

Efeitos do exercício da natação sobre a ansiedade de camundongos jovens e adultos

Effects of swimming exercise on anxiety in young and adult mice

José Geraldo Pereira da Cruz¹, Débora Delwing Del Magro², Anna Cláudia Fistarol³, Fernanda Ferreira⁴

¹Professor de Fisiologia do Departamento de Ciências Naturais da Fundação Universidade Regional de Blumenau. ²Professora de ³Biofísica do Departamento de Ciências Naturais FURB. ⁴Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas FURB. ⁵Acadêmica do Curso de Fisioterapia FURB.

Resumo

Estudos têm demonstrado que atividade física crônica pode alterar a ansiedade em uma variedade de contextos. Camundongos jovens (30 dias após o nascimento) e adultos (60 dias após o nascimento) foram expostos a exercício de natação por 8 semanas. O exercício de natação aumenta significativamente a exploração dos braços abertos no teste do labirinto em cruz elevado ($F_{36,3} = 7.565$; $p < 0,001$). Além disso, o treinamento de natação aumenta o tempo total gasto na ambulação ($F_{36,3} = 33.739$; $p < 0,001$) e diminui a imobilidade ($F_{36,3} = 13.039$; $p < 0,001$) no campo aberto, tendo, assim, efeito ansiolítico. O campo aberto mostrou que os camundongos sedentários jovens eram menos ansiosos que os adultos, e os nadadores jovens apresentavam maior atividade exploratória ($F_{36,3} = 2.953$; $p < 0,05$) e autolimpeza ($F_{36,3} = 2.672$; $p < 0,05$). Tomados em conjunto esses dados, pode-se concluir que o exercício de natação aparentemente resulta em diminuição da ansiedade. Palavras-chave: natação – efeitos ansiolíticos; testes comportamentais – labirinto em cruz elevado – campo aberto.

Abstract

Studies have shown that chronic physical activity can alter anxiety in a variety of contexts. Adolescent (postnatal day 30) or early adult mice (postnatal day 60) were exposed of 8 weeks of swimming exercise. The swimming exercise significantly increased open arm exploration in plus maze in plus-maze test ($F_{36,3} = 7.565$; $p < 0,001$). Moreover, swimming training increase time of ambulação ($F_{36,3} = 33.739$; $p < 0,001$) and decreases total time spent immobilized ($F_{36,3} = 13.039$; $p < 0,001$) in the open field, having thus an anxiolytic effect. The open field showed that among sedentary young mice were less anxious than adults and the young swimmers showed higher exploratory activity ($F_{36,3} = 2.953$; $p < 0,05$) and grooming ($F_{36,3} = 2.672$; $p < 0,05$). Taken together, we conclude that swimming exercise appears to result in decreased anxiety.

Keywords: swimming exercise – anxiolytic effect; behavioral tests – elevated plus maze – open field.

INTRODUÇÃO

Os mecanismos pelos quais o exercício físico beneficia a saúde incluindo a incidência de determinadas doenças, como a ansiedade não são bem compreendidos (Martinsen; Raglin, 2007). Diversos estudos têm demonstrado que o exercício físico melhora e protege a função cerebral e modifica sistemas neuroquímicos (Broocks et al., 2003; Yasuhara et al., 2007), sugerindo que pessoas fisicamente ativas apresentam menores risco de ser acometidas por desordens mentais em relação às sedentárias.

A diminuição de receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} foi observada no exercício físico, podendo estar relacionada com as alterações comportamentais (Meeusen et al., 1996; Dwyer; Browning, 2000). Também é esperado um aumento na atividade gabaérgica e (ou) de receptores GABA em regiões importantes na ansiedade, como a amígdala, para explicar a redução da ansiedade após exercício físico crônico (Dishman et al., 1996).

Recebido em 26 de fevereiro de 2009; revisado em 25 de maio de 2010.

Correspondência / Correspondence: Dr. José Geraldo Pereira da Cruz. Rua Antônio da Veiga, 140 Victor Konder. 89012-900 Blumenau SC. Tel.: (47) 3321-0272. E-mail: jgcruz@furb.br

Muitas mudanças observadas em respostas ao exercício físico foram descritas com a utilização de modelos animais de ansiedade relacionados às respostas defensivas do animal, incluindo o campo aberto e o labirinto em cruz elevado (Hoffmann et al., 1987; Chaouloff, 1994; Dishman et al., 1996; Pietropaolo et al., 2006). A resposta frente ao exercício físico depende da idade do animal, do tipo, da duração e da intensidade do esforço realizado (Ferrandez; De La Fuente, 1999).

A adolescência se caracteriza por mudanças comportamentais, como instabilidade emocional e impulsividade, associadas com dependência e doenças afetivas. As características comportamentais da adolescência refletem a incompleta maturação do sistema neural das emoções e o controle de regulação do comportamento inibitório (Hariri; Holmes, 2006; Lenroot; Giedd, 2006). Alguns experimentos com camundongos adolescentes demonstraram que seus níveis de ansiedade diferem dos observados em animais adultos, pois camundongos jovens apresentam uma maior capacidade exploratória do que os adultos (Hefner; Holmes, 2007).

Para um melhor entendimento dos efeitos ansiolíticos da natação crônica sobre o comportamento de camundongos em diferentes idades de desenvolvimento,

esses animais, após um período de oito semanas de treinamento, foram submetidos a testes comportamentais relacionados ao medo ou à ansiedade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados camundongos da linhagem Swiss, machos, de 4 (jovens) e 8 (adultos) semanas de idade, procedentes do biotério central da Universidade Regional de Blumenau. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas com 10 animais, a 26°C, alimentados com ração-padrão e água ad libitum. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal, de acordo com orientações institucionais.

Treinamento

Os camundongos foram divididos em 4 grupos de 10 animais. Um grupo de camundongos jovens sedentários (SEDjovem), um grupo de nadadores jovens (NADjovem), um grupo de adultos sedentários (SEDadulto) e um grupo de nadadores adultos (NADadulto). Os grupos NADjovem e NADadulto foram treinados a nadar por 30 minutos/dia, 5 dias na semana, durante 8 semanas. Esse exercício corresponde a uma intensidade abaixo do limiar anaeróbico. Os grupos SEDjovem e SEDadulto foram colocados na água rasa, durante 30 minutos, em 5 dias da semana, sendo utilizados como controle. No final do período de treinamento, 48 h após a última sessão de exercícios, todos os camundongos foram submetidos individualmente aos testes comportamentais no labirinto em cruz elevado e campo aberto. Nesses testes comportamentais, os camundongos jovens apresentavam idade de 12 semanas e os adultos de 16 semanas.

Labirinto em cruz elevado

O labirinto em cruz elevado é formado de dois braços abertos (21,5 x 7,5 cm cada um) e outros dois braços opostos do mesmo tamanho, fechados com paredes laterais de 31 cm de altura. Os braços abertos e fechados, elevados 38 cm do solo, cruzavam-se perpendicularmente formando uma cruz, delimitada por uma área central de 7,5 x 7,5 cm. O labirinto foi colocado em cubículo com isolamento acústico, iluminado por uma lâmpada vermelha (60 Watts) situada 150 cm acima do aparato. Cada animal foi exposto durante cinco minutos ao labirinto em cruz elevado (Pellow *et al.*, 1985). Nesse período, foram observados o número de entradas e o tempo gasto em ambos os braços. A partir dessas medidas, foram calculadas as porcentagens de entrada e de tempo total gasto nos braços abertos e fechados.

Campo aberto

O teste no campo aberto consistiu na mensuração das variáveis comportamentais dos indivíduos experimentais, colocados em uma arena limitada por uma parede circular. O interior dessa arena, de 280 cm de diâmetro, foi pintado de preto, e o assoalho foi subdivi-

dido em segmentos de linhas brancas, para formar 19 espaços iguais (Broadhurst, 1960). Os animais foram submetidos a sessões de cinco minutos no campo aberto, e os seguintes parâmetros foram analisados: tempo de movimentação (ambulação); tempo de imobilidade; tempo em que o animal permanecia levantado sobre as patas traseiras (exploração) e tempo gasto na autolimpeza. A partir dessas medidas, foram calculadas as porcentagens de tempo total gasto para as categorias comportamentais. Os testes foram realizados em sala iluminada com lâmpada vermelha de 60 Watts, colocada 150 cm acima da abertura central do campo aberto.

Análise estatística

Os resultados dos testes comportamentais foram submetidos à análise de variância ANOVA, seguida pelo pós-teste de Newman-Keuls, sendo expressos com média \pm erro padrão da média. Um nível de significância menor de 5% foi utilizado em todas as análises ($p < 0,05$).

RESULTADOS

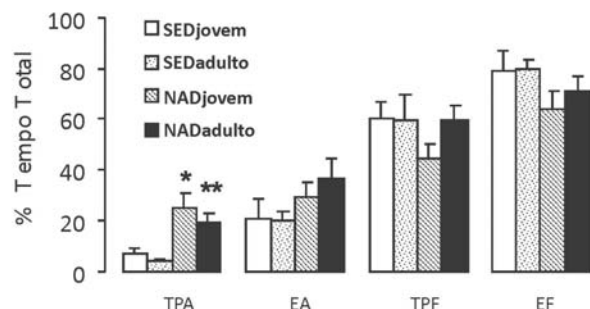
Os camundongos nadadores jovens (NADjovem) e adultos (NADadulto) mostraram maior porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado ($F_{36,3} = 7.565$; $p < 0,001$), não havendo diferenças significativas entre a porcentagem de entradas nos braços abertos e fechados ($F_{36,3} = 1.603$; $p > 0,05$), bem como a porcentagem do tempo de permanência nos braços fechados ($F_{36,3} = 2.520$; $p > 0,05$) em relação aos camundongos sedentários, conforme análise de variância, seguida do pós-teste de Newman-Keuls (FIGURA 1).

Efeitos significativos também foram encontrados nas respostas comportamentais dos camundongos nadadores (NADjovem/NADadulto) em relação aos sedentários (SEDjovem/SEDadulto), quando submetidos ao teste do campo aberto. Os camundongos nadadores aumentaram a porcentagem de ambulação ($F_{36,3} = 33.739$; $p < 0,001$) e diminuíram a imobilidade ($F_{36,3} = 13.039$; $p < 0,001$), quando comparados com os animais sedentários. O teste de Newman-Keuls demonstrou que o SEDjovem apresentava um tempo maior de ambulação que o SEDadulto ($p < 0,001$), mas não ocorreram diferenças significativas entre o NADjovem e o NADadulto ($p > 0,05$). Os NADjovem apresentaram um período de imobilidade menor que os NADadulto ($p < 0,05$), bem como uma maior capacidade de exploração ($F_{36,3} = 2.953$; $p < 0,05$) e de autolimpeza ($F_{36,3} = 2.672$; $p < 0,05$) (FIGURA 2).

DISCUSSÃO

Os mecanismos neurobiológicos relacionados à diminuição das respostas defensivas e de ansiedade, relacionadas à atividade física, ainda não estão totalmente esclarecidos. Muitas respostas comportamentais relacionadas à atividade física foram relatadas em experimentos que utilizaram modelos animais de ansiedade

Figura 1 - Comportamento de camundongos sedentários jovens e adultos (SEDjovem/SEDadulto) submetidos a 8 semanas de natação (NDAjovem/NADadulto) no labirinto em cruz elevado.



Notas: as porcentagens dos tempos de permanência e entradas nos braços abertos (TPA e EA), as porcentagens dos tempos de permanência e entradas nos braços fechados (TPF e EF) são mostrados; linhas verticais representam o erro padrão da média e as barras a média dos grupos de camundongos ($n = 10$); o teste de Newman-Keuls demonstrou diferenças significativas na %TPA entre o grupos de animais sedentários (SEDjovem/SEDadulto) em relação aos nadadores (NDAjovem/NADadulto).

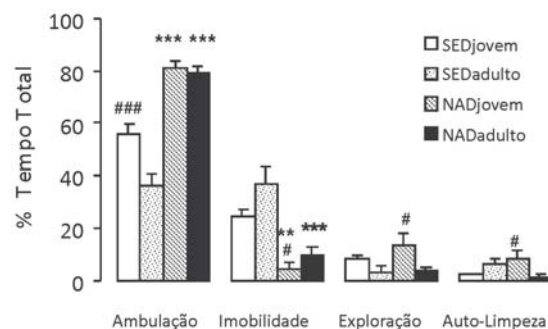
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

(Chaouloff, 1994; Dishman et al., 1996; Burghardt et al., 2004), mas nenhuma relaciona a idade de camundongos com a natação. Nossos estudos experimentais procuraram avaliar como o exercício de natação, com baixa intensidade e longa duração, interfere nas respostas comportamentais de camundongos jovens e adultos, quando submetidos a modelos animais de ansiedade, como o labirinto em cruz elevado e o campo aberto.

Comparando camundongos sedentários jovens e adultos com outros da mesma idade, submetidos ao nosso protocolo de treinamento, observou-se que os animais treinados permaneceram maior período de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (FIGURA 1). O tempo gasto nos braços abertos frequentemente tem sido utilizado como medida de índice de ansiedade (Pellow et al., 1985; CRUZ; CAROBREZ, 2006). Esses resultados indicam que os camundongos nadadores possuem maior capacidade de lidar com situações aversivas, o que conduz a uma redução do nível de ansiedade.

Os efeitos comportamentais do exercício de natação nos camundongos submetidos ao campo aberto também demonstraram uma redução nos níveis de ansiedade, com aumento nas porcentagens dos tempos de ambulação e uma redução na imobilidade (FIGURA 2). Nos testes comportamentais em campo aberto, os baixos níveis de locomoção e os elevados níveis de imobilidade são descritos como estado de hipervigilância, excitação e medo, com respostas autonômicas semelhante às observadas na ansiedade humana (Royce, 1977; Stock et al., 2001). Alguns estudos demonstram que camundongos, quando submetidos a exercício voluntário ou atividade física de longa duração, diminuem os níveis de ansiedade se submetidos ao labirinto em cruz eleva-

Figura 2 - Comportamento de camundongos sedentários jovens e adultos (SEDjovem/SEDadulto) submetidos a 8 semanas de natação (NDAjovem/NADadulto) no campo aberto.



Notas: os camundongos nadadores aumentaram a porcentagem de ambulação e diminuíram a imobilidade quando comparados com os animais sedentários; o SEDjovem apresenta um tempo maior de ambulação que o SEDadulto, mas não ocorrem diferenças entre o NADjovem e o NADadulto; o NADjovem apresenta um período de imobilidade menor que o NADadulto e uma maior capacidade de exploração e autolimpeza; linhas verticais representam o erro padrão da média e as barras a média dos grupos de camundongos; $n = 10$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, # $p < 0,05$, ### $p < 0,001$, teste de Newman-Keuls.

do e ao campo aberto (Dishman et al., 1996; Binder et al., 2004; Pietropaolo et al., 2006; Duman et al., 2008).

Os resultados demonstram que os camundongos mais jovens são menos ansiosos, apresentando maior capacidade de ambulação quando submetidos ao campo aberto, não diferindo dos adultos quando submetidos a um exercício crônico de natação. Porém o treinamento diminui a imobilidade e aumenta a capacidade exploratória e de autolimpeza em relação aos camundongos mais velhos (FIGURA 2). Durante o envelhecimento, muitas funções cerebrais ficam alteradas, sendo uma delas o aumento da ansiedade (Boguszewski; Zagrodzka, 2002). As medidas que refletem melhoria na atividade motora diminuem de forma significativa com a idade em ratos submetidos ao campo aberto e mostram uma diminuição na porcentagem de permanência e entradas nos braços abertos no labirinto em cruz elevado, indicando um maior nível de ansiedade (Boguszewski; Zagrodzka, 2002), possivelmente, como observado em ratos, devido a um aumento da "resistência" e (ou) redução na densidade de receptores GABAA durante o envelhecimento (BESSA et al., 2005).

Entretanto, camundongos C57BL/6J de 5 e 25 meses apresentaram a mesma capacidade exploratória, quando submetidos ao labirinto em cruz elevado, dos animais de 17 meses, apresentando uma capacidade exploratória maior que a dessas duas faixas etárias (Frick et al., 2000). Nossos resultados demonstram que camundongos sedentários com 3 e 4 meses não diferem na capacidade exploratória em campo aberto, mas animais de 3 meses, submetidos ao treinamento de natação, melhoraram a performance exploratória, demonstrando a influência do exercício sobre a ontogenia do cére-

bro e o comportamento. A capacidade exploratória em relação ao tipo de atividade física realizada foi descrita por Leasure e Jones (2008). Eles observaram que, no exercício voluntário, o comportamento exploratório é caracterizado por ritmos rápidos e de pequena duração, enquanto que, no exercício forçado, o ritmo é lento e consistente, realizado por longos períodos de tempo. Nossos resultados apoiam esses achados, mas sugerem que o comportamento exploratório não ocorre em todas as faixas etárias de camundongos, quando eles são submetidos ao exercício crônico de natação.

Essas observações demonstram que o desenvolvimento modifica a estratégia exploratória e o grau de ansiedade em camundongos, sugerindo um deslocamento quantitativo que associa idade e comportamento, pois ocorrem várias modificações neuroquímicas com um limite de transição dentre as várias faixas etárias.

CONCLUSÃO

Nossos dados demonstram a importância do treinamento de natação de longa duração e baixa intensidade na diminuição da ansiedade de camundongos. Esses resultados reforçam a importância da atividade física como instrumento terapêutico complementar na ansiedade, devido a seus efeitos emotivos benéficos em qualquer idade.

REFERÊNCIAS

1. BESSA, J.M. et al. Age-related qualitative shift in emotional behaviours: paradoxical after re-exposure of rats in the elevated-plus maze. **Behav. Brain Res.**, Amsterdam, v.162, n.1, p.135-142, 2005.
2. Binder, E. et al. Regular voluntary exercise reduces anxiety-related behaviour and impulsiveness in mice. **Behav. Brain Res.**, Amsterdam, v.155, n.2, p.197-206, 2004.
3. Boguszewski, P.; Zagrodzka, J. Emotional changes related to age in rats: a behavioral analysis. **Behav. Brain Res.**, Amsterdam, v.133, n.2, p.323-332, 2002.
4. Boguszewski, P.; Zagrodzka, J. Expression of c-Fos in response to stressogenic stimuli in the amygdala of old vs. young rats a preliminary study. **Acta Neurobiol. Exp.**, Warsaw, v.65, n.2, p.191-194, 2005.
5. Broadhurst, P.L. **Experiments in psychogenetics**. In: EISENK, H.J. Experiments in personality. London: Routledge and Kegan Paul, 1960. p.31-71.
6. Broocks, A. et al. 5-HT1A responsivity in patients with panic disorder before and after treatment with aerobic exercise, clomipramine or placebo. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, Amsterdam, v.13, n.3, p.153-164, 2003.
7. Burghardt, P.R. et al. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. **Brain Res.**, Amsterdam, v.1019, n.1/2, p.84-96, 2004.
8. Chaouloff, F. Influence of physical exercise on 5-HT1A receptor- and anxiety-related behaviours. **Neurosci. Lett.**, Limerick, v.176, n.2, p.226-230, 1994.
9. CRUZ, J.G.P.; CAROBREZ, A.P. Anxiolytic effect of spermine microinjected into the dorsal periaqueductal grey in rats. **Acta. Scient. Health Sci.**, Maringá, v.28, n.1, p.43-47, 2006.
10. Dishman, R.K. et al. Increased open field locomotion and decreased striatal GABAA binding after activity wheel running. **Physiol. Behav.**, New York, v.60, n.3, p.699-705, 1996.
11. Duman, C.H. et al. Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. **Brain Res.**, Amsterdam, v.1199, n.1, p.148-158, 2008.
12. Dwyer, D.; Browning, J. Endurance training in Wistar rats decreases receptor sensitivity to a serotonin agonist. **Acta Physiol. Scand.**, Oxford, v.170, n.3, p.211-216, 2000.
13. Ferrandez, M.D.; De La Fuente, M. Effects of age, sex and physical exercise on the phagocytic process of murine peritoneal macrophages. **Acta Physiol. Scand.**, Oxford, v.166, n.1, p.47-53, 1999.
14. Frick, K.M. et al. Reference memory, anxiety and estrous cyclicity in C57BL/6NIA mice are affected by age and sex. **Neuroscience**, Oxford, v.95, n.1, p.293-307, 2000.
15. Hariri, A.R.; HoLMes, A. Genetics of emotional regulation: the role of the serotonin transporter in neural function. **Trends Cogn. Sci.**, Kidlington, v.10, n.4, p.182-191, 2006.
16. Hefner, K.; Holmes, A. Ontogeny of fear-, anxiety- and depression-related behavior across adolescence in C57BL/6J mice. **Behav. Brain Res.**, Amsterdam, v.176, n.2, p.210-215, 2007.
17. HOFFMANN, P.; THORÉN, P.; ELY, D. Effect of voluntary exercise on open-field behavior and on aggression in the spontaneously hypertensive rat (SHR). **Behav. Neural Biol.**, New York, v.47, n.3, p.346-355, 1987.
18. Leasure, J.L.; Jones, M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. **Neuroscience**, Oxford, v.156, n.3, p.456-465, 2008.
19. Lenroot, R.K.; Giedd, J.N. Brain development in children and adolescents: insights from anatomical magnetic resonance imaging. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, New York, v.30, n.6, p.718-729, 2006.
20. Martinsen, E.W.; Raglin, J.S. Themed review: anxiety/depression: lifestyle medicine approaches. **Am. J. Lifestyle Med.**, Thousand Oak, v.1, n.3, p.159-166, 2007.
21. Meeusen, R. et al. Effects of tryptophan and/or acute running on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in the hippocampus of food-deprived rats. **Brain Res.**, Amsterdam, v.740, n.1-2, p.245-252, 1996.
22. Pellow, S. et al. Validation of open-closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J. Neurosci. Methods**, Amsterdam, v.24, n.3, p.525-529, 1985.
23. Pietropaolo, S. et al. The role of voluntary exercise in enriched rearing: a behavioral analysis. **Behav. Neurosci.**, Washington, DC, v.120, n.4, p.787-803, 2006.
24. Royce, J.R. On the construct validity of open-field measures. **Psychol. Bull.**, Washington, DC, v.84, n.6, p.1098-1106, 1977.
25. Stock, H.S. et al. Changes in defensive behaviors following olfactory bulbectomy in male and female rats. **Brain Res.**, Amsterdam, v.903, n.1, p.242-246, 2001.
26. Yasuhara, T. et al. Lack of exercise, via hindlimb suspension, impedes endogenous neurogenesis. **Neuroscience**, Oxford, v.140, n.1, p.182-191, 2007.