

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE FILOSOFIA E CIÊNCIAS
CURSO DE FISIOTERAPIA
CAMPUS DE MARÍLIA**

**INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO E DA MELATONINA NO
COMPORTAMENTO MOTOR E NA ANSIEDADE DE RATOS**

Fernanda Zanco Abreu

**Marília
2023**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE FILOSOFIA E CIÊNCIAS
CURSO DE FISIOTERAPIA
CAMPUS DE MARÍLIA**

**INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO E DA MELATONINA NO
COMPORTAMENTO MOTOR E NA ANSIEDADE DE RATOS**

Fernanda Zanco Abreu

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Conselho de Curso de
Fisioterapia, da Faculdade de Filosofia e Ciências,
da Universidade Estadual Paulista – UNESP -
Campus de Marília, para obtenção do título de
Fisioterapeuta.

Orientadora: Prof^a Dra. Flávia Roberta Faganello
Navega
Coorientadora: Prof^a Dra. Luciana Pinato

Marília
2023

A162i	Abreu, Fernanda Influência do exercício físico no comportamento motor e na ansiedade de ratos / Fernanda Abreu. -- Marília, 2023 37 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Fisioterapia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Filosofia e Ciências, Marília Orientadora: Flávia Roberta Faganello Navega Coorientadora: Luciana Pinato 1. Exercício físico. 2. Melatonina. 3. Comportamento motor. 4. Ansiedade. 5. Ratos. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Filosofia e Ciências, Marília. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Fernanda Zanco Abreu

**INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO E DA MELATONINA NO
COMPORTAMENTO MOTOR E NA ANSIEDADE DE RATOS**


Profa. Dra. Flávia Roberta Faganello Navega


Profa. Dra. Patrícia de Aguiar Yamada


Profa.Ms. Maira Peloggia Cursino

25/01/2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, Àquele que me deu a vida e me guiou em todo o trajeto, mostrando todas as direções e caminhos a serem seguidos. Àquele que me deu sabedoria, amparo nos momentos sinuosos da vida, e a alegria de viver.

Agradeço à minha mãe Cláudia e ao meu pai Fernando por todo o suporte nesses anos de graduação, por todo incentivo, por acreditarem e não desistirem do meu potencial. Por toda paciência e amor depositados. Vocês são meu espelho de vida, e são imprescindíveis em todos os momentos dela.

Aos meus avós, Ana, Anezina, Cloque e Oscar, agradeço por todo carinho, cuidado, confiança e pelas histórias de vida contadas, reafirmando que a jornada é dura e longa, mas que tudo nesta vida vale a pena. Obrigada por estarem comigo em todos os momentos da minha vida.

Aos meus familiares e amigos, agradeço por me ouvirem, entenderem as minhas faltas neste período da graduação e por estarem comigo em momentos bons e alguns não tão bons, aconselhando e acolhendo-me, acreditando no meu progresso.

Agradeço ao João, por todos os momentos compartilhados, por compreender momentos de ausência, por estar ao meu lado, oferecendo ajuda e colo. Agradeço também à sua família, que também se fez minha, por estarem do meu lado em todos esses anos de graduação, acreditando e incentivando que tudo seria possível.

Ao G5, Ana, André, Felipe, Isabela e Manu, obrigada! Vocês foram essenciais nesta jornada e eu agradeço à Deus por ter me dado a oportunidade de dividir esse último ano com vocês. Dividir histórias, choros, abraços, conhecimento, risadas, entre tantos outros momentos. Vocês tornaram tudo isso mais gratificante.

Aos meus colegas de laboratório, Caio, Douglas, Marcela e Vinícius, que foram fundamentais para a obtenção dos resultados deste trabalho, assim como pelas importantes discussões. Agradeço a amizade, o auxílio, e a dedicação de cada um para que isto desse certo. As noites e madrugadas no laboratório valeram e ainda valerão muito a pena.

Agradeço à minha orientadora, Prof^a Dra. Flávia Roberta Faganello Navega que, com dedicação e paciência, está sempre pronta para ouvir, aconselhar, orientar colaborando da melhor forma para a minha graduação. Obrigada por possibilitar que

a relação entre aluno e orientadora se transformasse em uma amizade fraternal. Você é inspiração.

À minha co-orientadora, Prof^a Dra. Luciana Pinato, agradeço por ter disponibilizado o laboratório e o seu tempo para que fosse possível a realização de tal projeto, por todo auxílio, por compartilhar inúmeros conhecimentos e experiências, e pela amizade. Por ter acreditado e acolhido esta experiência. Aprendi muito durante este período.

Aos meus professores da graduação, meu muitíssimo obrigada. Obrigada pela contribuição e empenho para a minha formação e a de meus colegas. “O educador se eterniza em cada ser que educa”, Paulo Freire.

Obrigada a todos que encontrei neste caminho, o mais desafiador, apaixonante e realizador que foi a graduação.

CONTEXTUALIZAÇÃO

Este trabalho de conclusão de curso (TCC) faz parte de uma nova linha de pesquisa que está sendo desenvolvida pelo Laboratório de Investigação das Desordens Neuromusculares (LIDEN).

O LIDEN está desenvolvendo uma linha de pesquisa com modelo experimental da doença de Parkinson (DP). Para que essa nova linha seja implementada com êxito, uma série de estudos têm sido realizados. Estudos esses, que vão desde a revisão da literatura, para a análise dos modelos existentes e a viabilidade de execução de cada um deles, até o treinamento prático do(s) protocolo(s) selecionado(s) e dos tratamentos propostos. Sendo assim, esse TCC faz parte um grande “Projeto Guarda-Chuva” desenvolvido pelo LIDEN.

A fim de contextualizar e documentar, descreveremos neste item as etapas realizadas que precederam o resultado final deste trabalho, que será apresentado como TCC.

Inicialmente foi selecionado um modelo experimental para indução da DP com administração de rotenona que é um pesticida que mimetiza sintomas da DP. Segundo a literatura a administração dessa droga destrói seletivamente os neurônios dopaminérgicos e induz déficits motores e não motores que são semelhantes a DP humana (ZHANG et al., 2017). Tal modelo foi escolhido devido à sua conveniência e suposta simplicidade.

Após selecionado o modelo, foi realizado um estudo piloto com 20 animais. Primeiramente, esses animais passaram por avaliação do desempenho motor (da mesma forma que será apresentada nos tópicos de materiais e métodos deste TCC), e então, iniciaram o tratamento com injeção subcutânea de rotenona (2 mg/kg) diariamente, com a intenção de completar quatro semanas consecutivas (SUN et al., 2020; ZHANG et al., 2017). No entanto, apenas um animal resistiu ao tratamento, porém não apresentou sinais e sintomas evidentes relacionados à doença de Parkinson. A maioria dos animais ao longo do tratamento, começaram a perder peso, perder os movimentos, e encontravam-se muitas vezes sem reações dentro de suas caixas.

Inicialmente, a injeção de rotenona era realizada intraperitonealmente, no entanto, como índice de mortes estava em uma crescente, as injeções passaram a ser realizadas de maneira subcutânea, a fim de analisar se mudaria o comportamento

pós-aplicações, porém também não houve êxito. Ademais, em uma tentativa de reanimá-los e aumentarem seu peso corporal, foi realizada também gavagem em alguns animais do experimento. No entanto, os animais não resistiram ao tratamento e, ao longo dos dias, foram a óbito com duas semanas de protocolo com rotenona, no máximo. Sendo que, os que apresentavam sinais de sofrimento foram submetidos à eutanásia com injeção via intraperitoneal com hidrato de cloral.

Devido ao insucesso do modelo com rotenona um novo modelo para indução da DP foi selecionado e está atualmente em fase de treinamento. O novo modelo se dá por meio de cirurgia estereotáxica para a injeção de 6-hydroxydopamine (6-OHDA) bilateralmente no estriado dorsolateral. Sendo assim, os alunos envolvidos estão aprendendo a realizar a cirurgia estereotáxica para que o novo modelo seja executado com êxito.

Vale salientar, que no tema original definido para este TCC tinha como objetivo avaliar o efeito da prática de exercício físico e do tratamento com melatonina no desempenho motor e na concentração do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) na substância negra no modelo animal de DP em ratos. Devido aos fatos já mencionados, não foi possível realizar os grupos de animais com DP, sendo assim, o tema do TCC foi adaptado, e as análises de comportamento motor foram realizadas em animais sem a DP, que originalmente seriam incluídas no estudo como grupos controles.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi comparar o efeito da prática de exercício físico e do tratamento com melatonina, realizados de maneira isolada ou combinada, no desempenho motor e ansiedade de ratos. Foram utilizados 33 ratos da espécie Wistar, divididos de forma aleatória em quatro grupos destinados individualmente à um protocolo de tratamento, sendo eles Grupo Controle (GC=8), Grupo Exercício (GE=8), Grupo Melatonina (GM=8), Grupo Melatonina e Exercício (GME=9). Foram analisados como medidas de desempenho motor o número de cruzamentos e o número de rearing (levantamento) no campo aberto, o tempo de permanência na barra de equilíbrio e na barra de catalepsia. Como nível de emocionalidade, relacionado à ansiedade, foi analisado o número de defecação dos animais e o ganho de peso dos mesmos. Após análise comportamental, os animais foram submetidos ao tipo de tratamento proposto de acordo com a divisão dos mesmos, e ao término do protocolo foi realizada reavaliação. Os resultados demonstraram que após o protocolo imposto, o número de cruzamentos diminuiu nos grupos GC, GM e GE, e o ganho de peso se reduziu apenas no grupo GME. Apesar destes resultados vale ressaltar que quando realizada a análise da interação entre grupos*avaliações levando em consideração as avaliações (avaliação e reavaliação) entre os grupos não foi encontrada diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas) entre nenhum dos grupos, evidenciando que todos os grupos eram semelhantes na avaliação e assim permaneceram na reavaliação. Concluimos, portanto, que os tratamentos propostos não modificaram o comportamento motor e a ansiedade dos mesmos. Todavia, elucidou-se o efeito anti-inflamatório do tratamento do exercício físico associado à melatonina, uma vez que contribuíram para a redução do ganho de peso dos animais submetidos ao protocolo.

Palavras-chave: Exercício físico. Melatonina. Comportamento motor. Ansiedade. Ratos.

ABSTRACT

The objective of this study was to compare the effect of the practice of physical exercise and the treatment with melatonin, performed alone or in combination, on the motor performance and anxiety of rats. Thirty-three Wistar rats were used, randomly divided into four groups individually designated for a treatment protocol, namely: Control Group (GC=8), Exercise Group (GE=8), Melatonin Group (GM=8), Melatonin and Exercise Group (GME= 9). As measures of motor performance, the number of crossings and the number of rearing (lifting) in the open field, the time spent on the balance bar and the catalepsy bar were analyzed. As a level of emotionality, related to anxiety, the number of animals defecated and their weight gain were analyzed. After behavioral analysis, the animals were submitted to the type of treatment proposed according to their division, and at the end of the protocol, reevaluation was performed. The results showed that after the imposed protocol, the number of crossbreeding decreased in the GC, GM, and GE groups, and weight gain was reduced only in the GME group. Despite these results, it is worth mentioning that when the analysis of the interaction between groups*evaluations was performed taking into account the evaluations (evaluation and reevaluation) between the groups no significant difference was found for any of the variables analyzed) between any of the groups, showing that all groups were similar in the evaluation and remained so in the reevaluation. Therefore, we conclude that the proposed treatments did not modify their motor behavior and anxiety. However, the anti-inflammatory effect of exercise treatment associated with melatonin was elucidated, since they contributed to the reduction in weight gain of the animals submitted to the protocol.

Keywords: Physical exercise. Melatonin. Motor behavior. Anxiety. Rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma dos procedimentos experimentais	17
Figura 2 – Arena circular teste campo aberto	18
Figura 3 – Teste trave de equilíbrio	19
Figura 4 – Teste de catalepsia	20
Figura 5 – Esteira monitorizada para camundongos com 8 baias	21
Figura 6 – Caixas com baias para grupo sem exercício ao lado da esteira	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Grupos Experimentais	16
Tabela 2 – Resultados Anova Two-Way	23
Tabela 3 – Resultados (Média $\pm$ Desvio padrão) referente ao número de cruzamentos no campo aberto, número de rearing, defecação, média do tempo das três tentativas no TE e média das três tentativas do teste de catalepsia	24
Tabela 4 – Valores em média $\pm$ desvio padrão da pesagem dos animais	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	15
3 HIPÓTESE	15
4 METODOLOGIA	15
4.1 Animais	15
4.2 Análise Comportamental.....	16
4.3 Familiarização.....	20
4.4 Protocolos de tratamento.....	21
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
6 RESULTADOS.....	23
7 DISCUSSÃO	27
8 CONCLUSÃO	30
CONSIDERAÇÕES.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
ANEXO 1 – REQUERIMENTO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA FACULDADE DE FILOSOFIA E CIÊNCIAS – CAMPUS MARÍLIA	36

1 INTRODUÇÃO

O exercício físico (EF) é considerado uma atividade relativamente simples, capaz de ativar cascatas moleculares e celulares responsáveis pelo suporte e manutenção da plasticidade cerebral (REAL, 2013). Este tem a capacidade de melhorar a função cognitiva em muitos modelos de doença cerebral, como retardar o declínio cognitivo associado ao envelhecimento, prevenir déficits cognitivos em uma variedade de modelos de doença de Alzheimer, doença de Parkinson, dentre outras (JI et al., 2014).

Estudos apontam que o EF também atua sobre uma das principais neurotrofinas do cérebro, entre elas o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Esta é sintetizada principalmente no SNC, mas também em células periféricas não neuronais (PALASZ et al., 2020). O BDNF desempenha um papel importante no desenvolvimento do sistema nervoso, afetando a diferenciação celular, o desenvolvimento neuronal, crescimento e sobrevivência, neurogênese, sinaptogênese e plasticidade sináptica (LU et al., 2014; MONTEIRO et al., 2017).

O exercício aumenta a neurogênese, a expressão de fatores de crescimento e a plasticidade sináptica no hipocampo de roedores, e essas alterações têm sido associadas à melhora da função cognitiva, memória espacial e aprendizado (JI et al., 2014). A literatura aponta que o EF aumenta a expressão do gene BDNF em regiões específicas do cérebro (NEEPER et al., 1995; CARVALHO, 2017), e acredita-se que o efeito neuroprotetor da atividade física esteja ligado a ativação das vias de sinalização do BDNF (ZOLADZ et al., 2014). Além disso, a regulação positiva desta neurotrofina induzida pelo exercício pode ajudar a aumentar a resistência do cérebro a danos e degeneração através do suporte do BDNF ao crescimento, função e sobrevivência neuronal (NEEPER et al., 1995).

Além dos aspectos centrais relacionados à expressão de BDNF, Ogborn e Gardiner (2009) sugerem que o BDNF está envolvido no processo de adaptação neuromuscular desencadeado pelo aumento da atividade muscular. Assim como há evidências que o EF aumenta a expressão de BDNF, estudos apontam que o BDNF está relacionado com a melhora do desempenho motor. Ademais, em trabalho de revisão, Palasz e colaboradores (2020) sugeriram que a expressão do BDNF é indispensável para o efeito protetor do exercício. Segundo os autores, o bloqueio da sinalização do BDNF anula os efeitos benéficos do esforço físico em modelo animal

de Doença de Parkinson (PALASZ et al., 2020). Além disso, estudos sugerem que as melhoras motoras em pacientes com Doença de Parkinson estão correlacionadas com aumentos nos níveis séricos de BDNF (ZOLADZ et al., 2014; FONTANESI et al., 2016 ; O'CALLAGHAN et al., 2020).

Outra alternativa que tem sido alvo de estudos, visando aumentar tal expressão, é a administração de melatonina. A melatonina é um neuro-hormônio secretado principalmente pela glândula pineal, apresentando funções reguladoras e neuroprotetoras, sendo proeminentemente conhecida por controlar o ritmo circadiano (TAPIAS; CANNON; GREENAMYRE, 2010; ALGHAMDI, 2018).

A relação entre melatonina e BDNF já foi relatada em estudos anteriores. Shen e colaboradores (2016) verificaram que a administração de melatonina melhorou a expressão do BDNF em um modelo de demência vascular em rato. De maneira semelhante, a melatonina regulou positivamente a expressão do BDNF, reduziu o estresse oxidativo e estimulou a atividade antioxidante no hipocampo e no córtex pré-frontal de ratos com déficit de memória de trabalho (SUWANNAKOT et al., 2021). Ademais, já foi demonstrado que a melatonina melhorou a atividade locomotora em um modelo de esclerose múltipla (ABO TALEB e ALGHAMDI, 2020).

Além de possíveis influências do exercício e da melatonina na expressão de BDNF e no desempenho motor, outro fator que deve ser levado em consideração é que tanto a melatonina quanto o exercício físico apresentam efeitos antidepressivos e ansiolíticos. Segundo Guskowska (2004), o exercício físico desempenha papel benéfico na depressão, ansiedade e distúrbios do humor. Em estudos anteriores, foi verificado efeitos antidepressivos e ansiolíticos da melatonina em testes comportamentais como o teste de campo aberto e teste de nado forçado (BROTTO et al., 2000; HARIDAS et al., 2013). Segundo Alghamdi (2022), a combinação do exercício físico e melatonina possuem potencial efeito na melhora da atividade física, ansiedade e funções cognitivas na população idosa.

A ansiedade é formada pela combinação de componentes somáticos e cognitivos e aparece mediante estímulos potencialmente ameaçadores, normalmente acompanhada do aumento do tônus muscular, da frequência cardíaca e respiratória, da pressão arterial e da dilatação da pupila. Tais respostas ocorrem em animais em geral (BLANCHARD, 1972). A fisiologia da ansiedade, de modo geral, é dada por condições estressantes que acarretam alterações hormonais desencadeadas por um desequilíbrio do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal, e mediada pela ação de uma série

de neurotransmissores (KANDEL et al., 1995; MONTE, 2011). Estudos em camundongos apontam que o ganho de peso também pode estar diretamente relacionado à alteração da emocionalidade; assim, obesidade e ansiedade podem estar correlacionadas em roedores (STRINE et al., 2008; TONG et al., 2002).

Considerando a importância do BDNF (neuroprotetor e influente no desempenho motor), que o EF e a melatonina mostraram ser capazes de aumentar a concentração deste gente em diferentes regiões cerebrais, e que o efeito combinatório de EF e melatonina pode ser maior que os efeitos individuais, é de suma importância estudos que esclareçam se a melatonina associada ao exercício físico interferem na avaliação comportamental de ratos submetidos a tais tratamentos. Ademais, é de suma importância entender a correlação entre ansiedade e a influência do exercício físico e demais tratamentos.

2 OBJETIVO

Comparar o efeito da prática de exercício físico e do tratamento com melatonina, realizados de maneira isolada ou combinada, no desempenho motor e ansiedade de ratos.

3 HIPÓTESE

Nós hipotetizamos que tanto o exercício físico quanto a melatonina irão melhorar o desempenho motor e diminuir a ansiedade dos ratos. E, a combinação do exercício com a melatonina produzirá resultados mais consistentes.

4 METODOLOGIA

O trabalho foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Filosofia e Ciências da UNESP - Campus de Marília (Anexo 1). Conduzido de acordo com a Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais em atividades de ensino ou de pesquisa científica – DBCA.

4.1 Animais

Foram utilizados 33 ratos machos Wistar pesando entre 220-290 g (ZHANG et al., 2017) provenientes do Biotério Central da UNESP - campus de Botucatu. Estes foram alojados no biotério de manutenção da FFC-UNESP, campus de Marília, em

caixas de polipropileno com as seguintes dimensões: 38x32x16cm forradas com maravalha, com livre acesso a água filtrada e ração durante todo o experimento. Os animais foram mantidos em uma sala com luz controlada ciclo 12h claro / 12h escuro (luzes acesas às 8h20) e temperatura entre 22°–25°C.

Os ratos foram distribuídos aleatoriamente nos grupos que seriam tratados com exercício e sem exercício, de acordo com a tabela 1.

Tabela 1: Grupos Experimentais

Grupos Experimentais	Procedimentos Experimentais
G-C (n=8)	Grupo controle - sem nenhum tratamento
G-M (n=8)	Grupo tratado com Melatonina
G-E (n=8)	Grupo tratado com exercício
G-ME (n=9)	Grupo tratado com melatonina e exercício

A fim de verificar o ganho de peso dos animais, o peso corporal de cada animal foi medido semanalmente, dando início uma semana antes do início do protocolo e encerrando na semana em que era realizada a reavaliação, seja ele de exercício (GE), melatonina (GM) , melatonina associado ao exercício (GME) ou até mesmo sem realização de nenhuma intervenção (GC).

4.2 Análise Comportamental

Os animais passaram pela análise comportamental antes e após o período de aplicação de protocolos, seja com melatonina, exercício físico ou ambos, ou seja, antes do início do protocolo de treinamento, e ao final do protocolo de 14 dias de treinamento. Vale ressaltar que os animais de todos os grupos foram avaliados com a

mesma frequência, conforme esquema abaixo (Figura 1), no mesmo horário, sem a interferência de luz branca para não interferir na produção de melatonina.

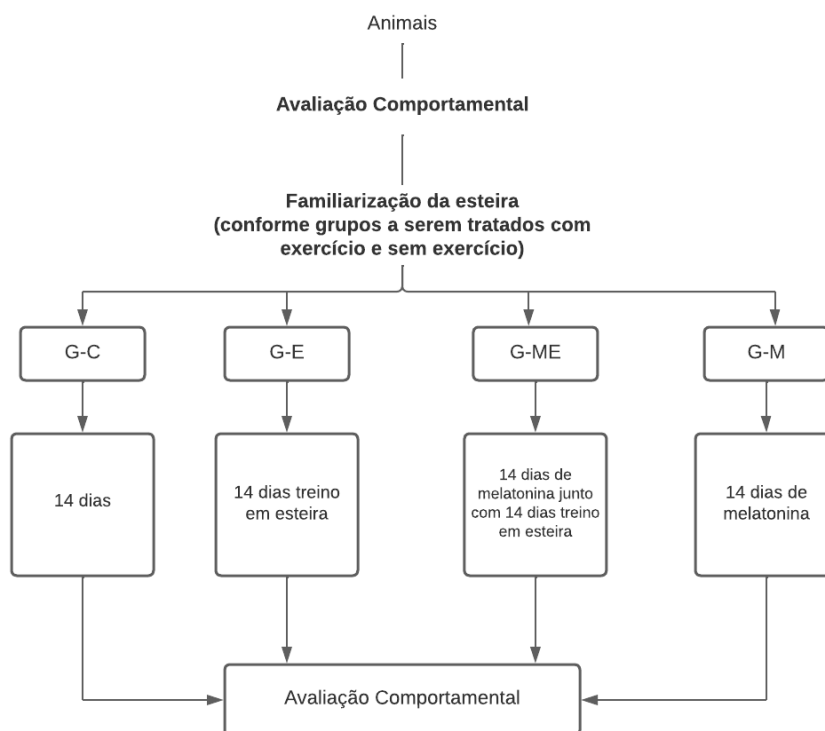


Figura 1: Fluxograma dos procedimentos experimentais

Os animais foram transportados, às escuras, à sala de experimentos para ambientação meia hora antes do início das tarefas comportamentais. Os aparatos utilizados em cada um dos testes comportamentais foram limpos com solução de água-álcool a 5% antes e entre os testes comportamentais para eliminar possíveis vieses causados por odores deixados por ratos anteriores. Os aparatos experimentais, foram iluminados com lâmpadas vermelhas.

Campo aberto

O teste de campo aberto é utilizado, dentre outras finalidades, para mensurar a atividade locomotora espontânea dos animais e avaliar o comportamento e emocionalidade/ansiedade em animais não humanos (COSTALL et al., 1989; BASSO; BEATTIE; BRESNAHAN, 1995; GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009). O teste foi realizado em um aparato composto por uma arena circular (97 cm diâmetro, 42 cm de altura da parede) dividida em três círculos concêntricos e subdivididos em 19

quadrantes (Figura 2). Os animais são gentilmente colocados no centro da área aberta e puderam explorar livremente a área por 5 minutos. O número de cruzamentos com as quatro patas entre os quadrantes foi utilizado como indicativo de atividade locomotora espontânea, o número de rearing, posição caracterizada pelo apoio somente das patas traseiras, foi considerado como movimentos exploratórios verticais (com ou sem apoio da parede da arena) (GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009). Ademais, foi avaliado a quantidade de bolos fecais, a fim de informar sobre a ansiedade do animal (CAROLA, et al. 2002).



Figura 2 – Arena Circular teste campo aberto

Teste na trave de equilíbrio (Beam balance test)

O teste na trave de equilíbrio foi utilizado para avaliar o equilíbrio e a imobilidade dos animais. Os animais foram submetidos ao teste por três tentativas consecutivas. A pontuação é realizada pela média dos resultados das três tentativas. O aparato da trave de equilíbrio é composto por uma barra de madeira (30,1 cm x 1.8 cm), elevada a 79,5 cm do chão (Figura 3).

Cada animal é colocado individualmente sobre a trave de equilíbrio por 60 segundos (tempo de permanência ou latência) três vezes consecutivas. Em caso de queda ou se o animal descesse do equipamento, a latência era registrada (FUGIMOTO et al., 2004; KHARATISHVILI et al., 2009). Com o objetivo de amortecer possível queda, uma superfície acolchoada foi posicionada abaixo do equipamento.

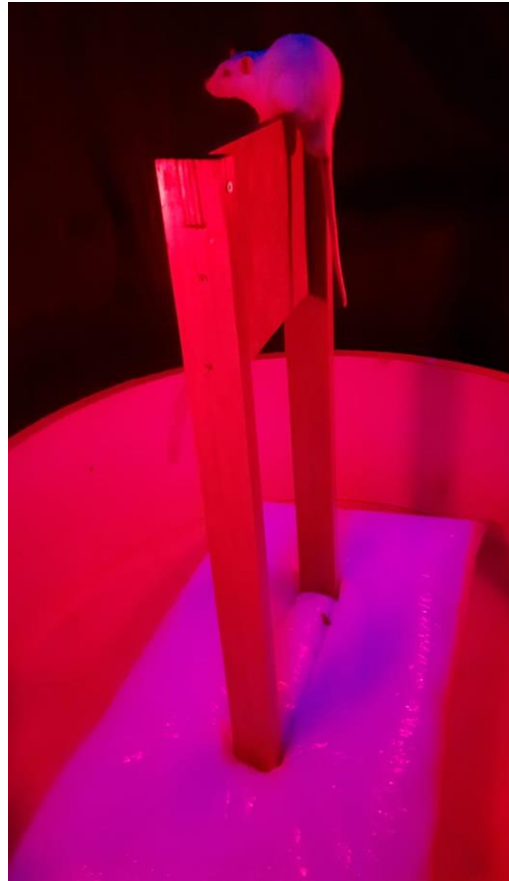


Figura 3 – Teste trave de equilíbrio (arquivo pessoal)

Teste da Catalepsia

O teste de barra de catalepsia é amplamente utilizado para medir a falha na correção de uma postura imposta externamente decorrente da rigidez muscular, consequente da inatividade física (SANBERG et al., 1988; LUCIANI; FRIE; KHOKHAR, 2020). A catalepsia pode ser observada em roedores quando eles são colocados com suas patas dianteiras em uma barra elevada e as patas traseiras permanecendo no chão (posição anormal) e permanecem nesta posição por um período prolongado de tempo (LUCIANI; FRIE; KHOKHAR, 2020). O tempo registrado para o rato corrigir essa postura é um índice da intensidade da catalepsia. Um rato cataléptico vai continuar segurando a barra por um período prolongado de tempo enquanto um rato normal mudará sua posição em segundos (SANBERG et al., 1988; LUCIANI; FRIE; KHOKHAR, 2020).

Existem diferentes metodologias para se avaliar a catalepsia, mas o mais utilizado é o teste de barra. Para esse teste, cada rato foi colocado na barra elevada

(1,3 cm de diâmetro a 10 cm do chão) (BRICKER; SAMPSON; ABLORDEPPEY, 2014; SITA; JADHAV; VAVIA, 2020), segurado suavemente pela cauda. Foi abaixado até que o rato pudesse agarrar a barra pelas patas dianteiras, depois foi abaixado as patas traseiras até que elas e a cauda tocassem o chão (BRICKER; SAMPSON; ABLORDEPPEY, 2014), como na figura 4.



Figura 4 – Teste de catalepsia (arquivo pessoal).

A catalepsia é medida pelo tempo médio de 3 tentativas que o animal manteve sua posição na barra (BRICKER; SAMPSON; ABLORDEPPEY, 2014). O ponto final é considerado como o momento em que ambas as patas forem retiradas da barra. O tempo de corte máximo para observar os animais na barra foi de 300s (SITA; JADHAV; VAVIA, 2020).

4.3 Familiarização

Os ratos do grupo exercício (G-E e G-ME) foram colocados em uma esteira, por 10 min/ dia a 5 m/min, por cinco dias, para que todos os animais se habituem com as condições experimentais como o manuseio, a atividade e o ambiente, antes de receberem melatonina. Os ratos do grupo sem exercício (G-C e G-M) foram colocados em caixas, ao lado da esteira em movimento, com divisões de madeira simulando as baias da mesma, mantendo os ratos separados. (REZAEI et al., 2020).

4.4 Protocolos de tratamento

Tratamento com Melatonina

A Melatonina (Sigma-Aldrich, EUA), foi dissolvida em propilenoglicol e diluída em solução salina na proporção final de 5:95. A concentração final da suspensão de melatonina foi de 10mg/ml, que foi injetada intraperitonealmente a uma dose de 10 mg/kg (BASSANI et al., 2014), por 14 dias, mesmo período do grupo exercício, na última hora da fase clara, para reproduzir melhor o perfil fisiológico de liberação de melatonina.

Tratamento com Exercício físico

Os animais, que já foram familiarizados após a divisão dos grupos, realizaram o exercício na última hora do ciclo de luz, segundo o protocolo de REZAEE et al. (2020) para harmonizar com os padrões de atividade circadiana do rato (WU et al., 2011). O treinamento foi realizado em esteira motorizada para camundongos (SCIENLABOR EQUIPAMENTOS, SP/BR), com 8 baias individuais (Figura 5), sem choque, e 0° de inclinação (a mesma da familiarização), por 14 dias consecutivos (CHO et al., 2013; REZAEE et al., 2020) e começou no dia seguinte a familiarização.



Figura 5: Esteira motorizada para camundongos com 8 baias. Dimensões em mm (A x L x C): 320 x 570 x 1440.

Os grupos de exercícios fizeram um protocolo de exercícios leves em esteira por 30 min, uma vez ao dia, durante 14 dias consecutivos. A carga de exercício foi iniciada a uma velocidade de 5 m /min pelos primeiros 5 min, 8 m / min pelos próximos 5 min, e 15 m / min nos últimos 20 min. Os grupos sem exercício foram colocados ao lado da esteira em movimento, em caixas com baias, pelo mesmo período de tempo (Figura 6) (REZAEI et al., 2020).



Figura 6 – Caixas com baias para grupo sem exercício ao lado da esteira (arquivo pessoal)

Cada animal foi designado para uma raia fixa e todas as atividades foram realizadas na respectiva raia durante todo o programa de treinamento, de forma que foram expostos ao mesmo ambiente (AL-JARRAH et al., 2010; WU et al., 2011). Vale ressaltar que o protocolo de treinamento foi individualizado para cada animal, assim, caso o animal parecesse estar lutando com o protocolo, com sinais de sofrimento, seria removido da esteira antes do tempo alocado (AL-JARRAH et al., 2010).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O processamento estatístico foi realizado por meio do software SPSS, versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Os dados foram apresentados em médias e desvio padrão da média. A análise estatística foi realizada por meio do software PASW statistics 18.0® (SPSS). Após verificação da normalidade e homogeneidade dos dados foi aplicado o teste estatístico ANOVA Two-Way Medidas Repetidas com post

hoc de Bonferroni, considerando o fator grupo (4 níveis) e avaliações (2 níveis). O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

A tabela 2 mostra os resultados referentes a Anova Two-Way (fator 1: grupos; fator 2: avaliações). A análise não mostrou efeito de grupo ($F=1,1$, $p=0.35$), porém apresentou efeito entre avaliações ($F=73.86$, $p=0.013$) e na interação entre grupos e avaliações ($F=1,91$, $p=0.013$). A análise Post Hoc (teste de Bonferroni), em relação às avaliações, apontou diferença apenas entre o número de cruzamentos ($p=0,000$), as demais variáveis não apresentaram diferença significativa (Rearing $p=0,11$, defecação $p=0,54$; TE $p=0,11$ e catalepsia $p=0,71$).

Tabela 2: Resultados da Anova Two Way

	F	P
grupos	1,100376	0,356785
avaliações	73,859	0,013418
grupos* avaliações	1,916459	0,013189

Os resultados referentes ao teste Post Hoc da interação entre grupos*avaliações quando comparados avaliação e reavaliação de cada grupo estão apresentados na tabela 3. Podemos observar que o GC apresentou diferença no número de cruzamentos ($p=0,039$) e entre o número de defecação ($p=0,009$) entre avaliação e reavaliação. Os GE e GM apresentaram diferença, entre avaliação e reavaliação, apenas no número de cruzamentos ($p=0,015$ e $p=0,01$ respectivamente). O GME não apresentou diferença significativa entre avaliação e reavaliação no

número de cruzamentos. Os demais grupos não apresentaram nenhuma diferença entre avaliação e reavaliação para nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela 3: Resultados (Média $\pm$ Desvio padrão) referente ao número de cruzamentos no campo aberto, número de rearing, defecação, média do tempo das três tentativas na trave de equilíbrio e média das três tentativas no teste de catalepsia. Valor de p referente ao teste de Bonferroni para a interação grupos*avaliações.

		Avaliação	Reavaliação	p
GC	Cruzamentos (n)	81,5 $\pm$ 16,75	50,62 $\pm$ 11,81	0,039*
	Rearing (n)	21,87 $\pm$ 6,62	23,75 $\pm$ 5	0,53
	Defecação (n)	5,12 $\pm$ 0,87	3,62 $\pm$ 1,31	0,009*
	TE (s)	60 $\pm$ 3,99	60 $\pm$ 0	0,35
	Catalepsia (s)	16,58 $\pm$ 16,35	59,42 $\pm$ 6,60	0,53
GE	Cruzamentos (n)	81,12 $\pm$ 18,15	56,62 $\pm$ 19,78	0,015*
	Rearing (n)	29,37 $\pm$ 5,37	22,87 $\pm$ 6,65	0,093
	Defecação (n)	3,5 $\pm$ 1,75	4,5 $\pm$ 1,62	0,38

	TE (s)	51,44±12,82	59,79±0,36	0,26
	Catalepsia (s)	2,68±1,06	4,13±2,56	0,25
GM	Cruzamentos (n)	71,62±21,87	47,2±21,25	0,01*
	Rearing (n)	23,12±5,59	24,87±8,15	0,56
	Defecação (n)	4±1,5	3,75±3	0,85
	TE (s)	51,58±8,41	56,11±6,8	0,47
	Catalepsia (s)	3,42±1,72	8,07±8,04	0,19
GME	Cruzamentos (n)	73,11±19	54,33±17,87	0,053
	Rearing (n)	22,88±8,81	22,66±7,65	0,84
	Defecação (n)	4±2,25	4,77±2	0,75
	TE (s)	54,97±7,07	59,18±1,59	0,18
	Catalepsia (s)	3,61±2,68	4,55±2,44	0,65

Legenda: GC: grupo controle, GE: grupo exercício, GM: grupo melatonina, GME: grupo exercício - melatonina. (n)= número, s=segundos. TE= média do tempo das três tentativas na trave de equilíbrio. Catalepsia= média do tempo das três tentativas no teste de catalepsia.

Quando efetuada a análise da interação entre grupos*avaliações pela análise de Post Hoc, considerando as avaliações (avaliação e reavaliação) entre os grupos, não foi encontrada diferença significativa ($p>0,05$) para nenhuma das variáveis analisadas (cruzamentos, rearing, trave de equilíbrio, catalepsia e número de defecação) entre nenhum dos grupos, salientando que todos os grupos eram semelhantes na avaliação e assim permaneceram na reavaliação.

Em relação ao peso dos animais a análise mostrou que houve diferença entre os momentos ($p=0,000$) e entre na interação grupos*avaliações. O teste Post Hoc apontou diferença entre os grupos Grupo GME é diferente do grupo GC e GE na pesagem 4 (tabela 4).

Tabela 4: Valores em Média $\pm$ Desvio padrão da pesagem dos animais.

	GC	GE	GM	GME
Peso 1	265 $\pm$ 15,25	281,87 $\pm$ 17,62	268,62 $\pm$ 21,21	271,44 $\pm$ 15,12
Peso 2	290 $\pm$ 15,5	311,37 $\pm$ 21,62	292,87 $\pm$ 21,65	289,11 $\pm$ 14,37
Peso 3	316,25 $\pm$ 16,75	334,5 $\pm$ 26	313,12 $\pm$ 26,34	305,44 $\pm$ 14
Peso 4	340,25 $\pm$ 18,75	355,75 $\pm$ 27,75	326,75 $\pm$ 28,56	319,88$\pm$16,03*

Legenda: GC: grupo controle, GE: grupo exercício, GM: grupo melatonina, GME: grupo exercício - melatonina. * GME diferente dos grupos GC e GE na pesagem 4.

7 DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo comparar o efeito da prática de exercício físico e do tratamento com melatonina, realizados de maneira isolada ou combinada, no desempenho motor e ansiedade de ratos. Foram analisados como medidas de desempenho motor o número de cruzamentos e o número de rearing (levantamento) no campo aberto, o tempo de permanência na barra de equilíbrio e na barra de catalepsia. Como nível de emocionalidade, relacionado à ansiedade, foi analisado o número de defecação dos animais.

Em relação à atividade locomotora os resultados apontaram diferença significativa com redução no número de cruzamentos no campo aberto para o GC, GE e GM, apenas o GME não apresentou redução significativa no número de cruzamentos entre avaliação e reavaliação.

O teste do campo aberto foi criado pelo psicólogo Calvin Hall, na década de 1930 para avaliar comportamento em roedores. Exploração horizontal e vertical são utilizados pelos animais para avaliar novos ambientes e representam uma parte importante do comportamento natural dos roedores (AUGUSTSSON et al., 2004; MONTE, 2011). No campo aberto o processo de avaliação geralmente envolve o confronto forçado do animal ao ambiente novo. No entanto, inicialmente se propunha que um baixo grau de atividade locomotora estava relacionado à uma resposta de medo dos animais expostos a esse novo ambiente (GENTSCH et al., 1987). Portanto, de acordo com essa visão, o nível de emocionalidade de um roedor estaria negativamente relacionado com a quantidade de ambulação no campo aberto. Outros autores, entretanto, discordam, já que estudos mostraram decréscimo na atividade locomotora na segunda exposição ao campo aberto (RAMOS et al., 1997). Segundo Siemiatkowski e colaboradores (2000) a diminuição significativa da atividade exploratória dos animais na segunda sessão de teste pode ser considerada uma reação adaptativa à experiência aversiva do primeiro dia. Sendo assim, podemos considerar que a diminuição no número de cruzamentos nos GC, GE e GM deste estudo não são resultados de um prejuízo na atividade locomotora dos animais, mas sim de uma menor resposta emocional, que comumente é apresentada, na segunda exposição ao campo aberto. O GME, apesar de não ter apresentado diferença significativa no número de cruzamentos entre as avaliações, também apresentou diminuição da média no número de cruzamentos na reavaliação quando comparado à avaliação, sendo este o primeiro contato com o ambiente.

Em relação ao número de defecação, que também é utilizada como indicativo do nível de emocionalidade de roedores (maior o número de bolos fecais, maior o nível de ansiedade) (RAMOS et al., 1997), apenas o GC apresentou diferença significativa ($p=0,009$) entre avaliação e reavaliação, mostrando uma diminuição no número de bolos fecais. Os demais grupos não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$).

Vale ressaltar que quando realizada a análise da interação entre grupos*avaliações levando em consideração a comparação entre os grupos nas diferentes avaliações (avaliação e reavaliação) entre os grupos não foi encontrada diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas (cruzamentos, rearing, trave de equilíbrio, catalepsia e número de defecação) entre nenhum dos grupos, evidenciando que todos os grupos eram semelhantes na avaliação e assim permaneceram na reavaliação. Tal resultado sugere que os tratamentos propostos, sejam eles realizados de maneira isolada (exercício ou melatonina) ou conjunta (exercício + melatonina) não modificaram o comportamento dos animais visto que os resultados foram semelhantes aos encontrados no grupo controle. Tal fato pode ter ocorrido devido a termos estudado apenas animais saudáveis, que em sua maioria, apresentaram bom desempenho nos testes desde a avaliação e, devido às características dos testes, não foi possível verificar alterações comportamentais. Acreditamos que a metodologia empregada neste estudo, tanto em relação aos testes quanto aos tratamentos propostos, será adequada para analisar a influência dos tratamentos no comportamento motor e emocional de animais com deficiências, como por exemplo, em modelo de Doença de Parkinson.

Outra variável analisada em nosso estudo foi a variação de peso dos animais. Em roedores, o ganho de peso também pode estar diretamente associado à ansiedade; podendo correlacionar obesidade e ansiedade (MONTE, 2011).

Nossos resultados apontam que na quarta pesagem, o GME apresentou valor significativamente inferior de ganho de peso corporal quando comparado ao GC e GE. De maneira semelhante Sugiyama e colaboradores (2020) sugeriram que o EF e melatonina inibiram significativamente, ou tenderam a inibir, o ganho de peso corporal induzido por dieta rica em gordura. Os autores sugeriram que pode haver uma relação funcional entre melatonina e EF (SUGIYAMA et al., 2020).

O tecido adiposo é composto por adipócitos, responsáveis pela secreção de ácidos graxos, colesterol, retinol, hormônios esteroidais e alguns mediadores

químicos inflamatórios, denominados adipocinas inflamatórias, as quais apresentam diversas funções metabólicas e endócrinas, e participam da inflamação e da resposta do sistema imune (SIPPEL et al., 2014). Estudos relatam que o aumento da quantidade das células adiposas promove uma alteração na produção de adipocinas inflamatórias, ou seja, quanto maior a quantidade de tecido adiposo maior é a secreção de tais adipocinas, sendo assim, o aumento de peso corporal acarreta na maior secreção de citocinas inflamatórias (SIPPEL et al., 2014). Produzida pela glândula pineal, a qual possui um papel muito importante na regulação do metabolismo do adipócito, sendo essencial na adaptação do metabolismo dos adipócitos frente às demandas de energia criadas pelo treinamento físico, a melatonina apresenta, dentre inúmeras funções, função imunomodulatória, ou seja, função relevante sobre o sistema de defesa do organismo. No caso de uma inflamação, a melatonina atua aumentando a produção de certas proteínas produzidas por células do sistema imunes (como leucócitos, macrófagos, mastócitos e células endoteliais), as chamadas interleucinas, as quais estão envolvidas no processo de reparo inflamatório do tecido (TORRES et al., 2021). Além disso, estudos demonstraram que a administração de melatonina suprime processos inflamatórios, estimulando moléculas anti-inflamatórias, sendo apontada como também reguladora do peso corporal em um modelo de obesidade animal, induzido por dieta hiperlipídica, reduzindo eficiência alimentar de ratos tratados com melatonina durante 3 semanas (PUCHALSCK et al., 2003; PROENÇA, 2012). Ademais, diversos trabalhos evidenciam que a melatonina tem um papel no gasto energético, no ritmo circadiano da glicemia, na regulação da massa corporal e sobre a secreção e ação da insulina periférica (LIMA et al., 1998; WOLDEN-HANSON et al., 2000; IA FLEUR et al., 2001; ALONSO-VALE et al., 2004; PROENÇA, 2012).

Em relação ao EF, este está associado à ativação da lipólise no tecido adiposo e a liberação de ácidos graxos livres e glicerol na circulação, sendo que tais ácidos elevam-se e são captados e utilizados pelo músculo em exercício (LOPES, 2009). Além disso, a prática do exercício também apresenta efeitos sobre à sensibilidade e/ou responsividade à insulina, aumento do transporte de glicose em células adiposas e em músculo esquelético, além de também apresentar um papel no gasto energético (BEN-EZRA et al., 1995; BRAMBRINK et al., 1997; REYNOLDS et al., 1997). Desta forma, quando associados a melatonina e EF o ganho de peso foi menor quando comparado aos tratamentos realizados isoladamente, como elucidado

na média dos pesos da quarta pesagem. Levando em consideração que o ganho de peso com obesidade leva à inflamação periférica que resulta em deterioração da função cognitiva e da neurogênese, provavelmente por meio da desregulação do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) podemos sugerir que, talvez, o menor ganho de peso dos animais do GME pode ser resultado de um aumento na expressão de BDNF. Porém, novos estudos devem ser realizados para confirmar tal hipótese.

O estudo de Sugiyama e colaboradores (2020), já citado anteriormente, traz dados bastante relevantes para o nosso estudo, visto que os tratamentos propostos em nosso estudo são semelhantes aos propostos pelos autores, porém tiveram como objetivo avaliar se o EF, a administração de melatonina ou a combinação de ambos influenciariam nas expressões de BDNF e citocinas no cerebelo de ratos alimentados com dieta rica em gordura. Os autores concluíram que exercício em combinação com a melatonina apresenta benefícios potenciais de aumentar o BDNF e melhorar a desregulação de citocinas induzida pela dieta rica em gordura no cerebelo. Uma provável explicação levantada pelos autores é que melatonina pode potencializar o efeito do EF por meio de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatória (SUGIYAMA et al, 2020). Com base nessas informações, sugerimos que novos estudos sejam realizados a fim de avaliar se os tratamentos propostos em nosso estudo são capazes de aumentar o BDNF em diferentes regiões cerebrais. Ademais, é de suma importância a realização de estudos induzindo a patologias, como a Doença de Parkinson, com o propósito de analisar o efeito do exercício físico e da melatonina acerca do desempenho motor e da ansiedade de ratos.

8 CONCLUSÃO

Ao avaliarmos o desempenho motor e a ansiedade de ratos após o tratamento com exercício físico e melatonina tanto de maneira isolada quanto conjunta, podemos concluir que ao serem comparados os grupos entre avaliação e reavaliação, não houveram diferenças significativas nas variáveis analisadas, evidenciando que os tratamentos propostos não modificaram o comportamento motor e a ansiedade dos mesmos. Todavia, elucidou-se o efeito anti-inflamatório do tratamento do exercício físico associado à melatonina, uma vez que contribuíram para a redução do ganho de peso dos animais submetidos ao protocolo.

CONSIDERAÇÕES

Devido aos contratempos encontrados para a realização deste projeto, como elucidado no tópico de contextualização, ressalta-se que ainda serão realizadas as análises do BDNF a fim de contribuir para os resultados deste estudo.

REFERÊNCIAS

- ABO TALEB, H. A., ALGHAMDI, B. S. Neuroprotective effects of melatonin during demyelination and remyelination stages in a mouse model of multiple sclerosis. **J. Mol. Neurosci.** 70 386–402, 2020.
- AL-JARRAH, M. et al. Endurance exercise training promotes angiogenesis in the brain of chronic/progressive mouse model of Parkinson's Disease. **NeuroRehabilitation**, v. 26, n. 4, p. 369–373, 2010.
- ALGHAMDI, B. S. The neuroprotective role of melatonin in neurological disorders. **Journal of Neuroscience Research**, v. 96, n. 7, p. 1136–1149, 2018.
- ALGHAMDI, B. S. The Effect of Melatonin and Exercise on Social Isolation-Related Behavioral Changes in Aged Rats. **Front Aging Neurosci.** 2022.
- ALONSO-VALE, M.I. et al. Light/dark cycle-dependent metabolic changes in adipose tissue of pinealectomized rats. **Horm Metab Res.** 36:474-9, 2004.
- AUGUSTSSON, H.; MEYERSON, B. Exploration and risk assessment: a comparative study of male house mice (*Mus musculus musculus*) and two laboratory strains. **Physiology and Behavior**, v.81, p.685-698, 2004.
- BASSANI, T. B. et al. Neuroprotective and antidepressant-like effects of melatonin in a rotenone-induced Parkinson's disease model in rats. **Brain Research**, v. 1593, p. 95–105, dez, 2014.
- BASSO, D. M.; BEATTIE, M. S.; BRESNAHAN, J. C. A Sensitive and Reliable Locomotor Rating Scale for Open Field Testing in Rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 12, n. 1, p. 1–21, 1995.
- BEN-EZRA, V.; JANKOWSKI, C.; KENDRICK, K.; NICHOLS, D. Effect of intensity and energy expenditure on postexercise insulin responses in women. **J. Appl. Physiol.**, 79:2029-2034, 1995.
- BLANCHARD, C.D.; BLANCHARD, R. Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v.81 (2), p. 281-290, 1972.
- BRAMBRINK, J.K.; FLUCKEY, J.D.; HICKEY, M.S.; CRAIG, B.W. Influence of muscle mass and work on post-exercise glucose and insulin responses in Young untrained subjects. **Acta Physiol. Scand.**, v.161, p.371-377, 1997.
- BRICKER, B.; SAMPSON, D.; ABLORDEPPEY, S. Y. Evaluation of the potential of antipsychotic agents to induce catalepsy in rats: Assessment of a new, commercially available, semi-automated instrument. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 120, n. 1, p. 109–116, 2014.
- BROTTO, L.A., BARR, A.M., GORZALKA, B.B. Sex differences in forced-swim and open-field test behaviours after chronic administration of melatonin. **Eur. J. Pharmacol.**, 402, pp. 87-93, 2000.
- CAROLA, V. et al. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. **Behavioural brain research**, v.134, n.1-2, p.49-57, 2002.
- CARVALHO, D.V. Associação entre a concentração sérica de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e manifestações motoras e não motoras em indivíduos com doença de Parkinson. **Instituto de Ciências Biológicas**, 2017.
- CHO, H.-S. et al. Treadmill exercise alleviates short-term memory impairment in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 9, n. 3, p. 354–361, 2013.
- COSTALL, B.J.; JONES, B. J.; KELLY, M.E.; NAYLOR, R.J. TOMKINS, D.M. Exploration of a mice a black and white box: validation as a model of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.32, p. 777-785, 1989.

FONTANESI, C. et al. Intensive rehabilitation enhances lymphocyte BDNF-TrkB signaling in patients with Parkinson's disease. **Neurorehabil Neural Repair**. 30:411–418. 2016.

GENTSCH, C. et al. Open field and elevated plus-maze: A behavioural comparison between spontaneously hypertensive (SHR) and Wistar-Kyoto (WKY) rats and the effects of chlordiazepoxide. *Behav. Brain Res*, 25:101-107, 1987.

GOULD, T. D.; DAO, D. T.; KOVACSICS, C. E. **Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice**. Totowa, NJ: Humana Press, v. 42, 2009.

HALL, C.S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in the emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, Washington, v.18, p. 385-403. 1934.

HARIDAS, S. et al. Melatonin ameliorates chronic mild stress induced behavioral dysfunctions in mice. **Physiol. Behav.** 119, pp. 201-207. 2013.

HERNANDEZ-CHAN N.G. et al. Neurotensin-polyplex-mediated brain-derived neurotrophic factor gene delivery into nigral dopamine neurons prevents nigrostriatal degeneration in a rat model of early Parkinson's disease. **J. Biomed. Sci.** 2015.

IA FLEUR, S.E. et al. Role for the Pineal and Melatonin in Glucose Homeostasis: Pinealectomy Increases Night-Time Glucose Concentrations. **J Neuroendocrinol**. 2001.

JI, J. et al. Forced running exercise attenuates hippocampal neurogenesis impairment and the neurocognitive deficits induced by whole-brain irradiation via the BDNF-mediated pathway. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 2014.

KANDEL, E.R. et al. Essentials of Neural Science and Behavior. USA, **Prentice Hall International**, Inc. 1995.

LIMA, F.B. et al. Pinealectomy causes glucose intoleranc and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. **Am J Physiol**. 1998.

LOPES, A.M.S. Efeitos do exercício físico sobre a atividade metabólica do tecido adiposo e muscular de ratos pinealectomizados tratados ou não com melatonina. Dissertação (Mestrado em Ciências) – **Instituto de Ciências Biomédicas**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

LU, B.; NAGAPPAN, G.; LU, Y. BDNF and Synaptic Plasticity, Cognitive Function, and Dysfunction. In Neurotrophic Factors. **Handbook of Experimental Pharmacology**; Lewin, G., Carter, B., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, ISBN 978-3-642-45105-8; pp. 223–250, 2014.

LUCIANI, K. R.; FRIE, J. A.; KHOKHAR, J. Y. An Open Source Automated Bar Test for Measuring Catalepsy in Rats. **eneuro**, v. 7, n. 3, p. ENEURO.0488-19.2020, maio 2020.

MONTE, B.G.O. QTLs associados com emocionalidade em fêmeas pós-parto de camundongos LG/J x SM/J. Universidade Federal de São Carlos. 2011.

MONTEIRO, B. C. et al. Relationship Between Brain-Derived Neurotrophic Factor (Bdnf) and Sleep on Depression: A Critical Review. **Clinical Practice & Epidemiology in Mental Health**, v. 13, n. 1, p. 213–219, 2017.

NEEPER, S. A. et al. Exercise and brain neurotrophins. **Nature**, v. 373, n. 6510, p. 109, 1995.

O'CALLAGHAN, A. et al. Comparing the influence of exercise intensity on brain-derived neurotrophic factor serum levels in people with Parkinson's disease: a pilot study. **Aging Clin Exp Res** 32:1731–1738. 2020.

OGBORN, D.I, et al. Effects of exercise and muscle type on BDNF, NT-4/5, and TrkB expression in skeletal muscle. **Muscle Nerve** 41: 385–391, 2010.

PALASZ, E. et al. BDNF as a promising therapeutic agent in parkinson's disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, 2020.

PROENÇA, A.R.G. Exercício físico e melatonina promovem conjuntamente redução da adiposidade em ratos, embora estes se tornem hipogonádicos. **Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo**. 2013.

PUCHALSKI, S.S. et al. Melatonin effect on rat body weight regulation in response to high-fat diet middle age. **Endocrine**. 21(2):163-7, 2003.

RAZGADO-HERNANDEZ L.F. et al. The transfection of BDNF to dopamine neurons potentiates the effect of dopamine D3 receptor agonist recovering the striatal innervation, dendritic spines and motor behavior in an aged rat model of Parkinson's disease. **PLoS ONE**. 2015.

REAL, C.C. Efeitos do exercício físico no modelo da Doença de Parkinson em ratos. São Paulo. 2013.

REYNOLDS, T.H.; BROZINICK, J.T.; ROGERS, JR. M.A.; CUSHMAN, S.W. Effects of exercise training on glucose transport and cell surface GLUT-4 in isolated rat epitrochlearis muscle. **Am. J. Physiol.**, v.272, p.320-325, 1997.

REZAEI, Z. et al. Exercise-Induced Neuroprotection in the 6-Hydroxydopamine Parkinson's Disease Model. **Neurotoxicity Research**, v. 38, n. 4, p. 850–858, 2020.

SANBERG, P. R. et al. The catalepsy test: Its ups and downs. **Behavioral Neuroscience**, v. 102, n. 5, p. 748–759, 1988.

SHEN, D. et al. Effect of Melatonin and Resveratrol against Memory Impairment and Hippocampal Damage in a Rat Model of Vascular Dementia. **Neuroimmunomodulation**, v. 23, n. 5–6, p. 318–331, 2016.

SIEMIATKOWSKI, M. et al. Effects of buspirone, diazepam, and zolpidem on open field behavior, and brain [3H]muscimol binding after buspirone pretreatment. **Pharmacol Biochem Behav**. 66(3):645-51, 2000.

SIPPEL, C. et al. Processos inflamatórios da obesidade. **Revista de Atenção à Saúde**, v.12, nº42, p. 48-56, 2014.

SITA, V. G.; JADHAV, D.; VAVIA, P. Niosomes for nose-to-brain delivery of bromocriptine: Formulation development, efficacy evaluation and toxicity profiling. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 58, 2020.

STRINE, T.W.; MOKDAD, A.H.; DUBE, S.R.; BALLUZ, L.S.; GONZALEZ, O.; BERRY, J.T.; MANDERSCHIED, R; KROENKE, K. The association of depression and anxiety with obesity and unhealthy behaviors among Community-dwelling US adults. **General Hospital Psychiatry**. Volume 30, issue 2, p. 127-137, 2008.

SUGIYAMA, A. et al. Effects of physical activity and melatonin on brain-derived neurotrophic factor and cytokine expression in the cerebellum of high-fat diet-fed rats. **Neuropsychopharmacol Rep**. 40(3):291-296, 2020.

SUWANNAKOT, K. et al. Melatonin protects against the side-effects of 5- fluorouracil on hippocampal neurogenesis and ameliorates antioxidant activity in an adult rat hippocampus and prefrontal cortex. **Antioxidants**, v. 10, n. 4, 2021.

TAPIAS, V. et al. Melatonin Treatment potentiates neurodegeneration in a rat rotenone parkinson's disease model. **Journal of Neuroscience Research** 88:420–427, 2010.

TONG, Q. et al. Localization and function of group III metabotropic glutamate receptors in rat pancreatic islets. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, 282, E1324-E1333. 2002.

TORRES, F.F. et al. Melatonina: muito além do sono. *Aprendendo Ciência*, 10(1):53-57, 2021.

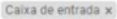
WOLDEN-HANSON, T. et al. Daily melatonina administration to middle-age male rats suppresses body weight, intra-abdominal adiposity, and plasma leptina and insulin independente of food intake and total body fat. **Endocrinology**. 141:487-97; 2000.

WU, S. Y. et al. Running exercise protects the substantia nigra dopamiWU, S. Y. et al. Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 25, n. 1, p. 135–146, 2011.

ZHANG, Z.-N. et al. Subcutaneous rotenone rat model of Parkinson's disease: Dose exploration study. **Brain Research**, v. 1655, p. 104– 113, 2017.

ZOLADZ, J. A. et al. Moderate-intensity interval training increases serum brain-derived neurotrophic factor level and decreases inflammation in parkinson's disease patients. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 65, n. 3, p. 441–448, 2014.

ANEXO 1 – Requerimento Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Filosofia e Ciências – Campus Marília

Re: CEUA - projeto para análise  



Seção Técnica Acadêmica
para mim, Seção ▾

ter., 24 de mai. 09:10 (há 3 dias) ☆

Profa. Flávia,
Bom dia,

Acusamos o recebimento do projeto "Efeito da prática de exercício físico e do tratamento com melatonina no desempenho motor e na expressão de BDNF em modelo de doença de Parkinson em ratos" e informamos que o mesmo será submetido para análise da Comissão de Ética no Uso de Animais da FFC.

Atenciosamente,

Tatiana Zanini Fonseca
Supervisor Técnico de Seção
Seção Técnica Acadêmica
FFC - UNESP MARÍLIA
(14) 3402-1346