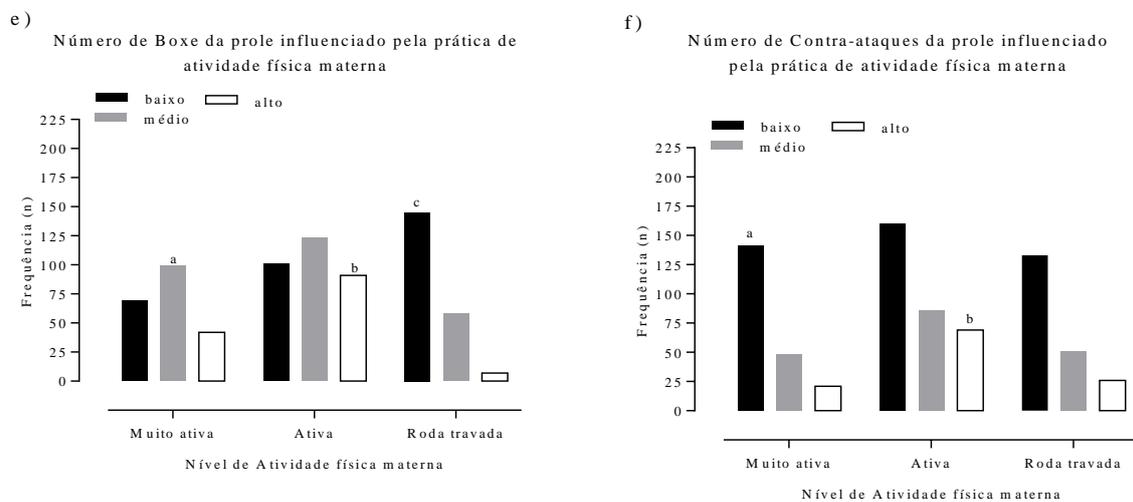
Figura 6. Gráfico da frequência de classificação dos filhotes quanto ao número de vezes da expressão de componentes da Brincadeira Social



Frequências observadas da classificação da prole em baixo, médio e alto número de expressão de Ataques Lúdicos (a), Postura Supina (b), Ataques Lúdicos seguidos de Postura supina (c) e Reversões da Postura Supina (d), dos 28 aos 62 dias de idade, em função da prática de atividade física materna. Os grupos foram compostos pela prole de ratas muito ativas (n=6), ativas (n=9) e roda travada (n=6). Qui-quadrado de Pearson; p (associação global) < 0,05 e Resíduo Padronizado Ajustado (RPA, associação local). **a** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe muito ativa; **b** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe ativa; **c** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe com a roda travada.

A prole de rata A apresentou a maior frequência observada de classificação em alto para ALPS (39,4%, n=124), com RPA de +7,9 (figura 6.c). A prole de rata MA apresentou a maior frequência observada de classificação em médio número de ALPS (52,9%, n=111), com RPA de +2. A prole de rata RT apresentou a maior frequência de classificação em baixo número de ALPS (51%, n=107), com RPA de +8,8. A prole de rata A apresentou a maior frequência observada de classificação em alto (11,7%, n=37; RPA de +6,1) e médio número para RPS (75,6%, n=238; RPA de +4,2) (figura 6.d).

Figura 6.1. Gráfico da frequência de classificação dos filhotes quanto ao número de vezes da expressão de componentes da Brincadeira Social (continuação)



Frequências observadas da classificação da prole em baixo, médio e alto número da expressão de Boxe (e) e Contra-ataques (f), dos 28 aos 62 dias de idade, em função da prática de atividade física materna. Os grupos foram compostos pela prole de ratas muito ativas (n=6), ativas (n=9) e roda travada (n=6). Qui-quadrado de Pearson; p (associação global) < 0,05 e Resíduo Padronizado Ajustado (RPA, associação local). **a** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe muito ativa; **b** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe ativa; **c** indica RPA > 1,96 associação entre a classificação da prole e mãe com roda travada.

A prole de rata A apresentou a maior frequência observada de classificação em alto número para boxe (28,9%, n=91), com RPA de +5,9 (figura 6.1.e). Animais classificados como médio número para boxe, com maior frequência observada foram provenientes de ratas MA (47,1%, n=99), com RPA de +3,2 (figura 6.1.e). A prole de rata RT apresentou a maior frequência de classificação em baixo número de boxe (69%, n=145) com RPA de +9,1 (figura 6.1.e). A prole de rata A apresentou a maior frequência de classificação em alto número de contra-ataques (21,9%, n=69), com RPA de +3,9 (figura 6.1.f). A maior frequência observada na classificação em baixo número de contra-ataques ocorreu na prole de MA (67,1%, n=141), com RPA de +2,8.

No apêndice B, encontram-se as figuras suplementares (figura S) referentes ao número médio diário de AL, PS, ALPS, RPS, boxe e contra-ataques, que serviram como base para classificação e comparação entre os grupos dos 28 aos 62 DPN. Dados referentes ao número médio diário de ataques lúdicos (AL) lançados durante a BS estão representados na figura S4. A idade dos animais apresentou efeito sobre o número de AL dos 28 aos 62 DPN [$F(34, 630) = 15,93$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,46$] (figura S4). Dos 28 aos 37 DPN a prole de rata MA aumentou o número médio de AL lançados de 30 para 42 de forma progressiva. Dos 36 aos 62 DPN, o número médio de AL lançados foi de $41,13 \pm 5,64$ pela prole de ratas MA. A prole de rata A apresentou maior média de AL lançados dos 28 aos 44 DPN ($53,75 \pm 4,76$), quando comparado ao período dos 45 aos 62 DPN ($41,51 \pm 3,78$). A média diária do número de AL lançados pela prole de ratas RT, principalmente dos 28 aos 45 DPN, oscilou entre aumentos (próximos à $55,83 \pm 4,01$) e reduções (próximas à $38,33 \pm 3,89$). Dos 45 aos 54 DPN, a prole RT manteve o número médio de AL em $38,27 \pm 4,52$, com aumento pontual aos 55 DPN ($54,5 \pm 5,96$) seguido por redução e manutenção da média em $42,31 \pm 4,91$ até os 62 DPN.

A prática e o nível de atividade física materna apresentaram efeito sobre o número de AL lançados pela prole dos 28 aos 62 DPN [$F(2, 630) = 124,1$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,28$] (figura S4). Na maior parte da infância e início da adolescência, período correspondente dos 28 aos 43 DPN, a prole de rata MA ($38,07 \pm 5,81$) apresentou menor número médio de AL lançados quando comparadas a prole de A ($53,76 \pm 4,92$) e RT ($48,21 \pm 8,1$). Diferenças transitórias foram observadas entre a prole de mães A e RT, onde filhotes provenientes de mães A apresentaram maior média do número de AL lançados (A: $49,74 \pm 6,21$; I: $37,39 \pm 3,87$), dos 28 aos 62 DPN.

Dados referentes à adoção da Postura supina (PS) estão representados na figura S5. A idade dos animais apresentou efeito sobre o número de expressão da PS pela prole dos 28 aos 62 DPN [$F(34, 630) = 16,65$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,47$] (figura S5). A prole de rata MA aumentou progressivamente o número médio de adoção da PS de $9,67 \pm 3,67$ para $25,17 \pm 3,66$, dos 28 aos 36 DPN. Após uma redução aos 37 DPN ($19 \pm 4,82$), o número médio de adoção da PS pela prole de ratas MA manteve-se em $27,7 \pm 3,02$, dos 38 aos 56 DPN. Filhotes de rata A aumentaram de $15,33 \pm 4,47$ para $28,22 \pm 3,6$ o número médio de adoção da PS, dos 28 aos 38 DPN. Aos 41 DPN ocorreu aumento no número médio de adoção da PS ($32,78 \pm 4,12$), mantendo-se até os 44 DPN em $30,78 \pm 2,34$. Aos 48 DPN, a prole de rata A reduziu o número médio de adoção da PS para $23,22 \pm 4,44$, e manteve-se em $26,38 \pm 2,18$ até os 62 DPN.

A prole de ratas RT aumentou o número médio de adoção da PS de $14,17 \pm 5,81$ (28 DPN) para $21,5 \pm 5,43$ (34 DPN) com oscilações, e após os 34 DPN ocorreu redução, atingindo

valores de $10,5 \pm 2,74$ aos 39 DPN. Dos 41 aos 57 DPN, o número médio de adoção da PS ficou próximo à $17,8 \pm 2,28$. Dos 58 aos 62 DPN, a prole de rata RT apresentou uma tendência de aumento no número médio de adoção da PS, com valores próximos a $22,33 \pm 0,86$.

A prática e o nível de atividade física materna apresentou efeito sobre o número de adoção da PS pela prole dos 28 aos 62 DPN [$F(2, 630) = 236$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,43$] (figura S5). Tanto a prole de rata MA ($27,21 \pm 3,55$) quanto A ($26,98 \pm 2,59$) apresentaram maior número médio de adoção da PS que filhotes de RT ($16,67 \pm 2,62$), principalmente dos 35 aos 54 DPN. Quando comparadas as proles de ratas MA e A ocorrem diferenças em dias pontuais de forma transitória.

Dados referentes ao número de Ataques lúdicos seguidos de Postura supina (ALPS) estão representados na figura S6. A idade dos animais apresentou efeito sobre o número de ALPS da prole dos 28 aos 62 DPN [$F(34, 630) = 13,58$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,42$] (figura S6). A prole de ratas MA aumentou a média do número de ALPS de $5,33 \pm 2,5$, aos 28 DPN, para $18,5 \pm 3,78$ aos 36 DPN de forma progressiva. Após os 37 DPN o número médio de ALPS da prole de MA foi de $20,17 \pm 2,57$ até os 62 DPN. A prole de ratas A aumentou o número médio de ALPS de $11,67 \pm 5,15$ aos 28 DPN para $21,22 \pm 5,29$ aos 34 DPN. Dos 34 aos 62 DPN, o número médio de ALPS ficou próximo à $22,04 \pm 2,1$, com aumentos isolados aos 41 ($26,22 \pm 2,95$) e 44 DPN ($26,33 \pm 3,67$) da prole de A. A prole de ratas RT apresentou um número médio de ALPS de $13,69 \pm 2,99$ dos 28 aos 62 DPN.

A prática e o nível de atividade física materna apresentou efeito sobre o número de ALPS da prole dos 28 aos 62 DPN [$F(2, 630) = 151,4$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,32$] (figura S6). Principalmente dos 35 aos 48 DPN, as proles de rata MA ($19,32 \pm 2,21$) e A ($22,37 \pm 2,13$), apresentaram maior número médio de ALPS do que a prole de ratas RT ($12,63 \pm 2,01$). O número médio de ALPS da prole de rata MA ($13,77 \pm 5,21$) foi inferior ao de filhotes de ratas A ($21,27 \pm 4,9$), de forma transitória nos dias 28, 34, 37, 56 e 57 DPN.

Dados referentes à Reversão da postura supina (RPS) estão representados na figura S7. A idade dos animais apresentou efeito médio sobre o número de RPS da prole dos 28 aos 62 DPN [$F(34, 630) = 2,76$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,13$] (figura S7). O número médio de RPS da prole de ratas MA aumentou de 0 aos 28 DPN para $1,17 \pm 0,41$ aos 36 DPN. Após redução dos 36 aos 40 DPN para $0,5 \pm 0,14$ RPS, a média ficou próxima à $0,86$ até os 62 DPN com aumento aos 41 ($1,5 \pm 0,55$) e 48 ($1,5 \pm 0,55$) DPN, com redução aos 62 ($0,17 \pm 0,41$) DPN.

A Prole de ratas A apresentou um número médio de RPS de $1,45 \pm 0,49$ dos 28 aos 62 DPN. De forma oscilatória, dos 36 aos 55 DPN foi o período em que a prole de ratas A mais apresentou RPS ($1,69 \pm 0,42$), com declínio dos 56 aos 62 DPN ($1,05 \pm 0,17$). A prole de ratas

RT apresentou um número médio de $0,76 \pm 0,39$ RPS dos 28 aos 62 DPN, com aumentos transitórios aos 32 ($1,33 \pm 0,52$), 46 ($1,83 \pm 0,75$) e 62 ($1,33 \pm 0,52$) DPN.

A prática e o nível de atividade física materna apresentou efeito sobre o número de RPS da prole dos 28 aos 62 DPN [$F(2, 630) = 67,45$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,18$] (figura S7). A prole de rata A ($1,99 \pm 0,37$), em dias alternados, apresentou maior número médio de RPS quando comparada a prole de ratas MA ($0,72 \pm 0,27$) e RT ($0,87 \pm 0,5$). Quanto a diferenças entre a prole MA e RT, ocorreram diferenças pontuais aos 46 (MA: $0,67 \pm 0,52$; RT: $1,83 \pm 0,75$), 48 (MA: $1,5 \pm 0,55$; RT: $0,33 \pm 0,82$) e 62 (MA: $0,17 \pm 0,41$; RT: $1,33 \pm 0,52$) DPN.

Dados referentes ao número médio diário da expressão de boxe estão representados na figura S8. A idade dos animais apresentou efeito sobre o número de boxe da prole dos 28 aos 62 DPN [$F(34, 630) = 23,34$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,56$] (figura S8). A prole de rata MA aumentou o número médio de boxe de 0 aos 28 DPN, para $4,33 \pm 1,03$ aos 38 DPN. Após redução aos 39 DPN ($2,33 \pm 0,52$), o número médio de boxe da prole de MA, ficou próximo à $2,36 \pm 0,99$ dos 40 aos 57 DPN, com oscilações no número médio. A prole de MA aumentou o número médio de boxe aos 58 ($5,67 \pm 1,21$) e 59 ($7 \pm 1,67$) DPN, com redução para $3 \pm 0,82$ aos 62 DPN.

A prole de rata A aumentou o número médio de boxe de 0 aos 28 DPN, para $4,22 \pm 1,79$ aos 44 DPN (figura S8). Após redução aos 45 DPN ($2,11 \pm 0,78$), dos 46 aos 60 DPN o número médio de boxe ficou próximo à $2,93 \pm 1,21$ da prole de ratas A. Após redução aos 60 DPN ($2,44 \pm 1,33$), a prole de rata A aumentou o número médio de boxe aos 61 ($5 \pm 2,29$) e 62 ($6,89 \pm 3,14$) DPN. A prole de rata RT apresentou uma média do número de boxe de $1,18 \pm 0,86$ dos 28 aos 62 DPN, com aumento aos 40 ($1,67 \pm 0,82$) e 43 ($2,83 \pm 1,33$) DPN. Dos 44 aos 48 DPN o número médio de boxe da prole de rata RT reduziu, ficando próximo à $0,53 \pm 0,27$, com posterior aumento a partir dos 52 aos 62 DPN ficando próximo à $2,03 \pm 0,65$.

A prática e o nível de atividade física materna apresentaram efeito sobre o número de boxe da prole dos 28 aos 62 DPN [$F(2, 630) = 122,4$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,28$] (figura S8). As proles de rata MA ($3,69 \pm 1,42$) e A ($3,82 \pm 1,42$) quando comparadas a de RT ($1,48 \pm 0,87$), apresentaram maior número médio de expressão de boxe em dias alternados a partir dos 35 DPN. Quando observadas diferenças entre a prole de rata MA e A, filhotes de ratas A apresentaram maior número médio de boxe, principalmente dos 41 aos 45 DPN (A: $3,87 \pm 1,05$; MA: $2,2 \pm 1,07$).

Dados referentes ao número de contra-ataques estão representados na figura S9. A idade dos animais apresentou efeito sobre o número de contra-ataques da prole dos 28 aos 62 DPN [$F(34, 630) = 3,82$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,17$] (figura S9). Dos 28 aos 40 DPN, a prole de rata MA apresentou número médio de contra-ataques de $1,72 \pm 0,44$. Dos 42 aos 53 DPN a média do

número de contra-ataques da prole de MA ficou próxima a $2,33 \pm 0,49$, seguido por redução dos 55 aos 58 DPN ($1,54 \pm 0,28$). A partir dos 59 DPN, a média do número de contra-ataques da prole MA aumentou, atingindo o valor de $3,5 \pm 1,05$ aos 62 DPN. A Prole de ratas A apresentou um número médio de contra-ataques dos 28 aos 41 DPN de $2,76 \pm 0,43$. Após aumento aos 43 DPN ($4,11 \pm 1,9$), a prole de rata A reduziu o número médio de contra-ataques aos 47 DPN ($2,11 \pm 0,93$). Prole de ratas A aos 50 DPN ($3,78 \pm 0,97$) aumentaram o número médio de contra-ataques, seguido por redução progressiva até os 56 DPN ($1,67 \pm 0,71$).

A Prole de ratas RT, após redução no número médio de contra-ataques aos 30 DPN ($0,33 \pm 0,52$), aumentou o número médio para $2,67 \pm 0,82$ aos 32 DPN. Após o período dos 33 aos 38 DPN, em que o número médio de contra-ataques correspondeu a $2,13 \pm 0,36$, a média da prole de ratas RT ficou próxima à $2,28 \pm 0,72$, até os 54 DPN. Aos 55 DPN, a prole de rata RT aumentou o número médio de contra-ataques para $5,33 \pm 1,97$, seguido por redução e manutenção em $2,38 \pm 0,3$ até os 62 DPN.

A prática e o nível de atividade física materna apresentou efeito médio sobre o número de contra-ataques da prole dos 28 aos 62 DPN [$F(2, 630) = 13,57$; $p = 0,0001$; $\eta^2_p=0,04$] (figura S9). Mesmo que de forma transitória e ocorrendo em poucos dias (7 dias de análise), a prole de rata A apresentou maior número médio de contra-ataques, quando comparada à prole de ratas MA e RT.

5 DISCUSSÃO

Como esperado, as ratas com acesso a roda de corrida desenvolveram padrões distintos da prática de AFV, permitindo classificá-las em MA e A durante o período de adaptação. Com a chegada da gestação e lactação, todas as ratas reduziram igualmente a prática de AFV, parecendo priorizar o desenvolvimento da prole. Além disso, níveis altos de AFV apresentados principalmente por ratas MA, pareceu resultar em maior controle do ganho de peso corporal, ingestão alimentar e calórica das ratas antes e durante a gestação e lactação. Com relação à prole, os resultados indicam que os altos níveis de tempo despendido em AFV e BS, e o alto número da expressão de comportamentos sociais, frequentemente foi associado ao nível de AFV das ratas A. Além disso, para a AFE da prole, parece que a exposição materna a gaiolas com maiores possibilidades de exploração ativa do ambiente (RT), e não a prática de AFV (MA e A), leva a prole a apresentar alto nível de AFE.

5.1 ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA E PARÂMETROS RELACIONADOS AO CONSUMO ALIMENTAR MATERNO

Durante os 30 dias (período de adaptação) que precederam o acasalamento, as ratas praticaram atividade física voluntária (AFV) de formas distintas a partir do 12º dia de adaptação. Esses padrões distintos de AFV, relacionados ao tempo, distância e estimativa de gasto calórico, ocorreram espontaneamente sem estímulos externos adicionais além da exposição à roda de corrida (GARLAND *et al.*, 2011). Com início da gestação, com em estudos anteriores do nosso grupo, ratas MA e A reduziram a AFV de forma similar, sendo a distância percorrida o parâmetro que mais reduziu (redução de 85%, MA; 80,6%, A) (FRAGOSO, J. *et al.*, 2020; FRAGOSO, J. *et al.*, 2017). Isso reflete em menor velocidade de corrida na roda pelas ratas, resultando na diminuição da intensidade e assim menor gasto calórico nas fases da gestação e lactação (SANTANA MUNIZ, G. *et al.*, 2014). A redução de AFV pelas ratas, pode decorrer de baixos níveis de estrogênio circulante durante a gestação, pois ele induz à sinalização de DA no NAc e ativação de receptores α e β de estrogênio na área pré-óptica medial do hipotálamo, que resulta em aumento da motivação para AF (GRIGSBY, K. B. *et al.*, 2020; ROSENFELD, C. S., 2017). A redução da AFV é considerada uma importante estratégia materna para manutenção da gestação, pois prioriza o investimento energético no processo de desenvolvimento da prole (GAMO, Y. *et al.*, 2013). Logo, durante a gestação e lactação, a redução da AFV materna é uma adaptação necessária para a provisão adequada de energia para a prole em desenvolvimento, que parece ser mediada pelo estrogênio.

O investimento materno na ingestão alimentar e calórica durante a gestação e lactação, ocorreu de forma distinta entre as ratas do grupo MA e A, sendo mais uniforme entre as ratas RT. Principalmente após o 10º dia de gestação pareceu ocorrer um aumento nos valores de ingestão alimentar e calórica de todas as ratas. Esse aumento coincide com o período em que está ocorrendo diferentes processos de desenvolvimento do sistema nervoso da prole: a formação da placa neural e processo cefálico (9º ao 10º dia), fechamento do sulco neural (9º ao 10º dia), e cérebro primitivo dividido em telencéfalo e diencéfalo (11º ao 12º dia) (DO CARMO, J. C.; PETER, V. M.; DE OLIVEIRA GERRA, M., 2007). Esses processos demandam alto custo energético, onde o estado metabólico materno alterado, com conseqüente fornecimento inadequado de nutrientes para os fetos, pode resultar em anormalidades neurocomportamentais (MITCHELL, A. J.; DUNN, G. A.; SULLIVAN, E. L., 2022). Assim, o aumento da ingestão alimentar e calórica pode ser uma resposta do organismo materno, para suprir as demandas energéticas crescentes do feto em desenvolvimento.

Diferente de estudos anteriores do nosso grupo, realizamos uma análise descritiva e individualizada para cada rata, sendo observado que uma rata MA com os maiores valores para AFV, também apresentou menor peso corporal, consumo alimentar e de calorias em todos os períodos analisados (FRAGOSO, J. *et al.*, 2017; SANTANA MUNIZ, G. *et al.*, 2014). Segundo alguns estudos, a prática excessiva de AF na roda por roedores, implica na ativação do sistema hipotalâmico de pró-opiomelanocortina e aumento de β -endorfina, resultando em redução do consumo e comportamento antecipatório alimentar (DAIMON, C. M.; HENTGES, S. T., 2021; KLENOTICH, S. J.; DULAWA, S. C., 2012). Em ratos, foi observado que o acesso à roda de corrida durante 3 e 7 dias, aumentou a expressão do fator liberador de corticotrofina e transtirretina na porção dorsomedial do hipotálamo (KAWAGUCHI, M. *et al.*, 2005; ZHENG, F. *et al.*, 2016). Assim, pode ser que essa rata MA, apresente maior ativação destes mecanismos subjacentes ao controle da ingestão alimentar e calórica.

5.2 PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS RELACIONADOS À ATIVIDADE FÍSICA DA PROLE

A classificação dos filhotes quanto a expressão de comportamentos ativos foi influenciada pela prática de AF materna. Com relação ao tempo despendido em AFV, o fenótipo materno ativo foi associado a classificação em muito ativo da sua prole, a qual apresentou, principalmente dos 28 aos 57 DPN, maior média diária de tempo despendido em AFV quando comparada aos demais grupos. A transferência do fenótipo de AF materna tem sido utilizado para a seleção de linhagens de ratos e camundongos com maior predisposição a correr grandes

distâncias na roda, induzindo assim uma seleção artificial para fenótipos específicos (CADNEY, M. D.; HIRAMATSU, L.; *et al.*, 2021; LEE, J. R. *et al.*, 2019). Normalmente estes estudos consideram apenas dois fenótipos maternos: níveis altos ou baixos de AF, identificados após 6 dias de exposição do animal a uma roda de corrida (SWALLOW, J. G.; CARTER, P. A.; GARLAND, T., 1998). Contudo, as ratas podem expressar três trajetórias comportamentais para AFV, sendo uma intermediária classificada como ativa, que em nosso estudo atual foi a que mais promoveu a prática de AFV na prole (SANTANA MUNIZ, G. *et al.*, 2014).

Maiores níveis de AF pela prole de A podem estar associados à prática materna de AFV de forma mais consistente do que a de ratas MA. Por exemplo, considerando a distância percorrida durante a adaptação, ratas A apresentam poucos aumentos isolados e quedas nesta variável se comparadas à MA, que por vezes reduziram a valores inferiores ao de ratas A. Em estudo prévio, a prática de AFV mais estável por ratas A também foi observada no período de adaptação, aumentando progressivamente a distância percorrida sem grandes oscilações, diferente de ratas MA (SANTANA MUNIZ, G. *et al.*, 2014). Segundo alguns autores, além da exposição crônica à estímulos ambientais, quanto mais estável ao longo do tempo for o estímulo sobre o organismo progenitor, mais facilmente ocorre a passagem de fenótipos maternos para a prole (LOISON, L., 2019; WADDINGTON, C. H., 1959). Porém, mesmo com a prática de AFV pelas mães de forma crônica e estável, em nosso estudo, com a proximidade da idade adulta tanto a prole de mães A, MA e RT passam a despender tempo em AFV próximo ao de mães C. Em camundongos provenientes de mães selecionadas artificialmente para altos níveis de AFV, o tempo de corrida na roda, durante a idade adulta, também se aproximou ao da prole de mães controle (CADNEY, M. D.; SCHWARTZ, N. E.; *et al.*, 2021). Portanto, a prática materna de AF de forma mais estável, pode levar a prole a apresentar maiores níveis de AF, porém não de forma determinista, tendendo a reduzir ao passo que a prole atinge a idade adulta.

O tempo médio diário despendido em AFV pela prole de todas as ratas foi maior durante a infância e início da adolescência (28 – 36 DPN), reduzindo com o avançar da idade. Em estudo conduzido em ratos, com acesso à roda de corrida a partir dos 28 DPN, também ocorreu uma redução da prática de AF próximo às 8 semanas PN (56 dias) (RUEGSEGGER, G. N. *et al.*, 2016). Uma revisão sistemática composta de 16 estudos que analisaram durante um período de 2-10 anos o comportamento ativo de crianças, observou que a transição da infância para a fase adulto jovem também foi marcada por redução da prática de AF (HAYES, G. *et al.*, 2019). Altos níveis de AFV, na infância e início da adolescência, podem estar associados ao aumento de receptores de DA -1 (D1) no NAc e redução do receptor de leptina na área tegmental ventral (ATV) de ratos. Com a proximidade da idade adulta, os níveis de AFV e a expressão do D1 no

NAc reduzem, com aumento do receptor de leptina na ATV de ratos (RUEGSEGGER, G. N.; GRIGSBY, K. B.; *et al.*, 2017). A redução de AF também pode decorrer de alterações transcriptômicas no NAc. Em ratos, menores níveis de AFV, com o avançar da idade, foram associados com a redução na sinalização mediada por adenosina 3,5-monofosfato cíclico (AMPC), fosfoproteína neuronal regulada por DA e AMPC, e plasticidade sináptica no NAc (RUEGSEGGER, G. N.; TOEDEBUSCH, R. G.; *et al.*, 2017). Isto posto, com o avançar da idade a motivação para a prática de AF parece reduzir por menor envolvimento do NAc, conferindo a esse comportamento menor sensação de prazer e recompensa.

Os filhotes classificados com maior frequência como muito ativos para AFE foram provenientes de ratas RT (67,6%). Com relação aos dados de tempo diário, a prole de ratas RT foi a que mais despendeu tempo em AFE, quando comparados à MA e A dos 28 aos 62 DPN. Desta forma, parece que os maiores níveis de AFE da prole não estão associados ao nível de AFV materna, já que o livre acesso a roda de corrida gerou com maior frequência filhotes ativos (mãe A, 64,8%) ou pouco ativos (mãe MA, 53,3%). Por outro lado, pode ser que a exposição das ratas RT à GAFVM com a roda de corrida travada, tenha estimulado a expressão de mais comportamentos associados à exploração ativa da gaiola (escalar a roda de corrida e a parte superior da gaiola) pelas mães. Estudos prévios em camundongos, observaram que a exposição materna a gaiolas mais amplas ou enriquecidas durante a gestação reduziu a AFE da prole, quando expostas a um novo ambiente, de forma dependente da linhagem e do sexo (WHITAKER, J. *et al.*, 2007; WHITAKER, J. W. *et al.*, 2016). Porém, a AFE da prole foi analisada de forma pontual (42DPN) em um ambiente com o qual os animais não estavam habituados, não considerando a expressão de AFE da prole em um ambiente social após período de habituação.

Os resultados diários referentes à AFE mostram que mesmo após o período de habituação à GAFV (21 aos 27 DPN), a prole de rata RT despendeu mais tempo médio neste comportamento do que a prole de A e MA. Um estudo conduzido em ratos, também observou que após a habituação a uma arena experimental, esses animais aumentaram a sua atividade motora, indicando maior exploração ativa do ambiente após o período de aclimatação (GENTSCH, C.; LICHTSTEINER, M.; FEER, H., 1981). O aumento na exploração ativa, sem o componente estressante da exposição a um ambiente ou situação desconhecida, parece depender dos níveis corticais de acetilcolina (GIOVANNINI, M. G. *et al.*, 1998). Em ratos habituados a uma arena experimental, durante a infância, a administração intraperitoneal de 0,6 mg/kg/ml de escopolamina (antagonista muscarínico), aumentou o tempo de imobilidade e menor exploração ativa da arena (LIMA, A. P. *et al.*, 2014). Além disso, em camundongos foi

observado que a deficiência de receptores para o neuropeptídeo Y (NPY Y1) e leptina (STAT3) no núcleo arqueado do hipotálamo, reduziu a expressão de AFE (COPPARI, R. *et al.*, 2005; PEDRAZZINI, T. *et al.*, 1998). Então, a prole de ratas RT pode apresentar alterações no sistema colinérgico e em mecanismos envolvidos no controle do gasto energético induzido por AF, que resultam em maior exploração ativa do ambiente por estes animais.

A AFV materna apresentou associação com a classificação da prole em um dos níveis de BS, onde filhotes de ratas MA (55,7%) e A (45,7%) apresentaram maior frequência como muito ativos, enquanto de RT como ativos (79,5%) e C como pouco ativos (68,9%). Com o avançar da idade, filhotes de ratas MA aumentaram o tempo médio de BS, e de A e RT mantiveram o tempo médio sem períodos marcados por redução, como visto na prole de ratas C, que em períodos específicos reduziram a expressão de BS. A BS da prole de ratas C corrobora o de estudos prévios, com pico dos 28 aos 35 DPN e declínio a partir dos 36 DPN, mantendo o tempo despendido em BS sempre inferior aos observados inicialmente (MARTINS, G. W. *et al.*, 2020; SIVIY, S. M.; PANKSEPP, J., 2011). Por sua vez, o livre acesso à roda de corrida, ou mesmo travada, resultou em aumento no tempo despendido em BS pela prole, mantendo-se próximo (prole de RT) ou acima (prole de MA e A) dos valores observados no período dos 28 aos 35 DPN. Isso pode refletir uma maior motivação para início e manutenção da BS por mais tempo, pela prole de MA e A. Logo, pode ser que a exposição à AF materna leve a alterações, que resultam em maior componente social na prole ao longo do período analisado.

A prática materna de AF, parece alterar alguns parâmetros que influenciam a expressão de exploração e abordagem social da prole. Em camundongos com acesso à roda de corrida na gestação e lactação, foi observado aumento de cuidados maternos, ocitocina plasmática e serotonina no cérebro materno (NAGHIBI, S. *et al.*, 2022). As ações de cuidado mãe-filho são consideradas como a primeira forma de interação social da prole, e a redução dessas interações durante a lactação, leva a prole a emitir vocalizações atípicas e menor número de interações sociais (YATES, N. J. *et al.*, 2018). Níveis altos de ocitocina e serotonina maternos, pela prática de AF, podem resultar na prole em um aumento da eficiência de áreas cerebrais (corpo estriado dorsal e ventral, giro denteado e regiões CA2/CA3 hipocampais) envolvidas na memória social e controle da expressão de comportamentos sociais (BERTONI, A. *et al.*, 2021; VAN DEN BOS, R., 2015). Dessa forma, a prática materna de AF parece estimular na prole, por mecanismos variados, a manutenção de interações sociais com o avançar da idade e pode facilitar a aquisição de habilidades sociais.

Quanto à diferença entre os grupos, durante a maior parte do período analisado a prole de ratas MA e A despenderam mais tempo em BS do que a de RT e C. A trajetória de tempo despendido em BS por ratos, comumente observada, é marcada por aumento durante a infância e adolescência (28 aos 40 DPN) com declínio ao passo que a maturação sexual se aproxima (PANKSEPP, J., 1981; VANDERSCHUREN, L. J.; TREZZA, V., 2014). Para que a BS se inicie é necessário que um dos ratos (atacante) lance um ataque lúdico (AL) à nuca do seu parceiro (recipiente), sendo observada, com o avançar da idade, menor motivação para se lançar AL e conseqüente redução no tempo de BS (PELLIS, SERGIO M.; PELLIS, VIVIEN C., 1990). A redução na motivação para lançar AL, parece estar associada com a maior probabilidade do rato recipiente em responder com comportamentos de retaliação agonísticos (boxe e comportamento de *wrestling*) (PELLIS, SERGIO M.; PELLIS, VIVIEN C., 1990). Contudo, a prole de ratas MA apresenta um aumento tardio (43 aos 55 DPN) no tempo despendido em BS, parecendo haver manutenção da motivação para interações sociais, mesmo com o avançar da idade.

A motivação para início e manutenção da BS, depende da ativação de sistemas neurais relacionados à recompensa, emoção e memória (AUGER, A. P.; OLESEN, K. M., 2009; SIVIY, S. M.; PANKSEPP, J., 2011). Através de paradigmas comportamentais (labirinto em T, preferência condicionada de lugar e condicionamento operante), aspectos de recompensa da BS em ratos, incluindo a sensação subjetiva de prazer, motivação de realizar tarefas para poder brincar e aprendizagem associativa e memória, foram observados (VANDERSCHUREN, L. J. M. J.; ACHTERBERG, E. J. M.; TREZZA, V., 2016). Subjacente a esses aspectos, o NAc parece ser a área central para a motivação e manutenção da BS, pois a ativação do sistema receptor μ -opióide e dopaminérgico nesta área, resulta em início e maior tempo despendido em BS por ratos (MANDUCA, A. *et al.*, 2016; TREZZA, V. *et al.*, 2011). Além disso, durante a BS ratos adquirem experiências que são armazenadas, resultando na aquisição de habilidades sociais. Para isso, ocorre uma interação entre a área CA1 (*Cornus Amonn*) da porção ventral do hipocampo (vCA1) e a concha do NAc, onde quanto maior o número de neurônios ativados vindos da vCA1, força e estabilidade do impulso, maior a formação e aquisição de memórias durante a BS (OKUYAMA, T. *et al.*, 2016). Assim, pode ser que a melhor eficiência desses sistemas influencie a motivação e aprendizado social da prole.

A exposição da prole à prática materna de AF parece resultar em alterações no desenvolvimento desses sistemas centrais envolvidos no controle da expressão de BS. Em estudo prévio, ratas que praticaram AFV antes e durante a gestação, classificadas como MA, apresentaram aumento de mRNA NTF4 na placenta, que pode refletir em maior investimento

no desenvolvimento neural da prole (FRAGOSO, J. *et al.*, 2020). Em ratas, a AFV materna, durante a gestação e lactação, aumentou a expressão de genes relacionados à DA (D1, D2, transportador de DA) e opióides (pré proencefalina, Δ e μ -opióide receptor) no sistema central de recompensa (ATV, NAc e PFC) na infância e idade adulta da prole (SONG, L. *et al.*, 2020). Em camundongos, a AFV materna, antes e durante a gestação e lactação, pareceu aumentar a funcionalidade do hipocampo da prole, por maior expressão do coativador 1- α do receptor γ ativado por proliferador de peroxissoma (PGC-1 α), que pode resultar em produção de energia aeróbia mais eficiente (VENEZIA, A. C. *et al.*, 2015). Além disso, a AF forçada (corrida em esteira), antes e durante a gestação e lactação, aumentou a neurogênese (BDNF e TrkB), e marcadores de sobrevivência e diferenciação de células progenitoras (BrdU⁺/NeuN e DCX⁺) no hipocampo da prole (KIM, T. W.; PARK, H. S., 2018; SEGABINAZI, E. *et al.*, 2019). Então, estas alterações no SNC da prole (neurogênese, plasticidade sináptica e brotamento axonal), decorrente da AF materna, pode ser a causa do maior tempo despendido em BS de maneira dependente do nível de AF da mãe.

A análise da BS por estudos prévios, limita-se ao tempo despendido, à frequência de ataques lúdicos (AL) e adoção da postura supina (PS), durante sessões de interação social em díades (PAPILLOUD, A. *et al.*, 2018; REINHART, C. J.; PELLIS, S. M.; MCINTYRE, D. C., 2004). Além do tempo despendido em BS, analisamos de forma crônica em grupos sociais a expressão de comportamentos característicos desse tipo de interação social. Tais comportamentos refletem a motivação dos animais em iniciar a BS, e também como as interações tornam-se mais complexas com o avançar da idade. Para início da BS é necessário que o animal atacante realize um AL, a partir da tentativa de alcançar a nuca do rato recipiente (VANDERSCHUREN, L. J.; TREZZA, V., 2014). De maneira dependente da prática AF materna, as proles lançaram AL de formas distintas, que parece refletir maior motivação para iniciar BS durante a infância e início da adolescência (prole de ratas A), ou a manutenção da frequência de AL ao longo do período analisado. Provavelmente, a diferença observada na frequência de AL entre as proles, decorre do tipo de resposta do animal recipiente ao receber um AL.

Alguns fatores podem estar relacionados com a motivação para lançar AL. Por exemplo, em ratos o componente lúdico da BS é necessário para manutenção dos níveis de motivação para se lançar AL, pois a interação social continua tendo alto grau de recompensa (SIVIY, S. M.; PANKSEPP, J., 2011; TREZZA, V.; BAARENDSE, P. J. J.; VANDERSCHUREN, L. J. M. J., 2010). O componente lúdico da BS depende da forma como o rato recipiente responde ao AL, sendo a adoção da PS para proteção da sua nuca, altamente recompensadora para o rato

atacante (HUMPHREYS, A. P.; EINON, D. F., 1981; PELLIS, S. M.; MCKENNA, M., 1995). Através da classificação da prole de acordo com o número de adoções da PS e análise dos dados diários, foi visto que a prole de mães MA e A em resposta à AL assumiram com maior frequência a PS, do que a prole de RT. Além disso, a prole de rata MA parece apresentar maior probabilidade de responder a AL adotando a PS do que a de A, principalmente dos 48 aos 54 DPN. Em estudos prévios conduzidos em ratos, a ausência de resposta lúdica (adoção da PS) pelo parceiro de BS, durante a adolescência, reduziu a expressão de AL e aumentou níveis de frustração do animal atacante (PARVOPASSU, A. *et al.*, 2021; REINHART, C. J. *et al.*, 2006). Assim, a maior probabilidade do animal recipiente em assumir a PS, pode ser a causa da manutenção do número de AL e dos altos níveis de tempo despendido em BS pela prole de MA e A.

Com o avançar da idade e proximidade da maturação sexual, ocorre uma transição gradual na complexidade de comportamentos de ataque e defesa, que refletem o estágio maturacional e repertório de habilidades sociais (PELLIS, S.; PELLIS, V., 2013). Como falado anteriormente, a prole de ratas A lançou mais AL durante a infância e início da adolescência (28 aos 44 DPN), levando a maiores tentativas de BS. O maior número de interações sociais durante a infância, parece ter conferido à prole de mães A maior experiência lúdica, que ocasionou em maior frequência da expressão de comportamentos mais complexos, quando comparada à prole de ratas MA e RT (PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C., 2017). Estudo prévio observou que o maior investimento em BS, durante a infância de ratos, levou à aquisição de habilidades sociais, resultando em um repertório comportamental mais complexo e flexível (PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C., 2007). A expressão desses comportamentos depende da maturação e da ativação de um intrincado circuito neural que envolve o processamento somatossensorial (área parafascicular do tálamo), motor (córtex frontal e corpo estriado), dor e ameaça (substância cinzenta periaquedutal) (BROWN, H. D.; BAKER, P. M.; RAGOZZINO, M. E., 2010; GORDON, N. S. *et al.*, 2002). Assim, pela prole de rata A ter iniciado mais interações sociais, dos 28 aos 44 DPN, pode ter ocorrido uma antecipação na maturação de circuitos neurais envolvidos na expressão de comportamentos sociais mais complexos.

A prole de ratas A apresentou alto número de expressão em todos os componentes da BS, indicando que a BS não só dura mais tempo, mas também são mais complexas entre esses animais. Dessa forma, a prole de mães A, quando comparada à de MA e RT, apresentou durante a BS as características de assertividade antecipada. A prole de MA, por sua vez, também apresentou maior assertividade do que a prole de RT. A assertividade corresponde à eficiência de um AL em levar o animal recipiente a assumir a PS, onde o animal atacante, com o avançar

da idade, passa a apresentar maior “intenção” de ganhar acesso a áreas específicas do corpo do parceiro, ou uma posição de vantagem (MARTINS, G. W. *et al.*, 2020). O número médio de AL seguido da adoção de PS (ALPS), foi superior na prole de A desde os 28 DPN, quando comparado à de MA, e a partir dos 35 DPN com relação à de RT. Assim, a prole de A, quando comparada as demais, parece ser mais eficiente em induzir a PS no parceiro de brincadeira de forma antecipada.

Além disso, a prole de ratas A apresentou maior capacidade de resistir ao AL, antes e durante a adoção da PS. Após um AL, o rato recipiente pode responder de formas diversas, evitando o contato do focinho do atacante em sua nuca. Uma dessas respostas é a expressão do comportamento de boxe, também chamado de defesa em pé (PELLIS, S. M. *et al.*, 1997). Após o início da adolescência, a prole de A apresentou alto número de resistência à AL através da expressão de boxe, com média superior nos dias em que os grupos diferiram (dos 28 aos 62 DPN).

Mesmo após o rato recipiente assumir a PS, durante esta posição de desvantagem em decúbito dorsal, há a possibilidade dele tentar obter o acesso à nuca do rato atacante que o está imobilizando (PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C.; DEWSBURY, D. A., 1989). Em nosso estudo quantificamos o número de sucessos do animal recipiente em reverter a PS (RPS), levando o rato, que inicialmente era o atacante, a adotar a PS. A prole de rata A, mesmo após a adoção da PS, apresentou maior resistência na tentativa de livrar-se do parceiro de BS, levando ao aumento no número de RPS, quando comparada à prole de MA e RT. Com relação ao número de contra-ataques, que ocorreu quando o rato atacante acabou assumindo a PS, sendo imobilizado pelo rato recipiente, a prole de rata A foi a que apresentou a maior frequência desse comportamento dos 28 aos 62 DPN. Dessa forma, o nível de AF materna parece influenciar a forma como a BS ocorre, sendo as proles de A mais propensas a retaliar AL de forma menos lúdica. A maior probabilidade de um AL não ser respondido facilmente com a adoção da PS, pode ser a razão de menos tempo despendido em BS pela prole de A, no período dos 43 aos 54 DPN, quando comparado à de MA que resistiu menos durante a BS (PELLIS, SERGIO M.; PELLIS, VIVIEN C., 1990).

6 CONCLUSÃO

Em nosso estudo, as ratas assumiram padrões distintos de AFV antes do acasalamento, permitindo classificá-las em MA e A. Ratas A durante o período de adaptação praticaram AF de forma mais estável ao longo do tempo, com poucas ondulações nas variáveis de AFV, diferente de ratas MA. O estabelecimento desses fenótipos para AF, antes do acasalamento, parece ter gerado diferentes formas de investimento para a manutenção da gestação e lactação. Aparentemente, apenas a AF durante o período de adaptação gerou diferenças na trajetória de investimento materno para manutenção da prole, pois após o início da gestação, a prática de AF das ratas MA e A reduziram de forma similar. O parâmetro com maior percentual de redução da AF, após o início da gestação, foi a distância percorrida, que parece estar associado a uma menor velocidade empregada na prática de corrida na roda. Além disso, quanto mais altos os níveis de AFV das ratas, durante o período de adaptação, maior parece ser o controle central da ingestão alimentar e calórica nos períodos da gestação e lactação. Assim, a AF antes do acasalamento é um potencial fator ambiental capaz de afetar o investimento materno sobre a trajetória de crescimento da prole.

A análise da expressão comportamental da prole, desde a infância e início da fase adulto jovem, permitiu verificar que a AF materna não só influencia o tempo despendido em comportamentos ativos, mas também aspectos sociais da prole. A exposição das ratas a gaiolas maiores e mais complexas, possibilitando maior exploração ativa do ambiente, pareceu resultar em maior tempo despendido em AFE pela prole. Quanto à prática de corrida na roda, observamos que independentemente do nível de AF materno, com o avançar da idade, o tempo despendido em corrida na roda reduz. Interessantemente, parece que a prática materna de AF de forma estável ao longo do tempo, sem picos de aumento e queda, leva a um maior tempo despendido em AFV pela prole, durante a infância e início da adolescência. Isso parece ocorrer porque além do estímulo ambiental (AF materna) ser crônico, ele incide com menos flutuações quanto a sua intensidade ao longo do tempo sobre o organismo progenitor.

Com relação ao componente social da prole, foram observados efeitos da prática de AF materna sobre o tempo despendido em BS, motivação e maturação comportamental. O tempo despendido em BS pela prole de mães MA foi superior ao de A, pois esses animais mantiveram a BS potencialmente recompensadora, por assumirem mais facilmente a PS. Já a prole de A, devido ao maior número de tentativas de interação social durante a infância e adolescência, foi mais propensa a responder ao AL de forma menos lúdica (boxe e RPS). Assim, parece que a prole de MA tende a responder ao AL de maneira mais juvenil, enquanto a de ratas A apresenta

certa antecipação maturacional, resultando em um repertório comportamental mais flexível e em maior resistência em adotar a PS.

REFERÊNCIAS

- ACOG. Physical Activity and Exercise During Pregnancy and the Postpartum Period: ACOG Committee Opinion, Number 804. **Obstetrics & Gynecology**, 135, n. 4, 2020.
- AHMED, S.; FOULKES, L.; LEUNG, J. T.; GRIFFIN, C. *et al.* Susceptibility to prosocial and antisocial influence in adolescence. **J Adolesc**, 84, p. 56-68, Oct 2020.
- AL-SALEH, I.; MONCARI, L.; JOMAA, A.; ELKHATIB, R. *et al.* Effects of early and recent mercury and lead exposure on the neurodevelopment of children with elevated mercury and/or developmental delays during lactation: A follow-up study. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, 230, p. 113629, 2020/09/01/ 2020.
- AMICI, F.; CALL, J.; WATZEK, J. Social inhibition and behavioural flexibility when the context changes: a comparison across six primate species. 8, n. 1, p. 3067, Feb 15 2018.
- AUGER, A. P.; OLESEN, K. M. Brain sex differences and the organisation of juvenile social play behaviour. **Journal of neuroendocrinology**, 21, n. 6, p. 519-525, 2009.
- BATISTA, T. H.; GIUSTI-PAIVA, A.; VILELA, F. C. Maternal protein malnutrition induces autism-like symptoms in rat offspring. **Nutr Neurosci**, 22, n. 9, p. 655-663, Sep 2019.
- BENENSON, J. F.; PASCOE, J.; RADMORE, N. Children's altruistic behavior in the dictator game. **Evolution and Human Behavior**, 28, n. 3, p. 168-175, 2007/05/01/ 2007.
- BERGER, N.; VAN DER WEL, T.; HIRSCHMUGL, B.; BAERNTHALER, T. *et al.* Inhibition of diacylglycerol lipase β modulates lipid and endocannabinoid levels in the ex vivo human placenta. **Front Endocrinol (Lausanne)**, 14, p. 1092024, 2023.
- BERGHÄNEL, A.; HEISTERMANN, M.; SCHÜLKE, O.; OSTNER, J. Prenatal stress effects in a wild, long-lived primate: predictive adaptive responses in an unpredictable environment. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 283, n. 1839, p. 20161304, 2016.
- BERGHELLA, V.; SACCONI, G. Exercise in pregnancy! **Am J Obstet Gynecol**, 216, n. 4, p. 335-337, Apr 2017.
- BERMAN, A. K.; LOTT, R. B.; DONALDSON, S. T. Periodic maternal deprivation may modulate offspring anxiety-like behavior through mechanisms involving neuroplasticity in the amygdala. **Brain Res Bull**, 101, p. 7-11, Feb 2014.
- BERTONI, A.; SCHALLER, F.; TYZIO, R.; GAILLARD, S. *et al.* Oxytocin administration in neonates shapes hippocampal circuitry and restores social behavior in a mouse model of autism. 26, n. 12, p. 7582-7595, Dec 2021.
- BLAKE, P. R.; RAND, D. G. Currency value moderates equity preference among young children. **Evolution and Human Behavior**, 31, n. 3, p. 210-218, 2010/05/01/ 2010.

BONFIM, T.; TAVARES, R. L.; DE VASCONCELOS, M. H. A.; GOUVEIA, M. *et al.* Potentially obesogenic diets alter metabolic and neurobehavioural parameters in Wistar rats: a comparison between two dietary models. **J Affect Disord**, 279, p. 451-461, Jan 15 2021.

BREACH, M. R.; DYE, C. N.; JOSHI, A.; PLATKO, S. *et al.* Maternal allergic inflammation in rats impacts the offspring perinatal neuroimmune milieu and the development of social play, locomotor behavior, and cognitive flexibility. **Brain Behav Immun**, 95, p. 269-286, Jul 2021.

BROCARD, P. S.; BOEHME, F.; PATTEN, A.; COX, A. *et al.* Anxiety- and depression-like behaviors are accompanied by an increase in oxidative stress in a rat model of fetal alcohol spectrum disorders: Protective effects of voluntary physical exercise. **Neuropharmacology**, 62, n. 4, p. 1607-1618, Mar 2012.

BROWN, H. D.; BAKER, P. M.; RAGOZZINO, M. E. The parafascicular thalamic nucleus concomitantly influences behavioral flexibility and dorsomedial striatal acetylcholine output in rats. **J Neurosci**, 30, n. 43, p. 14390-14398, Oct 27 2010.

BROWN, M. Food and range defence in group-living primates. **Animal Behaviour**, 85, n. 4, p. 807-816, 2013/04/01/ 2013.

BRYDGES, N. M.; HALL, J.; BEST, C.; RULE, L. *et al.* Childhood stress impairs social function through AVP-dependent mechanisms. **Translational Psychiatry**, 9, n. 1, p. 330, 2019/12/09 2019.

BURDGE, G. C.; LILLYCROP, K. A. Nutrition, Epigenetics, and Developmental Plasticity: Implications for Understanding Human Disease. **Annual Review of Nutrition**, 30, n. 1, p. 315-339, 2010.

BURKETT, J. P.; ANDARI, E.; JOHNSON, Z. V.; CURRY, D. C. *et al.* Oxytocin-dependent consolation behavior in rodents. **Science**, 351, n. 6271, p. 375-378, Jan 22 2016.

BUTTE, N. F.; KING, J. C. Energy requirements during pregnancy and lactation. **Public Health Nutr**, 8, n. 7a, p. 1010-1027, Oct 2005.

CADNEY, M. D.; HIRAMATSU, L.; THOMPSON, Z.; ZHAO, M. *et al.* Effects of early-life exposure to Western diet and voluntary exercise on adult activity levels, exercise physiology, and associated traits in selectively bred High Runner mice. **Physiol Behav**, 234, p. 113389, May 15 2021.

CADNEY, M. D.; SCHWARTZ, N. E.; MCNAMARA, M. P.; SCHMILL, M. P. *et al.* Cross-fostering selectively bred High Runner mice affects adult body mass but not voluntary exercise. **Physiology & Behavior**, 241, p. 113569, 2021/11/01/ 2021.

CALDJI, C.; DIORIO, J.; MEANEY, M. J. Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. **Biol Psychiatry**, 48, n. 12, p. 1164-1174, Dec 15 2000.

CALHOUN, J. B. **The ecology and sociology of the Norway rat**. US Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, 1963. v. 1008). 0598493492.

CAMPELLONE, T. R.; PECKHAM, A. D.; JOHNSON, S. L. Parsing positivity in the bipolar spectrum: The effect of context on social decision-making. **Journal of Affective Disorders**, 235, p. 316-322, 2018/08/01/ 2018.

CARTAUD, A.; OTT, L.; IACHINI, T.; HONORÉ, J. *et al.* The influence of facial expression at perceptual threshold on electrodermal activity and social comfort distance. **Psychophysiology**, 57, n. 9, p. e13600, 2020.

CASAS, M.; FORNS, J.; MARTÍNEZ, D.; GUXENS, M. *et al.* Maternal pre-pregnancy obesity and neuropsychological development in pre-school children: a prospective cohort study. **Pediatr Res**, 82, n. 4, p. 596-606, Oct 2017.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Reports**, 100, n. 2, p. 126-131, Mar-Apr 1985.

CASTRO-RODRÍGUEZ, D. C.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G. L.; MENJIVAR, M.; ZAMBRANO, E. Maternal interventions to prevent adverse fetal programming outcomes due to maternal malnutrition: Evidence in animal models. **Placenta**, 102, p. 49-54, Dec 2020.

CHAGAS, L. A.; BATISTA, T. H.; RIBEIRO, A.; FERRARI, M. S. *et al.* Anxiety-like behavior and neuroendocrine changes in offspring resulting from gestational post-traumatic stress disorder. **Behav Brain Res**, 399, p. 113026, Feb 5 2021.

CHEN, J.; ZHAO, X.; CUI, L.; HE, G. *et al.* Genetic regulatory subnetworks and key regulating genes in rat hippocampus perturbed by prenatal malnutrition: implications for major brain disorders. **Aging (Albany NY)**, 12, n. 9, p. 8434-8458, May 11 2020.

CLAPP, J. F., 3rd. Morphometric and neurodevelopmental outcome at age five years of the offspring of women who continued to exercise regularly throughout pregnancy. **J Pediatr**, 129, n. 6, p. 856-863, Dec 1996.

COPPARI, R.; ICHINOSE, M.; LEE, C. E.; PULLEN, A. E. *et al.* The hypothalamic arcuate nucleus: A key site for mediating leptin's effects on glucose homeostasis and locomotor activity. **Cell Metabolism**, 1, n. 1, p. 63-72, 2005/01/01/ 2005.

CORDERO, Y.; MOTTOLA, M. F.; VARGAS, J.; BLANCO, M. *et al.* Exercise Is Associated with a Reduction in Gestational Diabetes Mellitus. **Med Sci Sports Exerc**, 47, n. 7, p. 1328-1333, Jul 2015.

DAIMON, C. M.; HENTGES, S. T. β -endorphin differentially contributes to food anticipatory activity in male and female mice undergoing activity-based anorexia. **Physiol Rep**, 9, n. 5, p. e14788, Mar 2021.

DANYSH, H. E.; ZHANG, K.; MITCHELL, L. E.; SCHEURER, M. E. *et al.* Maternal residential proximity to major roadways at delivery and childhood central nervous system tumors. **Environ Res**, 146, p. 315-322, Apr 2016.

DE ROOIJ, S. R.; CAAN, M. W.; SWAAB, D. F.; NEDERVEEN, A. J. *et al.* Prenatal famine exposure has sex-specific effects on brain size. **Brain**, 139, n. Pt 8, p. 2136-2142, Aug 2016.

DEROSA, H.; CARADONNA, S. G.; TRAN, H.; MARROCCO, J. *et al.* Milking It for All It's Worth: The Effects of Environmental Enrichment on Maternal Nurturance, Lactation Quality, and Offspring Social Behavior. 9, n. 4, Jul-Aug 2022.

DO CARMO, J. C.; PETER, V. M.; DE OLIVEIRA GERRA, M. Cronologia do desenvolvimento embrionário e fetal de ratos conforme a datação do início da prenhez. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução (Descontinuada)**, 26, n. 1/2, 2007.

DONOVAN, A.; RYAN, E.; WOOD, R. I. Cooperative responses in rats playing a 2×2 game: Effects of opponent strategy, payoff, and oxytocin. **Psychoneuroendocrinology**, 121, p. 104803, 2020/11/01/2020.

DUNSWORTH, H. M.; WARRENER, A. G.; DEACON, T.; ELLISON, P. T. *et al.* Metabolic hypothesis for human altriciality. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 109, n. 38, p. 15212-15216, Sep 18 2012.

ELLISON, P. Energetics, reproductive ecology, and human evolution. **PaleoAnthropology**, 2008.

ERTAN, A. K.; SCHANZ, S.; TANRIVERDI, H. A.; MEYBERG, R. *et al.* Doppler examinations of fetal and uteroplacental blood flow in AGA and IUGR fetuses before and after maternal physical exercise with the bicycle ergometer. **J Perinat Med**, 32, n. 3, p. 260-265, 2004.

ESTEBAN-CORNEJO, I.; MARTINEZ-GOMEZ, D.; TEJERO-GONZÁLEZ, C. M.; IZQUIERDO-GOMEZ, R. *et al.* Maternal physical activity before and during the prenatal period and the offspring's academic performance in youth. The UP&DOWN study. **J Matern Fetal Neonatal Med**, 29, n. 9, p. 1414-1420, 2016.

FAIRBANKS, L. A. Early experience and cross-generational continuity of mother-infant contact in vervet monkeys. **Developmental Psychobiology**, 22, n. 7, p. 669-681, 1989.

FEDER, M. E.; GARLAND, T., Jr.; MARDEN, J. H.; ZERA, A. J. Locomotion in response to shifting climate zones: not so fast. **Annu Rev Physiol**, 72, p. 167-190, 2010.

FEKETE, E. M.; ZHAO, Y.; LI, C.; SABINO, V. *et al.* Social defeat stress activates medial amygdala cells that express type 2 corticotropin-releasing factor receptor mRNA. **Neuroscience**, 162, n. 1, p. 5-13, 2009.

FERNANDES, C.; GRAYTON, H.; POSTON, L.; SAMUELSSON, A. M. *et al.* Prenatal exposure to maternal obesity leads to hyperactivity in offspring. **Molecular Psychiatry**, 17, n. 12, p. 1159-1160, 2012/12/01 2012.

FRAGOSO, J.; CARVALHO JUREMA SANTOS, G.; DA SILVA, H. T.; LOIZON, E. *et al.* Effects of maternal low-protein diet and spontaneous physical activity on the transcription of neurotrophic factors in the placenta and the brains of mothers and offspring rats. 12, n. 3, p. 505-512, Jun 2021.

FRAGOSO, J.; CARVALHO JUREMA SANTOS, G.; THOMAZ DA SILVA, H.; OLIVEIRA NOGUEIRA, V. *et al.* Maternal physical activity-induced adaptive transcriptional response in brain and placenta of mothers and rat offspring. 11, n. 2, p. 108-117, Apr 2020.

FRAGOSO, J.; LIRA, A. O.; CHAGAS, G. S.; LUCENA CAVALCANTI, C. C. *et al.* Maternal voluntary physical activity attenuates delayed neurodevelopment in malnourished rats. 102, n. 11, p. 1486-1499, Nov 1 2017.

FRANKE, K.; GASER, C.; ROSEBOOM, T. J.; SCHWAB, M. *et al.* Premature brain aging in humans exposed to maternal nutrient restriction during early gestation. **Neuroimage**, 173, p. 460-471, Jun 2018.

GAMO, Y.; BERNARD, A.; MITCHELL, S. E.; HAMBLY, C. *et al.* Limits to sustained energy intake. XVI. Body temperature and physical activity of female mice during pregnancy. **J Exp Biol**, 216, n. Pt 12, p. 2328-2338, Jun 15 2013.

GARBER, C. E.; BLISSMER, B.; DESCHENES, M. R.; FRANKLIN, B. A. *et al.* Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory, Musculoskeletal, and Neuromotor Fitness in Apparently Healthy Adults: Guidance for Prescribing Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, 43, n. 7, p. 1334-1359, 2011.

GARLAND, T., Jr.; SCHUTZ, H.; CHAPPELL, M. A.; KEENEY, B. K. *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**, 214, n. Pt 2, p. 206-229, Jan 15 2011.

GARNER, K. L.; BOWDRIDGE, E. C.; DEVALANCE, E.; GRIFFITH, J. A. *et al.* Using the Isolated Rat Placenta to Assess Fetoplacental Hemodynamics. **Front Toxicol**, 4, p. 814071, 2022.

GENTSCH, C.; LICHTSTEINER, M.; FEER, H. Locomotor activity, defecation score and corticosterone levels during an openfield exposure: A comparison among individually and group-housed rats, and genetically selected rat lines. **Physiology & Behavior**, 27, n. 1, p. 183-186, 1981/07/01/ 1981.

GIOVANNINI, M. G.; BARTOLINI, L.; KOPF, S. R.; PEPEU, G. Acetylcholine release from the frontal cortex during exploratory activity. **Brain Research**, 784, n. 1, p. 218-227, 1998/02/16/ 1998.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. **Trends Endocrinol Metab**, 15, n. 4, p. 183-187, May-Jun 2004.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BEEDLE, A. S. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. **Am J Hum Biol**, 19, n. 1, p. 1-19, Jan-Feb 2007.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; SPENCER, H. G. Predictive adaptive responses and human evolution. **Trends Ecol Evol**, 20, n. 10, p. 527-533, Oct 2005.

GOBINATH, A. R.; WONG, S.; CHOW, C.; LIEBLICH, S. E. *et al.* Maternal exercise increases but concurrent maternal fluoxetine prevents the increase in hippocampal neurogenesis of adult offspring. **Psychoneuroendocrinology**, 91, p. 186-197, May 2018.

GOH, J.; LADIGES, W. Voluntary Wheel Running in Mice. **Curr Protoc Mouse Biol**, 5, n. 4, p. 283-290, Dec 2 2015.

GOODMAN, J. H. Perinatal depression and infant mental health. **Arch Psychiatr Nurs**, 33, n. 3, p. 217-224, Jun 2019.

GORDON, N. S.; KOLLACK-WALKER, S.; AKIL, H.; PANKSEPP, J. Expression of c-fos gene activation during rough and tumble play in juvenile rats. **Brain Res Bull**, 57, n. 5, p. 651-659, Mar 15 2002.

GRAF, A. E.; LALLIER, S. W.; WAIDYARATNE, G.; THOMPSON, M. D. *et al.* Maternal high fat diet exposure is associated with increased hepcidin levels, decreased myelination, and neurobehavioral changes in male offspring. **Brain Behav Immun**, 58, p. 369-378, Nov 2016.

GRIGSBY, K. B.; KOVARIK, C. M.; MAO, X.; BOOTH, F. W. Medial preoptic estrogen receptor-beta blunts the estrogen receptor-alpha mediated increases in wheel-running behavior of female rats. **Behav Brain Res**, 379, p. 112341, Feb 3 2020.

GUAN, S. Z.; FU, Y. J.; ZHAO, F.; LIU, H. Y. *et al.* The mechanism of enriched environment repairing the learning and memory impairment in offspring of prenatal stress by regulating the expression of activity-regulated cytoskeletal-associated and insulin-like growth factor-2 in hippocampus. 26, n. 1, p. 8, Jan 15 2021.

GUDSNUK, K.; CHAMPAGNE, F. A. Epigenetic influence of stress and the social environment. **ILAR journal**, 53, n. 3-4, p. 279-288, 2012.

GUYER, A. E.; MCCLURE-TONE, E. B.; SHIFFRIN, N. D.; PINE, D. S. *et al.* Probing the neural correlates of anticipated peer evaluation in adolescence. **Child Dev**, 80, n. 4, p. 1000-1015, Jul-Aug 2009.

HARDY, D. B.; MU, X.; MARCHIORI, K. S.; MOTTOLA, M. F. Exercise in Pregnancy Increases Placental Angiogenin without Changes in Oxidative or Endoplasmic Reticulum Stress. **Med Sci Sports Exerc**, 53, n. 9, p. 1846-1854, Sep 1 2021.

HAYES, G.; DOWD, K. P.; MACDONNCHA, C.; DONNELLY, A. E. Tracking of Physical Activity and Sedentary Behavior From Adolescence to Young Adulthood: A Systematic Literature Review. **J Adolesc Health**, 65, n. 4, p. 446-454, Oct 2019.

HAZLEHURST, M. F.; CARROLL, K. N.; LOFTUS, C. T.; SZPIRO, A. A. *et al.* Maternal exposure to PM(2.5) during pregnancy and asthma risk in early childhood: consideration of phases of fetal lung development. **Environ Epidemiol**, 5, n. 2, Apr 2021.

HEATHCOTE, R. J.; DARDEN, S. K.; FRANKS, D. W.; RAMNARINE, I. W. *et al.* Fear of predation drives stable and differentiated social relationships in guppies. **Sci Rep**, 7, p. 41679, Feb 2 2017.

HEESEN, R.; GENTY, E.; ROSSANO, F.; ZUBERBÜHLER, K. *et al.* Social play as joint action: A framework to study the evolution of shared intentionality as an interactional achievement. **Learn Behav**, 45, n. 4, p. 390-405, Dec 2017.

HINKLEY, T.; BROWN, H.; CARSON, V.; TEYCHENNE, M. Cross sectional associations of screen time and outdoor play with social skills in preschool children. **PLoS One**, 13, n. 4, p. e0193700, 2018.

HOWLEY, E. T. Type of activity: resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. **Med Sci Sports Exerc**, 33, n. 6 Suppl, p. S364-369; discussion S419-320, Jun 2001.

HUMPHREYS, A. P.; EINON, D. F. Play as a reinforcer for maze-learning in juvenile rats. **Animal Behaviour**, 29, n. 1, p. 259-270, 1981/02/01/ 1981.

IRVING, B. A.; RUTKOWSKI, J.; BROCK, D. W.; DAVIS, C. K. *et al.* Comparison of Borg- and OMNI-RPE as Markers of the Blood Lactate Response to Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, 38, n. 7, p. 1348-1352, 2006.

KAWAGUCHI, M.; SCOTT, K. A.; MORAN, T. H.; BI, S. Dorsomedial hypothalamic corticotropin-releasing factor mediation of exercise-induced anorexia. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 288, n. 6, p. R1800-R1805, 2005.

KIM, T. W.; PARK, H. S. Physical exercise improves cognitive function by enhancing hippocampal neurogenesis and inhibiting apoptosis in male offspring born to obese mother. **Behav Brain Res**, 347, p. 360-367, Jul 16 2018.

KIMBER, M.; MCTAVISH, J. R.; COUTURIER, J.; BOVEN, A. *et al.* Consequences of child emotional abuse, emotional neglect and exposure to intimate partner violence for eating disorders: a systematic critical review. **BMC Psychol**, 5, n. 1, p. 33, Sep 22 2017.

KLENOTICH, S. J.; DULAWA, S. C. The activity-based anorexia mouse model. **Methods Mol Biol**, 829, p. 377-393, 2012.

KWASNICKA, D.; DOMBROWSKI, S. U.; WHITE, M.; SNIEHOTTA, F. Theoretical explanations for maintenance of behaviour change: a systematic review of behaviour theories. **Health Psychol Rev**, 10, n. 3, p. 277-296, Sep 2016.

LARSON, R. W.; RICHARDS, M. H.; MONETA, G.; HOLMBECK, G. *et al.* Changes in adolescents' daily interactions with their families from ages 10 to 18: Disengagement and transformation. **Developmental Psychology**, 32, n. 4, p. 744-754, 1996.

LAVIOLA, G.; BUSDRAGHI, L. M. Aberrant Early in Life Stimulation of the Stress-Response System Affects Emotional Contagion and Oxytocin Regulation in Adult Male Mice. 22, n. 9, May 10 2021.

LEANDRO, C. G.; CASTRO, R. M. d.; NASCIMENTO, E.; PITHON-CURI, T. C. *et al.* Mecanismos adaptativos do sistema imunológico em resposta ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 13, p. 343-348, 2007.

LECORGUILLÉ, M.; SCHIPPER, M.; O'DONNELL, A.; AUBERT, A. M. *et al.* Parental lifestyle patterns around pregnancy and risk of childhood obesity in four European birth cohort studies. **Lancet Glob Health**, 11 Suppl 1, p. S5, Mar 2023.

LEE, J. R.; TAPIA, M. A.; NELSON, J. R.; MOORE, J. M. *et al.* Sex dependent effects of physical activity on diet preference in rats selectively bred for high or low levels of voluntary wheel running. **Behav Brain Res**, 359, p. 95-103, Feb 1 2019.

LEE, T. M.; ZUCKER, I. Vole infant development is influenced perinatally by maternal photoperiodic history. **Am J Physiol**, 255, n. 5 Pt 2, p. R831-838, Nov 1988.

LEMA, S. C. Population divergence in plasticity of the AVT system and its association with aggressive behaviors in a Death Valley pupfish. **Hormones and Behavior**, 50, n. 2, p. 183-193, 2006/08/01/ 2006.

LESAGE, J.; DUFOURNY, L.; LABORIE, C.; BERNET, F. *et al.* Perinatal Malnutrition Programs Sympathoadrenal and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Responsiveness to Restraint Stress in Adult Male Rats. **Journal of Neuroendocrinology**, 14, n. 2, p. 135-143, 2002.

LEVINE, J. A.; KOTZ, C. M. NEAT--non-exercise activity thermogenesis--egocentric & geocentric environmental factors vs. biological regulation. **Acta Physiol Scand**, 184, n. 4, p. 309-318, Aug 2005.

LEVINE, J. A.; NYGREN, J.; SHORT, K. R.; NAIR, K. S. Effect of hyperthyroidism on spontaneous physical activity and energy expenditure in rats. **J Appl Physiol (1985)**, 94, n. 1, p. 165-170, Jan 2003.

LIMA, A. P.; SILVA, K.; PADOVAN, C. M.; ALMEIDA, S. S. *et al.* Memory, learning, and participation of the cholinergic system in young rats exposed to environmental enrichment. **Behav Brain Res**, 259, p. 247-252, Feb 1 2014.

LIU, D.; DIORIO, J.; DAY, J. C.; FRANCIS, D. D. *et al.* Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. **Nat Neurosci**, 3, n. 8, p. 799-806, Aug 2000.

LOISELLE, J.; FATICA, T.; TZANEVA, V.; VUONG, N. *et al.* Maternal physical activity significantly alters the placental transcriptome. **Placenta**, 100, p. 111-121, Oct 2020.

LOISON, L. Canalization and genetic assimilation: Reassessing the radicality of the Waddingtonian concept of inheritance of acquired characters. **Semin Cell Dev Biol**, 88, p. 4-13, Apr 2019.

LUFT, C.; LEVICES, I. P.; DA COSTA, M. S.; DE OLIVEIRA, J. R. *et al.* Effects of running before pregnancy on long-term memory and hippocampal alterations induced by prenatal stress. **Neurosci Lett**, 746, p. 135659, Feb 16 2021.

MACLAREN, V. V.; BEST, L. A. Multiple addictive behaviors in young adults: student norms for the Shorter PROMIS Questionnaire. **Addict Behav**, 35, n. 3, p. 252-255, Mar 2010.

MAHER, C. R.; LOTT, D. F. A review of ecological determinants of territoriality within vertebrate species. **The American Midland Naturalist**, 143, n. 1, p. 1-29, 2000.

MALISCH, J. L.; BREUNER, C. W.; KOLB, E. M.; WADA, H. *et al.* Behavioral despair and home-cage activity in mice with chronically elevated baseline corticosterone concentrations. **Behav Genet**, 39, n. 2, p. 192-201, Mar 2009.

MANDUCA, A.; CAMPOLONGO, P.; PALMERY, M.; VANDERSCHUREN, L. J. *et al.* Social play behavior, ultrasonic vocalizations and their modulation by morphine and amphetamine in Wistar and Sprague-Dawley rats. **Psychopharmacology (Berl)**, 231, n. 8, p. 1661-1673, Apr 2014.

MANDUCA, A.; SERVADIO, M.; DAMSTEEGT, R.; CAMPOLONGO, P. *et al.* Dopaminergic Neurotransmission in the Nucleus Accumbens Modulates Social Play Behavior in Rats. **Neuropsychopharmacology**, 41, n. 9, p. 2215-2223, 2016/08/01 2016.

MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Voluntary exercise and palatable high-fat diet both improve behavioural profile and stress responses in male rats exposed to early life stress: role of hippocampus. **Psychoneuroendocrinology**, 35, n. 10, p. 1553-1564, Nov 2010.

MANN, T.; LAMBERTS, R. P.; LAMBERT, M. I. Methods of Prescribing Relative Exercise Intensity: Physiological and Practical Considerations. **Sports Medicine**, 43, n. 7, p. 613-625, July 01 2013. journal article.

MARECKOVA, K.; MILES, A. Temporally and sex-specific effects of maternal perinatal stress on offspring cortical gyrification and mood in young adulthood. 41, n. 17, p. 4866-4875, Dec 2020.

MARRES, N.; STARK, D. Put to the test: For a new sociology of testing. **The British journal of sociology**, 71, n. 3, p. 423-443, 2020.

MARTINS, G. W.; CHAGAS, G. S.; PATRÍCIO, F. C.; LIRA, A. O. *et al.* Can the frequency of defensive posture adoption influence the expression of active behavior of adult rats? **Behav Processes**, 177, p. 104151, Aug 2020.

MCCONNELL, A. R. The multiple self-aspects framework: self-concept representation and its implications. **Pers Soc Psychol Rev**, 15, n. 1, p. 3-27, Feb 2011.

MCDADE, T. W.; GEORGIEV, A. V.; KUZAWA, C. W. Trade-offs between acquired and innate immune defenses in humans. **Evol Med Public Health**, 2016, n. 1, p. 1-16, 2016.

MCDONALD, M. W.; HAYWARD, K. S.; ROSBERGEN, I. C. M.; JEFFERS, M. S. *et al.* Is Environmental Enrichment Ready for Clinical Application in Human Post-stroke Rehabilitation? **Front Behav Neurosci**, 12, p. 135, 2018.

MCLENNAN, S. L.; HENRY, A. Maternal Adiposity and Energy Balance After Normotensive and Preeclamptic Pregnancies. 106, n. 8, p. e2941-e2952, Jul 13 2021.

MCNEILL, L. H.; KREUTER, M. W.; SUBRAMANIAN, S. V. Social environment and physical activity: a review of concepts and evidence. **Soc Sci Med**, 63, n. 4, p. 1011-1022, Aug 2006.

MEANDER, L.; LINDQVIST, M.; MOGREN, I.; SANDLUND, J. *et al.* Physical activity and sedentary time during pregnancy and associations with maternal and fetal health outcomes: an epidemiological study. 21, n. 1, p. 166, Feb 27 2021.

MEIJER, J. H.; ROBBERS, Y. Wheel running in the wild. **Proc Biol Sci**, 281, n. 1786, Jul 7 2014.

MELIS, A. P.; TOMASELLO, M. Chimpanzees' (<i>Pan troglodytes</i>) strategic helping in a collaborative task. **Biology Letters**, 9, n. 2, p. 20130009, 2013.

MIRAGAIA, A. S.; DE OLIVEIRA WERTHEIMER, G. S.; CONSOLI, A. C.; CABBIA, R. *et al.* Maternal Deprivation Increases Anxiety- and Depressive-Like Behaviors in an Age-Dependent Fashion and Reduces Neuropeptide Y Expression in the Amygdala and Hippocampus of Male and Female Young Adult Rats. **Front Behav Neurosci**, 12, p. 159, 2018.

MITCHELL, A. J.; DUNN, G. A.; SULLIVAN, E. L. The Influence of Maternal Metabolic State and Nutrition on Offspring Neurobehavioral Development: A Focus on Preclinical Models. **Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging**, 7, n. 5, p. 450-460, May 2022.

MORALES-SUÁREZ-VARELA, M.; CLEMENTE-BOSCH, E.; PERAITA-COSTA, I.; LLOPIS-MORALES, A. *et al.* Maternal Physical Activity During Pregnancy and the Effect on the Mother and Newborn: A Systematic Review. **J Phys Act Health**, 18, n. 1, p. 130-147, Jan 1 2021.

MOSER, V. C.; MCDANIEL, K. L.; WOOLARD, E. A.; PHILLIPS, P. M. *et al.* Impacts of maternal diet and exercise on offspring behavior and body weights. **Neurotoxicol Teratol**, 63, p. 46-50, Sep 2017.

NAGHIBI, S.; BARZEGARI, A.; SHARIATZADEH, M.; VATANDOUST, M. *et al.* Voluntary physical activity increases maternal care and reduces anxiety- and depression-related behaviours during the postpartum period in mice. **Brain Research**, 1784, p. 147880, 2022/06/01/ 2022.

NAKAMURA, A.; VAN DER WAERDEN, J.; MELCHIOR, M.; BOLZE, C. *et al.* Physical activity during pregnancy and postpartum depression: Systematic review and meta-analysis. **J Affect Disord**, 246, p. 29-41, Mar 1 2019.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL SUBCOMMITTEE ON LABORATORY ANIMAL, N. *In: Nutrient Requirements of Laboratory Animals: Fourth Revised Edition, 1995.* Washington (DC): National Academies Press (US)

© 1995 by the National Academy of Sciences. All rights reserved., 1995.

NEWTON-FISHER, N. E. The hunting behavior and carnivory of wild chimpanzees. 2015.

NIJHOUT, H. F. Development and evolution of adaptive polyphenisms. **Evol Dev**, 5, n. 1, p. 9-18, Jan-Feb 2003.

NOVAK, C. M.; LEVINE, J. A. Central neural and endocrine mechanisms of non-exercise activity thermogenesis and their potential impact on obesity. **J Neuroendocrinol**, 19, n. 12, p. 923-940, Dec 2007.

NÚÑEZ-MURRIETA, M. A.; CORIA-AVILA, G. A.; MARTÍNEZ, A. J.; LÓPEZ-MERAZ, M. L. *et al.* Preterm rat survival is enhanced by gestational environmental enrichment. **Behav Processes**, 205, p. 104820, Feb 2023.

OCKO, S. A.; MAHADEVAN, L. Collective thermoregulation in bee clusters. **Journal of the Royal Society Interface**, 11, n. 91, p. 20131033, 2014.

OKUYAMA, T.; KITAMURA, T.; ROY, D. S.; ITOHARA, S. *et al.* Ventral CA1 neurons store social memory. **Science**, 353, n. 6307, p. 1536-1541, Sep 30 2016.

ORRI, M.; CÔTÉ, S. M.; TREMBLAY, R. E.; DOYLE, O. Impact of an early childhood intervention on the home environment, and subsequent effects on child cognitive and emotional development: A secondary analysis. **PLoS One**, 14, n. 7, p. e0219133, 2019.

PADMAPRIYA, N.; SHEN, L.; SOH, S. E.; SHEN, Z. *et al.* Physical Activity and Sedentary Behavior Patterns Before and During Pregnancy in a Multi-ethnic Sample of Asian Women in Singapore. **Matern Child Health J**, 19, n. 11, p. 2523-2535, Nov 2015.

PANKSEPP, J. The ontogeny of play in rats. **Dev Psychobiol**, 14, n. 4, p. 327-332, Jul 1981.

PANKSEPP, J.; BEATTY, W. W. Social deprivation and play in rats. **Behavioral and neural biology**, 30, n. 2, p. 197-206, 1980.

PAPILLOU, A.; GUILLOT DE SUDUIRAUT, I.; ZANOLETTI, O.; GROSSE, J. *et al.* Peripubertal stress increases play fighting at adolescence and modulates nucleus accumbens CB1 receptor expression and mitochondrial function in the amygdala. **Translational Psychiatry**, 8, n. 1, p. 156, 2018/08/15 2018.

PARVOPASSU, A.; OGGIANO, M.; FESTUCCI, F.; CURCIO, G. *et al.* Altering the development of the dopaminergic system through social play in rats: Implications for anxiety, depression, hyperactivity, and compulsivity. **Neurosci Lett**, 760, p. 136090, Aug 24 2021.

PATEL, N.; GODFREY, K. M.; PASUPATHY, D.; LEVIN, J. *et al.* Infant adiposity following a randomised controlled trial of a behavioural intervention in obese pregnancy. **International Journal of Obesity**, 41, n. 7, p. 1018-1026, 2017/07/01 2017.

PEDRAZZINI, T.; SEYDOUX, J.; KÜNSTNER, P.; AUBERT, J. F. *et al.* Cardiovascular response, feeding behavior and locomotor activity in mice lacking the NPY Y1 receptor. **Nat Med**, 4, n. 6, p. 722-726, Jun 1998.

PELLIS, S.; PELLIS, V. *The playful brain: venturing to the limits of neuroscience.* Oneworld. : Oxford 2009.

PELLIS, S.; PELLIS, V. **The playful brain: venturing to the limits of neuroscience.** Simon and Schuster, 2013. 1780744625.

PELLIS, S. M.; FIELD, E. F.; SMITH, L. K.; PELLIS, V. C. Multiple differences in the play fighting of male and female rats. Implications for the causes and functions of play. **Neurosci Biobehav Rev**, 21, n. 1, p. 105-120, 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**, 68, n. 1, p. 65-73, Apr 1995.

PELLIS, S. M.; MCKENNA, M. M. Intrinsic and extrinsic influences on play fighting in rats: effects of dominance, partner's playfulness, temperament and neonatal exposure to testosterone propionate. **Behav Brain Res**, 50, n. 1-2, p. 135-145, Sep 28 1992.

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. **Developmental Psychobiology**, 23, n. 3, p. 215-231, 1990.

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**, 23, n. 3, p. 215-231, Apr 1990.

PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C. Rough-and-Tumble Play and the Development of the Social Brain. **Current Directions in Psychological Science**, 16, n. 2, p. 95-98, 2007.

PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C. What is play fighting and what is it good for? **Learn Behav**, 45, n. 4, p. 355-366, Dec 2017.

PELLIS, S. M.; PELLIS, V. C.; DEWSBURY, D. A. Different levels of complexity in the play-fighting by muroid rodents appear to result from different levels of intensity of attack and defense. **Aggressive Behavior**, 15, n. 4, p. 297-310, 1989/01/01 1989. <https://doi.org/10.1002/ab.2480150405>.

PINHEIRO-CASTRO, N.; SILVA, L.; NOVAES, G. M.; ONG, T. P. Hypercaloric Diet-Induced Obesity and Obesity-Related Metabolic Disorders in Experimental Models. **Adv Exp Med Biol**, 1134, p. 149-161, 2019.

PISOR, A. C.; SURBECK, M. The evolution of intergroup tolerance in nonhuman primates and humans. **Evol Anthropol**, 28, n. 4, p. 210-223, Jul 2019.

PLANAS-SITJÀ, I.; NICOLIS, S. C.; SEMPO, G.; DENEUBOURG, J. L. The interplay between personalities and social interactions affects the cohesion of the group and the speed of aggregation. **PLoS One**, 13, n. 8, p. e0201053, 2018.

RAINEKI, C.; PICKENHAGEN, A.; ROTH, T. L.; BABSTOCK, D. M. *et al.* The neurobiology of infant maternal odor learning. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 43, n. 10, p. 914-919, 2010.

REINHART, C. J.; MCINTYRE, D. C.; METZ, G. A.; PELLIS, S. M. Play fighting between kindling-prone (FAST) and kindling-resistant (SLOW) rats. **J Comp Psychol**, 120, n. 1, p. 19-30, Feb 2006.

REINHART, C. J.; PELLIS, S. M.; MCINTYRE, D. C. Development of play fighting in kindling-prone (FAST) and kindling-resistant (SLOW) rats: how does the retention of phenotypic juvenility affect the complexity of play? **Dev Psychobiol**, 45, n. 2, p. 83-92, Sep 2004.

REYES-CASTRO, L. A.; RODRIGUEZ, J. S.; CHARCO, R.; BAUTISTA, C. J. *et al.* Maternal protein restriction in the rat during pregnancy and/or lactation alters cognitive and anxiety behaviors of female offspring. **Int J Dev Neurosci**, 30, n. 1, p. 39-45, Feb 2012.

RIBEIRO, A.; BATISTA, T. H.; VERONESI, V. B.; GIUSTI-PAIVA, A. *et al.* Cafeteria diet during the gestation period programs developmental and behavioral courses in the offspring. **Int J Dev Neurosci**, 68, p. 45-52, Aug 2018.

ROSENFELD, C. S. Sex-dependent differences in voluntary physical activity. **Journal of neuroscience research**, 95, n. 1-2, p. 279-290, 2017.

ROUSHAM, E. K.; CLARKE, P. E.; GROSS, H. Significant changes in physical activity among pregnant women in the UK as assessed by accelerometry and self-reported activity. **Eur J Clin Nutr**, 60, n. 3, p. 393-400, Mar 2006.

ROUSSEL, L. Leadership's Impact on Quality, Outcomes, and Costs. **Crit Care Nurs Clin North Am**, 31, n. 2, p. 153-163, Jun 2019.

RUEGSEGGER, G. N.; GRIGSBY, K. B.; KELTY, T. J.; ZIDON, T. M. *et al.* Maternal Western diet age-specifically alters female offspring voluntary physical activity and dopamine- and leptin-related gene expression. **Faseb j**, 31, n. 12, p. 5371-5383, Dec 2017.

RUEGSEGGER, G. N.; SPEICHINGER, K. R.; MANIER, J. B.; YOUNGER, K. M. *et al.* Hypothalamic Npy mRNA is correlated with increased wheel running and decreased body fat in calorie-restricted rats. **Neurosci Lett**, 618, p. 83-88, Apr 8 2016.

RUEGSEGGER, G. N.; TOEDEBUSCH, R. G.; CHILDS, T. E.; GRIGSBY, K. B. *et al.* Loss of Cdk5 function in the nucleus accumbens decreases wheel running and may mediate age-related declines in voluntary physical activity. **J Physiol**, 595, n. 1, p. 363-384, Jan 1 2017.

SANTANA MUNIZ, G.; BESERRA, R.; DA SILVA GDE, P.; FRAGOSO, J. *et al.* Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. **Physiol Behav**, 129, p. 1-10, Apr 22 2014.

SCAROLA, S.; KENT, M.; NEAL, S.; TREJO, J. P. *et al.* Postpartum environmental challenges alter maternal responsiveness and offspring development. **Horm Behav**, 122, p. 104761, Jun 2020.

SCHJELDERUP-EBBE, T. Beiträge zur Sozialpsychologie des Haushuhns. **Zeitschrift Psychol**, 88, p. 225-252, 1922.

SEGABINAZI, E.; SPINDLER, C.; MEIRELES, A. L. F.; PIAZZA, F. V. *et al.* Effects of Maternal Physical Exercise on Global DNA Methylation and Hippocampal Plasticity of Rat Male Offspring. **Neuroscience**, 418, p. 218-230, Oct 15 2019.

SHERIFF, M. J.; KREBS, C. J.; BOONSTRA, R. The ghosts of predators past: population cycles and the role of maternal programming under fluctuating predation risk. **Ecology**, 91, n. 10, p. 2983-2994, Oct 2010.

SIVIY, S. M.; PANKSEPP, J. In search of the neurobiological substrates for social playfulness in mammalian brains. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 35, n. 9, p. 1821-1830, 2011/10/01/ 2011.

SKOW, Rachel J.; KING, Emily C.; STEINBACK, Craig D.; DAVENPORT, Margie H. The influence of prenatal exercise and pre-eclampsia on maternal vascular function. **Clinical Science**, 131, n. 17, p. 2223-2240, 2017.

SONG, L.; CUI, J.; WANG, N.; WANG, R. *et al.* Maternal exercise during gestation and lactation decreases high-fat diet preference by altering central reward system gene expression in adult female offspring from high-fat fed dams. **Behav Brain Res**, 390, p. 112660, Jul 15 2020.

STRATH, S. J.; KAMINSKY, L. A.; AINSWORTH, B. E.; EKELUND, U. *et al.* Guide to the Assessment of Physical Activity: Clinical and Research Applications. **Circulation**, 128, n. 20, p. 2259, 2013. 10.1161/01.cir.0000435708.67487.da.

STRATHEARN, L.; GIANNOTTI, M.; MILLS, R.; KISELY, S. *et al.* Long-term Cognitive, Psychological, and Health Outcomes Associated With Child Abuse and Neglect. **Pediatrics**, 146, n. 4, Oct 2020.

SWALLOW, J. G.; CARTER, P. A.; GARLAND, T. Artificial Selection for Increased Wheel-Running Behavior in House Mice. **Behavior Genetics**, 28, n. 3, p. 227-237, 1998/05/01 1998.

SYED, H.; SLAYMAN, T.; DUCHENE THOMA, K. ACOG Committee Opinion No. 804: Physical Activity and Exercise During Pregnancy and the Postpartum Period. **Obstet Gynecol**, 137, n. 2, p. 375-376, Feb 1 2021.

TORRES TODA, M.; AVRAAM, D.; JAMES CADMAN, T.; FOSSATI, S. *et al.* Exposure to natural environments during pregnancy and birth outcomes in 11 European birth cohorts. **Environ Int**, 170, p. 107648, Dec 2022.

TOZUKA, Y.; KUMON, M.; WADA, E.; ONODERA, M. *et al.* Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring. **Neurochem Int**, 57, n. 3, p. 235-247, Oct 2010.

TREZZA, V.; BAARENDSE, P. J. J.; VANDERSCHUREN, L. J. M. J. The pleasures of play: pharmacological insights into social reward mechanisms. **Trends in Pharmacological Sciences**, 31, n. 10, p. 463-469, 2010/10/01/ 2010.

TREZZA, V.; CAMPOLONGO, P.; VANDERSCHUREN, L. J. Evaluating the rewarding nature of social interactions in laboratory animals. **Dev Cogn Neurosci**, 1, n. 4, p. 444-458, Oct 2011.

TREZZA, V.; DAMSTEEGT, R.; ACHTERBERG, E. J. M.; VANDERSCHUREN, L. J. M. J. Nucleus accumbens μ -opioid receptors mediate social reward. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, 31, n. 17, p. 6362-6370, 2011.

TYBOROWSKA, A.; VOLMAN, I.; NIERMANN, H. C. M.; POUWELS, J. L. *et al.* Early-life and pubertal stress differentially modulate grey matter development in human adolescents. **Sci Rep**, 8, n. 1, p. 9201, Jun 15 2018.

TZANOULINO, S.; SANDI, C. The Programming of the Social Brain by Stress During Childhood and Adolescence: From Rodents to Humans. **Curr Top Behav Neurosci**, 30, p. 411-429, 2017.

VAANHOLT, L. M.; JONAS, I.; DOORNBOS, M.; SCHUBERT, K. A. *et al.* Metabolic and behavioral responses to high-fat feeding in mice selectively bred for high wheel-running activity. **Int J Obes (Lond)**, 32, n. 10, p. 1566-1575, Oct 2008.

VAN DEN BOS, R. The dorsal striatum and ventral striatum play different roles in the programming of social behaviour: a tribute to Lex Cools. **Behav Pharmacol**, 26, n. 1-2, p. 6-17, Feb 2015.

VAN HOORN, J.; SHABLACK, H.; LINDQUIST, K. A.; TELZER, E. H. Incorporating the social context into neurocognitive models of adolescent decision-making: A neuroimaging meta-analysis. **Neurosci Biobehav Rev**, 101, p. 129-142, Jun 2019.

VANDERSCHUREN, L. J.; TREZZA, V. What the laboratory rat has taught us about social play behavior: role in behavioral development and neural mechanisms. **Curr Top Behav Neurosci**, 16, p. 189-212, 2014.

VANDERSCHUREN, L. J. M. J.; ACHTERBERG, E. J. M.; TREZZA, V. The neurobiology of social play and its rewarding value in rats. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, 70, p. 86-105, 2016.

VARCIN, K. J.; NEWNHAM, J. P.; WHITEHOUSE, A. J. O. Maternal pre-pregnancy weight and autistic-like traits among offspring in the general population. **Autism Res**, 12, n. 1, p. 80-88, Jan 2019.

VENEZIA, A. C.; GUTH, L. M.; SPANGENBURG, E. E.; ROTH, S. M. Lifelong parental voluntary wheel running increases offspring hippocampal Pgc-1 α mRNA expression but not mitochondrial content or Bdnf expression. **Neuroreport**, 26, n. 8, p. 467-472, May 27 2015.

VIGILANT, L.; HOFREITER, M.; SIEDEL, H.; BOESCH, C. Paternity and relatedness in wild chimpanzee communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 98, n. 23, p. 12890-12895, 2001.

VLADISAVLJEVIĆ, M.; MENTUS, V. The Structure of Subjective Well-Being and Its Relation to Objective Well-Being Indicators: Evidence from EU-SILC for Serbia. **Psychological Reports**, 122, n. 1, p. 36-60, 2019/02/01 2018.

VON FRIJTAG, J. C.; SCHOT, M.; VAN DEN BOS, R.; SPRUIJT, B. M. Individual housing during the play period results in changed responses to and consequences of a psychosocial stress situation in rats. **Dev Psychobiol**, 41, n. 1, p. 58-69, Jul 2002.

WADDINGTON, C. H. Canalization of Development and Genetic Assimilation of Acquired Characters. **Nature**, 183, n. 4676, p. 1654-1655, 1959/06/01 1959.

WANG, F.; KESSELS, H. W.; HU, H. The mouse that roared: neural mechanisms of social hierarchy. **Trends in Neurosciences**, 37, n. 11, p. 674-682, 2014/11/01/ 2014.

WANG, F.; ZHU, J.; ZHU, H.; ZHANG, Q. *et al.* Bidirectional control of social hierarchy by synaptic efficacy in medial prefrontal cortex. **Science**, 334, n. 6056, p. 693-697, Nov 4 2011.

WARDWELL, J.; WATANASRIYAKUL, W. T.; NORMANN, M. C.; AKINBO, O. I. *et al.* Physiological and behavioral responses to observing a sibling experience a direct stressor in prairie voles. **Stress**, 23, n. 4, p. 444-456, 2020/07/03 2020.

WATANABE, N.; YAMAMOTO, M. Neural mechanisms of social dominance. **Frontiers in Neuroscience**, 9, 2015-June-17 2015. Review.

WELLS, J. C. K. Life history trade-offs and the partitioning of maternal investment: Implications for health of mothers and offspring. **Evolution, medicine, and public health**, 2018, n. 1, p. 153-166, 2018.

WEST-EBERHARD, M. J. Developmental plasticity and the origin of species differences. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102, n. Suppl 1, p. 6543-6549, 2005.

WESTERTERP, K. R. Assessment of physical activity: a critical appraisal. **Eur J Appl Physiol**, 105, n. 6, p. 823-828, Apr 2009.

WHITAKER, J.; MOY, S. S.; SAVILLE, B. R.; GODFREY, V. *et al.* The effect of cage size on reproductive performance and behavior of C57BL/6 mice. **Lab Anim (NY)**, 36, n. 10, p. 32-39, Nov 2007.

WHITAKER, J. W.; MOY, S. S.; PRITCHETT-CORNING, K. R.; FLETCHER, C. A. Effects of Enrichment and Litter Parity on Reproductive Performance and Behavior in BALB/c and 129/Sv Mice. **J Am Assoc Lab Anim Sci**, 55, n. 4, p. 387-399, 2016.

WILLIAMSON, C. M.; LEE, W.; CURLEY, J. P. Temporal dynamics of social hierarchy formation and maintenance in male mice. **Animal Behaviour**, 115, p. 259-272, 2016/05/01/ 2016.

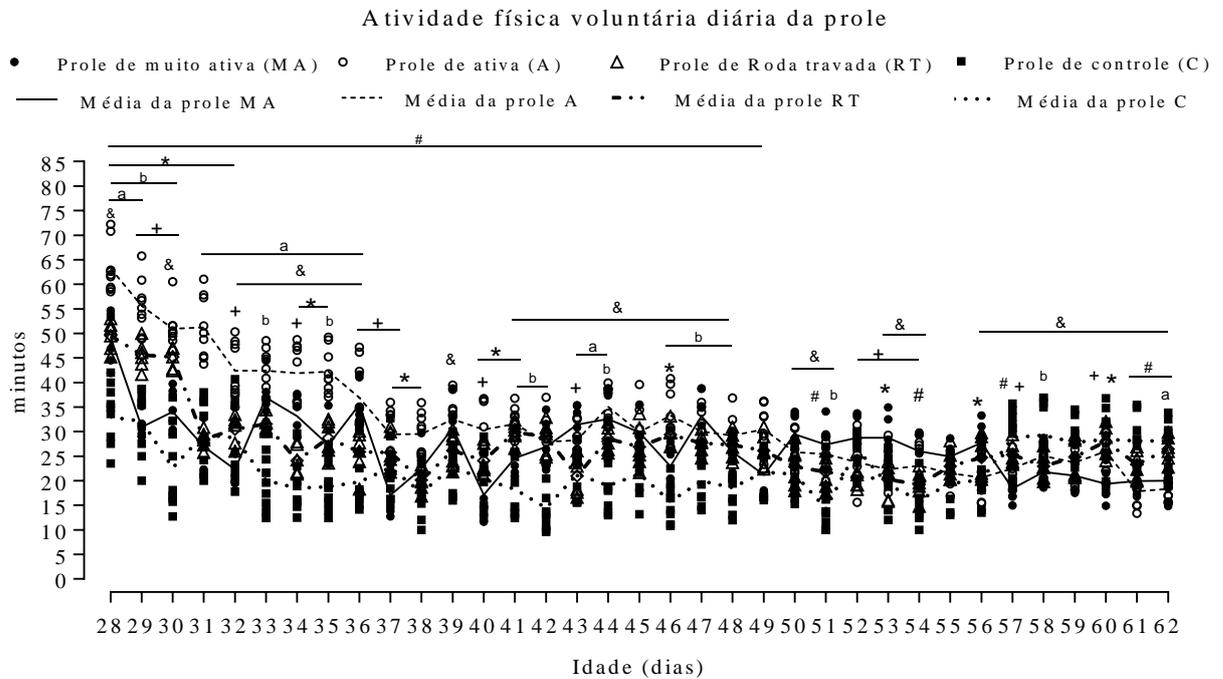
YATES, N. J.; TESIC, D.; FEINDEL, K. W.; SMITH, J. T. *et al.* Vitamin D is crucial for maternal care and offspring social behaviour in rats. **J Endocrinol**, 237, n. 2, p. 73-85, May 2018.

ZHENG, F.; KIM, Y. J.; MORAN, T. H.; LI, H. *et al.* Central transthyretin acts to decrease food intake and body weight. **Scientific Reports**, 6, n. 1, p. 24238, 2016/04/07 2016.

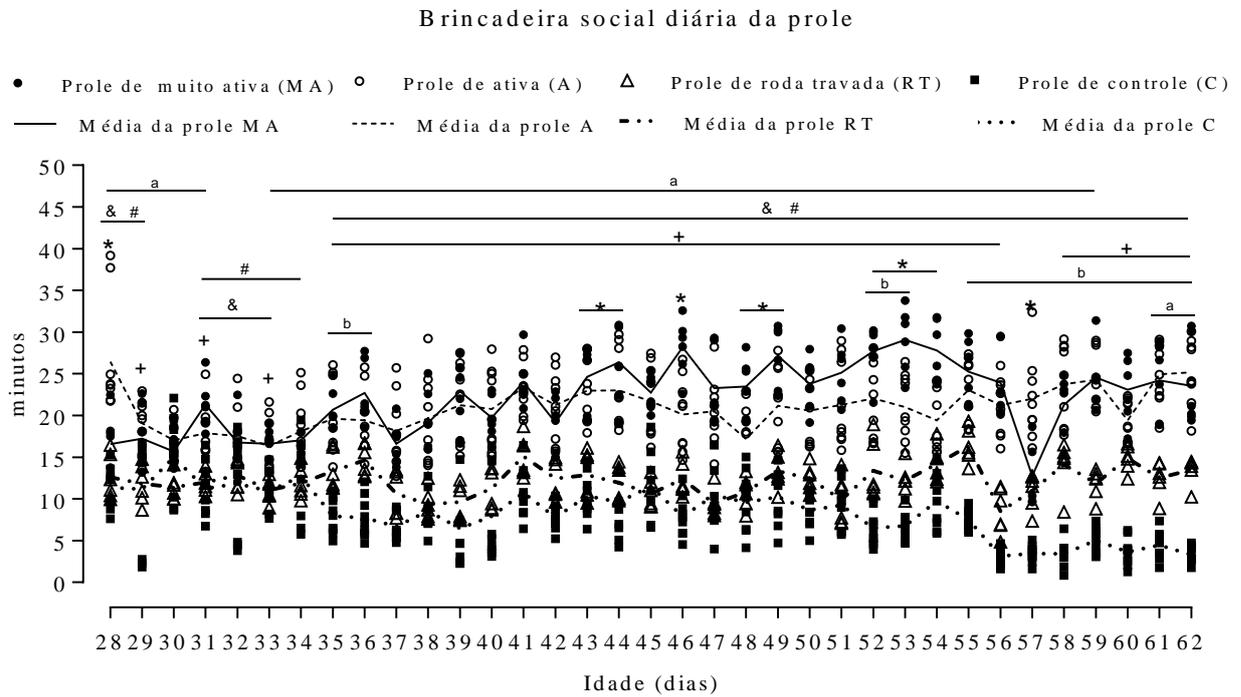
ZHOU, L.; XIAO, X.; LI, M.; ZHANG, Q. *et al.* Maternal Exercise Improves High-Fat Diet-Induced Metabolic Abnormalities and Gut Microbiota Profiles in Mouse Dams and Offspring. **Front Cell Infect Microbiol**, 10, p. 292, 2020.

**APÊNDICE A - FIGURAS SUPLEMENTARES REFERENTE AO TEMPO MÉDIO
DIÁRIO DESPENDIDO EM COMPORTAMENTOS ATIVOS PELA PROLE**

Figura suplementar 1. Tempo médio diário despendido em Atividade física voluntária pela prole

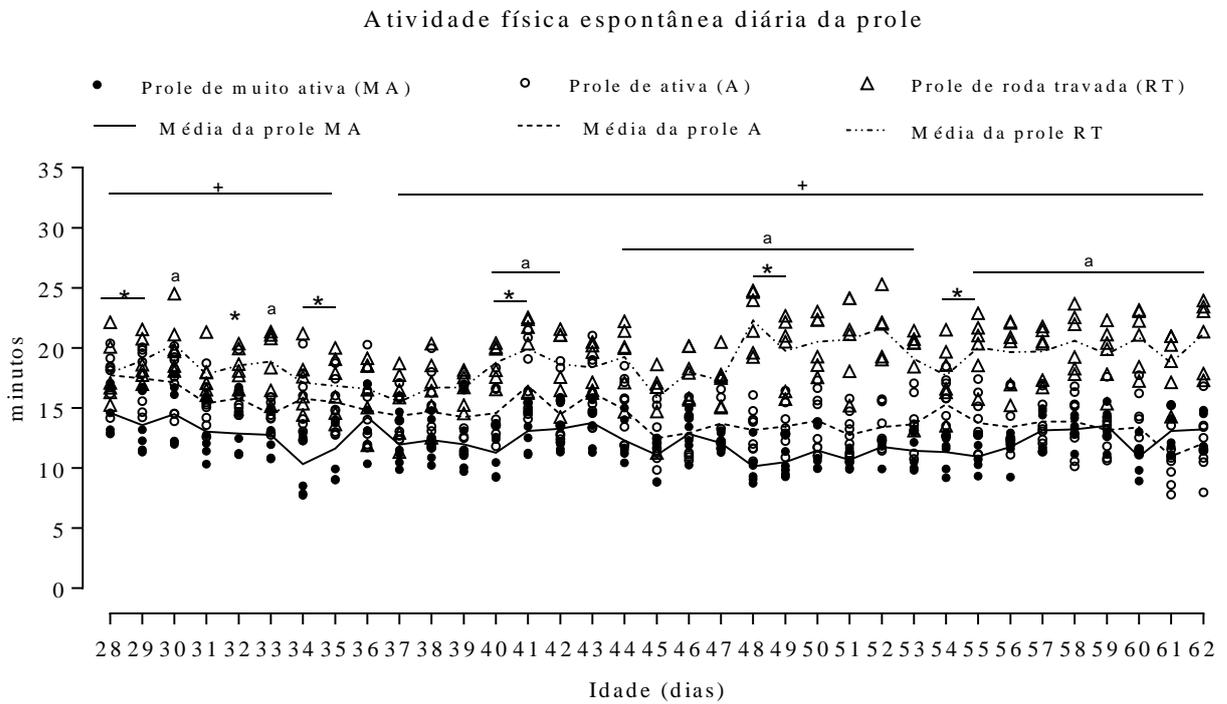


Tempo em minutos de atividade física voluntária dos 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratos muito ativos (MA, n=6), ativos (A, n=9), roda travada (RT, n=6) e controle (C, n=9). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato, Two -Way ANOVA, teste post hoc de Tukey: * indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; & indica $p < 0,05$ MA vs. C; a indica $p < 0,05$ A vs. RT; # indica $p < 0,05$ A vs. C; b indica $p < 0,05$ RT vs. C.

Figura suplementar 2. Tempo médio diário despendido em Brincadeira social pela prole

Tempo em minutos de brincadeira social dos 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratos muito ativos (MA, n=6), ativos (A, n=9), roda travada (RT, n=6) e controle (C, n=9). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato, Two -Way ANOVA, teste post hoc de Tukey: * indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; & indica $p < 0,05$ MA vs. C; a indica $p < 0,05$ A vs. RT; # indica $p < 0,05$ A vs. C; b indica $p < 0,05$ RT vs. C.

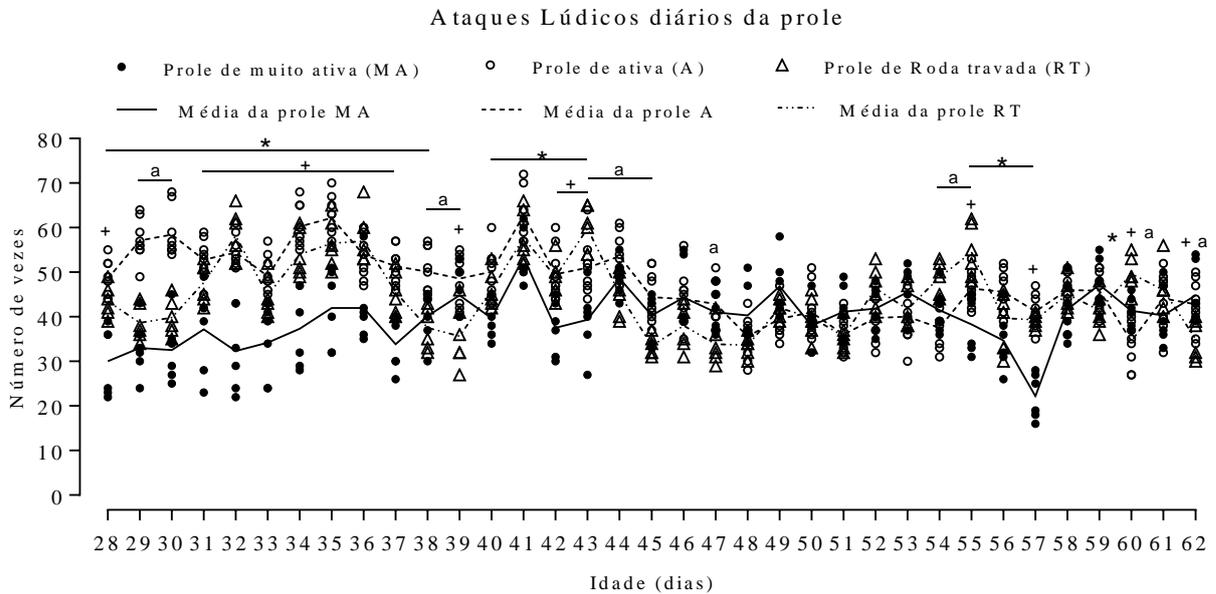
Figura suplementar 3. Tempo médio diário despendido em Atividade física espontânea pela prole



Tempo em minutos de Atividade física espontânea dos 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratos muito ativos (MA, n=6), ativos (A, n=9) e roda travada (RT, n=6). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato, Two -Way ANOVA, teste post hoc de Tukey: * indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; a indica $p < 0,05$ A vs. RT.

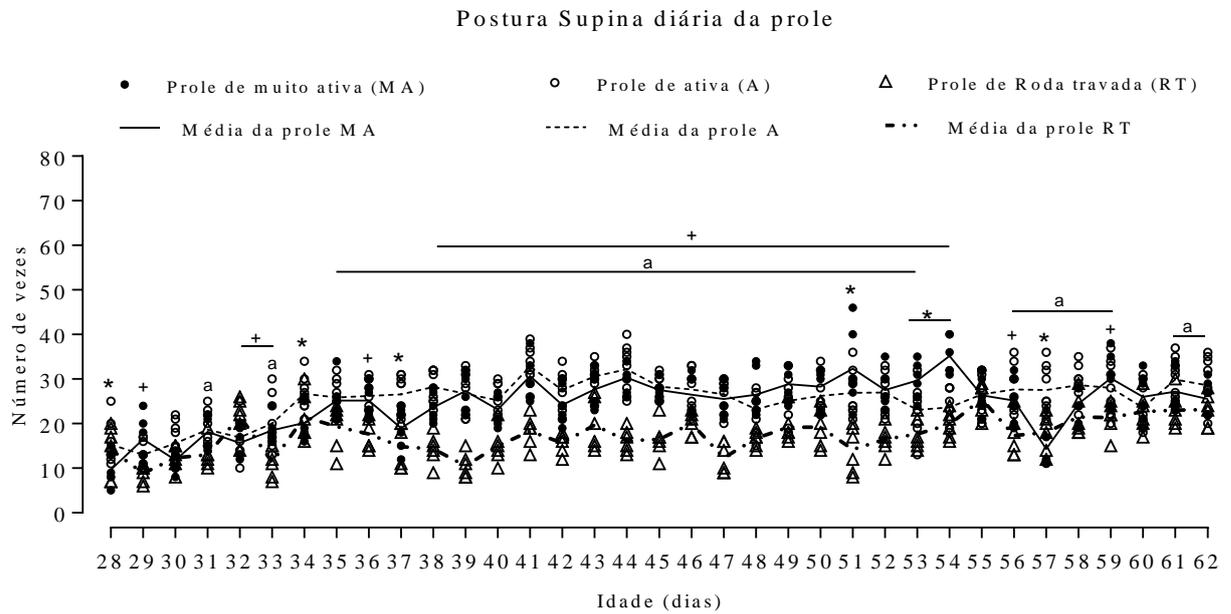
APÊNDICE B - FIGURAS SUPLEMENTARES REFERENTE AO NÚMERO MÉDIO DA EXPRESSÃO DE COMPONENTES DA BRINCADEIRA SOCIAL DA PROLE

Figura suplementar 4. Gráfico do número médio diário de Ataques lúdicos lançados pela prole



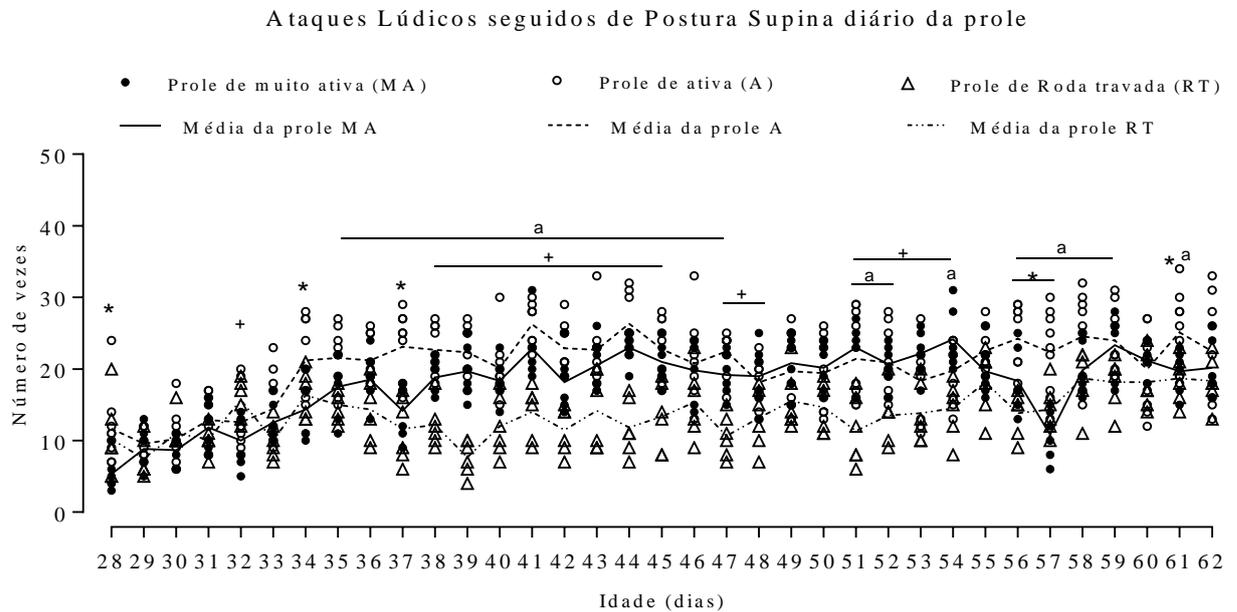
Número de ataques lúdicos do 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratos muito ativos (MA, n=6), ativos (A, n=9) e roda travada (RT, n=6). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato. Two-Way ANOVA, teste post hoc de Tukey. *indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; a indica $p < 0,05$ A vs. RT.

Figura suplementar 5. Gráfico do número médio diário de adoção da Postura supina pela prole



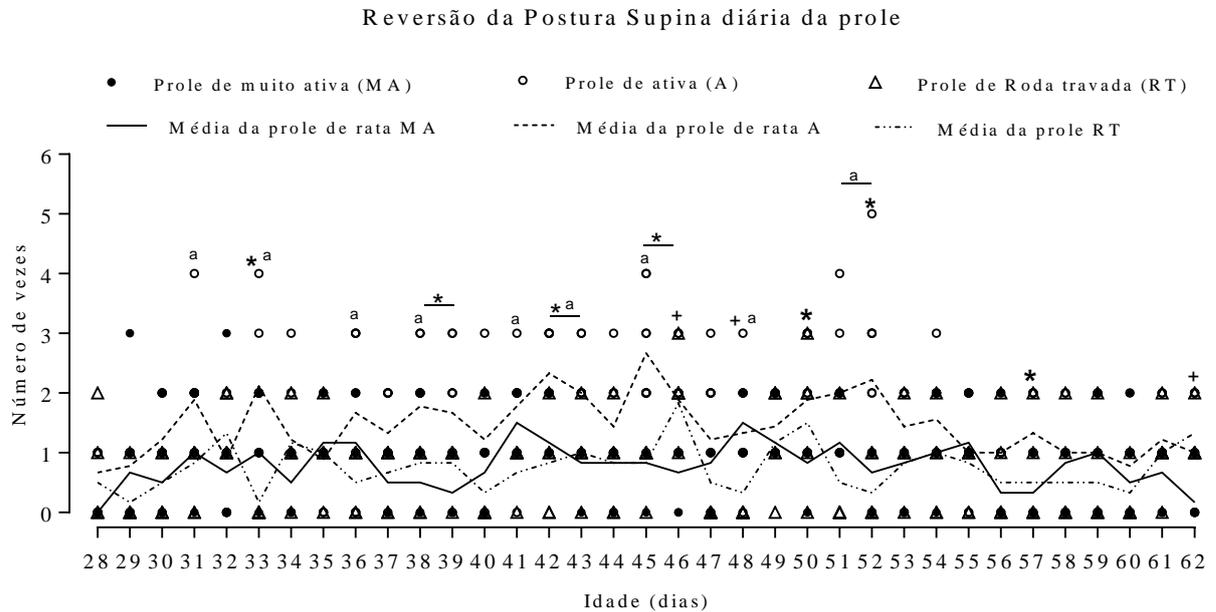
Número de adoções da Postura Supina dos 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratos muito ativos (MA, n=6), ativos (A, n=9) e roda travada (RT, n=6). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato. Two-Way ANOVA, teste post hoc de Tukey. *indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; a indica $p < 0,05$ A vs. RT.

Figura suplementar 6. Gráfico do número médio diário de Ataques lúdicos seguidos de Postura supina da prole



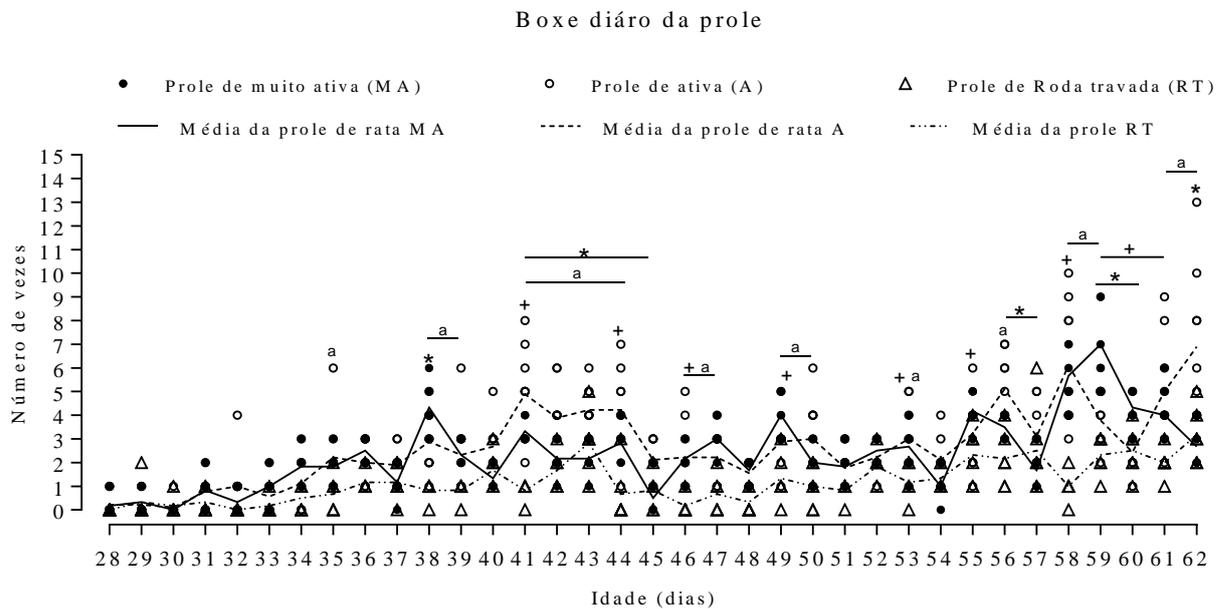
Número de Ataques Lúdicos seguidos de Postura Supina dos 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratas muito ativas (MA, n=6), ativas (A, n=9) e roda travada (RT, n=6). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato. Two-Way ANOVA, teste post hoc de Tukey. *indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; a indica $p < 0,05$ A vs. RT.

Figura suplementar 7. Gráfico do número médio diário de Reversões da Postura supina da prole

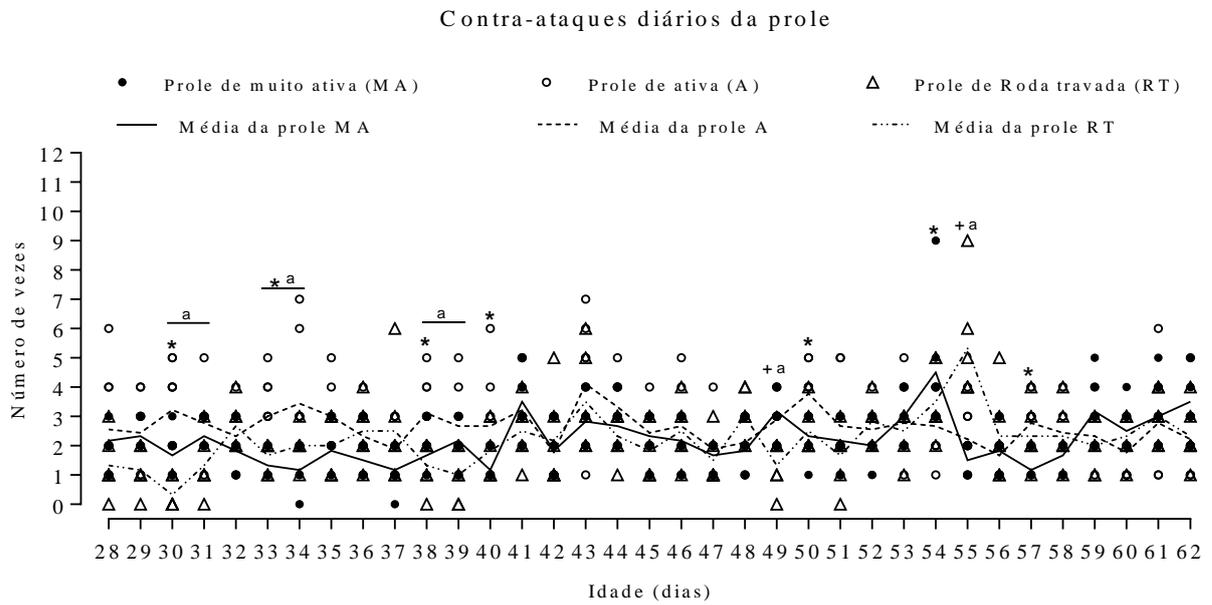


Número de Reversões da Postura Supina dos 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratos muito ativos (MA, n=6), ativos (A, n=9) e roda travada (RT, n=6). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato. Two-Way ANOVA, teste post hoc de Tukey. *indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; a indica $p < 0,05$ A vs. RT.

Figura suplementar 8. Gráfico do número médio diário da expressão de boxe pela prole



Número diário da expressão de Boxe dos 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratas muito ativas (MA, n=6), ativas (A, n=9) e roda travada (RT, n=6). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato. Two-Way ANOVA, teste post hoc de Tukey. *indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; a indica $p < 0,05$ A vs. RT.

Figura suplementar 9. Gráfico do número médio diário de Contra-ataques da prole

Número diário de Contra-ataques dos 28 aos 62 dias de idade. Os grupos foram constituídos pela prole de ratas muito ativas (MA, n=6), ativas (A, n=9) e roda travada (RT, n=6). Dados de tempo diário estão representados como média do grupo e valores unitários de cada rato. Two-Way ANOVA, teste post hoc de Tukey. *indica $p < 0,05$ MA vs. A; + indica $p < 0,05$ MA vs. RT; a indica $p < 0,05$ A vs. RT.

APÊNDICE C - ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA BEHAVIOURAL PROCESSES

(Fl.: 1,8)

Can the frequency of defensive posture adoption influence the expression of active behavior of adult rats?

Gerffeson Willian Martins^{a,b*}; Guilherme Souza Chagas^a; Franciele Conceição Patrício^a; Allan de Oliveira Lira^c; Jéssica Fragoso^c; Adriano Bento Santos^a; Carol Gois Leandro^{a,b}

^a Department of Physical Education and Sports Science, CAV, Federal University of Pernambuco, 55608-680 Recife, PE, Brazil

^b Laboratory of Nutrition, Physical Activity and Neuroplasticity - Academic Center of Vitória - Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 55608-680, PE, Brazil.

^c Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil

*Corresponding author:

Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, Universidade Federal de Pernambuco Centro Acadêmico de Vitória – CAV. Phone: (00 55 81) 21268463. Fax: (00 55 81) 21268473.

E-mail address: gerffesonwillian@gmail.com (Martins, G.W.)

Highlights

- Asymmetries in adoption of supine posture coincides with the onset of adolescence;
- The adoption of the supine posture has a transitory effect on physical activity;
- Spontaneous physical activity is influenced by adoption of supine posture;
- Adult LS rats spend more time on voluntary physical activity.

ABSTRACT

During the youth, rats spend a long time in play fighting (PF), and asymmetries are observed in terms of the frequency of adoption of the supine posture. This study investigated the effects of asymmetry in adopting supine posture during PF on the time spent in locomotors activity-related contextual behaviors during youth and adulthood. Male Wistar rats were divided into three groups according to the number of times of their adoption of a defensive supine (S) posture: low (LS, n = 10), intermediary (IS, n = 10) and high (HS, n = 10) Rats aged 21 to 62 days were placed in voluntary physical active cages (VPAC) with running wheels. The time

spent in social play (SP), play fighting (PF), voluntary physical activity (VPA), spontaneous physical activity (SPA) and resting (Rest) were recorded daily. During adulthood (63-92 days of age), rats were placed individually in the VPAC, with daily quantification of VPA. The average time spent in PF was not different among the groups, but was age-dependent. LS and IS rats spent more time in VPA than the HS rats, between days 49-62 (intragroup analyses) and 72-78 (individual analyses) days of age. However, LS and IS animals spent less time in SPA than HS rats from 42 to 48 days of age. In conclusion, the expressions of VPA and SPA are influenced by the asymmetries in adoption of the supine posture of members within a social group, remaining even after the separation of the social groups.

Keywords: Social behavior; Playful attacks; Youth; Physical Activity; Pinning

1. Introduction

In rats, around 17 to 19 postnatal days, the social interactions begin to occur through behaviors identified as social play (SP) or play fighting (PF), performed repeatedly in a similar, but not of stereotypical way (Vanderschuren and Trezza 2014). During these social interactions, rats express behaviors that appear to be similar to those observed in other behavioral contexts (e.g. serious fighting), but in a rudimentary and exaggerated manner and with changes in behavioral patterns such as targeting body area (Burghardt 2005; Pellis et al. 2019). Typically, play behavior begins with a rat trying to reach the partner's nape with its snout, which is commonly called a playful attack or pouncing behavior (Trezza, Baarendse, and Vanderschuren 2010). In response to the playful attack, the recipient rat can respond in different ways, being the most common the adoption of the supine defense posture (pinning) with the attacker rat standing over it (Pellis and Pellis 1990).

As age advances and sexual maturity approaches, during early pubertal stages, asymmetries are observed in the frequency of playful attacks and pinning (Pellis and Pellis

1991). Asymmetry in the frequency of pinning by members of a group results from fluctuations in the expression of playful attacks since the probability of a rat responding defensively to a playful attack, tends to remain the same with increasing age (Pellis and Pellis 1990). Normally, the frequency of playful launch is reduced with increasing age, mainly due to the high likelihood that the recipient rat will agonistically retaliate the playful attacks (Pellis and Pellis 1990; Takahashi and Lore 1983). Therefore, during the youth of rats, pinning expression is a stable measure related to PF, which may be associated with changes in the expression of other behaviors.

During youth, the social development process occurs through play behavior, leading to rich and flexible social skills that can influence the formation of dominance relationships in adulthood (Trezza, Baarendse, and Vanderschuren 2014). Play-deprived rats have less ability to adjust their behavior to a context where there is a previously dominant animal, resulting in more injuries received and more time taken to assume the supine defense posture (van den Berg et al. 1999; Von Frijtag et al. 2002). One study, which exposed rats every four days, from 20 to 64 days of age to play sessions in dyads, observed that one of the rats was more pinned than their pair mates (Panksepp 1981). However, previous studies that observed the influence of PF on behavioral expression, induced social isolation before PF sessions, to enhance the social motivation of rats (Papilloud et al. 2018; Reinhart et al. 2006). Thus, studies that expose rats to the social environment in a chronic way, through the formation of social groups, from childhood to adulthood, allow evaluating the process of behavioral maturation influenced only by the social environment.

In social groups, social behaviors (e.g. adoption of the defensive posture) may be observed and quantified, allowing the identification of the asymmetries in the expression of these behaviors, being able to modify the expression of other behaviors (Modlinska et al. 2018; Watanabe 2014; Pellis et al. 1993). In 32 days old rats, a negative correlation was observed

between the number of pins received and the amount of physical contact during social interactions (Gordon et al. 2002). In rats (45-days-old), chronic subordination in VBS colonies was associated with high preference for glucose and more expression of aggressive and defensive behaviors (Tamashiro et al. 2004). A previous study used adult mice to evaluate the effect of rank on physical activity (PA) by placing three animals (1 dominant and 2 subordinates) in a cage with a running wheel for 5 sessions per day (Vargas-Perez et al. 2009). The effects of the frequency of adopting the supine posture on PA, however, have not yet been explored.

The association between asymmetries in the number of pins during PF and the expression of active behavior allow us to understand how the social environment is able to induce behavioral plasticity. During early post-weaning, rats spend a lot of time in PF, with asymmetries in the frequency of playful attacks and the adoption of a defensive posture by the recipient rat (Pellis and Pellis 1991). The PF involves the activation of the brain's reward mechanisms, being fully rewarding when the recipient rat responds defensively, protecting its nape (Siviy and Panksepp 2011; Trezza, Baarendse, and Vanderschuren 2010). Thus, the asymmetry observed in playful attacks and adoption of a defensive posture, during PF, may be associated with the level of motivation of rats for the expression of rewarding/self-motivated behaviors (Garland et al. 2011). We hypothesize that asymmetries in the adoption of the defensive posture begin during youth, and the lower frequency of adopting this posture is related to more time spent on PA during adulthood. The present study focuses on the asymmetries in the expression of the juvenile defensive posture and its repercussion on the expression of PA-related behaviors from childhood to adulthood.

2. Methods

2.1. Animals

Thirty male Wistar rats were obtained from the colony of the Department of Nutrition of UFPE. The animals were kept in an experimental room with a temperature of $23^{\circ}\text{C} \pm 2$ in a cycle 12/12h [light cycle (6:00 p.m. to 6:00 a.m.) and dark cycle (6:00 a.m. to 6:00 p.m.)] with free access to water and food.

The experiments were approved by the Ethics Committee of the Center for Biosciences (Process n° 23076018782/201205) of the Federal University of Pernambuco. The handling and care of the animals followed the recommendations of the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA).

2.2. Voluntary Physical Activity Cage (VPAC)

At 21 days of age, according to the similarity of body weight, three male rats from each litter were chosen and transferred to the VPAC. The VPAC is a transparent acrylic cage (60cm wide, 50cm high and 80cm long) that can host three animals. In each VPAC, there are three running wheels allowing each of the three rats the opportunity to engage simultaneously in voluntary for the practice of physical activity. For the identification of the animals, a non-toxic paint was used to mark each tail. The animals were submitted to 7 days of habituation (21 to 27 days of age) in the VPAC. After the habituation period, the animals were recorded during the dark cycle (12 hours per day) daily over a period of five weeks (28 to 62 days of age). An infrared camera located in front of the cage and connected to a computer that stored film for later analysis was used in each cage.

2.3. Experimental Procedures

For the behavioral analysis, a software (event counter and time marker), using C ++ programming language and the Open CV Computer Library 2.4.9 (Open Source Computer Vision) was developed. This software allowed the manual measurement of the time spent on behaviors of the three rats simultaneously in the VPAC. Thus, different behaviors [social play

(SP), play fighting (PF), voluntary PA in the wheel (VPA), spontaneous PA (SPA), and rest] were quantified every hour (from 6:00 a.m. to 6:00 p.m.) from 28 to 62 days of age (Table 1).

In order to minimize the error of observation, all behavioral analyses were performed by two experienced researchers; the whole study was performed in a double-blind manner. Exploratory analysis of the data was performed in order to identify the absence of time spent on the behaviors evaluated.

- *Determination of the Asymmetries in supine posture*: The animals were classified as low (LS), intermediary (IS) and high (HS) number of adoptions of supine posture, according to the daily quantification of the adoption of a defensive supine posture during PF behavior, from 28 to 62 days of age. At the end of each week, the animals were classified into one of three categories according to the sum of daily submission posture. The asymmetry was considered when the number of adoptions of supine posture showed a pattern (LS<IS<HS) over the recorded weeks, when the rats were between 28 and 62 days of age. In the ten social groups, one animal for each social class was identified (LS n = 10; IS n = 10; HS n = 10).

At 63 days of age, each animal was separated from the others and individually housed in a VPAC. A stainless-steel wheel (27 cm in diameter) was placed in the cage and a cyclocomputer (Cateye, model CC-AT200W, Colorado, USA) was attached to the wheel to measure VPA. After the adaptation period (63 to 71 days of age), the time spent with PA on the running wheel was daily recorded over a period of three weeks (72 to 92 days of age).

2.4. Statistical analysis

Data analysis was performed using SPSS version 23 (SPSS Statistics IBM ®) and GraphPad Prism 7® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). The Kolmogorov-Smirnov test was used to identify whether the data distribution was normal. To evaluate the effect of number of adoptions of supine posture during the time spent in behaviors related to PA, the Two-Way Variance Analysis (ANOVA) test was used with age and rank as factors. Data was

expressed as mean and \pm standard deviation and the significance was maintained at $p < 0.05$. To calculate the effect size, we used the Partial Eta Squared (η^2_p) corrected from the Partial Epsilon Squared (ϵ^2_p) calculation. The interaction effect between the age of the animals and the number of adoptions of the supine posture was small ($\epsilon^2_p < 0.08$) or non-existent ($\epsilon^2_p < 0.02$) on the time spent on the analyzed behaviors.

3. Results

The agonistic interactions, as expressions of PF behavior, began at 35 days of age (Figure 1b). From 35 to 41 days of age, SH did not manifest itself since the three animals assumed the submission posture at random. Starting between days 42 to 62, asymmetries in the number of adoptions of supine posture was observed in all social groups, and LS rats were identified by the lower number of submission postures performed when compared to the IS and HS rats. The IS was identified by their lower number of submission postures compared to the HS rats.

The average time spent in social play (SP) during the childhood of DOM, SD and SB animals, was close to 15min/day from 28 to 35 days of age, with a decline from 36 to 44 days (Figure 1a). The mean time spent in PF was not affected by the frequency of adopting the supine posture [$F(2, 108) = 1.16, p = 0.32, \eta^2_p = 0.02, \epsilon^2_p = 0$]. There was, however, effects of age on the time spent in PF [$F(3, 108) = 31.64, p = 0.0001, \eta^2_p = 0.47, \epsilon^2_p = 0.45$]. It was observed an increase in the time spent on this behavior in the rats from 42 to 55 days old when compared to the earlier period from 35 to 41 days old (Figure 1c). In contrast, in the period from 56 to 62 days of age, a reduction in the average time spent on PF was observed, compared to the period of 42 to 48 days of age (Figure 1c). From 56 - 62 days of age (42.87 ± 19.75 min), LS rats spent less time on PF behavior compared to the 49 - 55 period (67.85 ± 21.32) (Figure 1c, $p = 0.051$).

The mean time spent weekly on VPA [VPA: $F(2, 66) = 19.61, p = 0.0001, \eta^2_p = 0.37, \epsilon^2_p = 0.35$] and SPA was different between groups [SPA: $F(2, 72) = 10.05, p = 0.0001, \eta^2_p = 0.22, \epsilon^2_p = 0.20$]. Specifically, from 49 - 55 days old, LS (160.04 ± 23.91 min) and IS ($162.93 \pm$

20.94min) spent more time on VPA than HS ($114.36 \pm 27.58\text{min}$) rats (both $p < 0.05$). Likewise, from 56 - 62 days old, LS ($188.09 \pm 39.31\text{min}$) and IS ($164.48 \pm 27.79\text{min}$) spent more time on VPA than HS ($118.31 \pm 28.99\text{min}$) rats (Figure 3a, both $p < 0.05$). For SPA, from 42-48 days of age, LS ($259.75 \pm 17.49\text{min}$) and IS ($311.28 \pm 36.39\text{min}$) rats spent less time on average than HS ($389.25 \pm 78.37\text{min}$) rats (Figure 3b, both $p < 0.05$). No effect of age was observed on the mean time spent on the VPA [$F(2, 66) = 1.03, p = 0.36, \eta^2_p = 0.03, \varepsilon^2_p = 0$] and SPA [$F(2, 72) = 0.23, p = 0.80, \eta^2_p = 0.01, \varepsilon^2_p = 0$] during the youth (Figure 2).

During adulthood, after the animals had been individually placed in the VPAC (72-92 days old), frequency of adopting the supine posture affected the average time spent weekly on VPA [$F(2, 63) = 5.02, p = 0.01, \eta^2_p = 0.14, \varepsilon^2_p = 0.11$]. LS ($707.68 \pm 196.45\text{min}$) rats spent more time on average in VPA from 72 to 78 days of age than HS ($523.21 \pm 53.6\text{min}$) rats (Figure 4, $p = 0.04$). No effect of the age was observed on the mean time spent weekly in VPA between 72 and 92 days of age [$F(2, 63) = 0.81, p = 0.45, \eta^2_p = 0.02, \varepsilon^2_p = 0$] (Figure 4).

4. Discussion

In our study, the occurrence of asymmetries in the adoption of supine posture during PF coincided with the onset of adolescence. Similar to our results, a previous study exposed rats to 4 days of social interaction sessions in dyads from 18 to 64 days old, also observed that from 40 days of age one of the animals adopted the supine posture more often than their partners (Panksepp 1981). Adoption of the supine posture is a common tactic for defending the nape after a rat tries to contact the nape of the neck of its partner (Pellis and Pellis 1991). Thus, the difference in the frequency of playful attacks received between members of a group that leads to asymmetry in the adoption of the supine posture. This asymmetry coinciding with the transition from childhood to adolescence may stem from the maturation of primitive social behaviors that occur in this period, leading to the expression of adult-typical social behaviors

(Sisk 2016). In our study, this process could be observed by the decline in the time spent on the behavior of SP (Figure 1a) accompanied by increased time spent on PF (Figure 1b).

The underlying mechanism may be associated with the testosterone secreted during the onset of puberty, which organizes neural circuits to facilitate the expression of adult behaviors (Barradas-Moctezuma et al. 2019). Pubertal testosterone seems to act on social cognition (e.g. structural changes in the lateral septum and posterodorsal medial amygdala), allowing the selection of adequate behavioral responses to a particular social context, through behavioral adaptations based on their social experiences (De Lorme and Sisk 2013; De Lorme et al. 2012). So, the central action of pubertal testosterone can facilitate the adoption of the supine posture after a playful attack to the nape, through of the increases in social proficiency, resulting in the execution of effective actions to avoid the nape contact. This suggests that our model is a suitable approach to study the maturation of social behaviors, as it includes the youth phase and avoidance of stress due to social isolation.

During the first two weeks of behavioral analysis (Figure 1a), the rats interacted randomly with their cage partners, with more than one animal at a time and without trying to achieve specific end goal. We call this type of interaction SP, which appears to be a preliminary form of PF behavior, in which the actions of the rats did not show the intention of gaining access to specific areas of the partner's body or a position of advantage. The peak of time spent in SP (Figure 1a) corresponded approximately to the period between 28 and 40 days of age, corroborating with the previous studies (Panksepp 1981; Siviy and Panksepp 2011). During this age range, social interactions in the form of play are important for the development of the animal's sensorimotor system necessary for the expression of more complex behavior (e.g. agonism and mating) (Pellis et al. 2019). The decline in the time spent in play after 36 days of age may be associated with sexual maturation, marked by a gradual transition in the complexity of behaviors involving attack and defense of the same body targets during adult precopulatory

behavior (Vanderschuren and Trezza 2014; Pellis and Pellis 2013). Studies have demonstrated that during the infancy of rats, the social skills are obtained during SP, providing a complex and flexible behavioral repertoire (Pellis and Pellis 2007). Thus, the function of SP during childhood should be associated with social competence in using the best social approach to solve and win social contests, and there was no relationship between the frequency of adopting the supine posture and the time spent in SP (Vanderschuren and Trezza 2014).

After the onset of adolescence, the rats increased the time spent on PF, since rats dynamically disputed for access to its play partner's nape (Figure 1c). Previous studies have observed that the increase in the time spent on PF is related to the level of motivation to direct playful attacks to their cage partners (Pellis and Pellis 1990; Reinhart, Pellis, and McIntyre 2004). In our study, the time spent on PF decreased in age-dependence way for rats, which suggests a reduction in the motivation of rats to launch playful attacks. The reduction in motivation seems to be associated with a higher likelihood of the rat, with increasing age, to respond to playful attacks in an agonistic manner (Pellis and Pellis 1990). Indeed, during the last two weeks of group analysis, the recipient rats frequently expressed boxing and wrestling behaviors in response to playful attacks (data not shown). Thus, the decrease in PF is that there is an age-related decrease in the motivation to launch playful attacks, attenuated by the inhibitory effects of agonistic retaliatory behaviors by the partner.

In our study, we observed that the time spent on PF by LS tended to lessen between the 56th and 62nd days of age, indicating that PF involving these animals tended to finish more quickly (Figures 1b, c; $p=0.051$). PF consists of two important subcomponents: playful attacks and defense supine posture, and the most frequent attackers assume less supine posture during their youth (Pellis and Pellis 1991). Thus, LS rats are probably the most frequent attackers in the group, spending less time on PF (Figure 1c), with increasing age, due to less motivation to start social interaction from playful attacks. This attenuation in the motivation of LS rat may

result from the proximity of sexual maturation, which is accompanied by the increased probability of his partner responding to playful attacks in a more agonistic way than playful (Pellis and Pellis 1990). Therefore, reduction in time spent on PF by LS rats may result from the reduction in the degree of reciprocity of the recipient rats to keep the PF playful, through the increase in retaliatory agonistic responses to playful attacks.

Previous study has shown that time spent in PF does not seem to influence the general motor activity (Siegel and Jensen 1986). However, when we considered the asymmetry in the adoption of the supine posture during PF, HS rats spent more time in SPA (e.g. active exploration of the cage) than did LS and IS in the period between the 42nd and 48th days of age (Figure 3b). This transient effect reflects that even after the period of habituation to the cage, HS rats have high levels of locomotor activity. Likewise, rats habituated to an experimental arena, when moved into it, also showed an increase in their motor activity as an indication of active exploration in the environment (Gentsch, Lichtsteiner, and Feer 1981; Handa, Nunley, and Bollnow 1993). This increase in active exploration of the environment, possibly without the stressful component of when the animal is introduced to a new situation, may result from the increased cortical release of acetylcholine (Giovannini et al. 1998). In adolescent rats, the administration of 1 mg/kg of scopolamine (muscarinic antagonists) has been shown to reduce the frequency of adoption of the supine posture by the treated animal during PF (Wilson, Bierley, and Beatty 1986). So, this transient effect can occur because HS rats have a greater release cortical of acetylcholine, which seems to be stimulated by the high frequency of adoption of the supine posture during this period.

Regarding VPA, rats of the LS and IS groups spent more time than HS, where access to the running wheel can be characterized as a positive reinforcement behavior (Vargas-Perez et al. 2008; Kelley 2004). As far as we know, only one study evaluated whether stimuli from the social environment, formation of dominance relations, can influence access to the running

wheel in adult mice (Vargas-Perez et al. 2009). In this study, three mice (1 HS and 2 LS/IS) were exposed to 5 daily sessions lasting 1 or 24 hours in a cage with 1 running wheel, with the dominant rat spending more time running on the wheel. However, this study design allows us to observe only that members of the group, with high levels of dominance, have priority access to limited resources, such as the running wheel. In our study, even with the presence of 3 running wheels or when rats were allocated individually in the VPAC in the period from 72 to 92 days of age (figure 4), the HS rats, in a transient way, spent less time on VPA.

PF behavior is highly rewarding, and its expression is modulated by neural systems involved in other rewarding behaviors, such as VPA (Lee et al. 2019; Siviý and Panksepp 2011). The PF is only completely rewarding when the receptive rat is responsive to its partner's playful attacks, and the motivation to launch playful attacks appears to involve the opioid system in the brain (Pellis and McKenna 1995; Vanderschuren, Niesink, and Van Ree 1997). In juvenile rats, regardless of the partner's response, treatment with morphine (opioid agonist, 1 mg/kg) increased the motivation to initiate playful attacks, leading to a higher frequency of play solicitation by the treated animals (Trezza and Vanderschuren 2008). Similarly, the motivation to access the running wheel seems to involve changes in opioid-related transcriptional factors within the mesolimbic pathway. In rats, access to the running wheel for 6 weeks led to an increase in the levels of mRNA of the δ -opioid receptor in the nucleus *accumbens* (Greenwood et al. 2011). In rats selectively bred for a high level of VPA, even without access to the running wheel, they showed higher levels of mRNA expression at the μ -opioid receptor in the ventral striatum (Lee et al. 2019). Thus, the transient effect observed on the time spent in VPA may be associated with the functionality of the opioid system, and that probably HS rats are less motivated because they have fewer opioid receptors (μ , δ) or opioid production in brain reward pathways.

In conclusion, asymmetries in the adoption of the supine posture among members of a group during adolescence transiently influence the time spent in the expression of active behavior. The SPA is influenced by the frequency of adoption of the supine posture, which, according to the literature, may be associated with the release of cortical acetylcholine, stimulating the active exploration of the cage. The practice of VPA of animals appears to be dependent on the levels of motivation for the expression of self-rewarding behaviors, which differs between members of the group and, according to the literature, may be associated with changes in the opioid system.

Funding

This study was supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Coordination for the Improvement of Higher Level or Education Personnel (CAPES/COFECUB 797-14) and State of Pernambuco Science and Technology Support Foundation (FACEPE).

CRedit authorship contribution statement

Gerffeson Willian Martins: Conceptualization, Validation, Formal analysis, Investigation, Writing - original draft, Writing - review & editing, Visualization. **Guilherme Souza Chagas:** Investigation. **Franciele Conceição Patrício:** Investigation. **Allan de Oliveira Lira:** Investigation. **Jéssica Fragoso:** Investigation. **Adriano Bento Santos:** Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation. **Carol Gois Leandro:** Conceptualization, Formal analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing, Project administration, Funding acquisition, Methodology.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgement

This study was supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Coordination for the Improvement of Higher Level or Education Personnel (CAPES/COFECUB 797-14) and State of Pernambuco Science and Technology Support Foundation (FACEPE). The English text of this paper has been revised by Sidney Pratt, Canadian, MAT (The Johns Hopkins University), RSAdip – TESL (Cambridge University).

References

- Barradas-Moctezuma, M., Herrera-Covarrubias, D., Manzo, J. and Coria-Avila, G.A. 2019. Disruptive effects of neonatal gonadectomy on adult sexual partner preference and brain dimorphism in male rats: partial restoration with pubertal testosterone. *Behav Brain Res*, 374: 112117.
- Burghardt, G.M. 2005. *The genesis of animal play: Testing the limits*. MIT Press, Cambridge, MA, US, xvi, 501-xvi, 501 pp.
- De Lorme, K.C., Schulz, K.M., Salas-Ramirez, K.Y. and Sisk, C.L. 2012. Pubertal testosterone organizes regional volume and neuronal number within the medial amygdala of adult male Syrian hamsters. *Brain Res*, 1460: 33-40.
- De Lorme, K.C. and Sisk, C.L. 2013. Pubertal testosterone programs context-appropriate agonistic behavior and associated neural activation patterns in male Syrian hamsters. *Physiol Behav*, 112-113: 1-7.
- Garland, T., Jr., Schutz, H., Chappell, M.A., Keeney, B.K., Meek, T.H., Copes, L.E., Acosta, W., Drenowatz, C., Maciel, R.C., van Dijk, G., Kotz, C.M. and Eisenmann, J.C. 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: 206-29.
- Gentsch, C., Lichtsteiner, M. and Feer, H. 1981. Locomotor activity, defecation score and corticosterone levels during an openfield exposure: a comparison among individually and group-housed rats, and genetically selected rat lines. *Physiol Behav*, 27: 183-6.
- Giovannini, M.G., Bartolini, L., Kopf, S.R. and Pepeu, G. 1998. Acetylcholine release from the frontal cortex during exploratory activity. *Brain Res*, 784: 218-27.
- Gordon, N.S., Kollack-Walker, S., Akil, H. and Panksepp, J. 2002. Expression of c-fos gene activation during rough and tumble play in juvenile rats. *Brain Research Bulletin*, 57: 651-659.
- Greenwood, B.N., Foley, T.E., Le, T.V., Strong, P.V., Loughridge, A.B., Day, H.E.W. and Fleshner, M. 2011. Long-term voluntary wheel running is rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway. *Behavioural Brain Research*, 217: 354-362.
- Handa, R.J., Nunley, K.M. and Bollnow, M.R. 1993. Induction of c-fos mRNA in the brain and anterior pituitary gland by a novel environment. *Neuroreport*, 4: 1079-82.
- Kelley, A.E. 2004. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neurosci Biobehav Rev*, 27: 765-76.
- Lee, J.R., Tapia, M.A., Nelson, J.R., Moore, J.M., Gereau, G.B., Childs, T.E., Vieira-Potter, V.J., Booth, F.W. and Will, M.J. 2019. Sex dependent effects of physical activity on diet preference in rats selectively bred for high or low levels of voluntary wheel running. *Behav Brain Res*, 359: 95-103.
- Modlinska, K., Stryjek, R., Chrzanowska, A. and Pisula, W. 2018. Social environment as a factor affecting exploration and learning in pre-juvenile rats. *Behavioural processes*, 153: 77-83.
- Panksepp, J. 1981. The ontogeny of play in rats. *Dev Psychobiol*, 14: 327-32.
- Papilloud, A., Guillot de Suduiraut, I., Zanoletti, O., Grosse, J. and Sandi, C. 2018. Peripubertal stress increases play fighting at adolescence and modulates nucleus accumbens CB1 receptor expression and mitochondrial function in the amygdala. *Translational Psychiatry*, 8: 156.
- Pellis, S. and Pellis, V. 2013. *The playful brain: venturing to the limits of neuroscience*. Oneworld Publications.

- Pellis, S.M., Castaneda, E., McKenna, M.M., Tran-Nguyen, L.T. and Whishaw, I.Q. 1993. The role of the striatum in organizing sequences of play fighting in neonatally dopamine-depleted rats. *Neurosci Lett*, 158: 13-5.
- Pellis, S.M. and McKenna, M. 1995. What do rats find rewarding in play fighting? — an analysis using drug-induced non-playful partners. *Behavioural Brain Research*, 68: 65-73.
- Pellis, S.M. and Pellis, V.C. 1990. Differential rates of attack, defense, and counterattack during the developmental decrease in play fighting by male and female rats. *Dev Psychobiol*, 23: 215-31.
- Pellis, S.M. and Pellis, V.C. 1991. Role reversal changes during the ontogeny of play fighting in male rats: Attack vs. defense. *Aggressive Behavior*, 17: 179-189.
- . 2007. Rough-and-Tumble Play and the Development of the Social Brain. *Current Directions in Psychological Science*, 16: 95-98.
- Pellis, S.M., Pellis, V.C. and Foroud, A. 2005. *Play Fighting: Aggression, Affiliation, and the Development of Nuanced Social Skills, Developmental origins of aggression.*, The Guilford Press, New York, NY, US.
- Pellis, S.M., Pellis, V.C., Pelletier, A. and Leca, J.-B. 2019. Is play a behavior system, and, if so, what kind? *Behavioural Processes*, 160: 1-9.
- Reinhart, C.J., McIntyre, D.C., Metz, G.A. and Pellis, S.M. 2006. Play fighting between kindling-prone (FAST) and kindling-resistant (SLOW) rats. *J Comp Psychol*, 120: 19-30.
- Reinhart, C.J., Pellis, S.M. and McIntyre, D.C. 2004. Development of play fighting in kindling-prone (FAST) and kindling-resistant (SLOW) rats: how does the retention of phenotypic juvenility affect the complexity of play? *Dev Psychobiol*, 45: 83-92.
- Siegel, M.A. and Jensen, R.A. 1986. The effects of naloxone and cage size on social play and activity in isolated young rats. *Behav Neural Biol*, 45: 155-68.
- Sisk, C.L. 2016. Hormone-dependent adolescent organization of socio-sexual behaviors in mammals. *Current opinion in neurobiology*, 38: 63-68.
- Siviy, S.M. and Panksepp, J. 2011. In search of the neurobiological substrates for social playfulness in mammalian brains. *Neurosci Biobehav Rev*, 35: 1821-30.
- Takahashi, L.K. and Lore, R.K. 1983. Play fighting and the development of agonistic behavior in male and female rats. *Aggressive Behavior*, 9: 217-227.
- Tamashiro, K.L., Nguyen, M.M., Fujikawa, T., Xu, T., Yun Ma, L., Woods, S.C. and Sakai, R.R. 2004. Metabolic and endocrine consequences of social stress in a visible burrow system. *Physiol Behav*, 80: 683-93.
- Trezza, V., Baarendse, P.J. and Vanderschuren, L.J. 2014. On the interaction between drugs of abuse and adolescent social behavior. *Psychopharmacology (Berl)*, 231: 1715-29.
- Trezza, V., Baarendse, P.J.J. and Vanderschuren, L.J.M.J. 2010. The pleasures of play: pharmacological insights into social reward mechanisms. *Trends in pharmacological sciences*, 31: 463-469.
- Trezza, V. and Vanderschuren, L.J.M.J. 2008. Cannabinoid and opioid modulation of social play behavior in adolescent rats: differential behavioral mechanisms. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 18: 519-530.
- van den Berg, C.L., Hol, T., Van Ree, J.M., Spruijt, B.M., Everts, H. and Koolhaas, J.M. 1999. Play is indispensable for an adequate development of coping with social challenges in the rat. *Dev Psychobiol*, 34: 129-38.
- Vanderschuren, L.J., Niesink, R.J., Spruijt, B.M. and Van Ree, J.M. 1995. Influence of environmental factors on social play behavior of juvenile rats. *Physiol Behav*, 58: 119-23.
- Vanderschuren, L.J., Niesink, R.J. and Van Ree, J.M. 1997. The neurobiology of social play behavior in rats. *Neurosci Biobehav Rev*, 21: 309-26.
- Vanderschuren, L.J. and Trezza, V. 2014. What the laboratory rat has taught us about social play behavior: role in behavioral development and neural mechanisms. *Curr Top Behav Neurosci*, 16: 189-212.
- Vargas-Perez, H., Sellings, L., Grieder, T. and Diaz, J.L. 2009. Social dominance rank influences wheel running behavior in mice. *Neurosci Lett*, 457: 137-40.

- Vargas-Perez, H., Sellings, L.H., Paredes, R.G., Prado-Alcala, R.A. and Diaz, J.L. 2008. Reinforcement of wheel running in BALB/c mice: role of motor activity and endogenous opioids. *J Mot Behav*, 40: 587-93.
- Von Frijtag, J.C., Schot, M., van den Bos, R. and Spruijt, B.M. 2002. Individual housing during the play period results in changed responses to and consequences of a psychosocial stress situation in rats. *Dev Psychobiol*, 41: 58-69.
- Watanabe, S. 2014. The dominant/subordinate relationship between mice modifies the approach behavior toward a cage mate experiencing pain. *Behavioural Processes*, 103: 1-4.
- Wilson, L.I., Bierley, R.A. and Beatty, W.W. 1986. Cholinergic agonists suppress play fighting in juvenile rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24: 1157-1159.

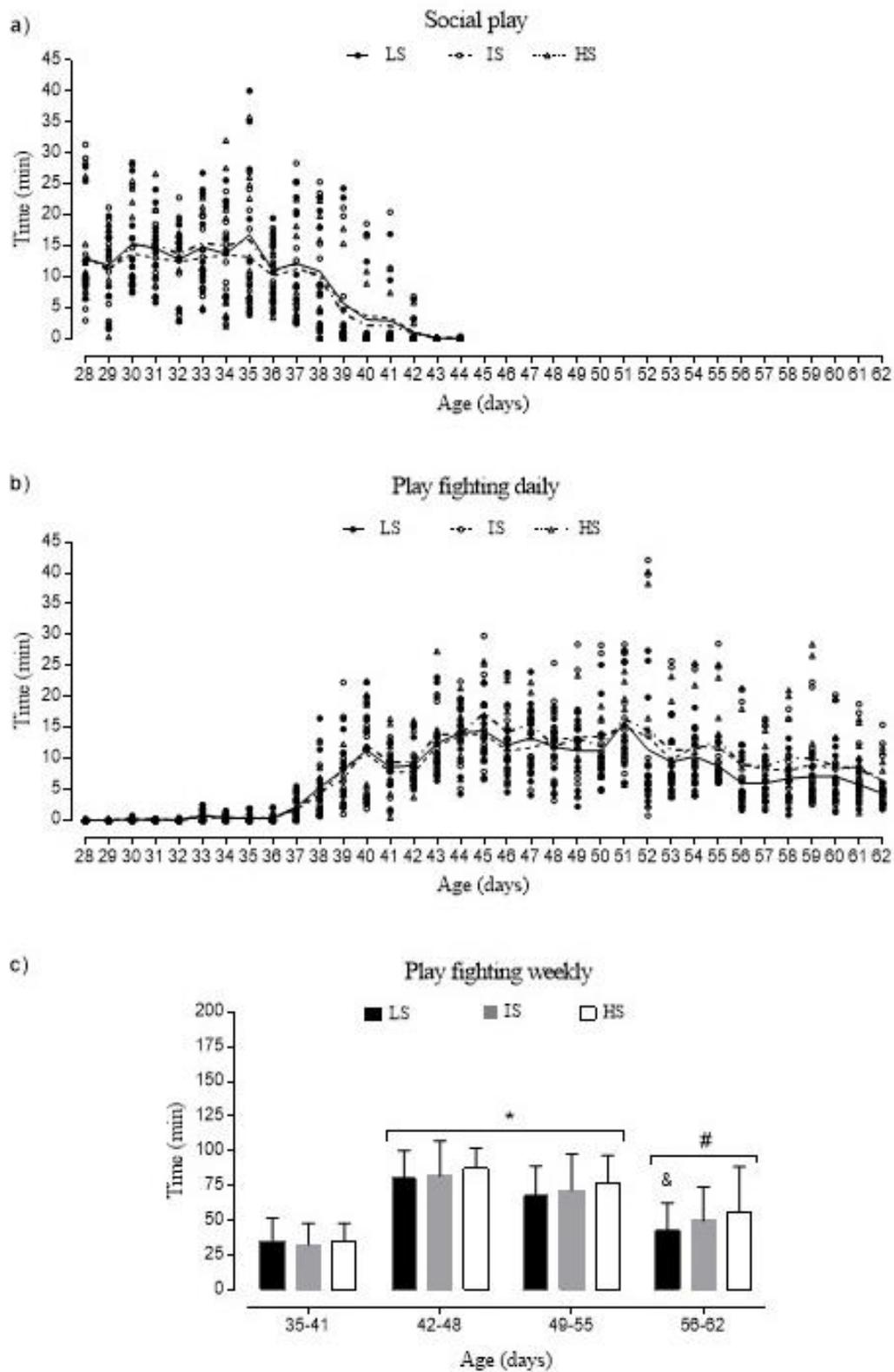


Figure 1. Time spent on Social play (SP) and Play fighting (PF) behaviors during the youth of rats. Social play (a), Play fighting daily (b) and weekly (c) from 28 to 62 days of age. Data are expressed individually for each animal and the daily average of each group, LS (n:10), IS (n:10), and HS (n:10). Weekly data are expressed as mean \pm standard deviation of the mean, Two – Way ANOVA test, Tukey post hoc: * indicates $p < 0.05$ vs 35-41 days of age, # indicates $p < 0.05$ vs 42-48 days of age and & indicates $p = 0.051$ vs 49-55.

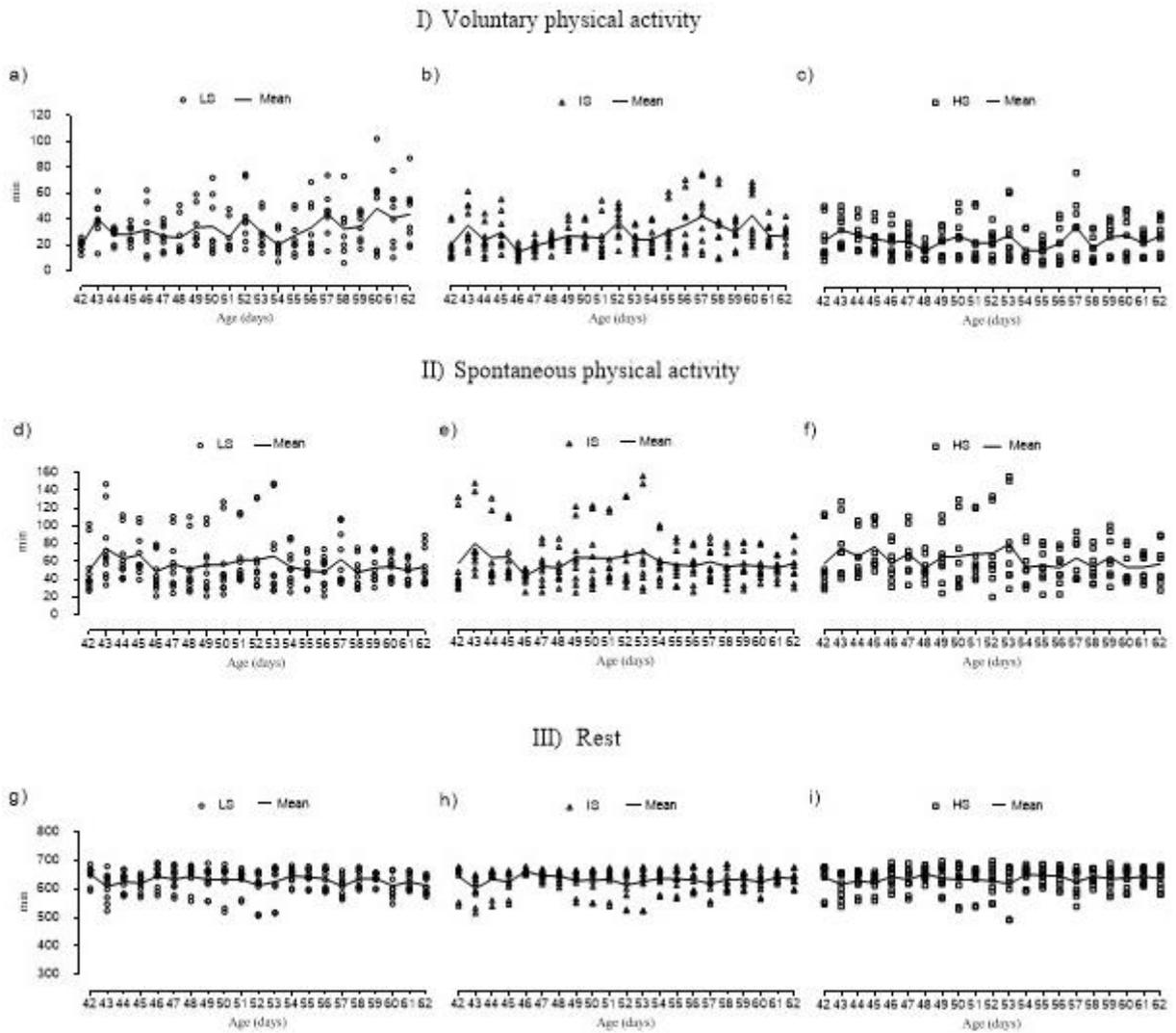


Figure 2. Daily time spent on behaviors related to physical activity during the youth of rats. I) Voluntary physical activity of LS (a, n: 8), IS (b, n: 9) and HS (c, n: 8) animals; II) Spontaneous physical activity of LS (d, n: 10), IS (e, n: 9) and HS (f, n: 8) animals; III) Rest of LS (g, n: 10), IS (h, n: 10) and HS (i, n: 10) animals from 42 to 62 days of age. Time data are expressed in unit values and average daily time, ANOVA Test Repeated measures, Tukey post hoc: * indicates $p < 0.05$.

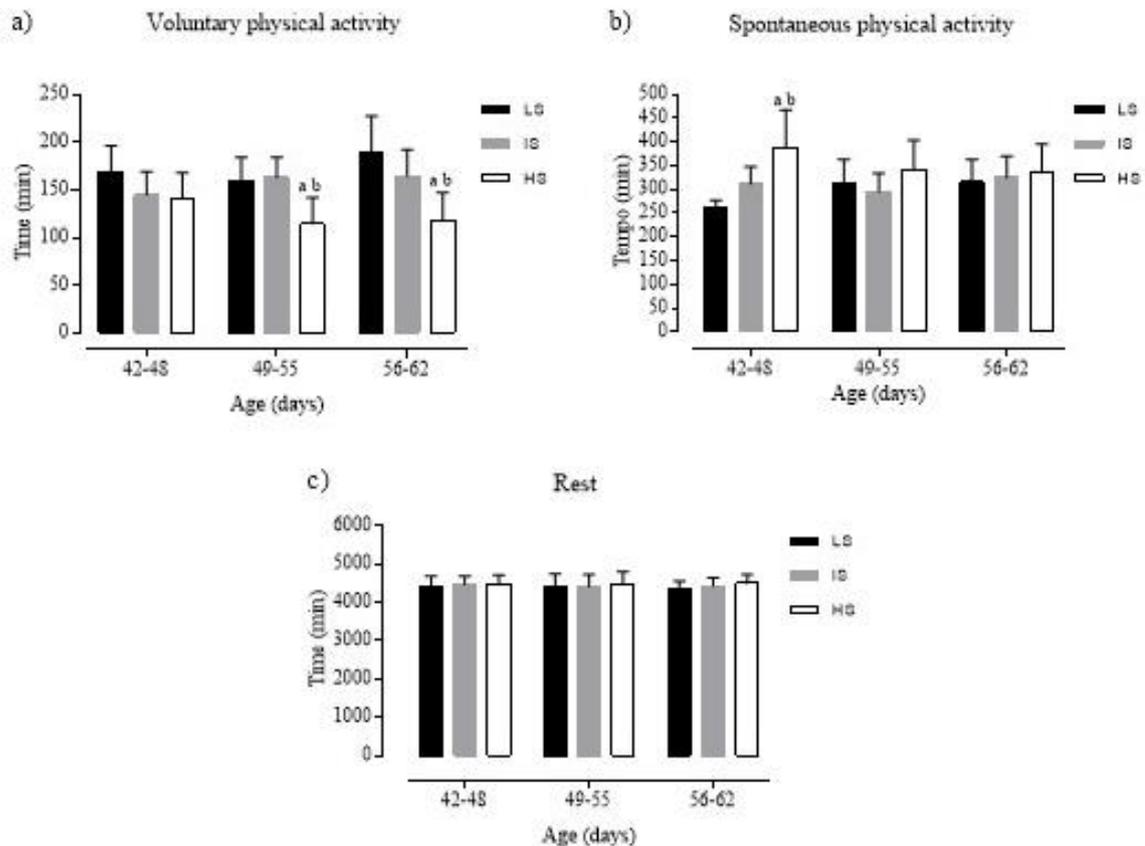


Figure 3. Mean weekly time spent on behaviors related to physical activity during the youth of rats. Rats were classified as low (LS, n: 10), intermediary (IS, n: 10) and high (HS, n: 10) number of adoptions of supine posture from 42 to 62 days of age. Voluntary physical activity (a, LS, n:8; IS, n:9; HS, n:8), Spontaneous physical activity (b, LS, n:10; IS, n:9; HS, n:8) and Rest (c, LS, n:10; IS, n:10; HS, n:10) from 42 to 62 days of age. Weekly time data are expressed as mean \pm standard deviation of the mean, Two-Way ANOVA, Tukey post-hoc test: a indicates $p \leq 0.05$ vs. LS and b indicates $p \leq 0.05$ vs. IS.

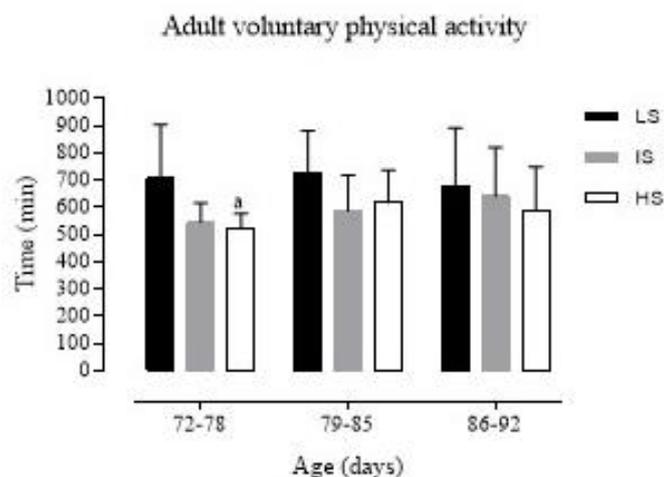


Figure 4. Mean weekly time spent on voluntary physical activity (VPA) during adulthood of rats. Rats were classified as low (LS, n: 10), intermediary (IS, n: 10) and high (HS, n: 10) number of adoptions of supine posture from 42 to 62 days of age. Adult physical activity in the running wheel from 72 to 92 days of age (LS, n: 8; IS, n: 8; HS, n: 8). Weekly time data are expressed as mean \pm standard deviation of the mean, Two-Way ANOVA, Tukey post hoc test: a indicates $p \leq 0.05$ vs. LS.

Table 1. Characteristics of behaviors related to physical activity in offspring during childhood and youth of rats.

Behaviors	Characteristics
Social play (SP)	Corresponds to early social interactions with intense physical contact, without a specific partner. The interactions occur at random, without a specific intention or final goal. During the interaction, it often happens that an animal initiates contact with its partner, being able to mount or tangle and run away. During these encounters, it is common for one of the animals to assume a posture lying with the dorsal surface in contact with the floor (dominated), while another animal remains on it (dominant) (Vanderschuren et al. 1995). However, animals do not seem to apply behavioral strategies to dominate their play partner. This dominant-dominated relationship changes steadily during this type of social interaction. Behaviors related to attack and defense are evidenced, with the absence of submission by one of the animals involved (Pellis and Pellis 1990).
Play fighting (PF)	Correspond to the time spent in playful attack and playful defense. During PF, juveniles rats contact or attempt to contact, the partner's nape with the snout (attacker), while the partner uses various maneuvers to avoid or break free from (recipient), such contact (Pellis and Pellis 1990). The attacker tends to direct its actions towards a single animal, adopting strategies to immobilize the recipient rat. After the recipient rat protects its nape, by assuming the supine position, the attacker can use its forepaws to limit the partner's movements, or can stand on top of its supine partner with all four of its paws (Pellis, Pellis, and Foroud 2005). 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 and Pellis 1990).
Voluntary Physical Activity in wheel (VPA)	Corresponds to running behavior in the cycle ergometer without any reinforcement or motivation by external factors (Garland et al. 2011).
Spontaneous Physical Activity (SPA)	It corresponds to activities of daily living that demand an energy expenditure above the levels of rest (Garland et al. 2011). SPA is the sum of free movements in the cage, environmental exploitation and offsets outside the cycle ergometer.
Rest	Corresponds to activities of daily living that do not demand energy expenditure above resting levels (Garland et al. 2011). Rest is the sum of behaviors of eating, drinking water, cleaning, staying quiet and sleeping.

**APÊNDICE D - CAPÍTULO 8 DO LIVRO: NUTRIÇÃO NO INÍCIO DA VIDA -
EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS PARA PREVENÇÃO DE DOENÇAS, 1ª EDIÇÃO, 2022
(ISBN: 9786555764765).**

- Capítulo 8: Atividade física no início da vida e prevenção das doenças crônicas no adulto.

Autores: Carol Góis Leandro; Gerffeson Martins; Diogo Vasconcelos; Luciano Pirola; Rubem Carlos Guedes.

1. Introdução

A prática de atividade física regular, em qualquer etapa da vida, está associada com um risco reduzido de morbidade e mortalidade, melhora de funções cardiorrespiratórias, metabólicas, neurobiológicas e psicológicas. Particularmente no período de gestação, há uma melhora na função cardiovascular, ganho limitado de peso, diminuição do desconforto musculoesquelético, menor incidência de câimbras musculares e edema de membros inferiores, estabilidade no humor, redução do risco de obesidade, diabetes *mellitus* gestacional e a hipertensão gestacional.

O volume placentário da 20ª semana de gestação é cerca de 180mL, passando para 424mL na 40ª semana em gestantes não-exercitadas (ou inativas). Em mulheres que praticam exercícios de intensidade moderada durante a gestação, o volume plasmático na 20ª semana é de cerca de 255mL e na 40ª semana passa para 522mL. Em consequência, no feto de mães praticantes de atividade física regular, foi observada uma diminuição da massa gorda, melhor tolerância ao estresse e avançada maturação neurocomportamental.

Em modelos animais, ratas gestantes treinadas em esteira (5 dias/semana, com progressiva diminuição da duração 50 – 20 minutos/dia, a 40% do VO_{2max}) apresentaram um menor ganho de peso corporal e um aumento no consumo de oxigênio de repouso (VO_2 de repouso) (AMORIM; DOS SANTOS et al., 2009). Filhotes de ratas ativas antes e durante a gestação (30 min/dia, 5 dias/semana, durante 4 semanas) apresentaram melhora na memória de longo prazo na tarefa de reconhecimento de objetos (FALCAO-TEBAS; BENTO-SANTOS et al., 2012).. Durante a lactação, foi observada uma melhora na ontogênese reflexa e na maturação física (FALCAO-TEBAS; BENTO-SANTOS et al., 2012). Resultados semelhantes foram observados em ratas gestantes e praticantes de atividade física voluntária.

O termo **atividade física** se refere a qualquer movimento do músculo esquelético que demande um gasto energético acima do metabolismo basal. Quando a atividade física é realizada de forma planejada, estruturada e repetitiva, é utilizado o termo **exercício físico**. O

termo **treinamento físico** requer a montagem de um programa de exercícios que segue um protocolo com o controle detalhado da intensidade, frequência, duração e tipo do esforço (aeróbico, anaeróbico ou de resistência de força). O objetivo de um programa de treinamento pode ser melhorar o desempenho físico, a aptidão física ou ainda promover o alto rendimento em diversos esportes.

É interessante que o efeito da atividade física materna pode ser observado ao longo da trajetória de vida da prole. Neste sentido, é importante adequar as respostas adaptativas a hipótese da origem desenvolvimentista da saúde e da doença (DOHaD). Por outro lado, os estudos que relacionam atividade física materna e efeitos a longo-prazo na prole ainda são escassos. De fato, há evidências que filhotes de mães ativas podem assumir um fenótipo ativo na vida adulta e por consequência reduzir os riscos de doenças cardiometabólicas. Mas ainda não há estudos que consolidem esta hipótese em humanos. Em animais, poucos estudos tem considerado os efeitos à longo-prazo da atividade física materna. Entretanto, supõe-se que a adoção de um estilo de vida ativo materno permita um ajuste benéfico ao meio ambiente, uma vez que o investimento materno (ou capital materno) parece ser preponderante às condições ambientais adversas.

Neste capítulo, iremos abordar os efeitos da atividade física durante a gestação tanto na mãe quando no filho utilizando estudos com modelos experimentais para enquadramento do mecanismo subjacente. Em seguida, abordaremos o efeito da atividade física materna a curto e longo prazo da em funções neurobiológicas e comportamentais no binômio mãe-filho. Relativamente aos pressupostos envolvidos nos mecanismos adaptativos, discutiremos sobre a plasticidade fenotípica em períodos críticos do desenvolvimento. Por fim, será abordado o papel da atividade física materna no DOHaD.

2. Atividade física durante a gestação e lactação

O período de gestação está associado a um aumento da capacidade cardiorrespiratória, musculoesquelética e liberação específica de alguns hormônios (estrogênio e relaxina). Há um aumento no volume de sangue, frequência cardíaca, volume sistólico, débito cardíaco e uma diminuição da resistência vascular sistêmica. O consumo de oxigênio aumenta em até 10 - 20% em comparação com o estado não-gestante. Há uma diminuição gradual na temperatura corporal materna com o aumento da idade gestacional (diminuição de 0,3°C que ocorre no primeiro trimestre, com novas diminuições de 0,1°C por mês durante 37 semanas de gestação).

O aumento da concentração de estrógeno e relaxina pode causar mudanças na postura com risco de quedas. Mulheres grávidas geralmente desenvolvem lordose, o que explica a alta prevalência de dor lombar na gestação. Há um esvaziamento mais frequente da bexiga por causa da pressão fetal, e isto pode ocasionar um aumento do risco de desenvolver incontinência urinária. Entretanto, o evento mais frequente que ocorre na gestação está relacionado ao ganho excessivo de peso e a *diabetes mellitus* gestacional (ACOG, 2020).

Estudos recentes de revisão sistemática com abordagem clínica, epidemiológica ou em modelos experimentais, têm demonstrado resultados positivos do exercício físico durante a gestação para o binômio mãe-feto (MING; DING et al., 2018, PASTORINO; BISHOP et al., 2019). De acordo com o “*The American College of Obstetricians and Gynecologists*” (ACOG, 2020), a prática diária de exercício físico aeróbico de intensidade moderada (entre 50 a 65% do VO_{2max}) e/ou de resistência (força), durante 30 a 60 minutos está associada à benefícios para a saúde da mãe e do feto. A tabela 10.1 apresenta resultados de estudos de intervenção com programas de exercício durante a gestação.

Embora o limite máximo de segurança para a intensidade e a duração seja individual, é aconselhável que haja um acompanhamento da frequência cardíaca (não ultrapassar 60 – 80% do máximo), da glicemia e da pressão arterial. Especialmente para gestantes obesas ou com diabetes gestacional, a prática de exercício físico deve ser monitorada. Em uma recente metanálise, foi verificado que mulheres com diabetes *mellitus* gestacional submetidas a um protocolo de treinamento de resistência (força muscular) apresentam uma melhora significativa da glicemia em jejum, dos níveis médios de glicose no sangue duas horas após as refeições, na taxa de liberação de insulina e na incidência de macrossomia (YAPING; HUIFEN et al., 2020).

Os mecanismos subjacentes podem estar associados às alterações na comunicação materno-fetal via placenta. Gestantes exercitadas (20 min/dia, 3-5 dias/semana, com intensidade a 55-60% VO_{2max}) tiveram maior eficiência em interagir com o feto devido ao maior volume funcional placentário. Estima-se que o volume placentário de sangue seja maior na 20ª e 40ª semana de gestação em mulheres que praticam exercício físico (caminhadas diárias a 60% do VO_{2max}) quando comparadas as não exercitadas (sedentárias). Outro mecanismo proposto é que o treinamento físico de intensidade leve/moderada aumenta o consumo de oxigênio de repouso. Sugere-se então, que uma maior quantidade de oxigênio e nutrientes possa ser destinada ao feto, podendo modular positivamente seu crescimento e desenvolvimento. O Quadro 10.1 apresenta o conceito das variáveis fisiológicas (VO_{2max} e frequência cardíaca) utilizados para classificar o exercício físico de acordo com a intensidade.

3. Efeitos a curto e longo prazo da atividade física em funções neurobiológicas e comportamentais no binômio mãe-filho

Tem sido demonstrado, tanto em humanos, como em animais de laboratório, que o sistema nervoso de mamíferos tem capacidade de se adaptar em face a fatores externos (ou ambientais). No caso da atividade física, essa adaptação parece ser mais evidente quando ocorre nos períodos iniciais da vida. Processos cognitivos envolvidos na gênese da depressão psíquica e em distúrbios de ansiedade, aprendizado e memória parecem beneficiar-se da prática regular da atividade física na gestação. Igualmente, a atividade elétrica cerebral pode ser influenciada pelo exercício físico. É amplamente aceito que, quando realizado no período perinatal, o exercício físico pode modificar a programação normal (fisiológica) do desenvolvimento e funcionamento do sistema nervoso. Essa “reprogramação” seria o fundamento epigenético para explicar a adaptação do organismo, bem como o surgimento de doenças mais tarde, na vida adulta.

Em ratos, a atividade física voluntária materna na roda de corrida, atua como um importante estímulo ambiental capaz de modular a expressão comportamental da prole. Mais especificamente, a prática de corrida na roda pela mãe, da gestação até o 14º dia pós-natal, resulta em maior atividade locomotora dos filhotes aos 23, 45 e 60 dias de idade no teste de campo aberto, refletindo a maior habilidade ambulatoria geral e atividade exploratória (FRAGOSO; LIRA et al., 2017).

A atividade exploratória aos 30 dias de idade da prole de mães que correram na roda durante a gestação, permanece mais tempo e os filhotes apresentam maior capacidade de aprendizado espacial no teste de labirinto aquático de Morris, com a aquisição de informações advindas de estímulos do ambiente físico e social. As alterações observadas na expressão comportamental da prole durante a infância, parecem reduzir a propensão destes filhotes manifestarem comportamentos exacerbados (e.g. rigidez da cauda e espasmo mioclônico) durante crises epiléticas e de desenvolverem distúrbios comportamentais (LIMA; SOARES GDE et al., 2014).

Durante a juventude de ratos, a prática de atividade física é capaz de atenuar transtornos comportamentais resultantes da presença de agentes estressores ao longo da gestação/lactação e idade adulta. Em testes de sociabilidade e anedonia, a expressão de comportamentos relacionados a depressão e do espectro autista na prole adulto-jovem, que foi exposta a eventos adversos durante a gestação (infecção viral) e lactação (separação materna), são atenuados pela

prática de atividade física na roda de corrida dos 28 aos 60 dias de idade. Além disso, ratos adultos, que tiveram acesso a roda de corrida entre os 28 e 60 dias de idade, respondem melhor a situações crônicas de estresse de isolamento social e contenção, com manutenção dos níveis de atividade física, redução de comportamentos semelhantes a depressão no teste de natação forçada e ansiedade no teste de labirinto em cruz elevado (HUESTON; CRYAN et al., 2017, GHALANDARI-SHAMAMI; NOURIZADE et al., 2019, MARTINS; CHAGAS et al., 2020). Assim, estas respostas comportamentais na idade adulta refletem o efeito protetor da atividade física durante a infância e adolescência, frente a estímulos ambientais adversos, evitando aumento da inatividade física e transtornos comportamentais.

Os mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos neurobiológicos do exercício físico começaram a ser investigados há alguns anos. Recentemente, foi demonstrado que tanto a deficiência proteica da dieta, quanto a atividade física espontânea (em rodas de atividade), em ratas gestantes, influenciam a expressão gênica de vários fatores tróficos (BDNF, NTRK2, IGF-1, e IGF-1R) no cérebro da prole dessas gestantes (FRAGOSO; CARVALHO JUREMA SANTOS et al., 2020). Além disso, a atividade física espontânea atenuou os efeitos deletérios da deficiência proteica sobre a expressão desses mesmos genes (Figura 10.1).

Como foi destacado no início desta seção, evidências clínicas e experimentais demonstram que o exercício físico influencia positivamente a adaptação neurobiológica em mamíferos, provavelmente por meio de modificações da expressão gênica de fatores neurotróficos cerebrais. O estudo detalhado desse mecanismo pode ajudar na compreensão do impacto do exercício físico no delicado equilíbrio “saúde/doença”, equilíbrio este que, para o sistema nervoso se origina no período perinatal, mas precisa se estender até a idade adulta e o envelhecimento.

4. Plasticidade fenotípica: nutrição e atividade física em períodos críticos do desenvolvimento

A variação das condições ambientais, particularmente em termos de nutrição, impõe processos adaptativos ao organismo de forma a garantir a sua sobrevivência, o ciclo reprodutivo e a longevidade. Estímulos ambientais em períodos críticos do desenvolvimento (alta plasticidade, proliferação e diferenciação celular e crescimento acelerado de órgãos e sistemas) causam adaptações fisiológicas, morfológicas e moleculares que demandam uma reestruturação orgânica e metabólica. A curto-prazo, estas adaptações são benéficas, mas podem se tornar um problema quando há a transição do ambiente apresentado durante a gestação/lactação e o

ambiente na idade adulta.

A exposição às mudanças drásticas no aporte de nutrientes, por exemplo, pode ter consequências de ordem fisiológica e molecular e produzir o aparecimento precoce de doenças cardiometabólicas, diabetes tipo 2, hipertensão e dislipidemia na vida adulta. Esse processo pode ser determinado por mudanças epigenéticas e moleculares, por exemplo, através de metilação de DNA, expressão de microRNAs e acetilação de histonas regulando a expressão de genes que definem os efeitos biológicos nos tecidos e órgãos.

O termo “plasticidade fenotípica” é utilizado para descrever a habilidade de um organismo em reagir aos desafios impostos pelo ambiente alterando a sua forma, estado, movimento ou padrão de atividade (WEST-EBERHARD, 2005). A plasticidade tem características ativas e adaptativas e, por ser uma variação interindividual, está susceptível à influência do ambiente (variação do fenótipo) e dos genes (genoma individual). De fato, o desequilíbrio metabólico que responde a um período de subnutrição e posterior sobrepeso e obesidade irá repercutir no descontrole da expressão de genes associados ao controle do comportamento alimentar.

Da mesma forma, a plasticidade da prole no início da vida em resposta a algum distúrbio nutricional pode estabelecer um fenótipo susceptível a um ambiente obesogênico caracterizado por disponibilidade de alimentos hipercalóricos, consumo exacerbado de gordura e inatividade física. A interação entre gene e ambiente é chamada de “epigenética” e pode explicar como as variações ambientais influenciam a expressão dos genes. A herança epigenética altera a capacidade de um gene de ser manifestado ou silenciado em um descendente sem promover modificações na sequência do DNA.

Os estímulos ambientais podem conduzir o organismo a uma adaptação fisiológica, padrão de expressão gênica por alterações epigenéticas, incluindo a participação dos microRNAs, além do que seria possível através do genótipo herdado. É importante ressaltar que estes efeitos não assumem um caráter determinista, e estratégias de intervenção como a prática de atividade física e uma dieta equilibrada podem atuar positivamente. Estudos recentes tem verificado a influência da desnutrição e de um estilo de vida no âmbito da atividade física durante períodos de alta plasticidade mesmo diante de restrição dietética (NOGUEIRA; ANDRADE et al., 2019, DE OLIVEIRA LIRA; DE BRITO ALVES et al., 2020, FRAGOSO; CARVALHO JUREMA SANTOS et al., 2020). Em humanos, foi verificado em estudos realizados com crianças nascidas com baixo peso, que a promoção de um estilo de vida ativo na infância e adolescência, como

prática regular de atividade física ou treinamento físico, podem atenuar ou mesmo reverter os efeitos desses dois extremos da má-nutrição, subnutrição e obesidade.

O balanço energético durante a gestação é um fator importante que afeta a relação entre nutrição materna e o peso ao nascer. Mulheres subnutridas de comunidades rurais de países em desenvolvimento têm cargas altas de atividade física (trabalho agrícola e atividades domésticas) e seus filhos apresentam baixo peso ao nascer (RAO; KANADE et al., 2003). Extrema carga de trabalho também tem sido associada ao aumento da taxa de aborto e bebês prematuros (RAO; KANADE et al., 2003). Por outro lado, a atividade física de baixa intensidade e realizada sistematicamente está associada ao aumento do peso ao nascer mesmo em mulheres que passaram por privação dietética.

De forma a subsidiar hipóteses que referem aos possíveis mecanismos associados ao papel profilático da atividade física em modelos animais de desnutrição perinatal, estudos tem sido realizados no âmbito da epigenética, particularmente o papel dos microRNAs na regulação da expressão gênica. Os microRNAs (miRNAs ou miRs) são pequenos RNAs não traduzidos (em torno de 21-22 nucleotídeos) que regulam negativamente ou reprimem a expressão de genes alvo. Está bem estabelecido que os miRNAs exercem seus efeitos por interagir com um conjunto de alvos de mRNAs e há inibição da síntese de proteína e/ou redução dos níveis desses alvos nos mRNAs. A interação entre o miRNA e o mRNA normalmente requer uma extensão do interrupto emparelhamento de bases entre a região 5' final do miRNA e a região 3' não traduzida do alvo do mRNA.

A expressão de microRNAs pode ser determinada por estresse nutricional em fases de desenvolvimento. Um estudo recente revelou que filhotes de ratas, que consumiram dieta com baixo quantidade de proteína durante a gestação e lactação, tiveram a expressão de genes, relacionados ao balanço energético no tecido hepático, regulada por mecanismo epigenético e molecular através de microRNAs. Foi demonstrado também que a atividade física modula a expressão de microRNAs, logo essas alterações fenotípicas podem estar correlacionadas com a regulação dos microRNAs sobre a expressão gênica de proteínas. É razoável considerar, portanto, que os mesmos mecanismos epignéticos possam subsidiar a ação mitigante ou mesmo supressora do treinamento físico em crianças que apresentam sobrepeso e obesidade. O quadro 10.2 apresenta uma lista de microRNAs modulados pelo exercício físico, seus genes reguladores, os tecidos-alvo e os efeitos metabólicos.

Um estudo prévio verificou que há um mecanismo específico para explicar a plasticidade do músculo esquelético durante o desenvolvimento à restrição proteica materna (DE BRITO ALVES; TOSCANO et al., 2017). Neste estudo, a regulação das enzimas chave da via glicolítica, em particular hexoquinase (HK2) e a piruvato desidrogenase kinase 4 (PDK4) sofreram uma redução concomitante de mRNA da beta hidroxiacil-coenzima-A desidrogenase (β -HAD). No entanto, a regulação negativa de enzimas-chave da via glicolítica não prejudicou a flexibilidade metabólica do músculo.

A identificação da regulação epigenética da expressão de genes como potencial mecanismo da indução de diferentes fenótipos pela nutrição infantil é de importância para o estudo de mecanismos de intervenção, que podem incluir a nutrigenômica e também a atividade física.

5. Origem perinatal de doenças cardiometabólicas na vida adulta e o papel da atividade física materna

A doença cardiometabólicas, cujo risco pode ser programado no início da vida, é um dos principais determinantes de morbimortalidade, atingindo milhões de pessoas em todo o mundo. É um processo patológico que se desenvolve ao longo do tempo, levando ao acúmulo nos vasos sanguíneos de lesões ateroscleróticas que limitam o fluxo e a dinâmica do sangue e geralmente estão associadas a um estado inflamatório. A ruptura aguda da placa em lesões ateroscleróticas causa trombose vascular que pode ser fatal. Por esse motivo, a detecção precoce do desenvolvimento de doenças cardiovasculares pode permitir um melhor manejo e intervenção, reduzindo assim a morbimortalidade da doença.

Com etiologia diversa, as doenças cardiometabólicas podem estar relacionadas a fatores genéticos, hormonais e também ao estilo de vida (atividade física), hábitos alimentares, poluentes e estresse. Há duas décadas, tem sido evidenciado que as doenças cardiometabólicas na vida adulta podem também ter etiologia no ambiente materno em resposta a estímulos ambientais durante o período crítico do desenvolvimento (gestação, lactação e primeira infância).

A hipótese do DOHaD surgiu inicialmente de estudos de coorte em humanos mostrando que pessoas com baixo peso ao nascer tinham um risco maior de doença cardiovascular, hipertensão, diabetes tipo 2 e síndrome metabólica quando adultos (GLUCKMAN & HANSON, 2004). Experimentos com animais tem verificado que a manipulação da dieta das mães, uso de fármacos, ou exposição ao estresse (glicocorticoides) durante a gestação estão associadas a

padrões adaptativos a curto e longo prazo. Há também estudos clínicos com ampla abordagem epidemiológica que vem demonstrando que a saúde do adulto é fortemente influenciada pela experiência no início da vida. Notadamente os estudos realizados em países com baixa e média renda e que tenham passado pela transição nutricional ou epidemiológica é onde a hipótese do DOHaD é mais evidente.

O efeito da atividade física materna pode ser entendido a partir dos pressupostos da plasticidade fenotípica, especificamente se enquadrando a hipótese do DOHaD, ao menos no que respeita à resposta adaptativa imediata. Intervenções que tem sido chamadas de “reprogramação”, como atividade física, podem atenuar ou mesmo prevenir doenças metabólicas programadas por um ambiente hostil materno, nomeadamente a desnutrição.

É interessante observar que os efeitos da atividade física materna são bem estabelecidos e uma metanálise incluiu 13 estudos prospectivos e mostrou uma associação inversa de dose-resposta entre níveis de atividade física e risco de hipertensão durante a gestação (HUI; XUN et al., 2013). O exercício materno reduz a pressão arterial, a resistência vascular sistêmica, a atividade simpática, a atividade da renina plasmática, o índice de resistência à insulina, o ganho excessivo de peso corporal e a circunferência abdominal e os lipídios do sangue. Mulheres gestantes saudáveis sem contraindicações médicas devem ser encorajadas a participar de atividades físicas regulares pelo menos 150 minutos por semana (20-30 minutos por dia na maioria ou todos os dias da semana) em intensidade moderada. Contudo, os estudos que consideram os efeitos na prole à curto e longo-prazo ainda são escassos.

Em termos de resposta adaptativa imediata, os estudos tem mostrado que a atividade física materna atenua os efeitos da desnutrição proteica na presença de biomarcadores de doenças cardiometabólicas. Em filhotes de ratos submetidos à restrição proteica do 1º ao 14º dia de idade houve um aumento do volume corrente e volume expiratório aos 21 dias que são indicadores de hipertensão induzida por desnutrição perinatal. Estes efeitos foram atenuados em filhotes de mães desnutridas, mas que realizaram atividade física durante a gestação (NOGUEIRA; ANDRADE et al., 2019). De fato, ratos desnutridos submetidos à desnutrição perinatal exibem uma resposta simpática e bradicárdica aumentada à ativação de quimiorreceptores periféricos O₂/CO₂ e corpos carotídeos. Contudo, estes efeitos são revertidos quando a mãe pratica atividade física. O mecanismo subjacente pode estar relacionado ao aumento do fator de crescimento da insulina na placenta (IGF-1) e seu receptor (IGF-1R) e ao exercício induzido pela remodelação vascular na placenta. Essas observações reforçam a visão de que o exercício físico materno atua positivamente na função respiratória de filhotes

desnutridos, o que representa um importante indício precoce de proteção ao desenvolvimento da hipertensão.

A análise espectral da pressão arterial e da variabilidade da frequência cardíaca são utilizadas para descrever as flutuações rítmicas e não rítmicas da pressão arterial, fornecendo índices de modulação autonômica cardiovascular. Em modelos experimentais, filhotes (30 dias de idade) de mães ativas (60-90 min/dia corrida em cicloergômetro, antes e durante a gestação) independentemente da dieta, mostraram melhorias na análise espectral que pode refletir a natureza dependente da frequência do barorreflexo. A normalização da influência simpática no sistema cardiovascular e na pressão arterial fortalece a hipótese de que a atividade física *per se* aumenta a autonomia cardiovascular.

Os estudos que relacionam atividade física materna e efeitos a longo-prazo na prole ainda são poucos e os mecanismos pobremente conhecidos. Um estudo avaliou o efeito do treinamento físico moderado antes e durante a gestação (40 – 50% do VO_{2max} , 5 dias/semana) em filhotes de ratos aos 150 dias de vida (FIDALGO; FALCAO-TEBAS et al., 2013). Foi observada uma melhora no ganho de peso corporal, redução da massa gorda e na glicemia de jejum apenas nos filhotes de mães desnutridas e treinadas. É de ressalva que estes efeitos não foram significativos em filhotes de mães apenas treinadas. Este resultado nos leva a uma discussão mais ampla que envolve o conceito de plasticidade fenotípica.

Presume-se que a plasticidade permite um ajuste benéfico ao meio ambiente. Neste contexto, a plasticidade do desenvolvimento é geralmente abordada dentro de uma análise adaptativa plástica (quando há deformação severa) ou elástica (quando há ajustes iniciais, mas retorno a forma original). Outro ponto importante é que estes ajustes podem não estar diretamente relacionados ao meio ambiente, mas sim ao nicho gerado pelo fenótipo dos pais (mães com fenótipo ativo). Neste sentido, a hipótese de que somente quando o investimento materno é retirado, o organismo em desenvolvimento fica exposto diretamente às condições ambientais adversas.

Parece que a trajetória de desenvolvimento primeiro se ajusta ao investimento materno (ou paterno, ou ambos) e depois ao ambiente externo. É como se a prole tivesse que experimentar um *trade-off*, beneficiando-se do investimento materno durante os estágios mais vulneráveis de desenvolvimento, ao custo da exposição a estratégias de investimento que maximizam a aptidão materna. Assim, a atividade física materna, atuando como estímulo ambiental, parece oferecer novas oportunidades para o desfecho de saúde da mãe e da prole.

6. Considerações finais

A atividade física materna, a depender da intensidade, frequência e duração do esforço, está associada a benefícios para a mãe, reduzindo o risco de ganho excessivo de peso, diabetes mellitus gestacional e hipertensão. Para o feto, há um ajuste no padrão de crescimento com efeitos positivos no acúmulo de massa gorda, peso ao nascer e desenvolvimento neurocomportamental. Os efeitos da atividade física materna no filhote à curto-prazo referem a um mecanismo adaptativo fisiológico, celular e molecular que pode proteger de alterações ambientais adversas, como por exemplo, a restrição proteica. Por outro lado, ainda não se tem consistência sobre os resultados à longo-prazo, mas acredita-se que o fenótipo ativo materno pode ser passado para a prole, e de forma indireta, proteger a prole do aparecimento precoce de doenças cardiometabólicas relacionadas às fases iniciais da vida.

7. Referências Bibliográficas

- ACOG, C. o. O. P. 2020. Physical activity and exercise during pregnancy and the postpartum period. *The American College of Obstetricians and Gynecologists* **135** (4): e178-e188.
- Amorim, M. F., J. A. dos Santos, S. M. Hirabara, E. Nascimento, S. L. de Souza, R. M. de Castro, R. Curi and C. G. Leandro. 2009. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? *Exp Physiol* **94** (8): 906-913.
- de Brito Alves, J. L., A. E. Toscano, J. H. da Costa-Silva, H. Vidal, C. G. Leandro and L. Pirola. 2017. Transcriptional response of skeletal muscle to a low protein perinatal diet in rat offspring at different ages: The role of key enzymes of glucose-fatty acid oxidation. *J Nutr Biochem* **41**: 117-123.
- de Oliveira Lira, A., J. L. de Brito Alves, M. Pinheiro Fernandes, D. Vasconcelos, D. F. Santana, J. H. da Costa-Silva, B. Morio, C. Góis Leandro and L. Pirola. 2020. Maternal low protein diet induces persistent expression changes in metabolic genes in male rats. *World J Diabetes* **11** (5): 182-192.
- Falcao-Tebas, F., A. Bento-Santos, M. A. Fidalgo, M. B. de Almeida, J. A. dos Santos, S. Lopes de Souza, R. Manhaes-de-Castro and C. G. Leandro. 2012. Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. *Br J Nutr* **107** (3): 372-377.
- Fidalgo, M., F. Falcao-Tebas, A. Bento-Santos, E. de Oliveira, J. F. Nogueira-Neto, E. G. de Moura, P. C. Lisboa, R. M. de Castro and C. G. Leandro. 2013. Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate-low physical training. *Br J Nutr* **109** (3): 449-456.
- Fragoso, J., G. Carvalho Jurema Santos, H. T. da Silva, E. Loizon, V. de Oliveira Nogueira Souza, H. Vidal, R. C. A. Guedes, J. H. Costa-Silva, R. da Silva Aragão, L. Pirola and C. G. Leandro. 2020. Effects of maternal low-protein diet and spontaneous physical activity on the transcription of neurotrophic factors in the placenta and the brains of mothers and offspring rats. *J Dev Orig Health Dis*: 1-8.
- Fragoso, J., A. d. O. Lira, G. S. Chagas, C. C. Lucena Cavalcanti, R. Beserra, G. de Santana-Muniz, A. Bento-Santos, G. Martins, L. Pirola, R. da Silva Aragão and C. G. Leandro. 2017. Maternal voluntary physical activity attenuates delayed neurodevelopment in malnourished rats. *Experimental Physiology* **102** (11): 1486-1499.

- Ghalandari-Shamami, M., S. Nourizade, B. Yousefi, A. A. Vafaei, R. Pakdel and A. Rashidy-Pour. 2019. Beneficial Effects of Physical Activity and Crocin Against Adolescent Stress Induced Anxiety or Depressive-Like Symptoms and Dendritic Morphology Remodeling in Prefrontal Cortex in Adult Male Rats. *Neurochemical Research* **44** (4): 917-929.
- Gluckman, P. D. and M. A. Hanson. 2004. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab* **15** (4): 183-187.
- Huai, P., H. Xun, K. H. Reilly, Y. Wang, W. Ma and B. Xi. 2013. Physical activity and risk of hypertension: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Hypertension* **62** (6): 1021-1026.
- Hueston, C. M., J. F. Cryan and Y. M. Nolan. 2017. Adolescent social isolation stress unmasks the combined effects of adolescent exercise and adult inflammation on hippocampal neurogenesis and behavior. *Neuroscience* **365**: 226-236.
- Lima, C. B., S. Soares Gde, S. M. Vitor, B. L. Andrade-da-Costa, B. Castellano and R. C. Guedes. 2014. Spreading depression features and Iba1 immunoreactivity in the cerebral cortex of developing rats submitted to treadmill exercise after treatment with monosodium glutamate. *Int J Dev Neurosci* **33**: 98-105.
- Martins, G. W., G. S. Chagas, F. C. Patrício, A. d. O. Lira, J. Fragoso, A. B. Santos and C. G. Leandro. 2020. Can the frequency of defensive posture adoption influence the expression of active behavior of adult rats? *Behavioural Processes* **177**: 104151.
- Ming, W. K., W. Ding, C. J. P. Zhang, L. Zhong, Y. Long, Z. Li, C. Sun, Y. Wu, H. Chen, H. Chen and Z. Wang. 2018. The effect of exercise during pregnancy on gestational diabetes mellitus in normal-weight women: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth* **18** (1): 440.
- Nogueira, V. O., L. D. S. Andrade, R. L. Rocha-Júnior, P. E. D. Melo, E. Helvécio, D. A. F. Fontes, T. P. Romão, C. G. Leandro and J. H. Costa-Silva. 2019. Maternal physical activity prevents the overexpression of hypoxia-inducible factor 1- α and cardiorespiratory dysfunction in protein malnourished rats. *Sci Rep* **9** (1): 14406.
- Pastorino, S., T. Bishop, S. R. Crozier, C. Granström, K. Kordas, L. K. Küpers, E. C. O'Brien, K. Polanska, K. A. Sauder, M. H. Zafarmand, R. C. Wilson, C. Agyemang, P. R. Burton, C. Cooper, E. Corpeleijn, D. Dabelea, W. Hanke, H. M. Inskip, F. M. McAuliffe, S. F. Olsen, T. G. Vrijkotte, S. Brage, A. Kennedy, D. O'Gorman, P. Scherer, K. Wijndaele, N. J. Wareham, G. Desoye and K. K. Ong. 2019. Associations between maternal physical activity in early and late pregnancy and offspring birth size: remote federated individual level meta-analysis from eight cohort studies. *Bjog* **126** (4): 459-470.
- Rao, S., A. Kanade, B. M. Margetts, C. S. Yajnik, H. Lubree, S. Rege, B. Desai, A. Jackson and C. H. Fall. 2003. Maternal activity in relation to birth size in rural India. The Pune Maternal Nutrition Study. *Eur J Clin Nutr* **57** (4): 531-542.
- West-Eberhard, M. J. 2005. Developmental plasticity and the origin of species differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102 Suppl 1**: 6543-6549.
- Yaping, X., Z. Huifen, L. Chunhong, H. Fengfeng, H. Huibin and Z. Meijing. 2020. A meta-analysis of the effects of resistance training on blood sugar and pregnancy outcomes. *Midwifery* **91**: 102839.

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 20 de julho de 2019

Ofício nº 43/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: Prof. Carol Virginia Gois Leandro

Centro Acadêmico de Vitória - CAV

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 0031/2019

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do consumo de dieta hiperlipídica materna e/ou da atividade física sobre o estabelecimento da dominância social e do fenótipo ativo na adolescência: estudo de parâmetros comportamentais, neurobiológicos e epigenéticos de ratos." registrado com o nº 0054/2019 sob a responsabilidade de Prof. Carol Virginia Gois Leandro o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 02/07/2019

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2019 a 01/03/2022
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogenico
Nº de animais	660
Peso/Idade	190-220g/ 90-120 dias
Sexo	Femea (360) e Macho (300)
Origem: Biotério de Criação	Biotério de criação do Departamento de Nutrição da UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de Experimentação do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da UFPE.

Atenciosamente,

