

Fernando Gabriel Mazur

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NOS COMPORTAMENTOS
RELACIONADOS À ANSIEDADE EM DUAS LINHAGENS
ISOGÊNICAS DE RATOS**

Dissertação submetida ao Programa de
Biologia Celular e Desenvolvimento da
Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do Grau de Mestre.
Orientador: Prof. Dr. Geison de Souza
Izídio

Florianópolis

2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Mazur, Fernando Gabriel

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NOS COMPORTAMENTOS
RELACIONADOS À ANSIEDADE EM DUAS LINHAGENS ISOGÊNICAS DE
RATOS / Fernando Gabriel Mazur ; orientador, Geison de
Souza Izidio - Florianópolis, SC, 2015.

85 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-
Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento.

Inclui referências

1. Biologia Celular e do Desenvolvimento. 2.
ansiedade/emocionalidade. 3. Exercício físico. 4. Genética .
5. SHR-Lewis. I. , Geison de Souza Izidio. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento. III.
Título.

Fernando Gabriel Mazur

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NOS COMPORTAMENTOS
RELACIONADOS À ANSIEDADE EM DUAS LINHAGENS
ISOGÊNICAS DE RATOS**

Esta Dissertação foi julgada e adequada para obtenção do Título de “Mestre”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Biologia Celular e Desenvolvimento da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, de Agosto de 2015.

Prof. Geison de Souza Izídio, Dr.

Banca Examinadora:

Prof.^a Andrea Rita Marreiro, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Aderbal Silva Aguiar Júnior, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Evelise Maria Nazari, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Geison Izídio, meu orientador, por ter me aceitado em formar parte do Laboratório de Genética do Comportamento, ensinado e guiado com dedicação. Agradeço enormemente por sua constante paciência ao longo destes dois anos como sua ajuda em outros aspectos vividos.

Ao Professor André Ramos, diretor do laboratório LGC, por me permitir trabalhar neste grupo e por seu apoio.

Às minhas colegas e amigas Argentinas, Elisa e Lucia, a quem devo sua ajuda tanto no projeto como nos momentos mais difíceis acontecidos.

Ao Mauricio Cunha, por sua grande ajuda no projeto do mestrado, sugestões, propostas e acompanhamento ao longo de todo o projeto do mestrado. Pelas ideias compartilhadas e sua confiança como amigo. Sem sua ajuda este projeto não teria sido concluído.

À Professora Anna Lucia Rodrigues quem apporto variadas ideias neste projeto, também a sua colaboração e ajuda para poder concluir este projeto.

À Renata Pertile, pela sua amizade, conversações, sugestões e ajuda no laboratório.

À Renata Marchete, pelas sugestões dadas para o projeto, assim também como sua ajuda na última parte do projeto, sem a qual não podia ter realizado.

A todos meus colegas de laboratório; Pós-doutorados, Mestrados e Ics, pelos momentos compartilhados, ajuda e acompanhamento em diferentes fases de meu mestrado.

Aos professores dos Programas de Biologia Celular e do Desenvolvimento e de Farmacologia que me transmitiram conhecimentos e motivação para o estudo.

A todos meus amigos, pela força e acompanhamento constante.

A mina namorada Taise, pela sua companhia e amor em todos os momentos.

À minha família, que incondicionalmente me apoia e dá força para continuar.

Ao apoio financeiro do CNPq, sem o qual esta etapa não teria sido completada.

RESUMO

Existem evidências dos efeitos benéficos do exercício físico, tanto nos humanos como nos animais experimentais, que podem ser dependentes do nível de emocionalidade de cada um dos indivíduos. A literatura especializada também relata efeitos contraditórios associados a diferentes protocolos de exercício físico e efeitos dependentes do genótipo. Os ratos das linhagens isogênicas Lewis (LEW) e SHR (*Spontaneously Hypertensive Rats*) diferem em uma série de aspectos comportamentais, incluindo a ansiedade/emocionalidade. Então, nós realizamos um estudo com o objetivo de observar os efeitos do exercício físico forçado (EFF; em esteira) e voluntário (EFV; em rodinhas de correr) nos comportamentos relacionados à ansiedade/emocionalidade exibidos pelos ratos LEW e SHR no teste do campo aberto (CA) e labirinto em cruz elevado (LCE). No EFF, apenas 20% dos animais da linhagem LEW e 63% dos animais SHR completaram o treinamento. Nestes animais, nós observamos um aumento significativo de locomoção no teste do CA e um aumento de locomoção central no CA e entradas nos braços abertos do LCE. Isso sugere um aumento de atividade locomotora e uma diminuição de ansiedade/emocionalidade, nos animais das duas linhagens, após o treinamento. O EFV parece diminuir os índices de ansiedade/emocionalidade, porém apenas na linhagem SHR e no teste do CA. Entretanto, a distância total percorrida pela linhagem SHR, nas rodinhas de correr, foi significativamente maior que a percorrida pela LEW. O pré-tratamento com a talidomida, melhorou a resistência física da linhagem LEW fazendo com que 100% dos animais LEW completassem o protocolo de EFF, diminuiu o número de retrocessos na esteira, mas não afetou as medidas de ansiedade/emocionalidade. Assim, nós podemos concluir que os animais das duas linhagens exercitados em um protocolo de EFF apresentam redução de ansiedade/emocionalidade e aumento de locomoção. Também, a linhagem SHR parece ser composta de animais que correm voluntariamente, ao contrário da LEW, mas este tipo de exercício físico (EFV) não gerou alteração comportamental visível. Por fim, a talidomida parece ter aumentado a capacidade dos animais LEW em suportar todo o período de EFF em esteira, mas não causou alterações na ansiedade/emocionalidade nestes animais.

Palavras-chave: ansiedade/emocionalidade; exercício físico forçado; exercício físico voluntário; ratos Lewis e ratos SHR.

ABSTRACT

There is evidence of the beneficial effects of physical exercise, both in humans and in experimental animals that can be dependent on the level of emotionality of each individual. The literature also reports negative effects associated with different exercise protocols and genotype-related effects. Lewis (LEW) and SHR (*Spontaneously Hypertensive Rats*) inbred rat strains differ in a number of behavioral aspects, including anxiety/emotionality. So we carried out a study in order to observe the effects of forced (FPE; treadmill) and voluntary (VPE; on running wheels) physical exercise on the behaviors related to anxiety/emotionality exhibited by LEW and SHR rats in the open field (CA) and elevated plus maze (EPM) test. In the FPE, only 20% of the animals of the LEW strain and 63% of SHR animals completed the training. In these animals, we observed a significant increase in total and central locomotion in CA and entries into the open arms of the EPM, which suggests an increase in locomotor activity and a decrease in anxiety/emotionality in these two strains, after training. In the VPE, the results showed decreased anxiety/emotionality but only in SHR rats tested in the CA. However, the total distance traveled by the SHR, on running wheels, was significantly higher than that from LEW counterparts. Pre-treatment with thalidomide improved physical strength of the LEW strain. It made 100% of the animals LEW fulfilled the FPE protocol and diminish the number of setbacks in the treadmill, but did not affect measures of anxiety/emotionality. Thus, we can conclude that animals of both strains exercised in an FPE protocol have reduced anxiety/emotionality and increased locomotion. Also, the SHR strain seems to be composed of animals that voluntarily run, unlike LEW, but this type of exercise yielded no visible behavioral changes. Finally, the thalidomide appears to have increased physical capacity of LEW in the FPE, but did not cause changes in anxiety/emotionality in these animals.

Keywords: anxiety/emotionality; forced exercise; voluntary exercise; Lewis rats and SHR rats.

LISTA DE FIGURAS

Figure 1 - Esteira utilizada no EFF	14
Figure 2 - Esquema de adaptação ao EFF em esteira,	15
Figure 3 - Roda de correr utilizada no EFV	17
Figure 4 - Aparato utilizado para realizar o teste do CA.	18
Figure 5 - Aparato utilizado para realizar o teste do LCE	19
Figure 6 - Porcentagem do número de ratos retirados do EFF	21
Figure 7 - Locomoção central no CA (EFF)	22
Figure 8 - Locomoção periférica no CA (EFF)	23
Figure 9 - Locomoção total no CA (EFF)	23
Figure 10 - Tempo no centro no CA (EFF)	24
Figure 11- Entradas nos braços abertos do LCE (EFF)	25
Figure 12- Entradas nos braços fechados do LCE (EFF)	26
Figure 13 - Tempo nos braços abertos do LCE (EFF)	26
Figure 14 - Tempo nos braços fechados no LCE (EFF)	27
Figure 15 - Locomoção central no CA (EFV)	28
Figure 16 - Locomoção periférica no CA (EFV)	28
Figure 17 - Locomoção total no CA (EFV)	29
Figure 18 - Tempo no centro de no CA (EFV)	29
Figure 19 - Entradas nos braços abertos do LCE (EFV)	30
Figure 20 - Entradas nos braços abertos do LCE (EFV)	31
Figure 21 - Tempo nos braços abertos do LCE (EFV)	31
Figure 22 - Tempo nos braços fechados do LCE (EFV)	32
Figure 23 - Distância percorrida (km) (EFV)	33
Figure 24 - Locomoção central no CA	34
Figure 25 - Tempo gasto no centro do CA	35
Figure 26 - Tempo nos braços abertos no teste de LCE	36
Figure 27 - Entradas nos braços fechados no teste de LCE).	37
Figure 28 - Número de retrocessos	38
Figure 29 - Número de indivíduos retirados EFET	38

LISTA DE QUADROS

Tabela 1 - Distribuição total de ratos utilizados-EFF.....	09
Tabela 2 - Distribuição total de ratos utilizados-EFV.....	16

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anxrr16 = *anxiety related response QTL 16* (QTL para resposta relacionada à ansiedade 16)
CA = Campo Aberto
CBP = Caixa Branca e Preta
DSM-V= Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
EFF = Exercício físico forçado
EFV = Exercício físico voluntário
EFeT = Exercício físico e Talidomida
EXE= Exercitado
HPA = hipotálamo-pituitária-adrenal
LCE = Labirinto em Cruz Elevado
LCG= Laboratório Genética do Comportamento
LEW = Lewis
SNC= Sistema Nervoso Central
SED= Sedentário
PCR = *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase)
QTL = *quantitative trait locus* (*locus* para características quantitativas)
RGD = *Rat genome database* (banco de dados do genoma do rato)
SHR = *Spontaneously Hypertensive Rat* (ratos espontaneamente hipertensos)
TAL= Talidomida
TNF= Factor de necrose tumoral
TDAH = Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
WKY = Wistar-Kyoto

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
Ansiedade	1
Modelos animais	2
As linhagens Lewis e SHR como modelos comportamentais.	3
Exercício Físico e comportamento.....	5
HIPÓTESES	9
2.1 Exercícios físico forçado (EFF)	9
2.2 Exercícios físico voluntário (EFV).....	9
2.3 Exercícios físico e talidomida	9
OBJETIVOS	11
Objetivo Geral.....	11
Objetivos Específicos	11
MATERIAIS E MÉTODOS	11
4.1 Procedimentos experimentais	13
4.2 Testes Comportamentais	18
RESULTADOS	20
5.1 Exercícios físico forçado.....	21
5.2 Exercícios físico voluntário	27
5.3 Exercícios físico em esteira de animais tratados com talidomida	34
DISCUSSÃO	39
6.1 Exercícios físico forçado.....	39
6.2 Exercícios físico voluntário	41
6.3 Exercícios físico em esteira de animais tratados com talidomida	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1. INTRODUÇÃO

Ansiedade

A ansiedade é um termo que provém do latim, “*Anxieta*”, o qual se refere a um estado de agitação. Através da Psicologia, estes conceitos derivaram em diferentes enfoques, onde frequentemente a ansiedade é definida como um estado mental que é provocado, em antecipação de uma ameaça ou uma potencial ameaça (Gross and Hen 2004).

Segundo alguns autores, a ansiedade é uma resposta complexa que envolve componentes emocionais e fisiológicos em um conjunto característico de respostas que incluem excitação e vigilância (Gross and Hen, 2004). Portanto, acredita-se que a ansiedade seja uma resposta antecipatória para prever, um perigo ou ameaça, e dar finalmente um valor funcional para o indivíduo se adaptar (Blanchard, 1986; Lang, Davis, and Ohman 2000; File 2001; Prut and Belzung 2003; Sandi and Pinelo-Nava 2007).

A ansiedade também pode ser subdividida em “ansiedade estado” e “ansiedade traço”. A ansiedade de um indivíduo num momento particular, transitório, que acontece como percepção de uma situação provocadora é chamada de ansiedade estado. Enquanto que a classificação de ansiedade traço reflete-se a um estado constante através do tempo, que é considerada uma característica de propensão à ansiedade que é permanente no indivíduo (Lister, 1990. Esta última está relacionada com a predisposição de um indivíduo de perceber certas situações como ameaçadoras, resultando em respostas com uma característica de excitação fisiológica (Endler and Kocovski, 2001).

Além destas diferenças no uso do conceito de ansiedade, é possível observar um conjunto de características fisiológicas que dependem da ativação de um circuito subcortical evolutivamente primitivo, que inclui a ativação do eixo HPA (Hipotálamo-Pituitária-Adrenal) e numerosas estruturas cerebrais (Levy, 1961; Arborelius et al., 1999; Zhu et al., 2007). Logo, é possível fazer uso de modelos animais com o fim de pesquisar como a atividade deste eixo e os fatores ativadores que influenciam nos comportamentos, com o objetivo de extrapolar seus efeitos aos seres humanos (Flint 1995).

Estas manifestações psicológicas e fisiológicas, que tem o objetivo de adaptar o indivíduo, em interação com fatores genéticos e fatores estressantes constantes podem desencadear doenças mentais. O Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais 5.^a edição (DSM- V), faz um resumo dos transtornos de ansiedade, os quais

compreendem transtornos obsessivos compulsivos, de estresse e estresse pós-traumático, ansiedade induzida por substâncias, ansiedade generalizada, ataques de pânico, fobias específicas e ansiedade social (Association, 2013; American Psychiatric Association, 2013). Portanto, existem tratamentos e fármacos que respondem a cada uma destas subclassificações dos transtornos de ansiedade ainda que os mesmos não sejam totalmente efetivos.

Estudos sócios demográficos estimam que aproximadamente 17 % da população Brasileira de indivíduos maiores de 18 anos foram afetados por algum tipo de transtorno de ansiedade ao longo da sua vida (ICPE, 2000). Pesquisas nos Estados Unidos mostram que 19 milhões de pessoas adultas são afetadas por transtornos de ansiedade, originando um gasto de mais de 42 bilhões de dólares por ano em tratamentos (ICPE, 2000). Por este motivo é possível refletir que também no Brasil, a grande porcentagem de indivíduos com transtornos de ansiedade tem como resultado um grande investimento econômico. Devido ao exposto anteriormente, nós acreditamos que é necessário um desenvolvimento de estratégias preventivas e uma evolução nos tratamentos dos transtornos de ansiedade.

Modelos animais

Atualmente, existem evidências evolutivas que demonstram a convergência e divergência das características das espécies dentro de uma mesma linha filogenética. Por isso, numerosas pesquisas utilizam as características genéticas, fisiológicas e etiológicas de grupos de espécies relacionadas filogeneticamente, como uma estratégia para aprofundar as bases dos mecanismos biológicos da espécie humana. Embora existam diferenças consistentes, muitas das bases genéticas e fisiológicas apresentam o mesmo mecanismo entre diferentes espécies (Campos et al., 2013). A utilização de modelos animais permite uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nas respostas comportamentais, assim como de vários aspectos do SNC (Sistema Nervoso Central). Do mesmo modo, os modelos animais servem para aprofundar os mecanismos onde os fatores genéticos e ambientais podem afetar determinadas respostas e funcionamento do cérebro (Flint, 1995; Goodwin, 2010; Homberg, 2013). Assim, os modelos animais na atualidade são uma grande ferramenta nas pesquisas científicas que tentam de alguma forma elucidar as bases neurobiológicas de alguns dos transtornos humanos.

Em relação aos estudos de comportamento, ratos e camundongos são as espécies mais utilizadas nas pesquisas relacionadas a transtornos psiquiátricos por apresentarem mecanismos fisiológicos próximos aos seres humanos. Entre as principais vantagens de utilizar estes modelos em comparação com outros mamíferos, se pode destacar que os roedores são animais com um ciclo de vida curto; possuem um rápido tempo gestacional, rápido desenvolvimento para a vida adulta, e um alto número de crias em cada ciclo reprodutivo. Além disso, são animais dóceis para a manipulação e relativamente pequenos, o que requer pouco espaço e recursos para serem mantidos (Aitman, 2008). Por esta razão, existem vários testes comportamentais que medem comportamentos, em animais, relacionados aos comportamentos humanos (Crawley and Paylor, 1997; File, Lippa, Beer, and Lippa, 2004; File, 2001; Ramos, 2008).

As linhagens Lewis e SHR como modelos comportamentais.

O rato de laboratório (*Rattus norvegicus*) é um dos animais mais estudados como modelos de doenças humanas. A sua contínua seleção de características fenotípicas já resultou em mais de 1000 linhagens diferentes (Rat Genome Database, Accessed November 2014). As pesquisas com esta espécie estão dentro do alcance da fisiologia, toxicologia, farmacologia, neurobiologia, desenvolvimento de drogas e transtornos comportamentais como depressão, ansiedade, abuso de drogas entre outros transtornos psiquiátricos. Com o sequenciamento completo do genoma dos ratos em 2004 (Gibbs et al., 2004), esta espécie propiciou um grande avanço nos estudos genéticos, genômicos e passou a servir também como base comparativa para estudos em outras espécies (Jacob, and Kwitek, 2002).

Entre os diferentes tipos de linhagens encontram-se as linhagens puras ou isogênicas, onde os indivíduos se caracterizam por ter uma alta similaridade genética (+ de 99%) entre eles. Muitas destas linhagens puras têm características que são contrastantes fenotipicamente. Como sabemos que o fenótipo depende da interação genótipo-ambiente, quando duas linhagens são criadas em um mesmo ambiente as diferenças fenotípicas entre elas são provavelmente devidas aos seus genótipos contrastantes (Brüske, Vendruscolo, and Ramos, 2007a; Drewek and Broadhurst, 1979; Flint, 1995).

A linhagem Lewis (LEW), originária da Harland Sprague Dewley Inc. (Indianápolis, IN), é usada principalmente como modelo de doenças inflamatórias (Sternberg, 1989) em comparação com a linhagem de ratos Fisher. Particularmente, os ratos LEW são sensíveis ao

desenvolvimento de um grande número de doenças imunológicas, que incluem a encefalomielite alérgica experimental (McFarlin et al., 1973), miocardite autoimune induzida (Galvin et al., 2002; Korkusuz et al., 2009), e a doença uveíte a qual está associada com a alta produção do fator de necrose tumoral – TNF (do inglês, tumor necrosis factors) em ratos LEW (Wildner et al. 2008).

Além destas doenças autoimunes, os ratos LEW são altamente suscetíveis a outras doenças inflamatórias por apresentarem um prejuízo na liberação de glicocorticoides, uma característica que está relacionada a uma baixa liberação de hormônios corticotrópicos. Os ratos LEW também apresentam uma baixa ativação do eixo HPA, uma particularidade que pode resultar em prejuízos no sistema imunológico e ter consequências negativas nas respostas em relação aos estímulos estressores (GROTA; BIENEN; FELTEN, 1997; WINDLE et al., 1998).

A linhagem SHR, *Spontaneously Hypertensive Rats*, foi criada a partir da linhagem de ratos Wistar Kyoto (WKY) e é constituída de ratos que apresentam hipertensão arterial espontânea (Okamoto et al., 1975). Os SHR alcançam espontaneamente uma pressão arterial próxima a 200 mmhg entre as 7 e 15 semanas de vida (Okamoto et al., 1975) mantendo ela constante no resto da vida. Estas características fazem os ratos SHR apresentarem uma elevada incidência de doenças cardiovasculares (Khraibi and Dzielak 1984). Por esta razão, a linhagem SHR é utilizada como modelo de hipertensão arterial, muitas vezes comparada com modelos normotensos como a linhagem WKY. Os SHR apresentam um baixo peso na décima semana de vida, e uma alta frequência cardíaca na mesma idade, quando comparado com outras linhagens (Tanase et al., 1982). Também a linhagem SHR apresenta resistência à insulina, e por isso é utilizada como modelo de diabetes não obesa (Swislocki, and Tsuzuki, 1993). Em relação aos estudos comportamentais, a linhagem SHR foi validada como modelo para estudos de hipercinesia infantil (Sagvolden and Larsen 1993) e como modelo do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (Terje Sagvolden 2000; Russell and Johansen 2005).

Em um estudo realizado com seis linhagens isogênicas de ratos, se observou que em testes comportamentais de ansiedade/emocionalidade, as linhagens LEW e SHR eram contrastantes nas medidas de aproximação e esquiva das áreas aversivas destes testes (Ramos et al., 1997). Por exemplo, no teste do campo aberto (CA) a linhagem LEW evita mais a área central, em comparação a SHR, sem apresentar diferenças na locomoção total. Também podemos citar o labirinto em cruz elevado (LCE) e a caixa branca e preta (CBP), onde a

linhagem LEW mostra sempre uma menor aproximação das áreas aversivas em relação à SHR (RAMOS et al., 1998). Ou seja, neste modelo genético, a linhagem LEW exibe um perfil mais “ansioso” quando comparada com a linhagem SHR.

Alguns experimentos de estresse social compararam as diferenças comportamentais e o sistema serotoninérgico entre LEW e SHR. Nestes se observou que a linhagem LEW é mais sensível ao estresse social, enquanto que a SHR mostra uma adaptação ao estresse mais rápida (Berton et al., 1998a]. Especificamente, os LEW mostram um comportamento anoréxico (menor ingestão de comida), um incremento nos níveis basais de corticotropina e uma diminuição da atividade serotoninérgica no hipocampo, hipotálamo e córtex parietal (Berton et al., 1997; Berton et al., 1998b).

Adicionalmente, dados de diferentes autores revelam que as experiências estressantes alteram tanto o comportamento como as estruturas cerebrais, tanto em humanos como em modelos animais. Desta maneira, níveis basais de ansiedade poderiam afetar a resistência e resiliência aos fatores estressantes, comprometendo o volume de diferentes regiões do cérebro (córtex pré-frontal, hipocampo, amígdala), assim como a conectividade entre os neurônios destas regiões (Spampinato et al., 2009; Kim et al., 2011a; Kim et al., 2011b).

Exercício Físico e comportamento

Há muitas evidências de que o exercício físico regular tem efeitos benéficos sobre a saúde física e mental dos seres humanos. Durante a última década tem havido um interesse crescente sobre a saúde e o estilo de vida humano, assim como sobre os fatores que afetam a saúde. Entre estes fatores próprios do estilo de vida podemos citar o compromisso intelectual, interação social, nutrição e a atividade física que afetam a vitalidade cognitiva nos humanos adultos (Voss et al., 2011a]. Consequentemente nos últimos 20 anos, as pesquisas sobre o exercício físico ampliaram o entendimento do efeito do exercício na saúde mental (FOX, 2007). Por exemplo, foi observado em pacientes com depressão que a prática do exercício físico levada de forma regular junto com psicoterapias poderia substituir os antidepressivos no tratamento desta doença (STRÖHLE, 2009a). Além dos estudos epidemiológicos, outros autores avaliaram o efeito do exercício em processos fisiológicos e moleculares (Gomez-Pinilla et al., 1993). Assim como a sua influência na atividade dos neurotransmissores (Hill et al., 2010) e a relação destes com o declínio de várias doenças, como depressão, hipertensão, pânico e o

estresse oxidativo (BROOCKS et al., 1998; BINDER et al., 2004; DUNN et al., 2005; HILL et al., 2010a). Ao mesmo tempo, os estudos em animais apoiam as evidências encontradas em humanos. Ou seja, eles mostram que o exercício físico de longo prazo tem impacto sobre a estrutura e a função neuronal no cérebro com consequências significativas na resposta ao estresse (Salmon 2001; Salim, Sarraj, et al. 2010; Schoenfeld et al. 2013) acarretando em mudanças no comportamento emocional e cognitivo. Pela mesma razão, as pesquisas sugerem que o exercício físico pode resultar em uma diminuição da impulsividade e da ansiedade (BINDER et al., 2004; HILL et al., 2010b). Em suma, os dados demonstrados por diversos autores revelam que o exercício físico pode ser utilizado como um co-tratamento para os estados depressivos e a ansiedade relacionada (BROOCKS et al., 1998; DUNN et al., 2005). Por evidências como estas, o exercício físico é alvo de inúmeras pesquisas que têm como objetivo uma melhora na qualidade de vida e na utilização de políticas preventivas de saúde.

Embora a maioria dos estudos tenha concluído que os efeitos do exercício físico foram benéficos na saúde de seres humanos é necessário considerar que eles utilizaram diferentes metodologias com grande diversidade de variáveis, o que poderia limitar o valor das conclusões sobre os estes efeitos (DE ARAÚJO; DE MELLO; LEITE, 2007). Para apoiar os estudos de exercício físico em humanos, foi proposta a utilização de modelos animais, nos quais existem pontos em comum ao considerar a ansiedade e o estresse, tanto em comportamento como nas reações fisiológicas (Rostad and Long 1996; Voss et al. 2011b; Salmon 2001; Kramer 2006; Droste et al. 2007).

A atividade física pode ser considerada qualquer movimento corporal produzido pela musculatura esquelética, que resulta num consumo de energia maior que em níveis de repouso. Por outro lado, o exercício físico é uma atividade física planejada, estruturada e sistemática efetuada com movimentos repetidos a fim de desenvolver e manter componentes da aptidão física (Caspersen, 1985).

Dentro da área de pesquisa do exercício físico e comportamento, muitos pesquisadores centraram-se em fatores diretamente associados com a resposta ao estresse, enfocando-se para isso no eixo HPA. Como já exposto, este eixo tem um papel importante na resposta comportamental a fatores estressores e acredita-se que o exercício físico poderia alterar este eixo (MARTIN et al., 2000). Outras pesquisas focalizaram-se em investigar a consequência do exercício físico sobre a regulação de neurotransmissores como dopamina, serotonina, acetilcolina, glutamato, que estão relacionadas com diversos comportamentos (Gomez-pinilla,

1993; J. M. Kramer 2000; Sutoo and Akiyama, 2003; Ströhle, 2009b; Hill, 2010; Schoenfeld et al., 2013). Por outro lado, nos últimos tempos surgiu um crescente aumento de estudos que relacionam fatores neurotróficos como o BDNF (do inglês, Brain-derived neurotrophic factor) (Manuscript 2009; Berchtold, 2002; Cotman and Berchtold 2002; Gomez-Pinilla 2004), estresse oxidativo (Bloomer 2008; Zhu et al. 2007; Sayre et al. 2008; Salim, Asghar, et al. 2010; Distler and Palmer 2012) e fatores imunológicos como citosinas com o funcionamento do SNC (Uchida et al. 2009; Lovatel et al. 2013; Borghi et al. 2014).

Por outra parte muitos dos efeitos no comportamento associados ao exercício físico, como cansaço, fadiga e respostas à dor, encontram-se relacionados a uma resposta imune que deriva na modulação do SNC. Estes fatores são principalmente fatores inflamatórios gerados pelo próprio efeito do exercício no músculo. Estes fatores são de citosinas como as interleucinas e fatores tumorais que liberados no sangue conseguem atingir receptores localizados no cérebro. As citosinas modulam a atividade celular produzindo vários efeitos relacionados às respostas de dor e ansiedade (SALIM et al., 2012) e depressão (Manuscript and Lecture 2010). Estas consequências da inflamação sobre o SNC devem ser consideradas no momento de analisar os efeitos do exercício no comportamento das linhagens SHR e LEW, devido às características intrínsecas destas linhagens.

Existem ainda outras investigações em roedores sobre a capacidade de responder ao estresse que aprofundaram na susceptibilidade ao tratamento de exercício físico e demonstraram componentes da resposta dependentes do perfil genético (Martin et al., 2000; Kelly et al., 2012). Portanto, a utilização de modelos genéticos no estudo de exercício físico e do comportamento é uma ferramenta que pode nos permitir um maior conhecimento sobre estes temas.

2. HIPÓTESES

Assim, devido a tudo que foi exposto anteriormente, nós acreditamos que é necessário entender quais são os efeitos do exercício físico e os mecanismos através dos quais ele poderia promover melhoras nos comportamentos de ansiedade influenciados por diferentes perfis genéticos. Para isso, nós formulamos as seguintes hipóteses experimentais:

2.1 Exercícios físico forçado (EFF)

Os animais das linhagens LEW e SHR que completarem o EFF em esteira diminuirão os comportamentos relacionados à ansiedade apresentados nos testes comportamentais.

2.2 Exercícios físico voluntário (EFV)

Os animais das linhagens LEW e SHR que voluntariamente se exercitarem nas rodas diminuirão os comportamentos relacionados à ansiedade apresentados nos testes comportamentais.

2.3 Exercícios físico e talidomida

Os indivíduos da linhagem LEW tratados com uma droga inibidora de TNF-alfa (talidomida) e submetidos ao exercício físico em esteira conseguirão completar todo o protocolo de exercício numa maior porcentagem que os indivíduos sem talidomida.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos do exercício físico forçado (EFF) e voluntário (EFV) em diferentes perfis genéticos de ratos, as linhagens LEW e SHR, e a sua relação com os comportamentos relacionados à ansiedade exibidos por estas duas linhagens.

3.2 Objetivos Específicos

Padronizar o EFF em ratos das linhagens LEW e SHR.

Verificar os efeitos do EFF, no perfil comportamental das linhagens LEW e SHR.

Tratar animais da linhagem LEW com um fármaco anti-inflamatório, para permitir que todos os indivíduos completem o protocolo de EFF.

Padronizar o EFV em ratos das linhagens LEW e SHR.

Verificar os efeitos do EFV, no perfil comportamental das linhagens LEW e SHR.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Procedimentos experimentais

4.1.1 Animais

Neste trabalho utilizamos duas linhagens isogênicas de ratos, a Lewis (LEW), originária da Harland Spreague Dowley Inc. (Indianápolis, IN) e obtida pelo LGC da Universidade Estadual de Campinas, SP; e a SHR, originária da Harvard University (Boston, MA) e adquirida pelo LGC através da Universidade Federal do Espírito Santo. Em nosso laboratório a consanguinidade das linhagens parentais vem sendo mantida através de um sistema de acasalamentos irmão/irmã a cada geração, desde as suas aquisições.

Os animais foram mantidos em condições de alojamento padrão (12 h claro/escuro de $21\pm 2^{\circ}\text{C}$) em cinco por gaiola e tiveram acesso livre à comida e água até o momento dos experimentos. Foram utilizados animais de 2-3 meses de idade. Os experimentos realizados estavam de acordo com as orientações do Comitê de Ética em Experimentação Animal local (CEUA; Ofício nº 136/CEUA/PROPESQ/2014).

4.1.2 Exercícios físico forçado

Tabela 1 - Distribuição total do número de ratos utilizados no EFF.

Exercitados (EXE) N= 52		Sedentários (SED) N=52	
LEW	SHR	LEW	SHR
(EXE-LEW)	(EXE-SHR)	(SED-LEW)	(SED-SHR)
N=30	N=22	N=30	N=22

EXE = Grupo submetido ao exercício físico; SED = grupo sedentário; LEW = ratos Lewis e SHR = ratos SHR.

Foram utilizados inicialmente um total de 104 ratos machos (22-30/linhagem/treinamento) de 2 meses de idade. Os ratos de cada linhagem (LEW e SHR) foram divididos aleatoriamente em grupo sedentário (SED) e grupo submetido ao exercício físico (EXE), totalizando quatro grupos: SED-LEW, EXE-LEW, SED-SHR, EXE-SHR. Os grupos sedentários (controle) foram deixados em uma gaiola, ao lado da esteira, durante o momento que ocorreu o treinamento físico, com o objetivo de que o grupo sedentário também fosse submetido às mesmas condições ambientais do momento. Caso um animal não completasse os critérios de treinamento ele era automaticamente excluído dos experimentos.

O treinamento consistiu em sessões de corrida em esteira motorizada adaptada aos roedores, com baías individuais (Insight). Basicamente, esta esteira era composta por uma banda de borracha ligada ao motor que gera a movimentação. Uma estrutura de plástico dividia a esteira em 8 baías individuais, permitindo desta forma a corrida simultânea dos animais. O aparelho também contava com um medidor da velocidade e de distância percorrida (Figura 1).

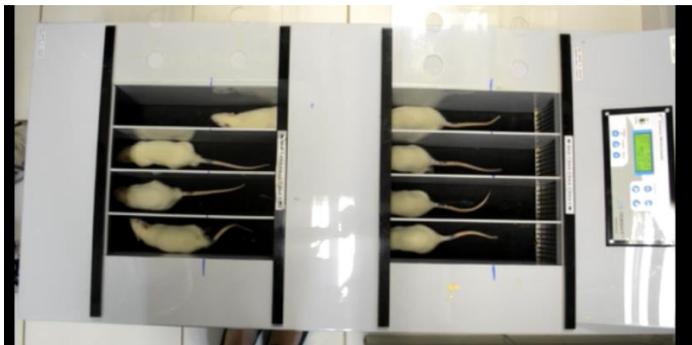


Figura 1 - Esteira utilizada no EFF dos ratos das linhagens Lewis e SHR.

Critérios de exclusão dos animais:

- Uma linha (distância de 15 cm em relação à parte anterior da esteira) dividia a esteira de corrida em parte anterior e posterior
- Durante a corrida, contabilizamos um retrocesso cada vez que o animal, por não conseguir ou não querer acompanhar o ritmo da esteira, retrocedeu para a parte posterior da mesma.
- Um número constante de retrocessos, assim como a permanência por mais de um minuto na área posterior da esteira foi considerado um fator determinante para a retirada dos indivíduos do protocolo, para evitar qualquer sofrimento desnecessário aos mesmos.

As sessões de corrida foram realizadas durante quatro semanas, sendo que a primeira foi considerada como uma semana de adaptação ao exercício. Então, basicamente, o protocolo de adaptação à corrida (primeira semana) consistiu de:

Semana 1 – Habituação ao exercício e a esteira.

Dia 1 - Os ratos correram um total de 15 minutos a uma velocidade de 8m/min.

Dia 2 - Os ratos correram um total de 15 minutos a uma velocidade de 8m/min (primeiros 10 minutos) que foi aumentada para uma velocidade de 10m/min, nos últimos 5 minutos.

Dia 3 - No terceiro dia, os ratos correram um total de 15 minutos a uma velocidade de 10m/min (primeiros 10 minutos) que foi aumentada para uma velocidade de 12m/min, nos últimos 5 minutos.

Dia 4 - Os ratos correram um total de 25 minutos a uma velocidade de 10m/min (primeiros 10 minutos) que foi aumentada para uma velocidade de 12m/min, nos últimos 15 minutos.

Dia 5 - Os ratos correram um total de 30 minutos a uma velocidade de 10m/min (primeiros 5 minutos) que foi aumentada para uma velocidade de 12m/min, (durante 20 minutos) e finalizando com uma velocidade de 15m/min nos últimos 5 minutos restantes.

Semana 2 a 4 – Treinamento em esteira.

A partir da segunda semana, a velocidade basal de corrida (15m/min) foi sempre empregada e o tempo total de corrida foi aumentado em 5 minutos, nos dois primeiros dias, com o objetivo de conseguir um treinamento físico, que consiste numa corrida a 15m/min por 40 minutos.



Figure 2 - Esquema proposto para a semana de adaptação ao EFF em esteira, com as linhagens LEW e SHR.

O experimento de EFF foi realizado com um número total de 104 ratos, distribuídos nos grupos EXE e SED, e subdividido nas duas linhagens

anteriormente citadas. O número amostral final foi distribuído conforme mostra a tabela 1,

O protocolo descrito é uma adaptação de um protocolo já utilizado na Universidade de São Paulo, no Laboratório de Neurobiologia Celular, o qual trabalha com a linhagem de ratos WISTAR (REAL et al., 2010). O ajuste da velocidade e do tempo, no nosso protocolo, foi realizado através de um experimento piloto, no qual nós observamos que os ratos se adaptam melhor nas velocidades descritas (dados não mostrados).

4.1.3 Exercícios físico voluntário

Tabela 2 - Distribuição total do número de ratos utilizados nos experimentos.

Exercitados (EXE) N= 18		Sedentários (SED) N=18	
LEW	SHR	LEW	SHR
(EXE-LEW)	(EXE-SHR)	(SED-LEW)	(SED-SHR)
N=9	N=9	N= 9	N=9

EXE = Grupo submetido ao exercício físico; SED = grupo sedentário; LEW = ratos Lewis e SHR = ratos SHR.

Foram utilizados um total de 36 ratos machos (9/linhagem/treinamento) de 2 meses de idade. Os ratos foram colocados individualmente numa gaiola com acesso livre a uma roda de corrida (\emptyset 31 cm) por um período de 3 semanas (21 dias) durante 24h. As voltas foram contabilizadas em cada roda com um contador de voltas eletrônico a fim de estimar a distância percorrida por cada rato durante cada dia. Assim como no experimento anterior, os ratos de cada linhagem (LEW e SHR) foram divididos aleatoriamente em grupo sedentário (SED) e grupo submetido ao exercício físico (EXE), totalizando quatro grupos: SED-LEW, EXE-LEW, SED-SHR, EXE-SHR. Neste caso, o grupo controle (SED) ficou numa gaiola sem acesso à roda de corrida.



Figura 3 - Roda de correr utilizada no EFV dos ratos das linhagens Lewis e SHR.

O experimento de corrida nas rodas de corrida utilizou um total de 36 ratos distribuídos como mostra a tabela a seguir:

4.1.4 Exercícios físico em esteira dos animais tratados com talidomida

Animais da linhagem LEW de 2 meses de idade foram tratados, por via intraperitoneal, durante 5 dias seguidos com Talidomida (Sigma) (n=4/tratamento), numa dose de 4 mg/kg, 15 min antes de começar o treinamento no protocolo de EFF. Esta droga foi solubilizada em 10% de solução de DMSO na concentração de 4mg/ml e diluída em solução salina (0,9%). O grupo controle foi tratado com injeções de solução salina (0,9%), (n=4/tratamento). Constituindo-se desta forma 4 grupos; exercitado/talidomida, exercitado/controle, sedentário/talidomida, sedentário/controle. Após este período os animais foram submetidos a um protocolo de EFF idêntico ao descrito na seção 4.1.1.

Metodologia para quantificação de retrocessos

No primeiro, terceiro e quinto dia do EFF, a corrida dos ratos na esteira foi gravada durante os 12 primeiros minutos para a quantificação do número de retrocessos que cada animal fazia durante a corrida. Ou seja, uma linha (distância de 15 cm em relação à parte anterior da esteira)

dividia a esteira de corrida em parte anterior e posterior e, durante a corrida, cada vez que o animal retrocedeu atrás da linha (parte posterior da esteira) foi contabilizado, para este animal, um retrocesso.

4.2 Testes Comportamentais

4.2.1 Campo Aberto

Um dos modelos mais amplamente utilizados para medir a emocionalidade em ratos é o Campo Aberto (CA), originalmente desenvolvido por Calvin Hall em 1934. O aparato consiste em uma caixa de madeira coberta com fórmica, contendo uma arena branca, quadrada (100 x 100 cm), dividida em 25 quadrados de 20 x 20 cm (linhas divisórias pretas), cercada por paredes também brancas, de 40 cm de altura (Figura 4). Os 16 quadrados adjacentes às paredes constituíam a região periférica do aparato, enquanto os outros 9 formam a parte central. A iluminação no momento do teste foi de 7 lux. Cada animal foi posicionado no centro do aparato e o número de quadrados cruzados por ele no centro e na periferia foi registrado ao longo de 5 minutos. Também registrou-se o tempo pelo qual o animal permanecera na região central do CA. Considera-se que a locomoção na área central do aparato está mais relacionada com a emocionalidade do animal, enquanto a locomoção periférica envolveria majoritariamente o componente motor (Ramos et al. 2008).



Figura 4 - Aparato utilizado para realizar o teste do Campo Aberto.

4.2.2 Labirintos em Cruz Elevado (LCE)

O LCE é um teste com o objetivo de identificar os efeitos ansiolíticos e ansiogênicos de drogas em ratos. Ele foi inicialmente proposto por Pellow et al. (1985). Para este teste, foi utilizado um aparato formado por quatro braços (52 cm elevados do chão, com 50 cm de comprimento e 10 cm de largura) de madeira, pretos, dispostos em formato de cruz. Um par de braços opostos cercado por paredes de 40 cm (chamados de braços fechados), outro par de braços chamados de braços abertos e uma plataforma central (10 x 13,5 cm) formada pela intersecção dos quatro braços (Figura 5).

Os animais foram colocados na plataforma central com a face voltada para um dos braços abertos. Durante 5 minutos registrou-se o tempo permanecido e o número de entradas nos braços abertos; do mesmo modo registrou-se o tempo e o número de entradas nos braços fechados. Os ratos menos “ansiosos” são os que têm maior atividade exploratória dos braços abertos (Nomikos and Spyraiki, 1988).



Figura 5 - Aparato utilizado para realizar o teste do Labirinto em Cruz Elevado.

4.3 Análises Estatísticas

Os resultados foram sempre expressos como média \pm erro padrão e analisados mediante o uso da ANOVA de duas vias (fatores linhagem e exercício) seguido do teste *post-hoc* de Duncan quando necessário. Os resultados foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa Statistica® 6.0 e todos os gráficos foram produzidos com o programa GraphPad 5.0.

5. RESULTADOS

Os resultados dos testes comportamentais dos animais das linhagens LEW e SHR submetidos aos diferentes protocolos de exercício físico (forçado e voluntário) encontram-se descritos a seguir.

5.1 Exercícios físico forçado

A Figura 6 mostra a porcentagem de ratos das duas linhagens que completaram o critério do treinamento no protocolo do EFF ao longo do tempo. Um total de 30 animais LEW e 22 SHR iniciaram o treinamento, mas apenas 20% dos LEW (N=6) e 63% (N=13) dos SHR concluíram satisfatoriamente o EFF e foram, portanto, considerados nos testes comportamentais.

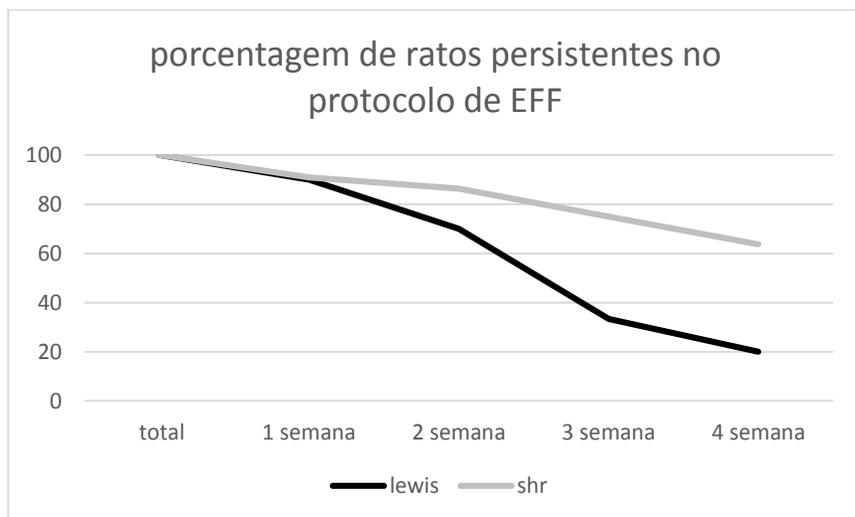


Figura 6 - Porcentagem do número de ratos que persistiram no EFF conforme o decorrer das semanas.

Os resultados do CA estão apresentados nas figuras 7-10. Na medida locomoção central ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem (SHR>LEW; $F = 29,48$ e $p < 0,01$) e do fator exercício (EXE>SED; $F = 11,04$ e $p < 0,05$) (Figura 7). Na medida locomoção periférica ocorreu um efeito geral significativo do fator exercício (EXE>SED; $F = 15,19$ e $p < 0,01$) (Figura 8). Na medida locomoção total ocorreu um efeito geral significativo do fator exercício (EXE>SED; $F = 18,56$ e $p < 0,01$) (Figura 9). Na medida tempo no centro ocorreu um efeito geral significativo do fator exercício (SED>EXE; $F = 5,08$ e $p < 0,05$) (Figura 10).

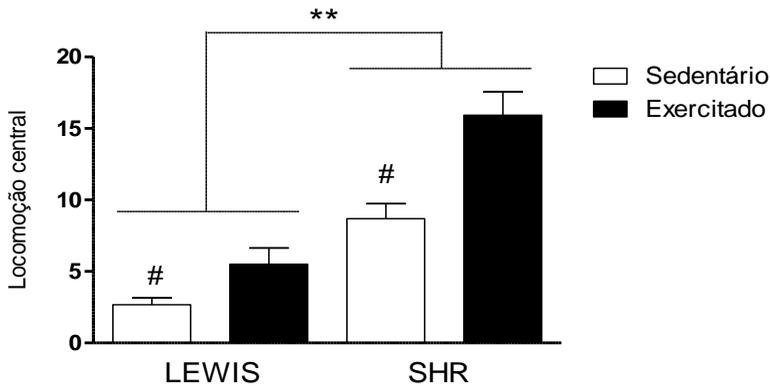


Figura 7 - Locomoção central no CA dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (6-13/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. ** Representa diferença significativa entre as linhagens LEW e SHR ($p < 0,01$) e # representa diferença significativa entre treinados e sedentários ($p < 0,05$) segundo a ANOVA de duas vias.

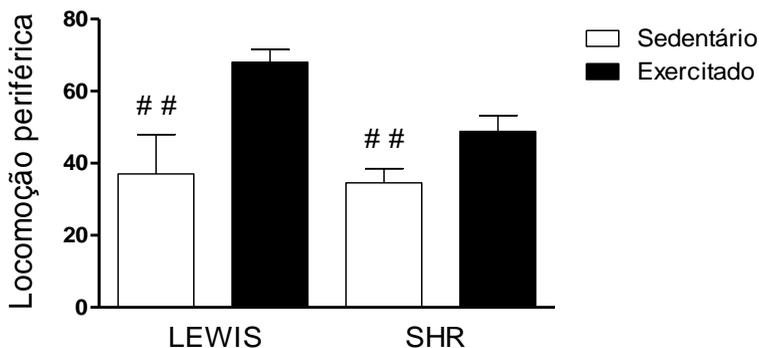


Figura 8 - Locomoção periférica no CA dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (6-13/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. ## Representa diferença significativa entre treinados e sedentários ($p < 0,01$) segundo a ANOVA de duas vias.

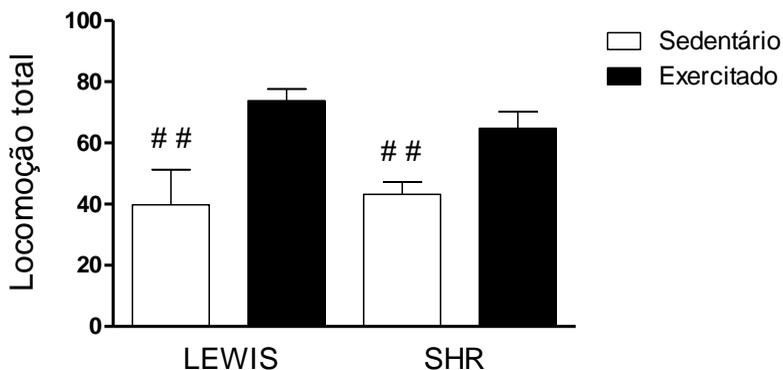


Figura 9 - Locomoção total no CA dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (6-13/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. ## Representa diferença significativa entre treinados e sedentários ($p < 0,01$) segundo a ANOVA de duas vias.

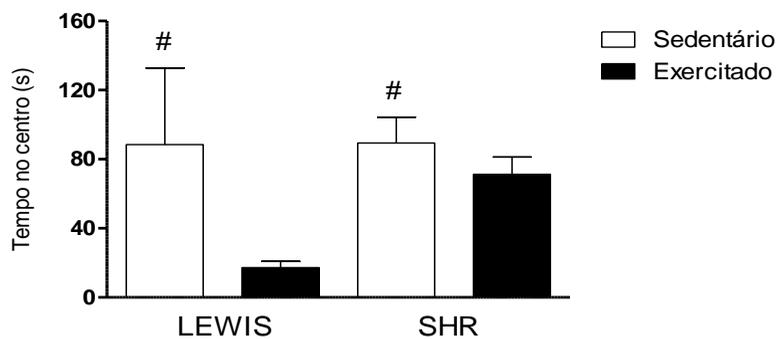


Figura 10 - Tempo no centro no CA dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (6-13/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. # Representa diferença significativa entre treinados e sedentários ($p < 0,05$) segundo a ANOVA de duas vias.

Os resultados do LCE estão apresentados nas figuras 11-14. Na medida de entradas nos braços abertos ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem (SHR>LEW; $F = 4,46$ e $p < 0,05$) e do fator exercício (EXE>SED; $F = 4,09$ e $p \leq 0,05$) (Figura 11). Na medida de entradas nos braços fechados não ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem ($F = 0,22$ e $p > 0,05$) nem do fator exercício ($F = 0,57$ e $p > 0,05$) (Figura 12). Na medida tempo gasto nos braços abertos ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem (SHR>LEW; $F = 24,55$ e $p < 0,01$) (Figura 13). Na medida tempo gasto nos braços fechados ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem (LEW>SHR; $F = 49,35$ e $p < 0,01$) (Figura 14).

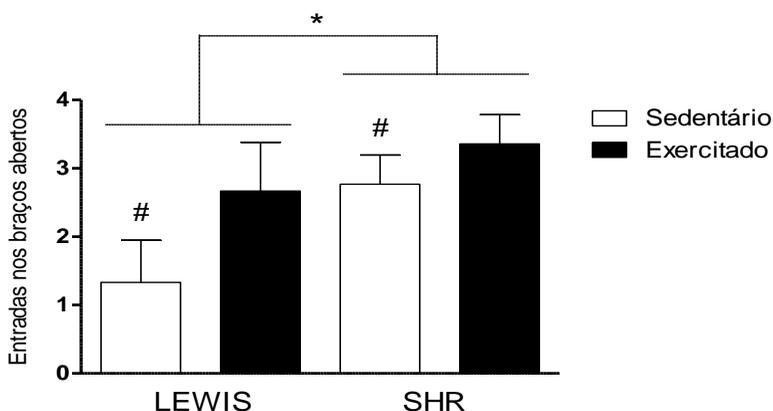


Figura 11– Entradas nos braços abertos do LCE dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (6-13/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. * Representa diferença significativa entre as linhagens Lewis e SHR ($p < 0,05$) e # representa diferença significativa entre exercitados e sedentários ($p < 0,05$) segundo a ANOVA de duas vias.

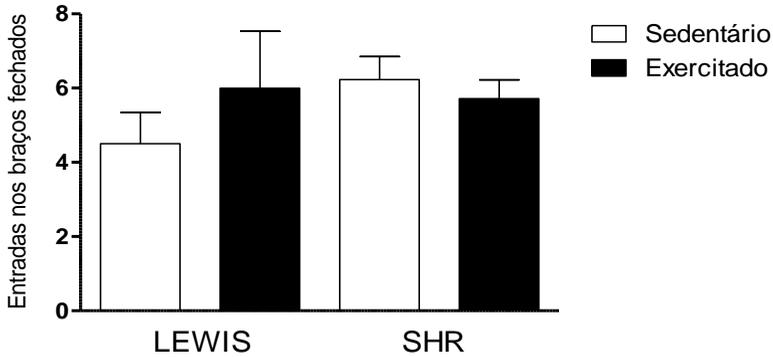


Figura 12– Entradas nos braços fechados do LCE dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (6-13/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão.

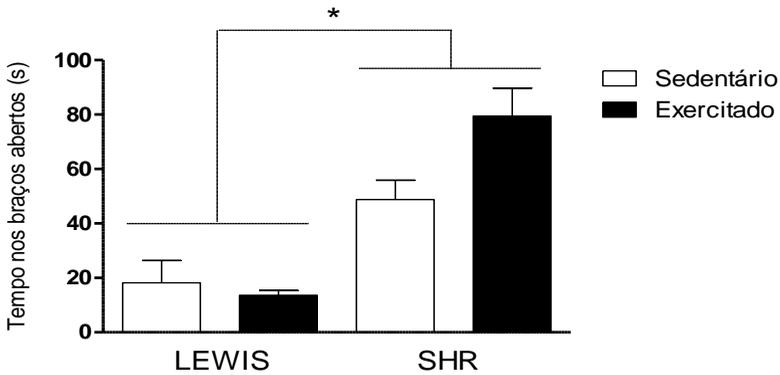


Figura 13 - Tempo nos braços abertos do LCE dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (6-13/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. ** Representa diferença significativa entre as linhagens LEW e SHR ($p < 0,01$) segundo a ANOVA de duas vias.

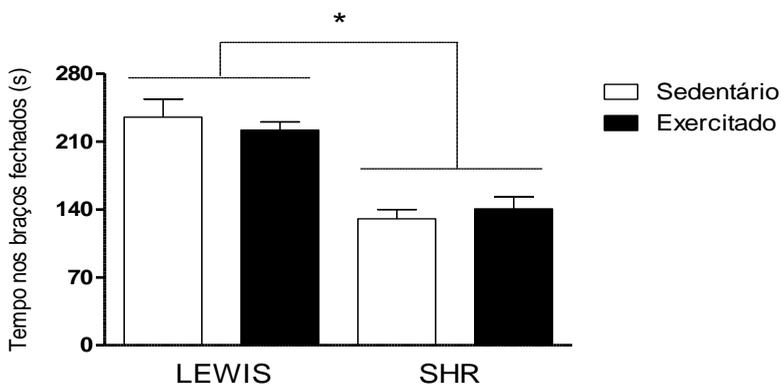


Figura 14 - Tempo nos braços fechados no LCE dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (6-13/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. ** Representa diferença significativa entre as linhagens LEW e SHR ($p < 0,01$) segundo a ANOVA de duas vias.

5.2 Exercícios físico voluntário

No EFV, os resultados obtidos no teste do CA estão apresentados nas figuras 15-18. Na medida locomoção central ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem (SHR>LEW; $F = 7,68$ e $p < 0,05$) (Figura 15). Na medida locomoção periférica não ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem ($F = 0,001$ e $p > 0,05$) nem do fator exercício ($F = 0,55$ e $p > 0,05$) (Figura 16). Na medida locomoção total não ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem ($F = 0,60$ e $p > 0,05$) nem do fator exercício ($F = 0,58$ e $p > 0,05$) (Figura 17). Na medida tempo gasto no centro ocorreu uma interação entre os fatores linhagem e exercício ($F = 4,73$ e $p < 0,05$). Nesta medida o teste post-hoc de Duncan mostra que as linhagens diferem somente nos animais exercitados (SHR>LEW) (Figura 18).

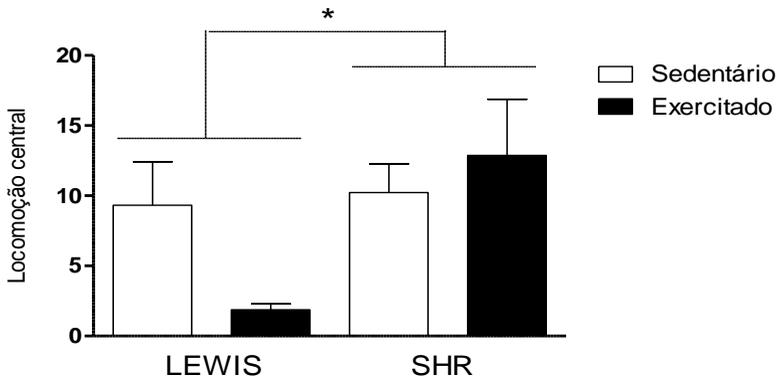


Figura 15 - Locomoção central no CA dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (9/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. * Representa diferença significativa entre as linhagens LEW e SHR ($p < 0,05$) segundo a ANOVA de duas vias.

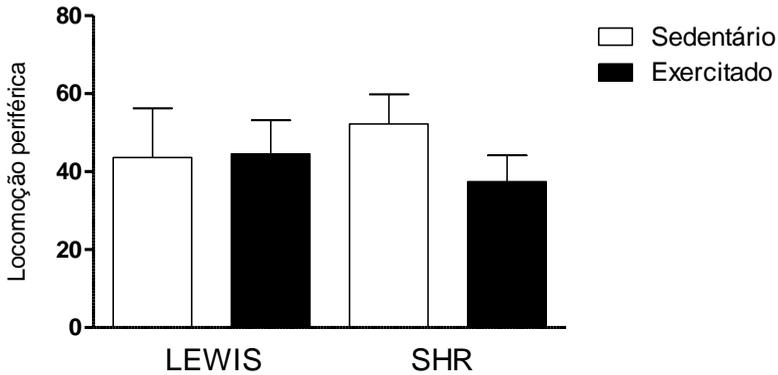


Figura 16 - Locomoção periférica no CA aberto dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (9/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão.

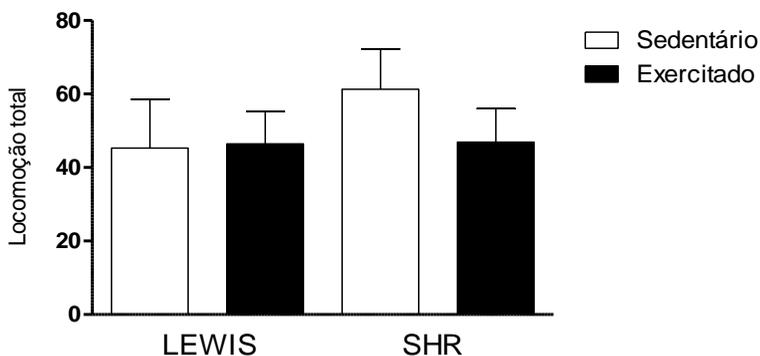


Figure 17 - Locomoção total no CA aberto dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (9/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão.

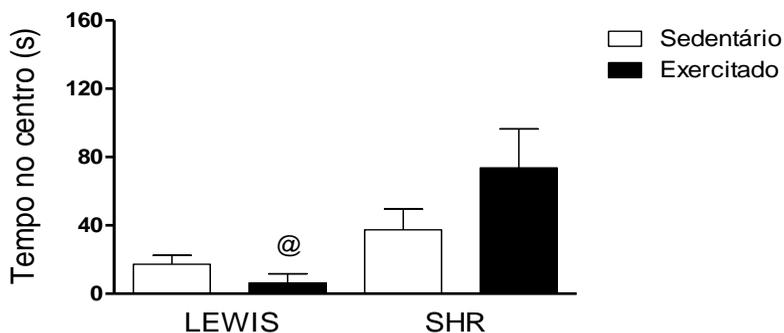


Figure 18 — Tempo no centro de no CA aberto dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (9/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. @ Representa diferença significativa entre linhagens LEW e SHR ($p < 0,05$) somente nos animais exercitados conforme a ANOVA de duas vias seguida do teste post-hoc de Duncan.

Os resultados do LCE estão sumarizados nas figuras 19-22. Na medida entrada nos braços abertos ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem (SHR>LEW; $F = 7,34$ e $p < 0,05$) (Figura 19). Na medida entrada nos braços fechados não ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem ($F = 0,44$ e $p > 0,05$) nem do fator treinamento ($F = 1,62$ e $p > 0,05$) (Figura 20). Na medida tempo gasto nos braços abertos ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem (SHR>LEW; $F = 19,54$ e $p < 0,01$) (Figura 21). Na medida tempo gasto nos braços fechados ocorreu um efeito geral significativo do fator linhagem (LEW>SHR; $F = 25,32$ e $p < 0,01$) (Figura 22).

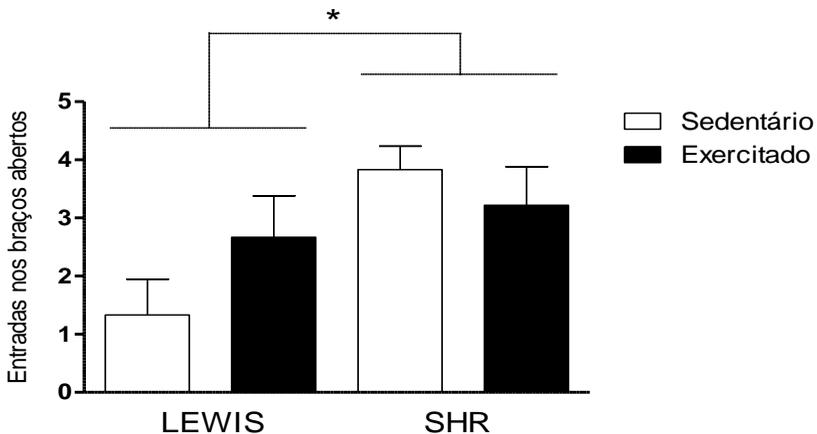


Figura 19 – Entradas nos braços abertos do LCE dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (9/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. * Representa diferença significativa entre as linhagens LEW e SHR ($p < 0,05$) segundo a ANOVA de duas vias.

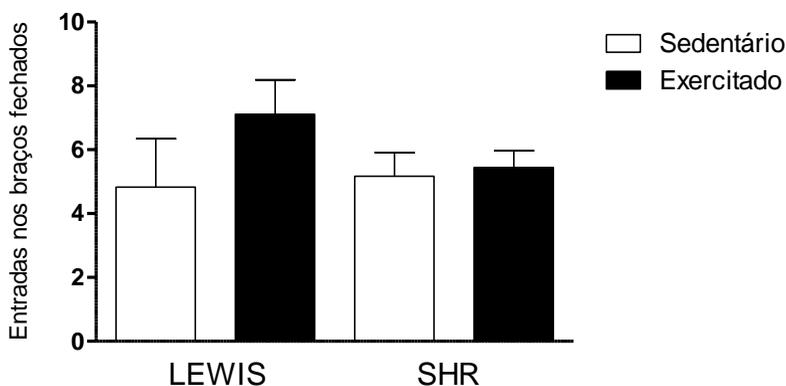


Figura 20 – Entradas nos braços abertos do LCE dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (9/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão.

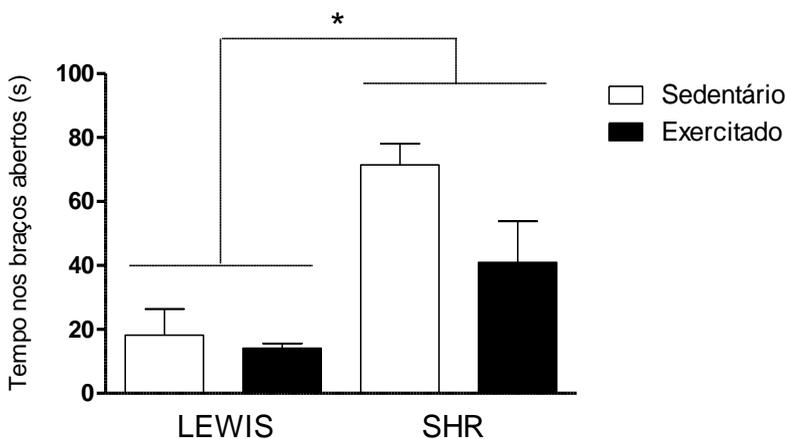


Figura 21 - Tempo nos braços abertos do LCE dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (9/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. * Representa diferença significativa entre as linhagens LEW e SHR ($p < 0,05$) segundo a ANOVA de duas vias.

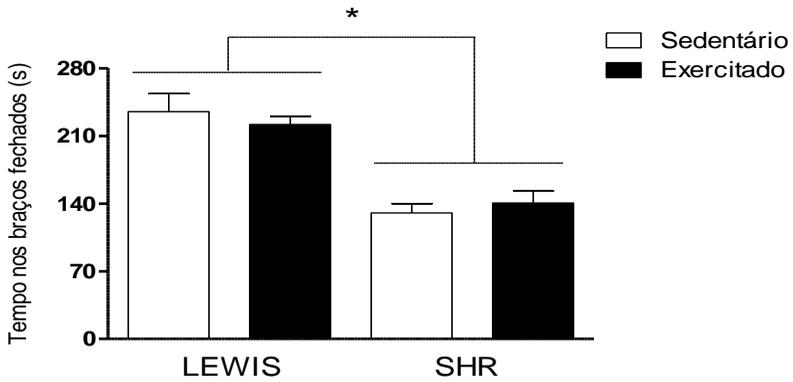


Figura 22 – Tempo nos braços fechados do LCE dos ratos LEW e SHR, exercitados e sedentários (9/linhagem/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. * Representa diferença significativa entre as linhagens LEW e SHR ($p < 0,05$) segundo a ANOVA de duas vias.

A figura 23 mostra as distâncias médias percorridas durante o protocolo de EFV pelos grupos exercitados de cada linhagem. A ANOVA de uma via de medidas repetidas demonstrou que existe uma interação significativa entre as linhagens e os dias ($F=2,6$; $p < 0,01$). O teste post-hoc de Duncan sugere que a partir do terceiro dia de teste a linhagem SHR aumenta a distância percorrida nas rodinhas, fato que não acontece nos animais da linhagem LEW. A média total de distância percorrida dos animais LEW é 0,050 km/dia e dos animais SHR é de 3,63 Km/dia.

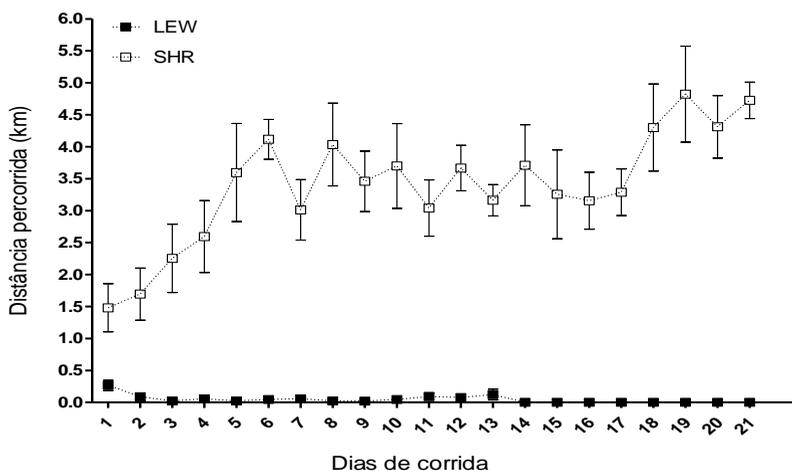


Figura 23 – Distância percorrida (km) pelos ratos LEW e SHR nas rodas de corrida (9/linhagem). As caixas representam os valores médios \pm erro padrão. A ANOVA de duas vias de medidas repetidas revelou que existe uma interação significativa entre os fatores linhagem e dias ($p < 0,01$). O teste post-hoc de Duncan sugere que os animais SHR aumentam a distância percorrida a partir do terceiro dia.

5.3 Exercícios físico em esteira de animais tratados com talidomida

Os resultados dos animais da linhagem LEW, tratados durante 5 dias com talidomida ou solução controle e submetidos ao treinamento físico em esteira, no CA estão apresentados nas figuras 24-25.

Na medida locomoção central não ocorreu um efeito geral significativo do fator pré-tratamento ($F = 2,31$ e $p > 0,05$) ou exercício ($F = 2,82$ e $p > 0,05$) (Figura 24). Na medida locomoção periférica não ocorreu um efeito geral significativo do fator pré-tratamento ($F = 0,69$ e $p > 0,05$) ou exercício ($F = 0,87$ e $p > 0,05$) (Dados não mostrados). Na medida locomoção total não ocorreu um efeito geral significativo do fator pré-tratamento ($F = 0,87$ e $p > 0,05$) ou exercício ($F = 1,09$ e $p > 0,05$) (Dados não mostrados). Na medida tempo gasto no centro ocorreu uma interação significativa entre os fatores pré-tratamento e exercício ($F = 4,90$ e $p < 0,05$) (Figura 25). Nesta medida o teste *post-hoc* de Duncan mostra que a talidomida diminui o tempo no centro somente nos animais exercitados (Figura 25).

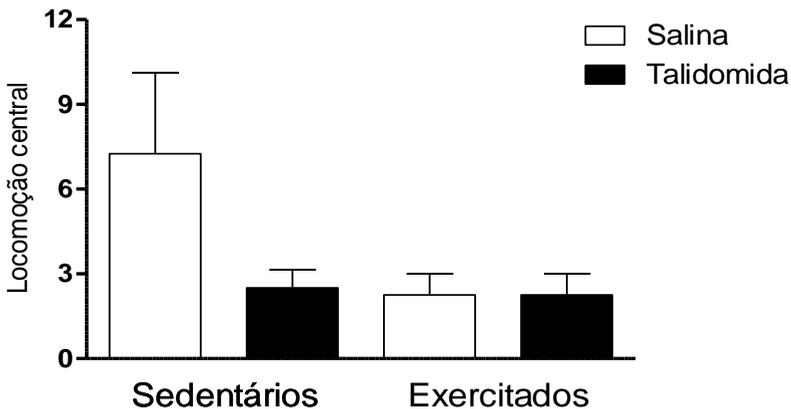


Figura 24 – Locomoção central no CA dos ratos LEW, exercitados ou sedentários, tratados com salina ou talidomida (4/tratamento/treinamento). As colunas representam os valores médios ± erro padrão.

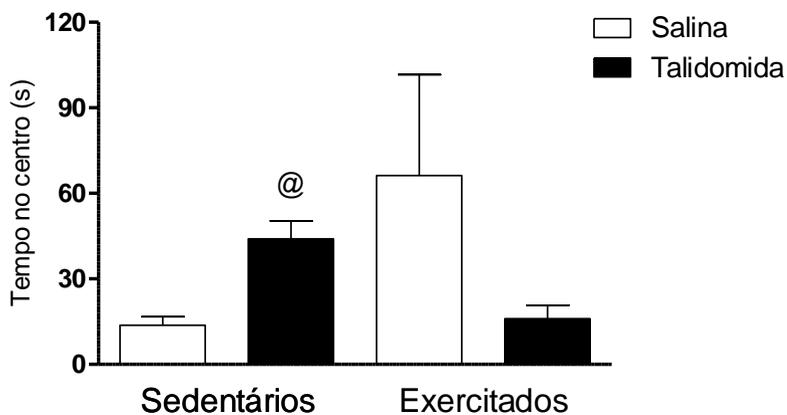


Figura 25 – Tempo gasto no centro do CA dos ratos LEW, exercitados ou sedentários, tratados com salina ou talidomida (4/tratamento/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. @ Representa diferença significativa entre os tratados com talidomida ($p < 0,05$) conforme a ANOVA de duas vias seguida do teste post-hoc de Duncan.

Os resultados dos animais da linhagem LEW, tratados durante 5 dias com talidomida ou solução controle e submetidos ao EFF em esteira, no LCE estão apresentados nas figuras 26-27. Na medida tempo nos braços abertos não ocorreu um efeito geral significativo do fator pré-tratamento ($F = 2,42$ e $p > 0,05$) ou exercício ($F = 1,08$ e $p > 0,05$) (Figura 26). Na medida tempo nos braços fechados não ocorreu um efeito geral significativo do fator pré-tratamento ($F = 0,77$ e $p > 0,05$) ou exercício ($F = 1,64$ e $p > 0,05$) (Dados não mostrados). Na medida entrada nos braços abertos não ocorreu um efeito geral significativo do fator pré-tratamento ($F = 2,50$ e $p > 0,05$) ou exercício ($F = 1,28$ e $p > 0,05$) (Dados não mostrados). Na medida entrada nos braços fechados ocorreu uma interação significativa entre os fatores pré-tratamento e exercício ($F = 5,31$ e $p < 0,05$) (Figura 27). Nesta medida o teste *post-hoc* de Duncan mostra que o exercício físico aumenta o número de entradas somente nos animais tratados com a talidomida (Figura 27).

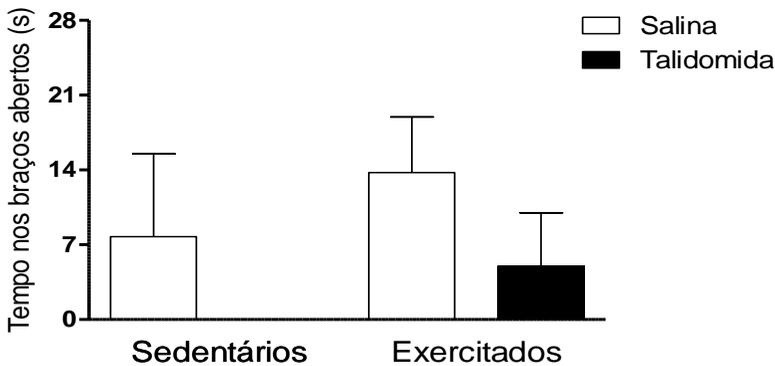


Figura 26 – Tempo nos braços abertos no teste de LCE dos ratos LEW, exercitados ou sedentários, tratados com salina ou talidomida (4/tratamento/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão.

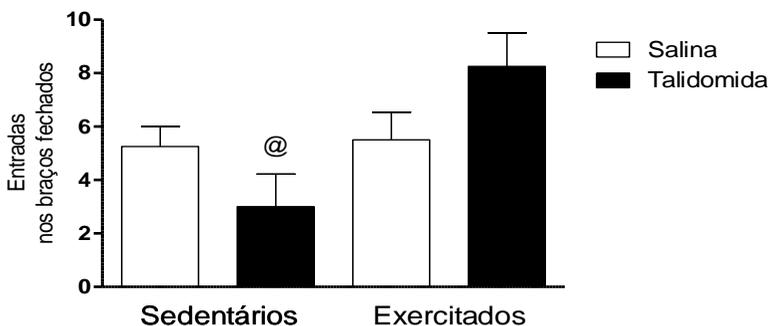


Figura 27 – Entradas nos braços fechados no teste de LCE dos ratos LEW, exercitados ou sedentários, tratados com salina ou talidomida (4/tratamento/treinamento). As colunas representam os valores médios \pm erro padrão. @ Representa diferença significativa entre os tratados com talidomida ($p < 0,05$) conforme a ANOVA de duas vias seguida do teste post-hoc de Duncan.

A ANOVA de medidas repetidas de duas vias revelou um efeito geral do pré-tratamento no número de retrocessos realizados na esteira de corrida durante os três dias avaliados de EFF (Controle>Talidomida; $F = 13,69$ $p < 0,005$) (Figura 28). Por fim, como podemos observar, o tratamento com a talidomida, durante 5 dias, permitiu com que 100% dos animais LEW completassem o exercício forçado, em detrimento do grupo tratado com salina, onde nenhum animal completou totalmente o EFF (Figura 29).

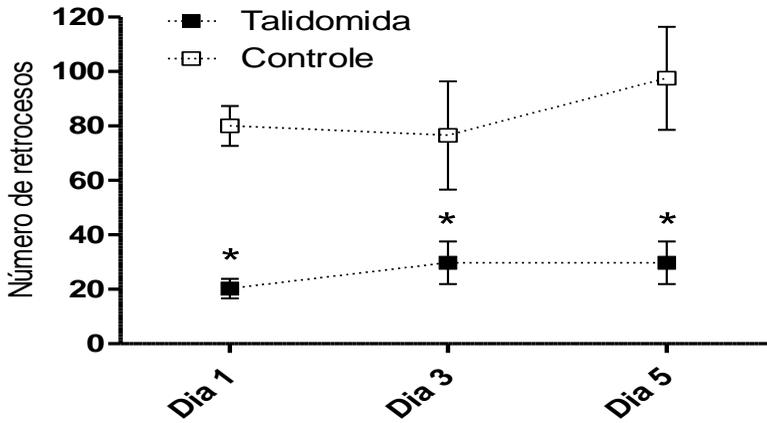


Figura 28 – Número de retrocessos nos três primeiros dias da primeira semana de exercício dos animais LEW tratados com talidomida (n=4) ou solução controle (n=4) durante 5 dias. O * representa efeito geral de tratamento ($p < 0,05$) segundo a ANOVA de medidas repetidas.

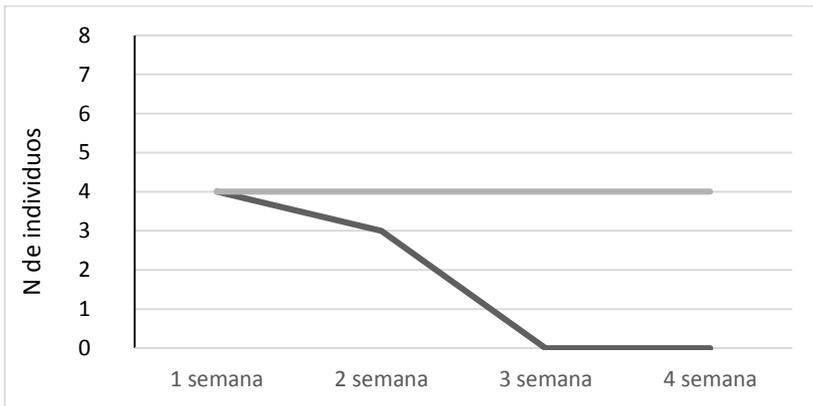


Figura 29 – Numero de indivíduos retirados ao longo do protocolo de exercício físico forçado com animais tratados com talidomida.

6. DISCUSSÃO

Nos experimentos realizados neste trabalho, nós demonstramos que o regime de exercício físico, forçado em esteira foi capaz de diminuir os índices de ansiedade/emocionalidade de duas linhagens isogênicas de ratos em dois aparatos classicamente utilizados para medir estes comportamentos. O treinamento físico forçado também parece, ao menos no teste do CA, aumentar a locomoção destes animais. Da mesma maneira, o efeito do exercício físico voluntário, parece diminuir os índices de ansiedade/emocionalidade, porém apenas na linhagem SHR e no teste do CA. Por fim, o tratamento com a talidomida faz com que os animais da linhagem LEW consigam completar todo o treinamento físico diminuindo o número de retrocessos na esteira.

6.1 Exercícios físico forçado

Os nossos resultados sugerem que as duas linhagens expostas a um regime de EFF e contínuo de quatro semanas, apresentaram diferenças significativas em relação aos seus controles (sedentários) nos testes comportamentais que envolvem comportamentos relacionados à ansiedade/emocionalidade (Figuras 7-14).

Por exemplo, o exercício físico aumentou significativamente a locomoção no centro do CA nas duas linhagens (Figura 7). Este resultado inédito é muito importante para a compreensão dos perfis genéticos e comportamentais das duas linhagens que compõe este modelo genético, pois esta medida comportamental representa um clássico índice de ansiedade/emocionalidade deste teste comportamental. Ou seja, o animal que se aproxima mais desta região aversiva é considerado menos ansioso ou que apresenta menos medo (Prut, and Belzung, 2003).

Além disso, através do uso de uma população F2 proveniente de um intercruzamento entre as linhagens isogênicas LEW e SHR, (Ramos and Mormède, 1999) identificaram e mapearam, pela primeira vez, um QTL (do inglês *locus* para características quantitativas), chamado atualmente de *Anxrr16* (*Anxiety related response QTL 16*), para comportamentos relacionados à emocionalidade em ratos. Este QTL foi encontrado no cromossomo 4 do rato e afetava exatamente a medida locomoção central do CA. Ou seja, existe (m) gene (s) nesta região cromossômica que são responsáveis pelo comportamento diferencial destas duas linhagens quanto a sua aproximação/esquiva da região central deste aparato (CHIAVEGATTO et al., 2009b). Como o exercício físico

aumentou a locomoção central das duas linhagens, diminuindo assim a ansiedade delas, nós podemos sugerir que os seus efeitos são dependentes de genes localizados na região do QTL *Anxxx16*. Entretanto, isso deverá ser futuramente melhor investigado em nosso laboratório.

Da mesma maneira, no teste do LCE o exercício físico também diminuiu a ansiedade/emocionalidade dos animais, pois aumentou as entradas nos braços abertos deste teste (Figura 11). Os braços abertos do LCE são considerados a área aversiva deste teste e classicamente um aumento de entradas ou de tempo gasto nestes braços sugerem que o animal está com baixos níveis de ansiedade (PELLOW et al., 1985). De acordo com os nossos resultados, nós vemos na literatura que ratos Sprague-Dawley machos treinados em esteira por 10 semanas em condições semelhantes as nossas (velocidade = 15m/min, duração = 40 min, 5 dias por semana) apresentavam um aumento da locomoção nas áreas aversivas do CA e do LCE. Assim, Fulk et al. (2004), como nós, também sugeriram um efeito de diminuição da ansiedade após o EFF em esteira.

Entretanto o efeito de aumento da locomoção central e de entradas nos braços abertos nos animais exercitados não parece ter sido específico, pois ele aumentou também a locomoção periférica e total destes animais no CA (Figuras 8-9). Apesar de que estas medidas comportamentais deveriam medir componentes emocionais diferentes (FERNÁNDEZ-TERUEL et al., 2002) alguns resultados da literatura sugerem que elas podem compartilhar significados comportamentais comuns. Afinal, ambas envolvem locomoção e são coletadas quando o animal está sendo exposto ao mesmo ambiente inédito. Por exemplo, os ratos Floripa H e L, que foram selecionados bidirecionalmente em nosso laboratório para a locomoção central no CA, após 4 gerações apresentavam divergência também em relação à locomoção periférica (A. Ramos, 2003). Ainda, originalmente no CA somente se mensurava a locomoção total dos animais (HALL, 1934). Como o ambiente do teste era inédito ao animal, aquele que se locomovesse menos e defecasse mais era considerado o animal mais “ansioso”. Parecia, portanto, que a locomoção geral no aparato era influenciada por fatores emocionais, independentemente da região onde o rato estivesse.

Entretanto, devido a estes dados, obtidos nos nossos presentes experimentos, nós podemos sugerir que os efeitos do exercício físico causaram também um efeito hiperlocomotor, além daquele na emocionalidade, nos animais das duas linhagens, talvez devido ao aumento da capacidade muscular ou cardiovascular (Akiyama and Sutoo 1999; Moraska et al. 2000; Burghardt et al. 2004). Este ponto é apoiado

também quando vemos que o EFF diminuiu o tempo gasto no centro do CA dos animais das duas linhagens (Figura 10). Apesar de esta medida comportamental ser considerada um índice de ansiedade/emocionalidade, pois se refere ao tempo gasto em uma região aversiva do aparato, drogas ou manipulações que de alguma maneira afetam a atividade locomotora dos animais neste aparato podem afetá-la. Devido ao fato que os animais começam este teste comportamental exatamente no centro do CA. Assim, um efeito sedativo ou hipolocomotor pode aumentar o tempo no centro de um animal, causando um efeito falso positivo quando esta medida é considerada em termos de ansiedade/emocionalidade. Ou ainda, um efeito hiperlocomotor pode diminuir o tempo no centro causando um efeito falso negativo. Por esta razão a medida tempo no centro do CA nem sempre é utilizada em experimentos que envolvem o teste do CA (Ramos and Mormède 1998). Talvez o mais correto fosse considerá-la como uma medida mista de ansiedade e atividade locomotora. Nós acreditamos que, neste experimento específico, a diminuição do tempo no centro seja causada pelo aumento da locomoção geral dos animais exercitados, mais do que um possível efeito ansiogênico, que seria contraditório às figuras 7 e 11. Porém, não foram observados efeitos hiperlocomotores devido a EFF no teste do LCE (Figura 12) e, por esta razão, este ponto terá que ser melhor investigado futuramente.

Tanto na locomoção central no CA (Figura 7) como nas entradas e tempo gasto nos braços abertos do LCE (Figura 11-13, respectivamente) se observou uma diferença significativa no fator linhagem. Estes resultados confirmam que quando o modelo genético LEW e SHR é testado comportamentalmente nestes dois aparatos a linhagem SHR é aquela considerada a menos ansiosa (A. Ramos et al. 2002; A. Ramos et al. 2008; A. Ramos 2007b). Além disso, a falta de interação significativa demonstra que os efeitos do treinamento físico são independentes do perfil emocional das linhagens utilizadas, ao menos naqueles animais que conseguem completar todo o protocolo de EFF. Neste ponto, temos que ressaltar que os animais da linhagem LEW na sua maioria (80%) não conseguiram completar o exercício, uma diferença grande se comparada à linhagem SHR, onde apenas 37% dos animais não conseguiram completar o treinamento (Figura 6).

Este fato nos levou a planejar um terceiro experimento, que será discutido mais adiante nesta seção, assim como a nossa terceira hipótese. Porém, até este momento, as duas primeiras hipóteses descritas na seção 2.1 foram confirmadas pelos resultados obtidos no presente estudo.

6.2 Exercícios físico voluntário

Durante os 21 dias de corrida no protocolo do EFV nós mostramos que os animais da linhagem SHR se exercitaram voluntariamente percorrendo grandes distâncias (Figura 23), fato que corrobora com alguns outros dados da literatura (HOFFMANN; THORÉN; ELY, 1987). Entretanto, os animais da linhagem LEW não se exercitam voluntariamente, fato que pode ter atrapalhado um possível efeito benéfico do exercício voluntário (Figura 23). Além disso, faz-se necessário considerar que os ratos que foram expostos às rodas de corrida na gaiola durante 21 dias, permaneceram isolados socialmente durante este período. Os ratos vivem normalmente em grupos gregários, sendo o contato entre eles um fator fundamental para o estabelecimento da organização social (Varlinskaya et al., 2008). Alguns autores relatam que, em ratos, a privação social tem como consequência uma série de reações comportamentais e fisiológicas que afetam a emocionalidade dos indivíduos (Weiss et al., 2004). Outros relatam que o isolamento é considerado um estímulo crônico de estresse que ocasiona hiperatividade (McEwen, 2012), aumento de locomoção em ambientes novos (Jones, 1990), comportamento agressivo, assim também como mudanças de parâmetros endócrinos (POHORECKY et al., 2008). Além destes, um trabalho de nosso próprio laboratório mostrou que os ratos LEW podem ser sensíveis aos efeitos do isolamento social (Oliveira, 2008), o que poderia ter inibido a sua vontade de correr voluntariamente. Assim, no futuro nós pretendemos realizar um experimento com um grupo controle adicional que não seja submetido a condições isolamento social para avaliar a possível interação entre os efeitos do exercício e do isolamento social sobre os comportamentos exibidos por estas linhagens de ratos.

Na nossa hipótese sobre o exercício voluntário predizíamos que os animais das linhagens LEW e SHR que voluntariamente se exercitassem nas rodas diminuiriam os comportamentos relacionados à ansiedade apresentados em testes comportamentais não foi confirmada. Ao contrário do protocolo do EFF, os animais que voluntariamente se exercitaram não diminuíram seus níveis de ansiedade/emocionalidade, com exceção de um efeito específico da linhagem SHR no teste do CA. Em parte isso pode se dever as diferenças de protocolo entre os dois tipos de exercícios. Porém, existem trabalhos mostrando efeitos importantes do treinamento físico forçado e voluntário no cérebro e comportamento (Leasure and Jones, 2008), dentre eles efeitos no sistema de neurotransmissores monoaminérgicos (DISHMAN et al., 1997), expressão de BDNF no hipocampo (PLOUGHMAN et al., 2005) e comportamento no teste do CA (BURGHARDT et al., 2004). A literatura também descreve estudos que comparam os efeitos dos dois tipos de

exercício, sendo a principal dificuldade igualar as condições de intensidade e duração de treinamento (Leasure and Jones, 2008). Um fato importante a considerar é que geralmente os protocolos de EFF restringem a atividade dos ratos na esteira entre 40 minutos e uma hora de duração. Já ratos submetidos ao EFV têm acesso à roda de corrida durante 24 horas. Da mesma maneira alguns estudos realizam comparações entre grupos onde os animais submetidos ao EFF correm distâncias curtas e animais submetidos ao EFV percorrem grandes distâncias (Rodnick et al., 1989; Lambert et al., 1996; Burghardt et al., 2004; Naylor et al., 2005). Também, a exposição crônica indica mudanças no cérebro e no comportamento de forma diferenciada nos dois paradigmas de treinamento (Rhodes et al. 2003; Binder et al. 2004; Leasure and Jones 2008). No presente estudo, nos protocolos de EFF os ratos correram em uma velocidade de 15m/min, durante 40 minutos, o que resultou em aproximadamente 400 m corridos em cada dia de exercício. Já no EFV, os indivíduos que mostraram atividade, apresentaram médias de aproximadamente 3,5 km por dia, com velocidades de corrida variadas, muitas vezes maiores a 30m/min. Estas evidências sugerem como perspectivas futuras deste trabalho, testar diferentes intensidades e duração de protocolos e avaliar seus efeitos nos testes comportamentais.

Os efeitos do EFV são relatados por vários autores. Alguns estudos sugerem que ele seja naturalmente gratificante e viciante (Belke, 2005; Rhodes, 2003). Por exemplo, em um estudo sobre motivação e EFV camundongos foram continuamente selecionados para a atividade de corrida voluntária. Após 29 gerações os pesquisadores mostraram uma diferenciação de regiões cerebrais associadas à motivação, tais como hipotálamo lateral, córtex sensorial, núcleo acumbens e putamen. Além disso, foi descrito, nesse mesmo estudo, um aumento da atividade dopaminérgica nos indivíduos corredores (Rhodes and Gammie 2003). Esta evidência de padrões neuroanatômicos associados à atividade de corrida, com um componente genético em comum, poderia ser levado em conta para futuras investigações sobre as diferenças observadas na motivação ao exercício das linhagens LEW/SHR observadas no presente trabalho.

Resumindo, cada protocolo possui diferentes componentes que geram diferentes respostas nos ratos. O EFF pode gerar fadiga e uma exposição ao estresse elevada, porém apresenta condições experimentais mais controladas e, segundo nossos resultados, efeitos comportamentais mais evidentes. Por outro lado, o EFV propicia efeitos dissociados do estresse crônico permitindo indagar a respeito dos fatores de motivação

para a atividade física. Assim, devido ao que foi exposto, nós acreditamos que a utilização de ambos os paradigmas de exercício fornece uma boa ferramenta para entender a sensibilidade de cada genótipo aos efeitos do exercício físico.

6.3 Exercícios físico em esteira de animais tratados com talidomida

Conforme comentado no fim da seção 6.1, a porcentagem de animais da linhagem LEW que conseguiram completar as 4 semanas de EFF foi notoriamente menor que a da linhagem SHR (Lewis: 20%; SHR: 63% completaram o exercício). A linhagem LEW além de ter prejuízos no sistema imune apresenta disfunções na secreção de moléculas neuroinflamatórias (De Vos et al. 1995; Cai et al. 2006; Earp et al. 2008; Harrington, 2013) mostrando uma exacerbada produção de TNF alfa e outras citosinas na resposta ao estresse (ELENKOV et al., 2008a). A talidomida é uma droga que inibe a síntese de TNF alfa, com a qual poderia reduzir o hipotético efeito do TNF alfa na resposta do estresse e fadiga, e, assim, aumentar a resistência dos animais LEW aos efeitos do EFF. Além disso, algumas pesquisas relatam o efeito do TNF alfa no desenvolvimento de doenças como a ansiedade e a depressão (Salim et al. 2012; Camara et al. 2013).

O pré-tratamento com a talidomida diminuiu significativamente o número de retrocessos na esteira durante o EFF dos animais da linhagem LEW (Figura 28). Da mesma maneira a talidomida propiciou que todos os animais LEW conseguissem completar o período de treinamento (Figura 29). Entretanto, a talidomida não modificou de forma significativa o comportamento dos animais da linhagem LEW após o exercício físico (figuras 24-27). Embora, devido ao baixo N experimental não podemos deixar de considerar a possibilidade de algum efeito do tratamento. Do mesmo modo, com base nas pesquisas realizadas sobre talidomida na linhagem LEW e também em camundongos (ELENKOV et al., 2008b; JUAN P. CATA, HAN-RONG WENG, 2009), nós consideramos futuramente a avaliação de doses maiores de talidomida para verificar os efeitos na resposta comportamental ao EFF.

Segundo a literatura, alguns estudos sugerem que os indivíduos submetidos ao exercício em esteira são expostos a condições estressantes (White-Welkley et al. 1995; Moraska et al. 2000). Os animais da linhagem LEW apresentam prejuízos na liberação de CRH, ACTH e CORT e, em relação aos ratos da linhagem Fisher, apresentam uma

hiporresposta do eixo HPA (POTHUIZEN et al., 2002). Por outro lado, a bibliografia expõe que a adaptação para o exercício físico crônico está relacionada a um aumento da atividade do eixo HPA (LUGER et al., 1987). Porém, (MARTIN et al., 2000) supõe que o background genético de alta ansiedade, como a resposta fisiológica ao estresse, na linhagem LEW, teria efeitos negativos na adaptação ao exercício físico crônico. Isso porque os níveis de corticotropina eram diminuídos após o exercício físico em esteira na linhagem SHR, mas não na linhagem LEW. Da maneira interessante, se conclui com estas observações, que o efeito estimulante das glândulas adrenais, e, portanto, do eixo corticotrópico pelo exercício é dependente do perfil genotípico. Do modo oposto, o exercício físico teria um efeito amplificador do metabolismo serotoninérgico nas duas linhagens, demonstrando assim um efeito do treinamento físico independentemente do genótipo neste sistema de neurotransmissores (MARTIN et al., 2000). Como perspectiva futura seria interessante avaliar se a diferença observada no presente trabalho, na locomoção no CA dos indivíduos exercitados, encontra-se associada ao aumento do metabolismo serotoninérgico.

Na bibliografia consultada, existe uma hipótese formulada que sugere que as moléculas ligantes entre estresse físico, causado pela fadiga muscular, e o cérebro são neurohormônios (Moseley 2000; Moura et al. 2010; Deminice et al. 2013; Borghi et al. 2014). Assim, nós podemos considerar que mesmo que os nossos resultados não mostraram um efeito do tratamento com talidomida no comportamento de ansiedade/emocionalidade, o tratamento teve um efeito na adaptação dos indivíduos LEW ao EFF.

7. CONCLUSÕES

- O EFF teve efeitos significativos nas duas linhagens em todas as medidas locomotoras do CA e LCE, sugerindo um efeito de estimulação locomotora do nas linhagens LEW e SHR.
- O EFF teve efeitos positivos na diminuição da ansiedade/emocionalidade nas linhagens LEW e SHR nos testes do CA e LCE. Isso sugere que estes efeitos podem ser dependentes dos genes localizados no QTL *Anxrr16*.
- A baixa adaptação da linhagem LEW ao EFF evidenciada nas nossas observações mostra uma menor capacidade destes ratos em suportar o estresse e a fadiga gerada pelo EFF.
- O EFV parece não ter efeitos muito significativos nos comportamentos locomotores e de ansiedade/emocionalidade.
- Os dados obtidos mostraram uma intensa atividade de corrida no EFV somente na linhagem SHR, sugerindo que esta linhagem é um modelo interessante para se estudar os fatores ligados a este tipo de exercício.
- O tratamento com talidomida resultou em um aumento da resistência de ratos LEW ao EFF, porém não modificou os comportamentos relacionados à ansiedade/emocionalidade destes animais.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AITMAN, T. J.; CRITSER, J. K.; CUPPEN, E.; DOMINICZAK, A.; FERNANDEZ-SUAREZ, X. M.; FLINT, J.; GAUGUIER, D.; GEURTS, A. M.; GOULD, M.; HARRIS, P. C.; HOLMDAHL, R.; HUBNER, N.; IZSVÁK, Z.; JACOB, H. J.; KURAMOTO, T.; KWITEK, A. E.; MARRONE, A.; MASHIMO, T.; MORENO, C.; MULLINS, J.; MULLINS, L.; OLSSON, T.; PRAVENEC, M.; RILEY, L.; SAAR, K.; SERIKAWA, T.; SHULL, J. D.; SZPIRER, C.; TWIGGER, S. N.; VOIGT, B.; WORLEY, K. Progress and prospects in rat genetics: a community view. **Nature genetics**, v. 40, n. 5, p. 516–522, 2008.

AKIYAMA, K.; SUTOO, D. Rectifying effect of exercise on hypertension in spontaneously hypertensive rats via a calcium-dependent dopamine synthesizing system in the brain. **Brain research**, v. 823, n. 1-2, p. 154–60, 27 mar. 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10095021>>.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Highlights of Changes from DSM-IV-TR to DSM-5. **American Psychiatric Association, Washington, ...**, 2013. Disponível em: <<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Highlights+of+Changes+from+DSM-IV-TR+to+DSM-5#0>>.

ANDRÉ RAMOS. Genetic selection of two new rat lines displaying different levels of conditioned freezing behavior. **Behavior Genetics, Vol. 33, No. 6, November**, v. 33, n. November, p. 166, 2003.

ARBORELIUS, L.; OWENS, M. J.; PLOTSKY, P. M.; NEMEROFF, C. B. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. **The Journal of endocrinology**, v. 160, n. 1, p. 1–12, jan. 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9854171>>.

ASSOCIATION, A. P. **Dsm 5**. [s.l.] American Psychiatric Publishing, 2013.

BELKE, T. W.; WAGNER, J. P. The reinforcing property and the rewarding aftereffect of wheel running in rats: a combination of two paradigms. **Behavioural processes**, v. 68, n. 2, p. 165–172, 2005.

BERCHTOLD, N. C.; KESSLAK, J. P.; COTMAN, C. W. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor gene regulation by exercise and the medial septum. **Journal of neuroscience research**, v. 68, n. 5, p. 511–21, 1 jun. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12111841>>. Acesso em: 28 nov. 2012.

BERTON, O.; AGUERRE, S.; SARRIEAU, A.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. Differential effects of social stress on central serotonergic activity and emotional reactivity in Lewis and spontaneously hypertensive rats. **Neuroscience**, v. 82, n. 1, p. 147–159, 1998a.

BERTON, O.; AGUERRE, S.; SARRIEAU, A.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. Differential effects of social stress on central serotonergic activity and emotional reactivity in Lewis and spontaneously hypertensive rats. v. 82, n. 1, p. 147–159, 1998b.

BERTON, O.; RAMOS, A.; CHAOULOFF, F.; MORMEDE, P. Behavioral reactivity to social and nonsocial stimulations: a multivariate analysis of six inbred rat strains. **Behavior genetics**, v. 27, n. 2, p. 155–166, 1997.

BINDER, E.; DROSTE, S. K.; OHL, F.; REUL, J. M. H. M. Regular voluntary exercise reduces anxiety-related behaviour and impulsiveness in mice. **Behavioural brain research**, v. 155, n. 2, p. 197–206, 6 dez. 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15364478>>. Acesso em: 19 nov. 2012.

BLANCHARD, R. J.; FLANNELLY, K. J.; BLANCHARD, D. C. Defensive behavior of laboratory and wild *Rattus norvegicus*. **Journal of comparative psychology**, v. 100, n. 2, p. 101–107, 1986.

BLOOMER, R. J. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. **Advances in clinical chemistry**, v. 46, p. 1–50, 2008.

BORGHI, S. M.; ZARPELON, A. C.; PINHO-RIBEIRO, F. a; CARDOSO, R. D. R.; MARTINS-PINGE, M. C.; TATAKIHARA, R. I.; CUNHA, T. M.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q.; CASAGRANDE, R.; VERRI, W. a. Role of TNF- α /TNFR1 in Intense Acute Swimming-induced Delayed Onset Muscle Soreness in Mice. **Physiology & behavior**, p. 1–11, 8 fev. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24518865>>. Acesso em: 17 fev. 2014.

BROOCKS, a; BANDELOW, B.; PEKRUN, G.; GEORGE, a; MEYER, T.; BARTMANN, U.; HILLMER-VOGEL, U.; RÜTHER, E. Comparison of aerobic exercise, clomipramine, and placebo in the treatment of panic disorder. **The American journal of psychiatry**, v. 155, n. 5, p. 603–9, maio 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9585709>>.

BRÜSKE, G. R.; VENDRUSCOLO, L. F.; RAMOS, A. Two inbred rat strains contrasting for anxiety-related behaviors show similar levels of defensive responses to cat odor. **Behavioral and brain functions : BBF**, v. 3, p. 17, jan. 2007a. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1855343&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 22 nov. 2012.

BRÜSKE, G. R.; VENDRUSCOLO, L. F.; RAMOS, A. Two inbred rat strains contrasting for anxiety-related behaviors show similar levels of defensive responses to cat odor. **Behavioral and brain functions : BBF**, v. 3, p. 17, jan. 2007b. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1855343&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 8 nov. 2014.

BURGHARDT, P. R.; FULK, L. J.; HAND, G. A.; WILSON, M. A. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. **Brain Research**, v. 1019, n. 1-2, p. 84–96, 2004.

CAI, X.; WONG, Y. F.; ZHOU, H.; XIE, Y.; LIU, Z. Q.; JIANG, Z. H.; BIAN, Z. X.; XU, H. X.; LIU, L. The comparative study of Sprague-Dawley and Lewis rats in adjuvant-induced arthritis. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 373, n. 2, p. 140–147, 2006.

CAMARA, M. Lou; CORRIGAN, F.; JAEHNE, E. J.; JAWAHAR, M. C.; ANSCOMB, H.; KOERNER, H.; BAUNE, B. T. TNF- α and its receptors modulate complex behaviours and neurotrophins in transgenic mice. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 12, p. 3102–14, dez. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24094876>>. Acesso em: 19 fev. 2014.

CAMPOS, A. C.; FOGAÇA, M. V; AGUIAR, D. C.; GUIMARÃES, F. S. Animal models of anxiety disorders and stress. **Revista brasileira de psiquiatria (São Paulo, Brazil : 1999)**, v. 35 Suppl 2, p. S101–11, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24271222>>.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical Activity, Exercise and Physical Fitness Definitions for Health-Related Research. **Public health reports**, v. 100, n. 2, p. 126, 1985. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc1424733/>>.

CHAN, C. C.; HIKITA, N.; DASTGHEIB, K.; WHITCUP, S. M.; GERY, I.; NUSSENBLATT, R. B. Experimental melanin-protein-induced uveitis in the Lewis rat. Immunopathologic processes. **Ophthalmology**, v. 101, n. 7, p. 1275–1280, 1994.

CHIAVEGATTO, S.; IZIDIO, G. S.; MENDES-LANA, a; ANEAS, I.; FREITAS, T. a; TORRÃO, a S.; CONCEIÇÃO, I. M.; BRITTO, L. R. G.; RAMOS, a. Expression of alpha-synuclein is increased in the hippocampus of rats with high levels of innate anxiety. **Molecular psychiatry**, v. 14, n. 9, p. 894–905, set. 2009a. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18427558>>. Acesso em: 22 nov. 2012.

CHIAVEGATTO, S.; IZIDIO, G. S.; MENDES-LANA, a; ANEAS, I.; FREITAS, T. a; TORRÃO, a S.; CONCEIÇÃO, I. M.; BRITTO, L. R. G.; RAMOS, a. Expression of alpha-synuclein is increased in the hippocampus of rats with high levels of innate anxiety. **Molecular psychiatry**, v. 14, n. 9, p. 894–905, set. 2009b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18427558>>. Acesso em: 8 nov. 2014.

COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. **Trends in neurosciences**, v. 25, n. 6, p. 295–301, jun. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12086747>>.

CRAWLEY, J. N.; PAYLOR, R. A proposed test battery and constellations of specific behavioral paradigms to investigate the behavioral phenotypes of transgenic and knockout mice. **Hormones and behavior**, v. 31, n. 3, p. 197–211, jun. 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9213134>>.

DE ARAÚJO, S. R. C.; DE MELLO, M. T.; LEITE, J. R. Transtornos de ansiedade e exercício físico. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 29, n. 2, p. 164–171, 2007.

DE VOS, A. F.; VAN HAREN, M. C.; VERHAGEN, C.; HOEKZEMA, R.; KIJLSTRA, A. Tumour necrosis factor-induced uveitis in the Lewis rat is associated with intraocular interleukin 6 production. **Experimental Eye Research**, v. 60, n. 2, p. 199–207, 1995.

DEMINICE, R.; ROSA, F. T.; FRANCO, G. S.; JORDAO, A. A.; DE FREITAS, E. C. Effects of creatine supplementation on oxidative stress and inflammatory markers after repeated-sprint exercise in humans. **Nutrition**, v. 29, n. 9, p. 1127–1132, 2013.

DISHMAN, R. K.; RENNER, K. J.; YOUNGSTEDT, S. D.; REIGLE, T. G.; BUNNELL, B. N.; BURKE, K. a; YOO, H. S.; MOUGEY, E. H.; MEYERHOFF, J. L. Activity wheel running reduces escape latency and alters brain monoamine levels after footshock. **Brain research bulletin**, v. 42, n. 5, p. 399–406, jan. 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9092882>>.

DISTLER, M. G.; PALMER, A. a. Role of Glyoxalase 1 (Glo1) and methylglyoxal (MG) in behavior: recent advances and mechanistic insights. **Frontiers in genetics**, v. 3, n. November, p. 250, jan. 2012. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3500958&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 2 out. 2013.

DREWEK, K. J.; BROADHURST, P. L. Alcohol selection by strains of rats selectively bred for behavior. **Journal of studies on alcohol**, v. 40, n. 7, p. 723–728, 1979.

DROSTE, S. K.; CHANDRAMOHAN, Y.; HILL, L. E.; LINTHORST, A. C. E.; REUL, J. M. H. M. Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level. **Neuroendocrinology**, v. 86, n. 1, p. 26–37, jan. 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17595533>>. Acesso em: 9 nov. 2012.

DUNN, A. L.; TRIVEDI, M. H.; KAMPERT, J. B.; CLARK, C. G.; CHAMBLISS, H. O. Exercise treatment for depression: efficacy and dose response. **American journal of preventive medicine**, v. 28, n. 1, p. 1–8, jan. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15626549>>. Acesso em: 2 nov. 2012.

EARP, J. C.; DUBOIS, D. C.; MOLANO, D. S.; PYSZCZYNSKI, N. A.; ALMON, R. R.; JUSKO, W. J. Modeling corticosteroid effects in a rat model

of rheumatoid arthritis II: mechanistic pharmacodynamic model for dexamethasone effects in Lewis rats with collagen-induced arthritis. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 326, n. 2, p. 546–554, 2008.

ELENKOV, I. J.; KVETNANSKY, R.; HASHIRAMOTO, a.; BAKALOV, V. K.; LINK, a. a.; ZACHMAN, K.; CRANE, M.; JEZOVA, D.; ROVENSKY, J.; DIMITROV, M. a.; GOLD, P. W.; BONINI, S.; FLEISHER, T.; CHROUSOS, G. P.; WILDER, R. L. Low- versus High-Baseline Epinephrine Output Shapes Opposite Innate Cytokine Profiles: Presence of Lewis- and Fischer-Like Neurohormonal Immune Phenotypes in Humans? **The Journal of Immunology**, v. 181, n. 3, p. 1737–1745, 18 jul. 2008a. Disponível em: <<http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.181.3.1737>>. Acesso em: 3 dez. 2014.

ELENKOV, I. J.; KVETNANSKY, R.; HASHIRAMOTO, a.; BAKALOV, V. K.; LINK, a. a.; ZACHMAN, K.; CRANE, M.; JEZOVA, D.; ROVENSKY, J.; DIMITROV, M. a.; GOLD, P. W.; BONINI, S.; FLEISHER, T.; CHROUSOS, G. P.; WILDER, R. L. Low- versus High-Baseline Epinephrine Output Shapes Opposite Innate Cytokine Profiles: Presence of Lewis- and Fischer-Like Neurohormonal Immune Phenotypes in Humans? **The Journal of Immunology**, v. 181, n. 3, p. 1737–1745, 18 jul. 2008b. Disponível em: <<http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.181.3.1737>>. Acesso em: 23 dez. 2014.

ENDLER, N. S.; KOCOVSKI, N. L. State and trait anxiety revisited. **Journal of Anxiety Disorders**, v. 15, n. 3, p. 231–245, maio 2001. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0887618501000603>>.

FERNÁNDEZ-TERUEL, A.; DRISCOLL, P.; GIL, L.; AGUILAR, R.; TOBEA, A.; ESCORIHUELA, R. M. Enduring effects of environmental enrichment on novelty seeking, saccharin and ethanol intake in two rat lines (RHA/Verh and RLA/Verh) differing in incentive-seeking behavior. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 73, n. 1, p. 225–231, 2002.

FILE, S. E. Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. In: Behavioural Brain Research, 1-2, **Anais...**2001.

FILE, S. E.; JR, H. Z.; ANDREWS, N. Social interactions **SOCIAL I N T E R A C T I O N A N D E L E V A T E D P L U S - M A Z E T E S T S : C H A N G E S I N R E L E A S E A N D U P T A K E O F 5 - H T A N D G A B A**. **Methods**, v. 32, n. 3, p. 217–221, 1993.

FILE, S. E.; LIPPA, A. S.; BEER, B.; LIPPA, M. T. Animal tests of anxiety. **Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N. Crawley ... [et al.]**, v. Chapter 8, p. Unit 8.3, 2004.

FLINT, J. Analysis of quantitative trait loci that influence animal behavior. **Journal of neurobiology**, v. 54, n. 1, p. 46–77, jan. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12486698>>. Acesso em: 20 nov. 2014.

FLINT, J.; CORLEY, R.; DEFRIES, J. C.; FULKER, D. W.; GRAY, J. a; MILLER, S.; COLLINS, a C. A simple genetic basis for a complex psychological trait in laboratory mice. **Science (New York, N.Y.)**, v. 269, n. 5229, p. 1432–5, 8 set. 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7660127>>.

FOX, K. R. The influence of physical activity on mental well-being. **Public Health Nutrition**, v. 2, n. 3a, p. 411–418, 2 jan. 2007. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S1368980099000567>.

GALVIN, J. E.; HEMRIC, M. E.; KOSANKE, S. D.; FACTOR, S. M.; QUINN, A.; CUNNINGHAM, M. W. Induction of myocarditis and valvulitis in lewis rats by different epitopes of cardiac myosin and its implications in rheumatic carditis. **The American journal of pathology**, v. 160, n. 1, p. 297–306, 2002.

GIBBS, R. A.; WEINSTOCK, G. M.; METZKER, M. L.; MUZNY, D. M.; SODERGREN, E. J.; SCHERER, S.; SCOTT, G.; STEFFEN, D.; WORLEY, K. C.; BURCH, P. E.; OKWUONU, G.; HINES, S.; LEWIS, L.; DERAMO, C.; DELGADO, O.; DUGAN-ROCHA, S.; MINER, G.; MORGAN, M.; HAWES, A.; GILL, R.; CELERA; HOLT, R. A.; ADAMS, M. D.; AMANATIDES, P. G.; BADEN-TILLSON, H.; BARNSTEAD, M.; CHIN, S.; EVANS, C. A.; FERRIERA, S.; FOSLER, C.; GLODEK, A.; GU, Z.; JENNINGS, D.; KRAFT, C. L.; NGUYEN, T.; PFANNKOCH, C. M.; SITTER, C.; SUTTON, G. G.; VENTER, J. C.; WOODAGE, T.; SMITH, D.; LEE, H.-M.; GUSTAFSON, E.; CAHILL, P.; KANA, A.; DOUCETTE-STAMM, L.; WEINSTOCK, K.; FECHTEL, K.; WEISS, R. B.; DUNN, D.

M.; GREEN, E. D.; BLAKESLEY, R. W.; BOUFFARD, G. G.; DE JONG, P. J.; OSOEGAWA, K.; ZHU, B.; MARRA, M.; SCHEIN, J.; BOSDET, I.; FJELL, C.; JONES, S.; KRZYWINSKI, M.; MATHEWSON, C.; SIDDIQUI, A.; WYE, N.; MCPHERSON, J.; ZHAO, S.; FRASER, C. M.; SHETTY, J.; SHATSMAN, S.; GEER, K.; CHEN, Y.; ABRAMZON, S.; NIERMAN, W. C.; HAVLAK, P. H.; CHEN, R.; DURBIN, K. J.; EGAN, A.; REN, Y.; SONG, X.-Z.; LI, B.; LIU, Y.; QIN, X.; CAWLEY, S.; COONEY, A. J.; D'SOUZA, L. M.; MARTIN, K.; WU, J. Q.; GONZALEZ-GARAY, M. L.; JACKSON, A. R.; KALAFUS, K. J.; MCLEOD, M. P.; MILOSAVLJEVIC, A.; VIRK, D.; VOLKOV, A.; WHEELER, D. A.; ZHANG, Z.; BAILEY, J. A.; EICHLER, E. E.; TUZUN, E.; BIRNEY, E.; MONGIN, E.; URETA-VIDAL, A.; WOODWARK, C.; ZDOBNOV, E.; BORK, P.; SUYAMA, M.; TORRENTS, D.; ALEXANDERSSON, M.; TRASK, B. J.; YOUNG, J. M.; HUANG, H.; WANG, H.; XING, H.; DANIELS, S.; GIETZEN, D.; SCHMIDT, J.; STEVENS, K.; VITT, U.; WINGROVE, J.; CAMARA, F.; MAR ALBÀ, M.; ABRIL, J. F.; GUIGO, R.; SMIT, A.; DUBCHAK, I.; RUBIN, E. M.; COURONNE, O.; POLIAKOV, A.; HÜBNER, N.; GANTEN, D.; GOESELE, C.; HUMMEL, O.; KREITLER, T.; LEE, Y.-A.; MONTI, J.; SCHULZ, H.; ZIMDAHL, H.; HIMMELBAUER, H.; LEHRACH, H.; JACOB, H. J.; BROMBERG, S.; GULLINGS-HANDLEY, J.; JENSEN-SEAMAN, M. I.; KWITEK, A. E.; LAZAR, J.; PASKO, D.; TONELLATO, P. J.; TWIGGER, S.; PONTING, C. P.; DUARTE, J. M.; RICE, S.; GOODSTADT, L.; BEATSON, S. A.; EMES, R. D.; WINTER, E. E.; WEBBER, C.; BRANDT, P.; NYAKATURA, G.; ADETOBI, M.; CHIAROMONTE, F.; ELNITSKI, L.; ESWARA, P.; HARDISON, R. C.; HOU, M.; KOLBE, D.; MAKOVA, K.; MILLER, W.; NEKRUTENKO, A.; RIEMER, C.; SCHWARTZ, S.; TAYLOR, J.; YANG, S.; ZHANG, Y.; LINDPAINTNER, K.; ANDREWS, T. D.; CACCAMO, M.; CLAMP, M.; CLARKE, L.; CURWEN, V.; DURBIN, R.; EYRAS, E.; SEARLE, S. M.; COOPER, G. M.; BATZOGLOU, S.; BRUDNO, M.; SIDOW, A.; STONE, E. A.; PAYSEUR, B. A.; BOURQUE, G.; LÓPEZ-OTÍN, C.; PUENTE, X. S.; CHAKRABARTI, K.; CHATTERJI, S.; DEWEY, C.; PACTER, L.; BRAY, N.; YAP, V. B.; CASPI, A.; TESLER, G.; PEVZNER, P. A.; HAUSSLER, D.; ROSKIN, K. M.; BAERTSCH, R.; CLAWSON, H.; FUREY, T. S.; HINRICHS, A. S.; KAROLCHIK, D.; KENT, W. J.; ROSENBLUM, K. R.; TRUMBOWER, H.; WEIRAUCH, M.; COOPER, D. N.; STENSON, P. D.; MA, B.; BRENT, M.; ARUMUGAM, M.; SHTEYNBERG, D.; COPLEY, R. R.; TAYLOR, M. S.; RIETHMAN, H.; MUDUNURI, U.; PETERSON, J.; GUYER, M.; FELSENFELD, A.; OLD, S.; MOCKRIN, S.; COLLINS, F. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*, v. 428, n. 6982, p. 493–521, 2004.

GOODWIN, C. J. **Using history to strengthen a research methods course.***History of Psychology*, 2010. .

GROSS, C.; HEN, R. The developmental origins of anxiety. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 5, n. 7, p. 545–52, jul. 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15208696>>. Acesso em: 16 set. 2014.

GROTA, L. J.; BIENEN, T.; FELTEN, D. L. Corticosterone responses of adult Lewis and Fischer rats. **Journal of Neuroimmunology**, v. 74, n. 1-2, p. 95–101, 1997.

HALL, C. S. **Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality.***Journal of Comparative Psychology*, 1934. .

HARRINGTON, M. E.; PROGRAM, N.; COLLEGE, S. Neurobiological studies of fatigue. v. 99, n. 2, p. 93–105, 2013.

HILL, L. E.; DROSTE, S. K.; NUTT, D. J.; LINTHORST, a C. E.; REUL, J. M. H. M. Voluntary exercise alters GABA(A) receptor subunit and glutamic acid decarboxylase-67 gene expression in the rat forebrain. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 24, n. 5, p. 745–56, maio 2010a. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18801833>>. Acesso em: 18 dez. 2012.

HILL, L. E.; DROSTE, S. K.; NUTT, D. J.; LINTHORST, a C. E.; REUL, J. M. H. M. Voluntary exercise alters GABA(A) receptor subunit and glutamic acid decarboxylase-67 gene expression in the rat forebrain. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 24, n. 5, p. 745–56, maio 2010b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18801833>>. Acesso em: 1 set. 2014.

HOFFMANN, P.; THORÉN, P.; ELY, D. Effect of voluntary exercise on open-field behavior and on aggression in the spontaneously hypertensive rat (SHR). **Behavioral and neural biology**, v. 47, n. 3, p. 346–355, 1987.

HOMBERG, J. R. Measuring behaviour in rodents: towards translational neuropsychiatric research. **Behavioural brain research**, v. 236, n. 1, p. 295–306, 1 jan. 2013. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22982186>>. Acesso em: 14 nov. 2014.

ICPE. Cross-national comparisons of the prevalences and correlates of mental disorders. **World Health**, 2000.

JACOB, H. J.; KWITEK, A. E. Rat genetics: attaching physiology and pharmacology to the genome. **Nature reviews. Genetics**, v. 3, n. 1, p. 33–42, 2002.

JONES, G. H.; MARSDEN, C. A.; ROBBINS, T. W. Increased sensitivity to amphetamine and reward-related stimuli following social isolation in rats: possible disruption of dopamine-dependent mechanisms of the nucleus accumbens. **Psychopharmacology**, v. 102, n. 3, p. 364–372, 1990.

JUAN P. CATA, HAN-RONG WENG, and P. M. D. The effects of thalidomide and minocycline on taxol-induced hyperalgesia in rats. p. 100–110, 2009.

KELLY, S. a; NEHRENBERG, D. L.; HUA, K.; GARLAND, T.; POMP, D. Functional genomic architecture of predisposition to voluntary exercise in mice: expression QTL in the brain. **Genetics**, v. 191, n. 2, p. 643–54, jun. 2012.
Disponível em:
<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3374324&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 20 nov. 2014.

KHRAIBI, A. A.; NORMAN, R. A.; DZIELAK, D. J. Chronic immunosuppression attenuates hypertension in Okamoto spontaneously hypertensive rats. **The American journal of physiology**, v. 247, n. 5 Pt 2, p. H722–H726, 1984.

KIM, M. J.; GEE, D. G.; LOUCKS, R. A.; DAVIS, F. C.; WHALEN, P. J. Anxiety Dissociates dorsal and ventral medial prefrontal cortex functional connectivity with the amygdala at rest. **Cerebral Cortex**, v. 21, n. 7, p. 1667–1673, 2011a.

KIM, M. J.; LOUCKS, R. A.; PALMER, A. L.; BROWN, A. C.; SOLOMON, K. M.; MARCHANTE, A. N.; WHALEN, P. J. The structural and functional connectivity of the amygdala: From normal emotion to pathological anxiety. **Behavioural Brain Research**, v. 223, n. 2, p. 403–410, 2011b.

KORKUSUZ, H.; ESTERS, P.; NAGUIB, N.; NOUR ELDIN, N. E.; LINDEMAYR, S.; HUEBNER, F.; KOUJAN, A.; BUG, R.; ACKERMANN, H.; VOGL, T. J. Acute myocarditis in a rat model: Late gadolinium enhancement with histopathological correlation. **European Radiology**, v. 19, n. 11, p. 2672–2678, 2009.

KRAMER, A. F.; ERICKSON, K. I.; COLCOMBE, S. J. Exercise, cognition, and the aging brain. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 101, n. 4, p. 1237–42, out. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16778001>>. Acesso em: 23 out. 2014.

KRAMER, J. M.; PLOWEY, E. D.; BEATTY, J. a; LITTLE, H. R.; WALDROP, T. G. Hypothalamus, hypertension, and exercise. **Brain research bulletin**, v. 53, n. 1, p. 77–85, 1 set. 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11033211>>.

LANG, P. J.; DAVIS, M.; OHMAN, A. Fear and anxiety: animal models and human cognitive psychophysiology. **Journal of affective disorders**, v. 61, n. 3, p. 137–159, 2000.

LEASURE, J. L.; JONES, M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. **Neuroscience**, v. 156, n. 3, p. 456–465, 2008.

LEVY, L. H. **Anxiety and behavior scientists' behavior.** **American Psychologist**, 1961. .

LISTER, R. G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology & therapeutics**, v. 46, n. 3, p. 321–340, 1990.

LOVATEL, G. A.; ELSNER, V. R.; BERTOLDI, K.; VANZELLA, C.; MOYSÉS, F. D. S.; VIZUETE, A.; SPINDLER, C.; CECHINEL, L. R.; NETTO, C. A.; MUOTRI, A. R.; SIQUEIRA, I. R. Treadmill exercise induces age-related changes in aversive memory, neuroinflammatory and epigenetic processes in the rat hippocampus. **Neurobiology of learning and memory**, v. 101, p. 94–102, mar. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23357282>>. Acesso em: 20 nov. 2014.

LUGER, A.; DEUSTER, P. A.; KYLE, S. B.; GALLUCCI, W. T.; MONTGOMERY, L. C.; GOLD, P. W.; LORIAUX, D. L.; CHROUSOS, G.

P. Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. Physiologic adaptations to physical training. **The New England journal of medicine**, v. 316, n. 21, p. 1309–1315, 1987.

MANUSCRIPT, A. Beneficial effects of exercise and its molecular mechanisms on depression in rats. **Brain**, v. 168, n. 1, p. 47–55, 2009.

MANUSCRIPT, A.; LECTURE, C. Mechanisms of Cytokine-Induced Behavioral Changes: Psychoneuroimmunology at the Translational Interface Norman Cousins Lecture. v. 23, n. 2, p. 149–158, 2010.

MARTIN, C. L.; DUCLOS, M.; AGUERRE, S.; MORMEDE, P.; MANIER, G.; CHAOULOFF, F. Corticotropic and serotonergic responses to acute stress with/without prior exercise training in different rat strains. **Acta physiologica Scandinavica**, v. 168, n. 3, p. 421–30, mar. 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10712580>>.

MCEWEN. **Brain on stress: How the social environment gets under the skin** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012. .

MCFARLIN, D. E.; BLANK, S. E.; KIBLER, R. F.; MCKNEALLY, S.; SHAPIRA, R. Experimental allergic encephalomyelitis in the rat: response to encephalitogenic proteins and peptides. **Science (New York, N.Y.)**, v. 179, n. 72, p. 478–480, 1973.

MORASKA, A.; DEAK, T.; SPENCER, R. L.; ROTH, D.; FLESHNER, M. Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague-Dawley rats. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 279, n. 4, p. R1321–R1329, 2000.

MOSELEY, P. L. Exercise, stress, and the immune conversation. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 28, n. 3, p. 128–132, 2000.

MOURA, L. Z.; GUIMARÃES, G. V.; PIRES, P. V.; CRUZ, F.; STOPA, G.; BOCCHI, E. A. Exercise chemosensitivity in heart failure: ventilatory, chronotropic and neurohormonal responses. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 95, n. 3, p. 381–391, 2010.

NOMIKOS, G. G.; SPYRAKI, C. Influence of oestrogen on spontaneous and diazepam-induced exploration of rats in an elevated plus maze. **Neuropharmacology**, v. 27, n. 7, p. 691–696, 1988.

OKAMOTO, K.; HAZAMA, F.; YAMORI, Y.; HAEBARA, H.; NAGAOKA, A. Pathogenesis and prevention of stroke in spontaneously hypertensive rats. **Clinical science and molecular medicine. Supplement**, v. 2, p. 161s–163s, 1975.

OLIVEIRA, L. F. G. de. **Fatores genéticos e ambientais envolvidos com o consumo de etanol e seus possíveis correlatos comportamentais nas linhagens de ratos lewis e shr**. 2008. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2008.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 14, n. 3, p. 149–167, 1985.

PLOUGHMAN, M.; GRANTER-BUTTON, S.; CHERNENKO, G.; TUCKER, B. A.; MEAROW, K. M.; CORBETT, D. Endurance exercise regimens induce differential effects on brain-derived neurotrophic factor, synapsin-I and insulin-like growth factor I after focal ischemia. **Neuroscience**, v. 136, n. 4, p. 991–1001, 2005.

POHORECKY, L. A.; BLAKLEY, G. G.; MA, E. W.; SOINI, H. A.; WIESLER, D.; BRUCE, K. E.; NOVOTNY, M. V. Social housing influences the composition of volatile compounds in the preputial glands of male rats. **Hormones and Behavior**, v. 53, n. 4, p. 536–545, 2008.

POTHUIZEN, H. H. J.; FELDON, J.; PRYCE, C. R.; JONGEN-RELO, A. L. C. Comparison of central corticosteroid receptor expression in male Lewis and Fischer rats. v. 953, p. 223–231, 2002.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, n. 1-3, p. 3–33, fev. 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001429990301272X>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

RAMOS, a; MOISAN, M. P.; CHAOULOFF, F.; MORMÈDE, C.; MORMÈDE, P. Identification of female-specific QTLs affecting an

emotionality-related behavior in rats. **Molecular psychiatry**, v. 4, n. 5, p. 453–62, set. 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10523818>>.

RAMOS, a; MORMÈDE, P. Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 22, n. 1, p. 33–57, jan. 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9491939>>.

RAMOS, A. Animal models of anxiety: do I need multiple tests? **Trends in pharmacological sciences**, v. 29, n. 10, p. 493–8, out. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18755516>>. Acesso em: 17 jul. 2014.

RAMOS, A.; BERTON, O.; MORMÈDE, P.; CHAOULOFF, F. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. **Behavioural Brain Research**, v. 85, n. 1, p. 57–69, 1997.

RAMOS, A.; KANGERSKI, A. L.; BASSO, P. F.; DA SILVA SANTOS, J. E.; ASSREUY, J.; VENDRUSCOLO, L. F.; TAKAHASHI, R. N. Evaluation of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain. **Behavioural brain research**, v. 129, n. 1-2, p. 113–23, 1 fev. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11809502>>.

RAMOS, A.; PEREIRA, E.; MARTINS, G. C.; WEHRMEISTER, T. D.; IZÍDIO, G. S. Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess different types of emotional behaviors in one single trial. **Behavioural brain research**, v. 193, n. 2, p. 277–88, 21 nov. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18590774>>. Acesso em: 6 nov. 2012.

REAL, C. C.; FERREIRA, A. F. B.; HERNANDES, M. S.; BRITTO, L. R. G.; PIRES, R. S. Exercise-induced plasticity of AMPA-type glutamate receptor subunits in the rat brain. **Brain research**, v. 1363, p. 63–71, 2 dez. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20869354>>. Acesso em: 3 nov. 2013.

RHODES, J. S.; GARLAND, T.; GAMMIE, S. C. Patterns of brain activity associated with variation in voluntary wheel-running behavior. **Behavioral neuroscience**, v. 117, n. 6, p. 1243–56, dez. 2003. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14674844>>. Acesso em: 21 set. 2013.

ROSTAD, F. G.; LONG, B. C. Exercise as a coping strategy for stress: A Review. **International Journal of Sports Psychology**, v. 27, n. Not applicable, p. 197–222, 1996.

RUSSELL, V. a; SAGVOLDEN, T.; JOHANSEN, E. B. Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. **Behavioral and brain functions : BBF**, v. 1, p. 9, 15 jul. 2005. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1180819&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 22 ago. 2014.

S.A. NEEPER*†, F. GOMEZ-PINILLA, J. C. C. C. **Exercise and brain neurotrophins**, 1993. .

SAGVOLDEN, T. Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). In: Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 1, **Anais...**2000.

SAGVOLDEN, T.; PETTERSEN, M. B.; LARSEN, M. C. Spontaneously hypertensive rats (SHR) as a putative animal model of childhood hyperkinesis: SHR behavior compared to four other rat strains. **Physiology & behavior**, v. 54, n. 6, p. 1047–1055, 1993.

SALIM, S.; ASGHAR, M.; CHUGH, G.; TANEJA, M.; XIA, Z.; SAHA, K. Oxidative stress: a potential recipe for anxiety, hypertension and insulin resistance. **Brain research**, v. 1359, p. 178–85, 4 nov. 2010a. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2955800&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 11 nov. 2013.

SALIM, S.; ASGHAR, M.; TANEJA, M.; HOVATTA, I.; CHUGH, G. Potential Contribution of Oxidative Stress and Inflammation to Anxiety and Hypertension. **Brain**, p. 63–71, 2012.

SALIM, S.; SARRAJ, N.; TANEJA, M.; SAHA, K.; TEJADA-SIMON, M. V.; CHUGH, G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. **Behavioural brain research**, v. 208, n. 2, p. 545–52, 2 abr. 2010b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20064565>>. Acesso em: 3 out. 2013.

SALMON, P. Effects of physical exercise on anxiety, depression, and sensitivity to stress: a unifying theory. **Clinical psychology review**, v. 21, n. 1, p. 33–61, fev. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11148895>>.

SANDI, C.; PINELO-NAVA, M. T. **Stress and memory: Behavioral effects and neurobiological mechanisms** *Neural Plasticity*, 2007. .

SAYRE, L. M.; PERRY, G.; SMITH, M. a. Oxidative stress and neurotoxicity. **Chemical research in toxicology**, v. 21, n. 1, p. 172–88, jan. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18052107>>.

SCHOENFELD, T. J.; RADA, P.; PIERUZZINI, P. R.; HSUEH, B.; GOULD, E. Physical exercise prevents stress-induced activation of granule neurons and enhances local inhibitory mechanisms in the dentate gyrus. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 33, n. 18, p. 7770–7, 1 maio 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23637169>>. Acesso em: 21 set. 2013.

SPAMPINATO, M. V.; WOOD, J. N.; DE SIMONE, V.; GRAFMAN, J. Neural correlates of anxiety in healthy volunteers: a voxel-based morphometry study. **The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences**, v. 21, n. 2, p. 199–205, 2009.

STERNBERG, E. M.; YOUNG, W. S.; BERNARDINI, R.; CALOGERO, A. E.; CHROUSOS, G. P.; GOLD, P. W.; WILDER, R. L. A central nervous system defect in biosynthesis of corticotropin-releasing hormone is associated with susceptibility to streptococcal cell wall-induced arthritis in Lewis rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, n. 12, p. 4771–4775, 1989.

STRÖHLE, A. Physical activity, exercise, depression and anxiety disorders. **Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)**, v. 116, n. 6, p. 777–84, jun. 2009a. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18726137>>. Acesso em: 18 jul. 2014.

STRÖHLE, A. Physical activity, exercise, depression and anxiety disorders. **Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)**, v. 116, n. 6, p. 777–84, jun. 2009b. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18726137>>. Acesso em: 19 set. 2013.

SUTOO, D.; AKIYAMA, K. Regulation of brain function by exercise. **Neurobiology of Disease**, v. 13, n. 1, p. 1–14, jun. 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969996103000305>>. Acesso em: 1 set. 2014.

SWISLOCKI, A.; TSUZUKI, A. Insulin resistance and hypertension: glucose intolerance, hyperinsulinemia, and elevated free fatty acids in the lean spontaneously hypertensive rat. **The American journal of the medical sciences**, v. 306, n. 5, p. 282–286, 1993.

TANASE, H.; YAMORI, Y.; HANSEN, C. T.; LOVENBERG, W. Heart Size in Inbred Strains of Rats. **Hypertension**, p. 864–873, 1982.

TONG, L.; SHEN, H.; PERREAU, V. M.; BALAZS, R.; COTMAN, C. W. Effects of exercise on gene-expression profile in the rat hippocampus. **Neurobiology of disease**, v. 8, n. 6, p. 1046–56, dez. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11741400>>. Acesso em: 13 nov. 2012.

UCHIDA, M. C.; NOSAKA, K.; UGRINOWITSCH, C.; YAMASHITA, A.; MARTINS, E.; MORISCOT, A. S.; AOKI, M. S. Effect of bench press exercise intensity on muscle soreness and inflammatory mediators. **Journal of sports sciences**, v. 27, n. 5, p. 499–507, 2009.

VAYNMAN, S.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. **The European journal of neuroscience**, v. 20, n. 10, p. 2580–90, nov. 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15548201>>. Acesso em: 20 set. 2013.

VOSS, M. W.; NAGAMATSU, L. S.; LIU-AMBROSE, T.; KRAMER, A. F. Exercise, brain, and cognition across the life span. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 111, n. 5, p. 1505–13, nov. 2011a. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3220305&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 28 set. 2014.

VOSS, M. W.; NAGAMATSU, L. S.; LIU-AMBROSE, T.; KRAMER, A. F. Exercise, brain, and cognition across the life span. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 111, n. 5, p. 1505–13, dez. 2011b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21527670>>. Acesso em: 31 out. 2012.

WHITE-WELKLEY, J. E.; BUNNELL, B. N.; MOUGEY, E. H.; MEYERHOFF, J. L.; DISHMAN, R. K. Treadmill exercise training and estradiol differentially modulate hypothalamic-pituitary-adrenal cortical responses to acute running and immobilization. **Physiology & behavior**, v. 57, n. 3, p. 533–540, 1995.

WILDNER, G.; DIEDRICHS-MÖHRING, M.; THURAU, S. R. **Rat models of autoimmune uveitis** *Ophthalmic Research*, 2008. .

WINDLE, R. J.; WOOD, S. A.; LIGHTMAN, S. L.; INGRAM, C. D. The pulsatile characteristics of hypothalamo-pituitary-adrenal activity in female Lewis and Fischer 344 rats and its relationship to differential stress responses. **Endocrinology**, v. 139, n. 10, p. 4044–4052, 1998.

ZHU, X.; SU, B.; WANG, X.; SMITH, M. A.; PERRY, G. Causes of oxidative stress in Alzheimer disease. **Cell Mol Life Sci**, v. 64, n. 17, p. 2202–2210, 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17605000>.

