

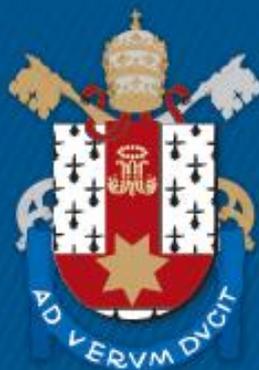
ESCOLA DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA  
MESTRADO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

ANUSKA SCHIAVO

**O COMPORTAMENTO ANSIOSO E A MEMÓRIA ESPACIAL SÃO CAPAZES DE PREDIZER  
A CAPACIDADE NATURAL DE ADAPTAÇÃO DA MARCHA EM CAMUNDONGOS? UM  
ESTUDO EXPLORATÓRIO**

Porto Alegre  
2021

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica  
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

ANIUSKA SCHIAVO

**O COMPORTAMENTO ANSIOSO E A MEMÓRIA ESPACIAL SÃO CAPAZES DE  
PREDIZER A CAPACIDADE NATURAL DE ADAPTAÇÃO DA MARCHA EM  
CAMUNDONGOS? UM ESTUDO EXPLORATÓRIO**

ORIENTADOR: DR. RÉGIS GEMERASCA MESTRINER

PORTO ALEGRE

2021

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

ANUSKA SCHIAVO

**O COMPORTAMENTO ANSIOSO E A MEMÓRIA ESPACIAL SÃO CAPAZES DE  
PREDIZER A CAPACIDADE NATURAL DE ADAPTAÇÃO DA MARCHA EM  
CAMUNDONGOS? UM ESTUDO EXPLORATÓRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da Escola de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como requisito parcial obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Gerontologia Biomédica.

ORIENTADOR: DR. RÉGIS GEMERASCA MESTRINER

PORTO ALEGRE

2021

## Ficha Catalográfica

S329c Schiavo, Aniuska

O comportamento ansioso e a memória espacial são capazes de prever a capacidade natural de adaptação da marcha em camundongos? : um estudo exploratório / Aniuska Schiavo. – 2021.

93 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Régis Gemerasca Mestriner.

1. Adaptabilidade da marcha. 2. Marcha. 3. Controle motor. 4. Camundongos. I. Mestriner, Régis Gemerasca. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecária responsável: Clarissa Jesinska Selbach CRB-10/2051

Dedico esta dissertação aos meus pais,  
que tanto me apoiaram e  
incentivaram o meu crescimento  
profissional.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família pelo amor, apoio e confiança. Especialmente aos meus pais, Rozi Schiavo e Sergio Schiavo, que me inspiram a dar o meu melhor e me apoiam em cada decisão.

Ao professor Doutor Régis Gemerasca Mestriner por abrir as portas do seu grupo de pesquisa antes mesmo de me conhecer. Agradeço pela oportunidade de aprendizado, pelos conhecimentos compartilhados e disposição do seu tempo. Sua paixão pelo ensino e pesquisa é inspiradora!

A minha orientadora da graduação, Eléia de Macedo, que me incentivou a realizar o mestrado na PUCRS.

Aos professores e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da PUCRS pela competência e dedicação.

Ao colega e amigo Lucas Athaydes Martins pela ajuda e paciência com os experimentos.

As colegas Anelise Ineu Figueiredo e Eliana da Silva Jaques pelos conselhos e amizade.

Aos colegas do grupo de pesquisa NEUROPLAR pelo companheirismo, apoio e disponibilidade durante todo o processo.

As meus colegas do Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, por acreditarem na minha voz e pelos momentos que compartilhamos juntos. Desejo a todos muito sucesso.

Aos professores que contribuíram na banca de qualificação e aos professores que aceitaram fazer parte da comissão examinadora. Suas contribuições ajudam a enriquecerem meus conhecimentos e a contribuir com esta dissertação.

À PUCRS, ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica e ao CNPq por me proporcionar excelente infraestrutura e bolsa para o desenvolvimento da minha pesquisa durante o mestrado.

ANIUSKA SCHIAVO

**O COMPORTAMENTO ANSIOSO E A MEMÓRIA ESPACIAL SÃO CAPAZES DE  
PREDIZER A CAPACIDADE NATURAL DE ADAPTAÇÃO DA MARCHA EM  
CAMUNDONGOS? UM ESTUDO EXPLORATÓRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da Escola de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como requisito parcial obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Gerontologia Biomédica.

Linha de pesquisa: Aspectos Clínicos e Emocionais no Envelhecimento

Aprovado em: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA:**

\_\_\_\_\_  
Dr. Régis Gemerasca Mestriner - PUCRS (orientador)

\_\_\_\_\_  
Dra. Cristiane Regina Guerino Furini - PUCRS

\_\_\_\_\_  
Dr. Carlos Alexandre Netto - UFRGS

Porto Alegre

2021

## RESUMO

A adaptação da marcha aos diferentes contextos ambientais é uma função sensório-motora crítica para uma locomoção funcional. Este estudo visa estudar a variabilidade natural da adaptação da marcha em camundongos Balb/cJ, bem como a capacidade preditiva que métricas de memória espacial e de símile de ansiedade podem ter sobre o desempenho de adaptação da marcha. Utilizou-se 60 camundongos (machos  $n=28$  e fêmeas  $n=32$ ) adultos e uma bateria de testes comportamentais que visaram avaliar os níveis de exploração (*Open Field*), o comportamento símile de ansiedade (*Elevated Plus Maze*), a memória espacial (*Y-Maze* e *Barnes Maze*) e a adaptabilidade da marcha (*Ladder Rung Walking Test - LRWT*). Este estudo é parte de um projeto aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da PUCRS (8955). Os animais foram divididos em três grupos, com base nos desempenho no LRWT - *superior* (SP, percentis  $\geq 75$ ), *regular* (RP, percentis 74 ao 26) e *inferior* (IP, percentis  $\leq 25$ ) *performers*. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Dados paramétricos foram analisados pela análise de variância de uma via e pelo *post-hoc* de Tukey. Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram empregados para comparações entre grupos para as variáveis não-paramétricas. Potenciais correlações foram estudadas pelo teste de Spearman. Comparamos fêmeas e machos e verificamos a inexistência de diferenças significativas quanto ao desempenho nos testes comportamentais. Observou-se diferença significativa quanto ao tempo de exploração nos braços fechados do EPM. Os animais dos grupos SP e IP dispenderam mais tempo nestes braços do teste em comparação ao RP, enquanto nenhuma diferença foi observada entre os grupos SP e IP. Uma tendência de significância entre os grupos foi observada no Y-Maze. Nenhuma diferença entre os grupos foi encontrada nos testes Open Field e Barnes Maze. As regressões de Poisson revelaram que a cada segundo a mais dispendido nos braços fechados do EPM, a probabilidade do animal exibir percentis extremos no LRWT aumentava 0,3%. Além disso, aqueles que permaneceram 219 segundos ou mais nesses braços tinham 39% de probabilidade de exibir um comportamento extremo. Sugere-se, assim, que um traço comportamental ansioso possui um efeito dual sobre a capacidade de adaptação da marcha. Mais estudos são necessários para entender melhor como os mecanismos cognitivo-motores interagem com limite de normalidade de ansiedade para influenciar o sucesso na adaptação da marcha.

**Palavras-chave:** Adaptabilidade da marcha. Marcha. Controle motor. Camundongos.

## ABSTRACT

Adapt walking to different environmental contexts is a critical sensorimotor skill for functional locomotion. This study aims to study the natural variability of the ability to adapt walking in Balb/cJ mice, as well as the predictive capacity of spatial memory and anxiety-like behavior metrics on the performance of walking adaptability. We used 60 adult mice (males  $n = 28$  and females  $n = 32$ ) and a battery of behavioral tests that aimed to assess general locomotor exploration levels (Open Field), anxiety-like behavior (Elevated Plus Maze), spatial memory (Y-Maze and Barnes Maze) and walking adaptability (Ladder Rung Walking Test - LRWT). This study is part of a project approved by the Ethics Committee on Animal Use at PUCRS (8955). The animals were divided into three groups, based on their LRWT performance: superior (SP, percentiles  $\geq 75$ ), regular (RP, percentiles 74 to 26) and inferior (IP, percentiles  $\leq 25$ ) performers. Data normality was assessed by the Kolmogorov-Smirnov test. Parametric data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's post-hoc. Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests were used for comparisons between groups for non-parametric variables. Potential correlations were studied using the Spearman test. We compared females and males and no significant differences were found in the behavioral tests. A significant difference was observed regarding the exploration time in the EPM closed arms. Animals from the SP and IP groups spent more time in these arms compared to the RP group, while no difference was observed between the SP and IP groups. A between-group trend towards significance was observed in the Y-Maze. No between-group differences were found in the Open Field and Barnes Maze tests. The Poisson regressions revealed that with every second spent in the EPM closed arms, the probability of the animal exhibiting extreme percentiles in the LRWT increased by 0.3%. Moreover, those that spent 219 seconds or more in those arms were 39% more likely to exhibit extreme walking performance. It is suggested, therefore, that an anxiety-like behavioral trait has a dual effect on the ability to adapt to walk. Further studies are needed to better understand how cognitive-motor mechanisms interact with the normal range of anxiety to influence success in adapting walking.

**Key words:** Gait adaptability. Gait. Motor control. Mice.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>15</b>
2.1 Envelhecimento e Funcionalidade .....	15
2.2 Marcha, Locomoção e Mobilidade Funcional .....	17
2.3 Memória Espacial e Comportamento Motor .....	20
2.4 Ansiedade e comportamento motor .....	21
2.5 Adaptabilidade da Marcha .....	23
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>27</b>
3.1 Objetivo Geral .....	27
3.2 Objetivos Específicos .....	27
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
4.1 ANIMAIS .....	28
4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS .....	29
4.2.1 Campo aberto (Open Field) .....	29
4.2.2 Labirinto em cruz elevado (Elevated Plus Maze) .....	29
4.2.3 Labirinto em Y (Y-Maze) .....	30
4.2.4 Teste da Escada Horizontal (Ladder Rung Walking Test) .....	31
4.2.5 Labirinto de Barnes (Barnes Maze) .....	33
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
<b>5 ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	<b>35</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>75</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>76</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>77</b>
<b>ANEXO A - Aprovação da comissão científica</b> .....	<b>91</b>
<b>ANEXO B - Aprovação do CEUA</b> .....	<b>92</b>
<b>ANEXO C - Comprovante de submissão</b> .....	<b>93</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O ato de caminhar, um processo que exige equilíbrio e marcha, é uma habilidade motora obtida por movimentos coordenados dos segmentos corporais, utilizando de uma interação entre fatores internos e externos, através do processo de aprendizado que adapta/treina o sistema neuromusculoesquelético para comandar o corpo (MANDAL et al., 2018; MIRELMAN et al., 2018). A marcha normal é estável e flexível, permitindo mudanças de velocidade e ajustes em diferentes terrenos, enquanto mantém a eficiência energética da locomoção (MIRELMAN et al., 2018). Tal habilidade, adquirida por crianças em seus primeiros anos de vida, envolve o início e término de movimentos locomotores em direção a um destino (MANDAL et al., 2018). Portanto, a capacidade de adaptar a marcha pode ser definida como a manutenção do equilíbrio durante a progressão e a capacidade de adaptação para atender a quaisquer alterações no meio ambiente que interfiram no processo de locomoção (BALASUBRAMANIAN; CLARK; FOX, 2014; MANDAL et al., 2018).

Neste contexto, sabe-se que os padrões de marcha são distintos e variam de acordo com as mudanças estruturais e musculares, muitas delas relacionadas com o processo de envelhecimento. Assim, para distinguir uma marcha saudável de uma marcha patológica, é necessário observar os padrões de caminhada conforme a idade do sujeito (MANDAL et al., 2018). Nos seres humanos, o processo de envelhecimento é frequentemente acompanhado por um declínio na velocidade da marcha, o qual deve-se a diminuição do comprimento do passo (parâmetro espacial). Já em ratos machos existe uma cadência diminuída (parâmetro temporal). Tais dados se tornam mais evidentes quando os mamíferos em questão atingem idade superior a 65% de sua expectativa de vida (BAIR et al., 2019). Além disso, sabe-se que o padrão de caminhada pode ser investigado pelos parâmetros espaço-temporais modificados ao longo do envelhecimento (AYOUBI et al., 2015; MORTAZA; AZUAN ABU OSMAN; MEHDIKHANI, 2014). Desse modo, a associação entre a orientação temporal e espacial podem ter influência sobre a marcha (SHIMADA et al., 2013).

Durante muito tempo a marcha foi vista como um processo puramente automático, envolvendo pouca ou nenhuma influência cognitiva. No entanto, estudos demonstram que a adaptação da marcha em caminhadas típicas também é controlada por processos cognitivos, os quais envolvem uma complexa rede neural que incorpora informações sensoriais gerais e especiais, com destaque para a visão, que permitem

adaptar a caminhada, tanto em circunstâncias desafiadoras quanto em situações ordinárias da vida cotidiana (SHERIDAN; HAUSDORFF, 2007; YOGEV-SELIGMANN; HAUSDORFF; GILADI, 2008).

Com a evolução humana para bipedalismo e o desenvolvimento do neocórtex pode se argumentar que a motricidade e a cognição estão funcionalmente conectadas. Alguns cientistas defendem, inclusive, que a necessidade de realizarmos movimentos com sentido funcional para atender às constantes mudanças nos contextos ambientais em que estamos inseridos foi uma das principais forças motrizes para a evolução do neocórtex (WOLPERT; GHARAMANI, 2000; WOLPERT; GHARAMANI; JORDAN, 1995). Além disso, diversas regiões cerebrais compartilham o controle de funções cognitivas e motoras, tais como o lobo frontal, o cerebelo e os núcleos da base. Estas estruturas interagem de forma conjunta para exercer o controle sobre função executiva e intencionalidade de movimentos que exigem antecipação e previsibilidade (LOTAN et al., 2016).

Evidências demonstraram que a memória espacial está relacionada com uma melhor capacidade de adaptação motora em adultos jovens (LANGAN; SEIDLER, 2011). Outros estudos corroboram com a premissa de que a cognição contribui para a maior capacidade de adaptação sensório-motora (EVERSHEIM; BOCK, 2001; TAYLOR; THOROUGHMAN, 2007, 2008). Existem vários paradigmas comportamentais que são utilizados frequentemente em modelos murinos para que seja possível o estudo da aprendizagem, memória espacial e função motora (NGUYEN, 2006). Por exemplo, um recente estudo propôs que animais envelhecidos demonstram uma pior capacidade de executar tarefas cognitivo-motoras que exigem da memória espacial em comparação com seus pares mais jovens (HERNANDEZ et al., 2020).

De modo paralelo, sabe-se que uma leve restrição alimentar eleva os níveis similares de ansiedade em roedores e reduz a precisão e acurácia durante a realização de movimentos de alcance e preensão que são requeridos para que o animal acesse um dado alimento (SMITH; METZ, 2005). Além disso, o estresse crônico pode ter relação com a ansiedade e induzir tanto hiperatividade quanto hipoatividade em alguns animais (HEIDERSTADT et al., 2000; PARÉ; TEJANI-BUTT; KLUCZYNSKI, 2001). Assim, pode-se afirmar que o comportamento ansioso gerado por diferentes *inputs* induz mudanças no comportamento motor. Entretanto, não se sabe como a presença de um traço ansioso, dentro dos limites de normalidade, pode impactar na

capacidade de adaptação da marcha. De qualquer modo, sabe-se que os animais que exibem um maior traço de comportamento símile de ansiedade tendem a se aventurar menos no centro do campo aberto quando comparados aos seus pares mais ousados, bem como tendem a se locomover menos e defecar mais durante um teste de locomoção espontânea (GREGUS et al., 2005; ROTH; KATZ, 1979).

Embora a grande maioria dos estudos encontrados na literatura que contemplam a adaptabilidade da marcha foquem em aspectos biomecânicos de humanos (DUCHARME et al., 2018; HAWKINS et al., 2017), estudos experimentais proporcionam informações interessantes sobre a neurobiologia do fenômeno, em níveis celular e molecular (MESTRINER et al., 2013; WEARICK-SILVA et al., 2019). Por exemplo, Metz e Wishaw (2002, 2009) avaliaram a adaptabilidade da marcha em lesões isquêmicas unilaterais no córtex motor por meio do teste da escada horizontal (LRWT), assim como o estudo de Medeiros *et al.* (2018) e Wearick-Silva *et al.* (2019), que avaliaram tal adaptabilidade em contextos estressores. Contudo, até o presente momento, a literatura carece de informações sobre os determinantes naturais da variabilidade da marcha.

Desta maneira, o presente estudo, além de mapear a variabilidade natural da capacidade de adaptação da marcha em camundongos, visa testar se o comportamento símile de ansiedade e a memória espacial podem ser preditores comportamentais desta capacidade de adaptação da marcha. Tal conhecimento pode ser útil para melhor compreendermos a neurobiologia do comportamento motor e das quedas de própria altura que resultam de falhas na capacidade de adaptação da marcha.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Nesta sessão será apresentada a fundamentação teórica que suporta a investigação do tema da presente dissertação.

### 2.1 Envelhecimento e Funcionalidade

O envelhecimento progressivo da população adulta é uma das mudanças mais significativas que está ocorrendo na sociedade. Tal fenômeno surge do efeito da diminuição da fertilidade e aumento da longevidade. Estima-se que em 2050 os idosos serão a população mais abundante no mundo e o Brasil se tornará o sexto país com mais pessoas idosas (GUTIÉRREZ; TOMÁS; CALATAYUD, 2018; RAMOS et al., 2016). Acredita-se que os avanços na saúde tenham contribuído para o aumento da expectativa de vida, incluindo o controle e redução de doenças infecciosas, melhores hábitos alimentares, a cessação do tabagismo, dentre outros aspectos (BUNKER, 2001; MALIK; HOENIG, 2019). Contudo, o envelhecimento saudável depende de muitos fatores. E existe uma preocupação que envolve a senescência, senilidade e qualidade de vida de indivíduos que estão alcançando maior longevidade (COSCO; HOWSE; BRAYNE, 2017; SANTOS; TRAVENSOLO, 2011).

Sabe-se que o envelhecer é um processo natural, dinâmico e gradativo, mas que possui um caráter heterogêneo e sofre variações de acordo com a carga genética e com as experiências vividas ao longo da vida quanto ao funcionamento físico, social e psicológico. Além disso, os declínios funcionais que costumam acompanhar o envelhecimento muitas vezes levam à fragilidade e multimorbidade (COSCO et al., 2014; COSCO; HOWSE; BRAYNE, 2017; ESQUENAZI; DA SILVA; GUIMARÃES, 2014). Neste contexto, o avanço da idade ainda é o maior preditor de deficiência funcional. Indivíduos idosos estão mais propensos a sofrer adversidades, seja no declínio das capacidades físicas ou cognitivas, mas também experimentar a perda de entes queridos com maior frequência e a diminuição dos níveis de interação social (BALTES; FREUND; LI, 2009; COSCO; HOWSE; BRAYNE, 2017).

Durante o envelhecer, alterações podem ser observadas em diferentes domínios. Por exemplo, no sistema cardiovascular e pulmonar podem ocorrer modificações anatômicas, maior propensão a formação de placas ateroscleróticas, aumento da pressão arterial sistólica e diminuição da função pulmonar (HORN;

TRAFFORD, 2016; OBAS; VASAN, 2018; SGARBIERI; PACHECO, 2017; STERN et al., 2019). Tais alterações, embora consideradas comuns no curso do envelhecimento, devem ser mitigadas dentro do possível. De qualquer maneira, sabe-se que o envelhecimento acarreta na diminuição das fibras musculares do tipo II e no número de unidades motoras recrutadas, que causam a hipotrofia/atrofia muscular com conseqüente perda de força, diminuição da capacidade funcional, instabilidade postural e redução das amplitudes de movimento (GOMES et al., 2017; JOSEPH; ADHIHETTY; LEEUWENBURGH, 2016).

Ademais, diversas mudanças ocorrem em estruturas cerebrais, podendo envolver a perda de neurônios e a atrofia cerebral, que levam a redução de funcionalidade e afetam a performance cognitivo-motora do indivíduo (ALJONDI et al., 2019; BLAZER; YAFFE; LIVERMAN, 2015). Por exemplo, a atenção, velocidade de processamento, memória, funções executivas e coordenação motora são frequentemente impactadas pelo envelhecimento (DUMAS, 2015; MATTSON; ARUMUGAM, 2018). Não obstante, alguns sistemas, tais como o somatossensorial, visual e vestibular devem se manter íntegros para que o indivíduo tenha boa estabilidade para locomover-se, evitando a ocorrência de quedas (GAI et al., 2010; ROSINI DA SILVA et al., 2014).

Embora a expectativa de vida tenha aumentado, as pessoas não estão necessariamente vivendo de forma saudável e com mais qualidade (VEIGA et al., 2016). A literatura já demonstrou diversas teorias sobre o envelhecimento saudável. Inicialmente, imaginava-se o indivíduo livre de doenças e/ou deficiências, mas, aos poucos, optou-se pelo envelhecimento bem sucedido, o qual está relacionado com um bom funcionamento físico, psicológico, social e de lazer em detrimento da completa ausência de doenças. Tal conceito passou por mudanças ao longo dos anos, mas podemos considerá-lo como uma definição teórica que inclui várias dimensões do envelhecimento, com foco na funcionalidade e realização do indivíduo (BALTES; FREUND; LI, 2009; GUTIÉRREZ; TOMÁS; CALATAYUD, 2018). Não obstante, o estilo de vida adotado pelo indivíduo afeta diretamente o seu processo de envelhecimento, assim como a exposição a riscos biológicos e socioeconômicos (LADEIRA GARBACCIO et al., 2017).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (2015), para compreender o envelhecimento de cada indivíduo devemos levar em consideração duas grandes premissas. A primeira refere-se à capacidade física e mental e a outra o ambiente e

sua interação com o meio. Tais fatos podem fornecer recursos ou barreiras que determinarão o nível funcional do idoso. Portanto, uma pessoa com limitação de marcha, pode ser funcional se tiver acesso a uma bengala canadense, por exemplo. Essa combinação de fatores intrínsecos (físico e mental) com o ambiente e a interação é que determinam a sua capacidade funcional.

Por fim, o envelhecimento bem sucedido não deve ser compreendido como um nível ou limiar de funcionamento ou de saúde, mas como um processo que permanece relevante a cada idoso, uma vez que cada indivíduo tem diferentes experiências ao longo do envelhecimento (BARBOSA et al., 2005; ELISABETH et al., 2017; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015; XAVIER et al., 2003). De qualquer modo, entender como a capacidade de adaptação da marcha impacta na vida do idoso é um dos fatores que pode contribuir para o estabelecimento de estratégias que melhorem a qualidade de vida do idoso.

## 2.2 Marcha, Locomoção e Mobilidade Funcional

Caminhar é um comportamento motor altamente especializado e que inclui a capacidade de gerar passos, manter o equilíbrio postural e ajustar a caminhada a contextos específicos, de modo a atender as demandas ambientais e os objetivos do indivíduo que deflagraram a necessidade de movimento (BALASUBRAMANIAN; CLARK; FOX, 2014; GEERSE et al., 2018; HOUDIJK et al., 2012). Tal habilidade motora se desenvolve através de um processo de aprendizado e prática motora. Como resultado, a caminhada madura é uma tradução suave do corpo, com um padrão de pisada automático, reproduzível e integrado às posturas e fases da marcha, adaptável às mudanças de condição e eficiente em seu desempenho (BLAND et al., 2019; VANSWEARINGEN; STUDENSKI, 2014).

Existem dois fatores fundamentais a serem considerados na habilidade de adaptação da marcha: o equilíbrio e a locomoção. O equilíbrio é a capacidade de assumir uma postura ereta e manter-se nela. O seu controle envolve várias modalidades sensoriais, incluindo a percepção visual do movimento. O processo de controle motor deve ser capaz de integrar os sinais visuais, vestibulares e somáticos de maneira adequada para manter o controle do equilíbrio (SAFTARI; KWON, 2018). Já a locomoção é a habilidade de iniciar e manter passos rítmicos. O caminhar é uma função básica do ser humano e pode ser estudada de forma biomecânica, avaliando o

ciclo da marcha. O ciclo da marcha é uma combinação de etapas e balanços dos membros inferiores e é descrito a partir do momento em que um pé encosta no solo até que o mesmo pé volte ao solo. Conforme o ciclo se repete, chamamos de passo a distância entre o apoio de um pé, até a colocação do pé contrário ao solo e passada a distância entre o apoio de um pé, até seu próximo toque ao solo (CRUZ-JIMENEZ, 2017).

Embora o caminhar já tenha sido considerado uma tarefa motora puramente automatizada, tal hipótese vem sendo revista pela sua superficialidade e pelo excesso de simplificação (HAUSDORFF et al., 2005; YOGEV-SELIGMANN; HAUSDORFF; GILADI, 2008). Caminhar em condições reais (terrenos irregulares, obstáculos e afins) requer atenção a características ambientais para evitar tropeços e quedas através da adaptabilidade da marcha e da postura. Déficits na atenção e de função executiva estão associados ao risco de instabilidade nas atividades do dia a dia, o que inclui o processo de adaptação da marcha (YOGEV-SELIGMANN; HAUSDORFF; GILADI, 2008). A complexidade de algumas tarefas cognitivo-motoras demandam um alto nível de processamento cognitivo e de controle motor, o qual é modulado por fatores ambientais e sensoriais (BEAUCHET et al., 2008). Controlada por uma complexa rede neural, a marcha corticalizada demanda um importante processamento cognitivo. A função cognitiva e de controle motor são necessários principalmente na caminhada em condições de alta complexidade, como em terrenos irregulares e na presença obstáculos variáveis (MIRELMAN et al., 2018). Sugere-se, portanto, que as funções cognitivas podem estar relacionadas com o aumento de risco de quedas (SAFTARI; KWON, 2018).

O ato de caminhar no dia a dia geralmente é realizado em conjunto com diversas tarefas que demandam de funções cognitivas, em cenários de dupla tarefa. Essas tarefas geralmente exigem componentes espaço-temporais não lineares no processo de deslocamento (CHOI; SHIN, 2017; HERNANDEZ et al., 2020). Assim, sabe-se que a realização de atividades cognitivo-motoras em idosos pode aumentar o risco de quedas, visto que a dupla tarefa tende a gerar descoordenação e desaceleração dos movimentos (ASAI et al., 2020).

Visto isso, o conceito de mobilidade funcional nos fornece uma perspectiva global e funcional das condições de saúde desses indivíduos. Define-se a mobilidade funcional como a capacidade fisiológica de se movimentar independentemente, com segurança, em diferentes contextos e ambientes com finalidade de realizar atividades

ou tarefas funcionais e participar de AVD's, em casa, no trabalho e na comunidade (FORHAN; GILL, 2013). Portanto, a mobilidade é essencial para o sustento de um envelhecimento saudável com qualidade de vida (SOUBRA; CHKEIR; NOVELLA, 2019; WEBBER; PORTER; MENECA, 2010). Um estudo de coorte com 1.128 pessoas com idade entre 60 e 96 anos, demonstrou associação entre a mobilidade do idoso e a qualidade de vida (Health-Related Quality of Life (HRQoL)). Os resultados sugeriram que a habilidade de caminhar pode levar a mudanças físicas e mentais a partir do HRQoL (FAGERSTRÖM; BORGLIN, 2010). Tais achados corroboram com estudos que observaram alterações ósseas, articulares, musculares e neurológicas como fatores que resultam nas deficiências de mobilidade funcional (RANTAKOKKO; MÄNTY; RANTANEN, 2013). Déficits de locomoção e de mobilidade geram sequelas físicas, cognitivas e sociais, elevando as chances de institucionalização, aumento das internações hospitalares, depressão e isolamento do idoso (SOARES MENEZES et al., 2017; WEBBER; PORTER; MENECA, 2010).

As diversas mudanças no feedback proprioceptivo, na perda de força muscular, na velocidade de marcha, comprimento do passo e largura da passada estão associadas com a deterioração de regiões corticais e dos núcleos da base (ABOUTORABI et al., 2016; CRUZ-JIMENEZ, 2017; HERSSSENS et al., 2018). Tais alterações implicam na mobilidade funcional e modificam o padrão de marcha, gerando uma menor estabilidade, perda de equilíbrio, aumento no risco de quedas e perda de independência (ABOUTORABI et al., 2016; HERSSSENS et al., 2018; LEBRASSEUR, 2019). Consequentemente, pessoas mais idosas e com pior equilíbrio e marcha acabam por apresentar baixos níveis de atividade física, redução da independência e pior qualidade de vida (LORD; DELBAERE; STURNIEKS, 2018).

Contudo, a literatura relata que devido às adaptação de mudanças fisiológicas acarretadas pelo envelhecimento, idosos buscam estratégias compensatórias para aumentar a estabilidade do corpo e prevenir quedas (PAVOL et al., 1999). Diante disso, idosos tendem a desenvolver uma marcha cautelosa, caracterizada pela redução de velocidade, do comprimento de passada e aumento da largura do passo (NUTT, 2001). De acordo com Abellan Van Kan *et al.* (2009), a velocidade da marcha é considerada um preditor de saúde, uma vez que é um indicador que reflete a saúde e o estado funcional de idosos. Um estudo de coorte de cinco décadas com 904 indivíduos, revelou que a velocidade da marcha na idade madura, por volta dos 45 anos, é capaz de prever a taxa de envelhecimento cerebral e cognitiva

(RASMUSSEN et al., 2019). Outrossim, quando comparados com indivíduos mais jovens, os idosos possuem uma marcha mais lenta, com maior número de passos, maior tempo de apoio e balanço, e maior variabilidade da marcha (ABOUTORABI et al., 2016).

### 2.3 Memória Espacial e Comportamento Motor

A execução de gestos motores exige a coordenação espaço-temporal de diversos movimentos, entretanto, tais movimentos podem ser dissociados e controlados separadamente por diferentes mecanismos que regem o comportamento motor. Embora um movimento seja realizado como um todo, com combinações espaço-temporais aparentemente indivisíveis, a sua plena expressão em um dado contexto depende de inúmeros fatores (GEORGOPOULOS, 2002). Neste contexto, compreende-se que a memória espacial é uma função cognitiva que permite ao indivíduo localizar-se no espaço no qual está inserido a partir de diversos tipos de estímulos sensoriais intrínsecos e extrínsecos para, assim, se orientar espacialmente (CULHAM; KANWISHER, 2001; GOLDMAN-RAKIC; BATES; CHAFEE, 1992). Portanto, a capacidade de reter temporariamente informações espaciais é importante para que o indivíduo possa interagir efetivamente com o ambiente externo (CULHAM; KANWISHER, 2001).

Durante o processo de preservação da informação espacial, as regiões do córtex frontal apresentam atividade neural contínua, mas sua participação na manutenção ativa da informação depende do tipo de informação a ser lembrada e do tipo de resposta necessária para executar uma tarefa motora (D'ESPOSITO, 2007). Sabe-se que o córtex e o hipocampo são as duas regiões cerebrais primárias envolvidas no aprendizado e memória espacial (KAJA et al., 2015). Um estudo utilizando músicos e ressonância magnética funcional, observou que o córtex frontal posterior medial e córtex pré-frontal dorsolateral estavam fortemente envolvidos durante a execução imitativa de sequências e ritmos espaciais. Ambas as regiões são conhecidas pelo controle cognitivo e para o monitoramento de desempenho na execução de sequências cognitivo-motoras (SAKREIDA et al., 2018).

Ademais, diversos estudos relataram alterações na memória espacial quando os indivíduos são expostos a algum tipo de exercício físico. Por exemplo, animais submetidos a corrida forçada por 5 semanas demonstraram melhores níveis de

aprendizagem e memória espacial (ANG et al., 2006). Já o exercício por 12 semanas resultou em uma melhora na retenção de memória de curto prazo e melhora do desempenho motor em ratos diabéticos (SENNA et al., 2015). Resultados que corroboram com Yang *et al.* (2017), que mostrou que o exercício moderado durante as fases iniciais do AVC em ratos, promoveram uma melhora na recuperação da coordenação motora e memória espacial. Assim, é evidente que as sinergias cognitivo-motoras possam contribuir para a saúde funcional. Outro estudo que avaliou roedores indicou que a dexametasona prejudica a memória espacial e resulta em redução generalizada da atividade locomotora. Tais resultados sugerem que o comprometimento da memória espacial está relacionado, ao menos em parte, com déficits de atividade locomotora (YILMAZ; GEDIKLI; YILDIRIM, 2015).

Segundo Lerch e Sims (2016) o planejamento motor requer tanto a informação espacial e a memória visual de trabalho quanto a estimativa de incerteza ou confiabilidade da informação lembrada. Assim, a memória visual de trabalho é integrante de um sistema de controle biológico adaptativo fundamental para a tomada de decisão relacionada à locomoção.

Um experimento em crianças sugeriu que aquelas que utilizaram *tablets*, obtiveram pontuações significativamente mais baixas do que aquelas que não os utilizaram em tarefas de discriminação visual, memória visual, relações espaciais, constância de forma, figura de fundo visual, precisão motora fina, integração motora fina e destreza manual. Tais achados sugerem que os parâmetros espaço visuais podem estar relacionados com o comportamento motor (LIN, 2019). Outrossim, fornecer maior experiência em uma habilidade motora específica a bebês, como alcance e preensão de objetos, melhorou as habilidades de segregação de objetos (NEEDHAM, 2000). No estudo de Langan e Seidler (2011) evidenciou-se que adultos jovens com melhor memória espacial, bem como um tempo de reação mais curto, tiveram melhor desempenho tanto na aprendizagem motora quanto na adaptação motora. Além disso, sabe-se que uma falha no recrutamento da memória de trabalho espacial está associada a déficits de aprendizagem de habilidades em adultos mais velhos (ANGUERA et al., 2011).

#### 2.4 Ansiedade e comportamento motor

Várias espécies, incluindo o homem, apresentam respostas adaptativas a situações potencialmente ameaçadoras, denominadas de comportamento defensivo. Essas reações defensivas garantem a sobrevivência e podem estar associadas a um estado normal de ansiedade (FRASER et al., 2010). Sabe-se que experimentos com roedores podem gerar *insights* que auxiliem na compreensão dos comportamentos ansiosos normal e patológico (VAN DER STAAY, 2006).

Desse modo, a literatura relata a existência de uma relação entre aprendizagem, memória e estado de ansiedade, as quais podem modificar a performance do indivíduo (SILVA; FRUSSA-FILHO, 2000). Por exemplo, se observou que uma leve restrição alimentar é capaz de gerar um comportamento semelhante de ansiedade em roedores e reduzir a acurácia dos movimentos em uma tarefa de habilidade de alcance e preensão (SMITH; METZ, 2005). Além disso, modelos de estresse crônico podem induzir efeitos comportamentais inespecíficos, que interferem com a ansiedade relacionada ao comportamento. Ademais, a exposição à luz também pode ter um impacto significativo na locomoção de roedores (BERTOGLIO; CAROBREZ, 2002; VALENTINUZZI et al., 2000). Evidências demonstram que o estresse crônico pode exercer efeitos na atividade locomotora de alguns animais. Tais efeitos podem ser o resultado tanto da hiperatividade quanto da hipoatividade (HEIDERSTADT et al., 2000; PARÉ; TEJANI-BUTT; KLUCZYNSKI, 2001). Eysenck et al. (2007) relata que a ansiedade aumenta a atenção no sentido de detectar a ameaça percebida, mas acaba reduzindo a atenção para a execução de tarefas concorrentes. De acordo com a teoria de controle da atenção, a ansiedade não necessariamente leva a uma diminuição no desempenho. É sugerido que os efeitos negativos da ansiedade podem ser compensados por recursos adicionais de atenção e esforço mental. Como resultado, a eficiência da execução da tarefa diminui, mas o desempenho pode ser mantido. Exemplificando, um estudo com jogadores de voleibol demonstrou que os indivíduos investem um maior esforço mental quando estão mais ansiosos, mostrando uma diminuição na eficiência do processamento cognitivo, mas mantendo o desempenho motor (SMITH et al., 2001).

Além disso, níveis elevados de ansiedade geralmente levam ao monitoramento consciente e ao controle do movimento, o que pode desorganizar o desempenho motor ao comprometer a sua suavidade (GRAY, 2004; LAM; MAXWELL; MASTERS, 2009; LOHSE; SHERWOOD; HEALY, 2011; MASTERS; MAXWELL, 2008; STINS; ROERDINK; BEEK, 2011; YOSHIE et al., 2009). Isso pode ser

observado em idosos (HOGAN, 2003), uma vez que um aumento na ansiedade pode inibir o desempenho em tarefas de atenção dividida e alterar o alvo da atenção durante a marcha adaptativa (GAGE et al., 2003). Portanto, uma forte relação entre imprecisões do passo e medidas de ansiedade autorreferida foi reportada na literatura, (YOUNG; WING; HOLLANDS, 2012) nos levando a acreditar que um nível aumentado de ansiedade pode influenciar a precisão dos passos, indiretamente, por meio de estratégias de amostragem visual desadaptativa (YOUNG; HOLLANDS, 2010; YOUNG; WING; HOLLANDS, 2012). Ademais, o reinvestimento específico de movimentos é causado, muitas vezes, pela ansiedade frente às dificuldades de locomoção, o que está relacionado com a ocorrência de quedas em idosos (WONG et al., 2008, 2009). O desempenho e a aprendizagem motora sugerem que o aumento da ansiedade muitas vezes leva ao monitoramento e controle consciente de certos movimentos (BEILOCK; CARR, 2001; GRAY, 2004; LAM; MAXWELL; MASTERS, 2009), podendo tanto facilitar quanto comprometer a fluência do movimento (LOHSE; SHERWOOD; HEALY, 2011; STINS; ROERDINK; BEEK, 2011). Se as exigências de adaptação da marcha aumentarem gradativamente é esperado que um aumento da ansiedade acabe elevando as taxas de erros. Contudo, caso a ansiedade resulte em um nível de atenção favorável à realização da tarefa, o desempenho poderá se elevar. Assim, os vieses de atenção relacionados à ameaças e/ou estímulos não relacionados à tarefa podem interagir com o comportamento ansioso, levando à redução da eficiência do processamento da atenção (EYSENCK et al., 2007; YOUNG et al., 2016).

Portanto, os níveis de ansiedade podem estar relacionados ao aumento ou redução de parâmetros da locomoção (KAMEDA et al., 2007; RAMOS; MORMÈDE, 1997). Assim, a atividade motora pode ser influenciada pela ansiedade e a memória quando envolve parâmetros espacial-temporais (BRODY; HOLTZMAN, 2006; KALUEFF et al., 2007; STREKALOVA et al., 2005).

## 2.5 Adaptabilidade da Marcha

A capacidade de adaptar/adaptabilidade da marcha pode ser definida como uma função sensório-motora que necessita de controle e coordenação das articulações para evitar que o contexto ambiental interfira no objetivo da locomoção (BALASUBRAMANIAN; CLARK; FOX, 2014; DUCHARME et al., 2018; HOUDIJK et al., 2012). É formada por um modelo de controle locomotor composto pelo

caminhar/pisar (ritmo básico recíproco dos movimentos dos membros), adaptabilidade (adaptação a comportamentos, objetivos da tarefa e demandas ambientais) e equilíbrio (controle postural e equilíbrio durante a marcha) (BALASUBRAMANIAN; CLARK; FOX, 2014). Em função do alto grau de consistência no padrão de passos ao caminhar, a marcha em linha reta em terreno regular é um indicador precoce de comprometimento da mobilidade e está diretamente associado com a ocorrência de quedas, incidência de déficits de mobilidade e disfunção do sistema nervoso central (BRACH et al., 2007; HAUSDORFF; RIOS; EDELBERG, 2001).

A capacidade de evitar obstáculos e garantir a colocação segura dos pés em terrenos irregulares é um pré-requisito para uma marcha com redução de riscos de queda (TIMMERMANS et al., 2016). Sabe-se que indivíduos com capacidade limitada de ajustar a marcha, em face às alterações ambientais, optam por evitar caminhar nessas circunstâncias (estratégia de segurança) ou experimentar a tentativa de adaptação e correr o risco de queda (BALASUBRAMANIAN; CLARK; FOX, 2014). A maioria das quedas ocorrem durante a marcha, devido a tropeços, escorregões, deslizos, passos em falso ou incorretos, o que sugere uma menor capacidade na adaptabilidade da caminhada (GEERSE et al., 2018). A importância da colocação precisa dos pés é importante para determinar a capacidade de adaptação da marcha ao caminhar, como evitar obstáculos, virar e pisar em local seguro. Assim, o declínio no controle motor do movimento do pé provavelmente é uma das causas subjacentes da incapacidade de adaptar a marcha (WEERDESTYEN; HOLLANDS; HOLLANDS, 2018). Evidências demonstram que humanos aprendem a adaptar seus padrões locomotores e a recuperar a simetria da marcha através de mudanças específicas na coordenação entre membros (MALONE; BASTIAN; TORRES-OVIEDO, 2012; REISMAN; BLOCK; BASTIAN, 2005). Assim, a aprendizagem motora acontece devido a intenção de executar novas tarefas de forma eficiente e funcional (HIKOSAKA et al., 2002; LUFT; BUITRAGO, 2005).

Sabemos que realizar a marcha em terrenos irregulares, bem como a realizar transições entre superfícies, torna os ajustes motores antecipatórios particularmente desafiadores (HAWKINS et al., 2017). Acredita-se que adultos saudáveis modificam parâmetros de passo e passada e a cinemática dos membros para atender essas demandas, o que não ocorre tão facilmente em idosos (ROGERS; CROMWELL; GRADY, 2008; SCHULZ, 2011).

Nesse contexto, um estudo revelou que, durante a caminhada na esteira, as áreas sensório-motoras, lobo occipital e áreas cerebelares estão mais ativas. Já durante uma marcha com variação do comprimento do passo existe uma ativação menor na área sensório-motora primária e uma maior desativação relativa na substância branca do giro temporal médio e superior e hipocampo quando comparado com o grupo de baixa variabilidade. Tais resultados sugeriram que a marcha variável é influenciada pela regulação cortical (SHIMADA et al., 2013). Ademais, imaginar uma marcha com obstáculos se associou ao aumento da ativação pré-frontal e do parahipocampo, sugerindo que os centros cerebrais superiores tornam-se progressivamente engajados quando a tarefa locomotora exige maior processamento de informações cognitivas e sensoriais (MALOUIN et al., 2003).

A integração de informações dos sistemas sensoriais: visual, vestibular e somatossensorial são essenciais para compensar instabilidades (O'CONNOR; KUO, 2009). Ainda, com o envelhecimento a qualidade da integração sensorial resulta em déficits na marcha, comum entre idosos e pessoas com distúrbios neuromusculares (ABBRUZZESE; BERARDELLI, 2003; O'CONNOR; KUO, 2009; VERGHESE et al., 2006). Além de contribuírem com uma marcha instável, tais distúrbios contribuem para um risco elevado e maior frequências de quedas (MENZ; LORD; FITZPATRICK, 2003).

Outro fator relevante no controle motor da marcha é a memória espacial. Se contextualizar no espaço/ambiente no processo de locomoção é crucial para a orientação e navegação em diferentes ambientes do dia-a-dia (LEÓN; TASCÓN; CIMADEVILLA, 2016). Sabe-se que níveis de ansiedade também podem ter relação com o controle motor (KAMEDA et al., 2007; RAMOS; MORMÈDE, 1997), visto que a atividade motora utiliza parâmetros espaço-temporais (BRODY; HOLTZMAN, 2006; KALUEFF et al., 2007; STREKALOVA et al., 2005). Dessa forma, pode-se hipotetizar que animais naturalmente mais ansiosos podem apresentar uma resposta que desorganiza o sistema ou que tal traço possa potencializar a atenção a uma tarefa de interesse.

Sabe-se que modelos murinos são frequentemente utilizados em pesquisas para compreender aspectos neurobiológicos, fisiológicos, fisiopatológicos em processos de adaptação e aprendizagem motora. Estudos com animais e humanos demonstraram que os movimentos da marcha são modificados para minimizar o gasto de energia e o risco de lesão (VAHEDIPOUR et al., 2018). Visto isso, devido as

diferentes condições ambientais, uma grande variabilidade da marcha pode ser observada, já que perturbações durante a marcha podem acontecer e a necessidade de adaptar a marcha se torna essencial para evitar as quedas. A medida que estudos experimentais se tornam mais frequentes para investigar a locomoção, eles também oferecem uma variedade de modelos de doenças e uma gama de ferramentas genéticas para manipular aspectos neurofisiológicos (BELLARDITA; KIEHN, 2015; HARRIS-WARRICK, 2011; LATHE, 1996).

Compreender como a marcha é afetada nos distúrbios do desenvolvimento neurológico humano requer uma compreensão do desenvolvimento saudável da marcha. A marcha vem sendo estudada há muito tempo no camundongo maduro, mas o padrão de maturação da marcha ainda precisa ser estabelecido. Assim, um estudo que analise como a marcha se desenvolve, incluindo alterações no tamanho corporal, parâmetros espaço-temporais e posturais, e variabilidade intraindividual são necessários para compreender o caminhar dos murinos (AKULA et al., 2019).

A análise biomecânica da marcha em roedores permite investigar a marcha através de sistemas que incluem parâmetros temporais, espaciais e posturais. Um desses sistemas de esteira com cinta transparente é o DigiGait (Mouse Specifics, Boston, MA), que permite a caracterização de pegadas digitais para analisar a postura e a cinemática através da captura imagens (AKULA et al., 2019). Outra possibilidade é a análise de quadro a quadro de vídeos com o teste da escada horizontal, que classifica as 4 patas de acordo com uma pontuação qualitativa e um valor médio para cada pata reflete a precisão geral do uso da pata. Outra possível avaliação para este teste é o cálculo de percentagem de erros em relação ao número de passadas (METZ; WHISHAW, 2002). Contudo, que seja de nosso conhecimento, os determinantes comportamentais da variabilidade dos níveis de adaptação da marcha ainda são pouco compreendidos.

### 3 OBJETIVOS

Nesta sessão serão apresentados os objetivos da presente dissertação.

#### 3.1 Objetivo Geral

Estudar a variabilidade natural da capacidade de adaptação da marcha em camundongos Balb/cJ, bem como a capacidade preditiva que métricas de memória espacial e de símile de ansiedade podem ter sobre este comportamento locomotor.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- a) Verificar se existe influência do sexo na capacidade de adaptação da marcha e nos demais comportamentos estudados;
- b) investigar os níveis de variabilidade da capacidade de adaptação da marcha em camundongos Balb/cJ;
- c) comparar os animais que apresentam desempenho de adaptação da marcha nos percentis 25% ou inferior; entre 26 e 74% ou 75% ou superior quanto à memória espacial, comportamento símile de ansiedade e atividade locomotora geral;
- d) estudar a capacidade preditiva que métricas de memória espacial, comportamento símile de ansiedade e atividade locomotora geral podem ter sobre a capacidade de adaptação da marcha;
- e) avaliar a sensibilidade e a especificidade que métricas de memória espacial, comportamento símile de ansiedade e atividade locomotora geral possuem para predizer a capacidade de adaptação da marcha;
- f) identificar pontos de corte de métricas de memória espacial, comportamento símile de ansiedade e atividade locomotora geral para a predição da capacidade de adaptação da marcha.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

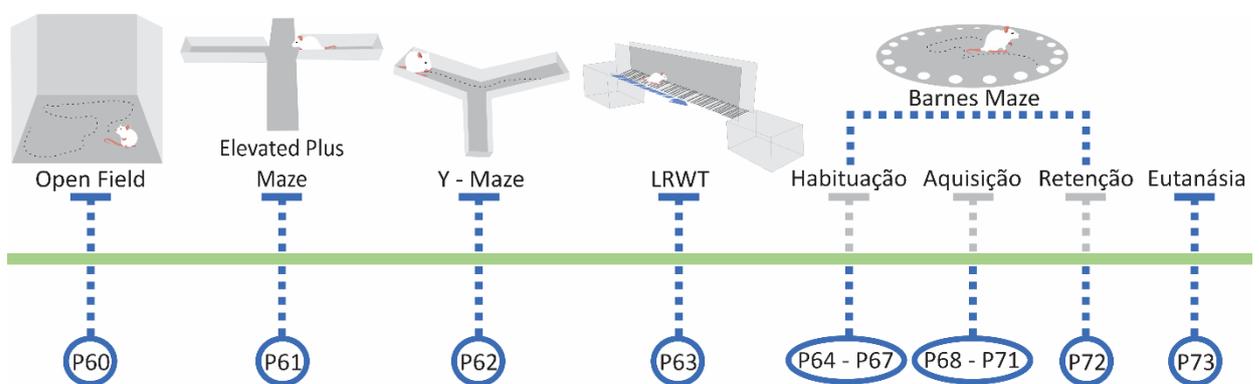
Este estudo faz parte de um projeto maior, aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa com Animais (CEUA) da PUCRS sob número 8955. Todos os experimentos foram realizados no Centro de Modelos Biológicos Experimentais (CEMBE), da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), em Porto Alegre.

### 4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 60 camundongos machos (n=28) e fêmeas (n=32) da linhagem Balb/cJ adquiridos através do CEMBE. Os animais foram alojados em caixas padrão com no máximo quatro animais e foram mantidos com acesso livre à água e comida, sob ciclo de claro/escuro 12h e temperatura controlada entre 22 e 24°C conforme a rotina do biotério.

Após uma semana de aclimação com o biotério e os pesquisadores, os testes comportamentais foram iniciados (ocorreram entre o P60 ao P72). No P73 os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, visto que fazem parte de um projeto onde há necessidade da realização de análises bioquímicas o que, por sua vez, inviabiliza o uso de anestésicos. No entanto, os pesquisadores seguiram as normas do item 8.2.4 das diretrizes do CONCEA e se asseguraram que o método de eutanásia foi realizado de forma rápida e segura, garantindo que o sofrimento dos animais fosse reduzido ao máximo. A Figura 1 ilustra o desenho experimental do estudo.

Figura 1 - Desenho Experimental.



Fonte: Autor

## 4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS

Abaixo são descritos os testes comportamentais utilizados. Destaca-se que os animais foram transportados para a sala de experimentos 30 minutos antes de cada teste comportamental para habituação ao local dos testes.

### 4.2.1 Campo aberto (Open Field)

O *Open Field* analisa a locomoção, o comportamento símile de ansiedade e comportamentos estereotipados, como *grooming* e *rearing* em roedores. Além disso, pode ser usado para avaliar a saúde geral e o bem-estar do animal (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019a). Neste teste, os camundongos foram colocados no centro de uma caixa quadrada de acrílico (33 x 33 cm) e foi permitido que o animal a explorasse por 5 minutos. Os testes foram gravados com uma câmera profissional. Após, os vídeos foram analisados utilizando o software AnyMaze (Stoelting CO, Wood Dale, IL, EUA). Para tanto, a caixa do campo aberto foi dividida em 16 quadrantes, sendo 4 quadrados centrais, definidos como zona central e 12 quadrados definidos como zona periférica. Distância (Locomoção), tempo na zona central e periférica e número de entradas no centro e periferia foram mensurados através do referido software (WEARICK-SILVA et al., 2019).

### 4.2.2 Labirinto em cruz elevado (Elevated Plus Maze)

O *Elevated Plus Maze* é usado para medir o comportamento símile de ansiedade em roedores (KOMADA; TAKAO; MIYAKAWA, 2008; KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019b). O aparato consiste em dois braços abertos (30 cm x 5 cm) e dois braços fechados (30 cm x 5 cm x 15 cm) de acrílico preto que estão conectados a uma plataforma central (5 cm x 5 cm), sendo o aparato elevado a uma altura de 50 cm acima do solo (WEARICK-SILVA et al., 2019). Cada animal foi colocado individualmente no centro do labirinto de frente para o braço aberto e tiveram a oportunidade de explorar o aparato por 5 minutos (KOMADA; TAKAO; MIYAKAWA, 2008; WEARICK-SILVA et al., 2019). O número de entradas em cada braço (aberto e fechado), o tempo gasto no braço aberto e fechado, bem como o tempo no centro do labirinto foram analisados com o software AnyMaze (Stoelting CO, Wood Dale, IL, EUA) através de gravações em vídeo (WEARICK-SILVA et al., 2019). Além disso,

calculou-se o índice de evitação (IE) proposto por Trullas e Skolnick (1993), sendo o cálculo o seguinte:

$$IE = 100 - \frac{(\% \text{ tempo nos braços abertos} + \% \text{ entradas nos braços abertos})}{2}$$

#### 4.2.3 Labirinto em Y (Y-Maze)

O *Y-Maze* é usado para avaliar a memória espacial de trabalho, permitindo que os roedores explorem todos os três braços do labirinto, movida por uma curiosidade inata dos roedores em explorar áreas anteriormente não exploradas (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019c). O aparato com três braços (ângulo de 120° um do outro) em forma de 'Y' (35 cm de comprimento, 5 cm de largura e 10 cm de altura) é realizado em duas etapas (MORGAN et al., 2018). Na primeira, os animais foram colocados no braço B (parte inferior) e exploraram os braços A (parte superior) e B durante 5 minutos. O braço C (braço novo) se manteve fechado. Após, permanecerem 1 minuto em uma caixa. Na segunda etapa do teste, os animais foram novamente colocados no braço B do labirinto com os três braços disponíveis para exploração por 2 minutos (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019c). Para a avaliação do desempenho da memória de trabalho observamos o número de entradas e o tempo despendido em cada um dos braços do teste. O cálculo da preferência de exploração foi realizado por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Preferência de exploração} = \frac{\text{tempo de exploração do braço novo}}{120}$$

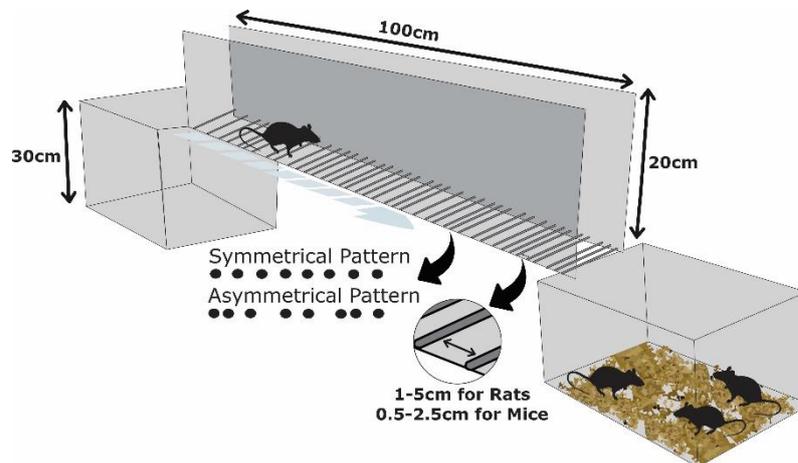
Além disso, a alternância espontânea foi calculada quando o camundongo entrou em um braço diferente do labirinto em cada uma das 3 entradas de braço consecutivas (MIEDEL et al., 2017). A percentagem de alternância espontânea é então calculada com a seguinte fórmula:

$$\text{Alternância espontânea \%} = \frac{\# \text{ alternância espontânea}}{\text{número total de entradas nos braços} - 2} \times 100$$

#### 4.2.4 Teste da Escada Horizontal (Ladder Rung Walking Test)

O *Ladder Rung Walking Test* permite avaliar e classificar a capacidade de adaptação da marcha observando a função dos membros anteriores e posteriores (METZ; WHISHAW, 2002, 2009). O aparato, elevado a 30 cm do solo, constitui de duas paredes de acrílico transparente (1 m de comprimento x 20 cm largura) com perfurações para o encaixe de barras (traves) de aço inoxidável (2,0 mm), posicionados a 0,5–2,5 cm de distância. Antes do teste, os animais realizaram dois *trials* de habituação ao aparato. No primeiro *trial*, todas as traves foram colocadas em um padrão simétrico e no segundo a distribuição das traves foi assimétrica (Figura 2).

Figura 2 - Ilustração do aparato do Teste da Escada Horizontal.



Fonte: Autor

Para o teste, as traves foram reposicionadas aleatoriamente (modificando o padrão do 2 *trial*) e os animais foram colocados no início da escada para que atravessassem o aparato, adaptando sua marcha por meio do apoio das patas nas traves disponíveis, até alcançar o final do percurso (METZ; WHISHAW, 2002; WEARICK-SILVA et al., 2019). Durante o teste, os roedores foram filmados com uma câmera GoPro Hero 4, 12Mp, com uma taxa de aquisição de 240 *frames* por segundo (FPS), em uma vista lateral, permitindo a análise de vídeo quadro a quadro.

Para a análise dos vídeos, utilizamos o *Foot Fault Score* proposto por Metz e Whishaw (2002), no qual consiste em uma escala de 7 categorias (análise qualitativa) para classificar o posicionamento das patas conforme sua posição e os erros gerados a colocação das patas nas traves do aparato (Quadro 1).

Quadro 1. Descrição do *Foot Fault Score* proposto por Metz e Whishaw (2002).

Tipo de Erro	Descrição
(0) <i>Total Miss</i>	A pata não toca a trave e ocorre a queda. A queda é descrita como uma pata caindo profundamente entre as traves assim perturba o equilíbrio.
(1) <i>Deep slip</i>	A pata inicialmente foi colocada em uma trave, mas escorregou ao suportar peso, o que causou uma queda.
(2) <i>Slight slip</i>	O deslize ocorreu da mesma maneira que no escore 1, mas não causou queda ou interrompeu a marcha. Em vez disso, o animal foi capaz de manter o equilíbrio e continuar uma marcha coordenada.
(3) <i>Replacement</i>	A pata foi colocada em uma trave, mas antes que pudesse começar o suporte de peso, foi levantada rapidamente e colocada em outra trave.
(4) <i>Correction</i>	A pata visava uma trave, mas foi colocado em outra sem tocar na inicialmente apontada. Ou caso a pata seja colocada em uma trave, mas rapidamente reposicionada enquanto permanece na mesma trave.
(5) <i>Partial Placement</i>	A pata foi colocada na trave com os punhos/dedos do membro anterior ou os dedos do pé /calcanhar do membro posterior.
(6) <i>Correct Placement</i>	A porção média da pata é colocada na trave com suporte de peso total.

Para a determinação do escore de desempenho, a pontuação atribuída em cada categoria é multiplicada pela sua frequência de ocorrências no teste. A pontuação total de cada membro é obtida pela soma dos valores obtidos em cada uma das categorias para o membro em questão. O protocolo para o uso do *Foot Fault score* foi publicado previamente por Metz e Whishaw (2009). Por fim, a soma dos escores do membro anterior e posterior constituem a pontuação total do teste, normalizada pelo número de passos que o animal executa durante o teste. Assim o escore de desempenho foi calculado utilizando a média dos escores totais (*forelimb*

scores + *hindlimb scores*) da amostra. O escore foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$\text{Normalized total score \%} = \frac{\text{Combined limbs performance score}}{\text{Mean of the combined limbs performance score from the cohort}} \times 100$$

Portanto, uma pontuação (%) superior a 100% significa que o animal teve melhor desempenho no LRWT quando comparado à média da coorte. Uma porcentagem inferior a 100% significa que o animal teve pior desempenho.

#### 4.2.5 Labirinto de Barnes (Barnes Maze)

O *Barnes Maze* foi desenvolvido por Carol Barnes para avaliar a aprendizagem espacial e memória em ratos (BARNES, 1979; PITTS, 2018). Posteriormente foi adaptado para camundongos (BACH et al., 1995).

A configuração do aparato consiste em uma plataforma cinza circular (91cm diâmetro) com 20 orifícios espaçados uniformemente ao longo do perímetro e elevado do solo (90cm). Contém uma caixa de escape escondida embaixo de um orifício, que se mantém fixa durante o treinamento, deixando os buracos restantes vazios. Pistas visuais são utilizadas para os animais localizarem a caixa de escape (PITTS, 2018). Durante o treinamento, os roedores utilizam três estratégias diferentes (aleatória, serial, espacial) para aprender a localizar a caixa de escape. Os camundongos foram alocados no centro do labirinto e exploraram o aparato por 5 minutos no período chamado de adaptação, por 4 dias. No último dia de adaptação (quarto dia), o animal dispõe de 5 minutos para explorar o aparato e depois é colocado na caixa de escape, onde permanece por mais 2 minutos. Após, iniciamos o treino de aquisição espacial (4 dias) os animais realizam 3 *trials* dia com intervalos de 15 minutos cada, onde possuem 3 minutos para localizar a caixa de escape e após permanecem por mais 1 minuto na caixa de escape. Foram contabilizados os erros primários (número de erros até localizar a caixa), erros totais (número de erros até entrar na caixa), latência primária (latência para localizar a caixa), latência total (latência para entrar na caixa) de cada *trial*. No dia último dia do teste, chamado de *probe trial*, a caixa de escape é retirada e o animal possui 180 segundos para localizar o orifício onde estava a caixa. Foram contabilizados a latência até encontrar o orifício onde estava a caixa, número

de erros e a estratégia de busca utilizada. Os experimentos com o *Barnes Maze* foram realizados de acordo com os protocolos publicados com algumas modificações (GAWEL et al., 2019).

### 4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para o cálculo amostral, utilizamos o estudo prévio de Wearick-Silva *et al.* (2019) que buscou avaliar o desempenho da marcha em camundongos expostos ao estresse no início da vida. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Dados paramétricos foram analisados pela análise de variância de uma via e pelo *post-hoc* de Tukey. Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram empregados para comparações entre grupos para as variáveis não-paramétricas. Potenciais correlações foram estudadas pelo teste de Spearman. Os animais foram divididos em três grupos, com base nos percentis de desempenho no LRWT - grupo *superior* (percentis  $\geq 75$ ), *regular* (percentis 74 ao 26) e *inferior* (percentis  $\leq 25$ ) *performers*. A acurácia preditiva dos comportamentos de interesse para a identificar os animais com desempenho nos percentis extremos de adaptação da marcha (*superior e inferior performers*) foi avaliada por meio da curva *Receiver Operating Characteristic Curve* (ROC). Regressões de Poisson quantitativas e qualitativas também foram utilizadas para avaliar a capacidade preditiva de comportamentos de interesse na determinação da capacidade de adaptação da marcha. Os resultados foram considerados significativos quando  $p \leq 0,05$ . Os dados foram computados no Excel e posteriormente analisados através do pacote estatístico SPSS for Windows 20.0. Os gráficos foram construídos com o software Prisma GraphPad 6.0 (La Jolla, EUA).

## 5 ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados da presente dissertação serão apresentados na forma de artigo científico. O manuscrito foi submetido ao periódico "*Gait & Posture*", classificado A2, conforme os critérios Qualis-CAPES, após as considerações da banca avaliadora desta Dissertação.

## Gait & Posture

# CAN ANXIETY-LIKE BEHAVIOR AND SPATIAL MEMORY PREDICT THE EXTREMES OF WALKING ADAPTABILITY PERFORMANCE IN FACILITY REARED MICE?

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Article Type:</b>	Full Length Article
<b>Keywords:</b>	Walking adaptability; Gait; Motor Control; mice.
<b>Corresponding Author:</b>	Régis Gemerasca Mestriner, PhD Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul Porto Alegre, RS BRAZIL
<b>First Author:</b>	Aniuska Schiavo, MSc
<b>Order of Authors:</b>	Aniuska Schiavo, MSc Lucas Athaydes Martins, MSc Luís Eduardo Wearick Silva, PhD Rodrigo Orso, PhD Léder Leal Xavier, PhD Régis Gemerasca Mestriner, PhD
<b>Abstract:</b>	<p>Background: Walking adaptability is a highly specialized behavior in different animal species. In this context, the relationship between learning, memory and anxiety could modify the sensorimotor performance. Research question: Can anxiety-like behavior and spatial memory predict the natural ability to adapt walking in mice? Methods: A cohort of 60 adult mice (males n = 28 and females n = 32) was analyzed using a behavioral test battery to assess general exploration (Open Field), anxiety-like behavior (Elevated Plus Maze), spatial memory (Y-Maze and Barnes Maze) and walking adaptability (Ladder Rung Walking Test - LRWT). The animals were divided into three groups, based on their LRWT performance: superior (IP, percentiles <math>\geq 75</math>), regular (RP, percentiles 74 to 26) and inferior (IP, percentiles <math>\leq 25</math>) performers. Results: A significant difference was observed regarding the exploration time in the EPM closed arms. Animals from the SP and IP groups spent more time in these arms compared to the RP group, while no difference was observed between the SP and IP groups. A between-group trend towards significance was observed in the Y-Maze. No between-group differences were found in the Open Field and Barnes Maze tests. The Poisson regressions revealed that with every second spent in the EPM closed arms, the probability of the animal exhibiting extreme percentiles in the LRWT increased by 0.3%. Moreover, those that spent 219 seconds or more in those arms were 39% more likely to exhibit extreme walking performance. Significance: Anxiety-like behavior may have a dual phenotype-related effect on walking adaptability performance. Further studies are needed to better understand how cognitive-motor mechanisms interact with the normal range of anxiety to influence success in adapting walking.</p>
<b>Suggested Reviewers:</b>	<p>David Clark, PhD Professor, University of Florida davidclark@ufl.edu The expertise in the field</p> <p>Pâmela Billig Mello Carpes, PhD Professor, Universidade Federal do Pampa - Campus Uruguai pamelacarpes@unipampa.edu.br The expertise in the field.</p>

April 23, 2021

Dear Professor T. Dreher, PhD  
Editor-in-Chief

On behalf of all the authors, I would like to express my appreciation for the opportunity to submit an original research article entitled “**Can anxiety-like behavior and spatial memory predict the extremes of walking adaptability performance in facility reared mice?**” for consideration in *Gait and Posture*.

Daily-life walking is controlled by complex sensory-cognitive-motor processes and requires neural networks to combine information and overcome contextual challenges while moving. In this context, the relationship between learning, memory and anxiety could modify the sensorimotor performance.

In this study, we assessed whether anxiety-like behavior and spatial memory may play a role in skilled movements, such as walking adaptability, in a mice cohort. The study provides a first step to develop further trials focused on discovering how neurochemical and genetic factors modulate cognitive-motor interplay in walking adaptability using a mice model. The results revealed the animals that exhibited higher levels of anxiety (spent 219 seconds or more in the Elevated Plus Maze closed arms) were 39% more likely to exhibit extreme walking performances (superior or inferior performances) in the Ladder Rung Walking Test (ROC curves and Poisson regressions were used). Conversely, spatial memory was less relevant in the models. This manuscript discusses the anxiety-like behavior may have a dual phenotype-related effect on walking adaptability performance. Our research may contribute to better understand how cognitive-motor mechanisms interact with the normal range of anxiety to influence success in adapting walking.

We believe our findings will be of interest to the readership of *Gait and Posture*, which includes researchers working in the field of gait and translational research. Therefore, we feel your journal provides the most suitable platform for the dissemination of our work to the research community.

This manuscript is new and is not being considered elsewhere. This research was conducted according to the international guidelines for research and under the terms of our local legislation. I have read and have abided by the statement of ethical standards for

manuscripts submitted to *Gait and Posture*. All authors have read the correspondence and have agreed to include their names as listed authors.

Sincerely yours,

**Régis Gemerascas Mestriner, PhD.**

Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul

Avenida Ipiranga, 6681 – Building 12, Room 104.

Porto Alegre, RS, Brazil, CEP: 90619-900.

e-mail: [regis.mestriner@pucrs.br](mailto:regis.mestriner@pucrs.br)

Phone: +55 51 33534684

**Highlights**

- Anxiety-like behavior in mice can predict the natural ability to adapt walking.
- Normal range of anxiety may have a dual effect on walking adaptability.
- Spatial memory exhibited a subtle capacity to predict walking adaptability in mice.

**CAN ANXIETY-LIKE BEHAVIOR AND SPATIAL MEMORY PREDICT THE  
EXTREMES OF WALKING ADAPTABILITY PERFORMANCE IN FACILITY  
REARED MICE?**

Aniuska Schiavo<sup>1,2</sup>, Lucas Athaydes Martins<sup>1,2</sup>, Luís Eduardo Wearick-Silva<sup>3</sup>,  
Rodrigo Orso<sup>3</sup>, Léder Leal Xavier<sup>2</sup>, Régis Gemerasca Mestriner<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, PUCRS. Graduate Program in Biomedical Gerontology. School of Medicine, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>2</sup> Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, PUCRS. Neurorehabilitation and Neural Repair Research Group (NEUROPLAR). School of Health and Life Sciences, Porto Alegre, Brazil.

<sup>3</sup> Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, PUCRS. Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Porto Alegre, RS, Brazil.

**\*Corresponding Author:**

Régis Gemerasca Mestriner, PhD

E-mail: [regis.mestriner@pucrs.br](mailto:regis.mestriner@pucrs.br)

Address: Av. Ipiranga, 6681 – Building 12 / Room:104.

ZIP-code: 90619-900. Porto Alegre – RS, Brazil.

Phone: +55 51 33536031.

ResearchID: A-5911-2015.

ORCID: [orcid.org/0000-0001-9837-1691](https://orcid.org/0000-0001-9837-1691)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## CAN ANXIETY-LIKE BEHAVIOR AND SPATIAL MEMORY PREDICT THE EXTREMES OF WALKING ADAPTABILITY PERFORMANCE IN FACILITY REARED MICE?

### ABSTRACT

**Background:** Walking adaptability is a highly specialized behavior in different animal species. In this context, the relationship between learning, memory and anxiety could modify the sensorimotor performance. **Research question:** Can anxiety-like behavior and spatial memory predict the natural ability to adapt walking in mice? **Methods:** A cohort of 60 adult mice (males  $n = 28$  and females  $n = 32$ ) was analyzed using a behavioral test battery to assess general exploration (Open Field), anxiety-like behavior (Elevated Plus Maze), spatial memory (Y-Maze and Barnes Maze) and walking adaptability (Ladder Rung Walking Test - LRWT). The animals were divided into three groups, based on their LRWT performance: superior (IP, percentiles  $\geq 75$ ), regular (RP, percentiles 74 to 26) and inferior (IP, percentiles  $\leq 25$ ) performers. **Results:** A significant difference was observed regarding the exploration time in the EPM closed arms. Animals from the SP and IP groups spent more time in these arms compared to the RP group, while no difference was observed between the SP and IP groups. A between-group trend towards significance was observed in the Y-Maze. No between-group differences were found in the Open Field and Barnes Maze tests. The Poisson regressions revealed that with every second spent in the EPM closed arms, the probability of the animal exhibiting extreme percentiles in the LRWT increased by 0.3%. Moreover, those that spent 219 seconds or more in those arms were 39% more likely to exhibit extreme walking performance. **Significance:** Anxiety-like behavior may have a dual phenotype-related effect on walking adaptability performance. Further studies are needed to better understand how cognitive-motor mechanisms interact with the normal range of anxiety to influence success in adapting walking.

**Key Words:** Walking adaptability; gait; motor control; mice.

## INTRODUCTION

1  
2  
3  
4 Walking is a highly specialized behavior that involves the ability to  
5 generate steps, maintain postural balance and adjust movements to accomplish  
6 behavioral and contextual/environmental-related demands [1,2].  
7

8  
9 Daily-life walking is controlled by complex sensory-cognitive-motor  
10 processes and requires neural networks to overcome contextual challenges while  
11 moving. Uneven terrain and obstacles require attention and postural anticipatory  
12 and compensatory adjustments to prevent falling. Therefore, deficits in attention  
13 and executive functioning are associated with a higher risk of falling while walking  
14 [3].  
15  
16  
17  
18  
19

20 The ability to ensure proper foot placement is a prerequisite for safe  
21 walking [4]. Most walking-related falls occur due to trips, slips and missteps,  
22 suggesting deficits in walking adaptability are critical for safe walking [2]. A limited  
23 ability to adjust walking when the environmental context changes triggers two  
24 typical behavioral strategies: safety behavior (avoiding walking in these  
25 circumstances); or risk-taking behavior (accepting the falls risk) [1].  
26  
27  
28  
29

30  
31 Murine models are often used to understand movement neurobiology in  
32 physiological and pathological backgrounds, such as neural-based motor  
33 learning and adaptation in cellular and molecular levels [5-7].  
34  
35

36 The relationship between learning, memory and anxiety can modify the  
37 individual's motor performance [8]. For example, a slight food restriction  
38 generated anxiety-like behavior and reduced the movement accuracy in reaching  
39 and grasping tasks [9]. Chronic stress can induce both hyperactivity or  
40 hypoactivity in some animals [10]. Eysenck et al. [11] found anxiety increased  
41 attention in detecting a perceived threat, but reduced attention when executing a  
42 simultaneous task. The attentional control theory suggests anxiety does not  
43 necessarily lead to decreased performance. Attentional overload can offset some  
44 negative effects of anxiety. Consequently, the task is adequately performed but  
45 at a higher cognitive cost [12,13].  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53

54 A recent study suggested aged animals showed a poorer ability to  
55 perform cognitive-motor tasks that require spatial memory compared to their  
56 younger peers [14]. Within a broader cognitive-motor interplay, spatial memory  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 contributes to motor control by improving the success of an intended movement  
2 in a spatial context [15].

3  
4 However, to best of our knowledge, no previous study has addressed  
5 whether anxiety-like behavior and spatial memory can predict the natural ability  
6 to adapt walking in mice. We hypothesize that anxiety-like behavior might play a  
7 role in skilled movements, such as walking adaptability. Importantly, this could  
8 provide a first step to develop further studies focused on discovering how  
9 neurochemical and genetic factors modulate cognitive-motor interplay in walking  
10 adaptability.  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17

## 18 **MATERIALS AND METHODS**

### 19 **Ethical Approval**

20  
21  
22 This study was approved by the Ethics Committee for Animal Research  
23 at the Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (number 8955) and was  
24 conducted in accordance with the international guidelines [16].  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31

### 32 **Animals**

33  
34  
35 We used 60 mice (Balb/cJ, weight, 25-35g) male (n = 28) and female (n  
36 = 32) acquired from our local colony (CEMBE/PUCRS). The animals were  
37 housed in standard lab conditions (same-sex littermates in 3-4 per cage; water  
38 and food *ad libitum*; temperature 23°C±1°C and 12h light/dark cycle).  
39  
40  
41  
42  
43  
44

### 45 **Experimental Design**

46  
47  
48 Before starting the experiments, the animals underwent seven days of  
49 standard manipulation/acclimation with the researchers (one 5-minute-session  
50 daily). After, a behavioral test battery was performed from post-natal day (P) P60  
51 to P72 (tests ordered from lower to higher complexity). At P73, the rodents were  
52 euthanized by cervical dislocation. Supplementary Figure 1 illustrates the study  
53 design.  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## Behavioral Analyses

A 30-minute acclimation in the experimental room was provided prior to the tests.

**Open Field (spontaneous locomotor activity).** Animals were placed in the center of a squared Plexiglas box (33 x 33 cm) and allowed to explore the apparatus for 5 minutes. Video recordings were analyzed using the AnyMaze Software (Stoelting CO, Wood Dale, IL, USA), which divided the field into 16 squares (4 central and 12 peripheral). The total distance travelled, time spent in the central and peripheral zones and number of entrances in each zone were measured [17].

**Elevated Plus Maze (EPM - anxiety-like behavior).** The apparatus, elevated 50 cm above the ground, comprised two open (30cm×5cm) and two closed (30cm×5cm×15cm) arms accessed from a central platform (5cm×5cm). Animals were placed individually in the center of the maze facing the open arms and allowed to explore for 5 minutes [18]. All trials were analyzed using Anymaze Software (Stoelting CO, Wood Dale, IL, USA). The avoidance index (AI) was also calculated [19], as follows:

$$AI = 100 - \frac{(\% \text{ time in the open arms} + \% \text{ entries in the open arms})}{2}$$

**Y-Maze (spatial memory)** The Y-shaped apparatus has three plexiglass arms (35 cm long, 5 cm wide and 10 cm high, at 120° angle from each other) [20]. Animals were placed individually in arm B and explored arms A and B for 5 minutes while arm C (the novel arm) remained closed. After, animals were individually placed in arm B with all arms available for exploration for 2 minutes. These phases were separated by a 1-minute interval [21]. We counted the number of entries and recorded the exploration time in the arms (A, B and C). The exploration preference was calculated, as follows:

$$\text{Preference Index (s)} = \frac{\text{Time in the novel arm}}{120}$$

Spontaneous alternation was considered to have occurred when a mouse entered each of the 3 arms consecutively, not necessarily observing any particular order [22]. The percentage (%) of spontaneous alternation was calculated, as follows:

$$\text{Spontaneous alternation \%} = \frac{\# \text{ spontaneous alternations}}{\text{total number of arm entries} - 2} \times 100$$

**Ladder-Rung-Walking-Test (skilled walking performance)** The apparatus consisted of two sidewalls made of clear Plexiglas (1 m) and metal rungs to create a horizontal ladder [7,23]. While crossing the ladder, mice were filmed using a GoPro Hero 4 (12Mp / 240 frames-per-second). The first two trials were considered habituation and the third trial was analyzed using the foot fault score system [23]. The position of the metal rungs across the trials (asymmetrical-only pattern) was modified, with exception of the first habituation trial. The performance scores were calculated, as follows:

$$\text{Normalized total score (\%)} = \frac{\text{Combined limbs performance score}}{\text{Mean of the combined limbs performance score from the cohort}} \times 100$$

A normalized total score (%) lower than 100% means the animal performed worse in the LRWT when compared to the cohort mean.

**Barnes Maze (spatial memory)**. The apparatus comprised a circular platform (91cm diameter), with 20 holes spaced uniformly around the perimeter. The Barnes Maze is raised 90 cm above the ground, with a moveable escape box hidden under one hole. Visual cues are used to help the animals locate the escape box. The test is divided into three stages: a) adaptation; b) acquisition; and c) testing. During adaptation, the escape box is kept in the same position and rodents typically adopt three different strategies to find it: random, serial and spatial. During the four-day adaptation period, once a day, the mice were placed in the center of the apparatus and given five minutes to find the escape box. On the last day of adaptation, all the animals were allowed to remain in the escape

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

box for 2 minutes. If they failed to enter the escape box within the five-minute period, they were gently placed there for 2 minutes.

The acquisition stage lasted an additional four days. Three trials were carried out daily at 15-minute intervals. In each trial, the animals were given three min to locate the escape box and allowed to stay there for 1 min. If they failed to enter the escape tunnel within the three-minute period, they were gently placed there for 1 minute. Primary errors, total errors, primary latency and total latency were counted in each trial. In the test stage (probe trial), the escape box was removed and the mice were given 90 seconds to locate the place where the box had been. The number of pokes in each hole, latency until finding the hole where the box had been and errors were counted [24].

### Statistical Analysis

For the sample size calculation, we used the previous study by Wearick-Silva et al. (2019). Parametric data were analyzed using the one-way ANOVA and Tukey's *post-hoc* test. For non-parametric data, the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests were used for between-group comparisons. The animals were divided into three groups based on the percentiles of performance in the LRWT – superior performer (percentiles  $\geq 75$ ), regular performer (percentiles 74 to 26) and inferior performer (percentiles  $\leq 25$ ). The predictive accuracy analyses were evaluated using the Receiver Operating Characteristic Curve (ROC). Quantitative and qualitative Poisson regressions were used to assess the predictive potential of anxiety-like behavior and spatial memory in determining the ability to adapt walking. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 20.0 (IBM – New York, USA) and Prism GraphPad 6.0 software (La Jolla, USA).  $p \leq 0.05$  was considered significant.

## RESULTS

The overall mice cohort characterization is shown in the Supplementary Table 1. We tested for possible sex-related behavioral effects and no differences were found (Supplementary Table 2 and Supplementary Figure 2).

### Ladder-Rung-Walking-Test (LRWT)

Between-group differences were observed among SP, RP and IP regarding the 'combined limbs performance score' ( $p < 0.0001$ ). We noticed the SP and IP ( $p = 0.0001$ ) and RP and IP ( $p = 0.005$ ) groups differ when the 'forelimb performance score' was analyzed. In the 'hindlimb performance score', the SP was different from IP ( $p = 0.0001$ ) and RP ( $p = 0.020$ ). However, the IP group did not differ from the RP ( $p = 0.366$ ) (Figure 1).

### Open-Field-Test (OF)

No statistically significant differences in the OF were found (Supplementary Figure 3).

### Elevated-Plus-Maze (EMP)

A statistically significant overall difference for "time in the closed arms" was found ( $KW = 7.571$ ,  $p = 0.023$ , Fig2E). The SP and IP groups were different from RP ( $p = 0.008$  and  $p = 0.031$ , respectively). There was no difference between the SP and IP groups ( $p = 0.696$ ) (Fig2E). All the other assessed outcomes in the EPM did not differ among the studied groups (Figure 2).

### Y-Maze and Barnes Maze

No statistically significant between-group differences were found in the Y-Maze-assessed outcomes (Figure 3).

The Barnes Maze results are shown in Supplementary Figure 4. While we observed a within-group learning effect among the days for averaged primary latency, primary error, total latency ( $p < 0.05$ ), no between-group differences were found.

### Predictive analyses (ROC analysis and Poisson Regression)

1 Accuracy of anxiety and spatial memory-related behavior in predicting  
2 regular (RP) or extreme performances (SP and IP groups were collapsed) was  
3 tested using the ROC curve. Extreme performance category was created  
4 because the SP and IP groups did not differ regarding spatial memory or anxiety-  
5 like behavior. Moreover, we had an *a priori* suspicion the latter might play a dual-  
6 effect role in walking adaptability. We tested the outcomes exhibiting p-values  $\leq$   
7 0.20 for group effects. The findings show the EPM 'time in the closed arms' and  
8 the Y-Maze 'entries in arm C (%)' were able to predict the mouse performance in  
9 the LRWT ( $p < 0.05$ ) (Table 1).  
10

11  
12  
13  
14  
15  
16 Thereafter, the quantitative Poisson regression model was applied (Table  
17 2). Statistical significance was observed for the variables of the EPM 'time in the  
18 closed arms' ( $p = 0.02$ ) and the Y-Maze 'entries in arm C (%)' ( $p = 0.03$ ). The  
19 quantitative regression findings showed each additional second the mouse spent  
20 in the EPM closed arms increased 0.3% its probability to exhibit an extreme  
21 behavior in the LRWT. Moreover, each additional percentage of entries in Y-Maze  
22 novel arm increased 0.9% the mouse probability to exhibit an extreme  
23 performance in the LRWT. The most balanced cut-off points (sensitivity vs  
24 specificity) identified in the ROC curve (Supplementary Table 3 and 4) were used  
25 in the qualitative Poisson regression (Table 3). The cut-off point of 219 seconds  
26 for the EPM 'time in the closed arms' (sensitivity of 63.6% and specificity of  
27 68.7%) and 42% Y-Maze 'entries in arm C' (novel arm) (sensitivity 61.4% and  
28 specificity 68.7%) were adopted. In the qualitative regression model, the animals  
29 that spent 219 seconds or more in the EPM closed arms increased by 39% their  
30 probability of exhibiting an extreme performance in the LRWT. No significant  
31 effects were found for the Y-Maze 'entries in arm C'.  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46

## 47 DISCUSSION

48  
49  
50 This study sought to assess whether the normal ranges of anxiety-like  
51 behavior and spatial memory could be predictors of the natural variability to adapt  
52 walking in mice. To the best of our knowledge, this is the first study to explore the  
53 issue in a facility reared mice cohort. The findings suggest animals exhibiting  
54 higher levels of the natural anxiety-like behavior are more prone to show extreme  
55 walking adaptability performances (lower or higher percentiles in the LRWT).  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 Thus, the natural variability in the ability to adapt walking in mice may be  
2 influenced, at least in part, by anxiety-related traits in the individual mice. This is  
3 of importance because walking adaptability could be impaired by well-known  
4 anxiety disorders [25].  
5

6  
7 Increased anxiety levels might produce a dual effect in the ability to adapt  
8 walking due to the anticipatory and/or attentional mechanisms. Some individuals  
9 overuse the anxiety-driven cognitive anticipatory mechanism and thus generate  
10 a motor plan more likely to fail when facing an irregular walkway/unpredictable  
11 obstacles. However, others use anxiogenic inputs to improve their attentional  
12 capacity, which results in higher performance levels [11]. The determinants of  
13 which individual strategy will be adopted is still unclear.  
14  
15

16  
17 The attentional control theory states anxiety may cause attentional bias  
18 when judging real task-related threats and irrelevant stimuli. As a result, the  
19 anxiety-related influences in performance might reflect relative inefficiency in the  
20 attentional processes [11]. Higher levels of anxiety may change movement  
21 control and compromise movement smoothness [26] as well as impair divided  
22 attention tasks in older adults [27], thus changing the attentional efficiency  
23 required to deal with targets in the walkway [28]. Moreover, there is a strong  
24 relationship between stepping inaccuracy and self-reported anxiety. Increased  
25 anxiety levels may also influence stepping accuracy indirectly by provoking  
26 maladaptive visual sampling strategies [25]. Conversely, some anxiety levels  
27 may help improve attention and movement accuracy. Together, this may explain  
28 why staying 219 seconds or longer in the EPM closed arms (longer than the RP  
29 group mean) increased the likelihood to exhibit extreme LRWT percentiles by  
30 39%.  
31  
32

33  
34 Rodents have been used to provide insights into normal and pathological  
35 anxiety-like behavior [29]. This behavior is present in both humans and rodents  
36 and plays a role in individual defense and survival [30]. One advantage of using  
37 isogenic mice is the greater control of genetic-based influences. Hence, the  
38 present study reinforces the importance of the anxiety-like behavioral phenotype  
39 to predict the natural ability to adapt walking.  
40  
41

42  
43 An important aspect is healthy mice modulate their anxiety-related levels  
44 across the presented challenges, which is different from the constantly increased  
45 anxiety typically found in anxiety disorders. Fluctuations in natural anxiety may  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

be related to the test constructs or based on intra-individual characteristics [31]. The literature suggests OF, EPM and light-dark box outcomes may not measure the same type of anxiety-like behavior [32], while the mice strain could also influence the measured outcomes [33]. For instance, Balb/c mice have been reported to behave more ‘anxiously’ in the EPM in comparison with the OF test [19], which agrees with the present findings. Moreover, while OF and EPM are both valuable tests to assess anxiety-like behavior, their constructs are different - OF is more often used for exploratory/general locomotion while EPM is a more specific test to assess anxiety-like behavior [30].

The ability to cope with environmental circumstances depends on learning and memory [34]. The retention and processing of visuospatial information involves spatial working memory [35]. When navigating in a new environment, visuospatial information needs to be temporarily stored and used to locate objects or reach targets, thereby inhibiting distracting stimuli [36]. Spatiotemporal parameters of gait are also influenced by working memory [11] and could be modified during brain aging [37]. Here, however, spatial memory exhibited a subtle capacity to predict walking adaptability. This may be attributed to the features of the LRWT that provide insufficient spatial memory challenges compared with those observed when the rodent is inserted in its ecological context. Although the LRWT provides for an asymmetrical rung pattern, all the rungs have the same diameter, shape and placement level, thus facilitating the animal’s navigation. In addition, the fact the animals underwent three trials on the LRWT might have facilitated the creation of an internal image of the test, therefore reducing the demand on the spatial memory [38].

Regarding the influence of sex on the ability to adapt walking, studies have shown absence of significant changes in the LRWT [39], which is in line with the current findings. The OF and EPM results were also similar between facility reared male and female mice. While sex-related behavioral differences have been reported in some mice strains [40], a previous study suggested Balb/c mice do not exhibit anxiety-related behavioral changes in the OF and EPM [33], in agreement with our findings.

This study has some limitations. First, the ability to adapt walking, anxiety and spatial memory were assessed using different and non-simultaneous tasks. Thus, fluctuations in attention and anxiety-like behavior may have occurred

1 across the tests. Nevertheless, to the best of our knowledge, there is no validated  
2 behavioral apparatus to assess simultaneously waking adaptability performance,  
3 spatial memory, and anxiety-like behavior in rodents. Second, we did not  
4 compare normal and exacerbated anxiety-like behavior in mice models nor the  
5 role of anxiolytic drugs. However, the influence of anxiety on the ability to adapt  
6 walking might differ in physiological and pathological conditions and should be  
7 considered with caution.  
8  
9  
10  
11  
12  
13

## 14 **CONCLUSION**

15  
16  
17  
18 The higher levels of anxiety-like behavior in facility reared mice can  
19 predict, at least in part, the natural variability to adapt walking. These behavioral  
20 results in mice constitute an important first step towards advancing the  
21 understanding of the neurobiological mechanisms of normal walking adaptability  
22 at behavioral, cellular, and molecular levels.  
23  
24  
25  
26  
27

## 28 **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

29  
30  
31  
32 Schiavo, A.; Martins, L.A.; Wearick-Silva, L.E.; Orso, R.; Xavier L.L. and  
33 Mestriner, R.G. contributed to the conception and design of the study and wrote  
34 the manuscript. Schiavo, A.; Martins, L. A. performed the experiments and the  
35 data collection. Schiavo, A. and Mestriner R.G. performed the statistical  
36 analyses.  
37  
38  
39  
40  
41  
42

## 43 **FUNDING**

44  
45  
46  
47 Coordination of Improvement of Higher Education Personnel - Brazil  
48 (CAPES) - Financing Code 001 and the National Council of Scientific and  
49 Technological Development (CNPq).  
50  
51  
52

## 53 **CONFLICTS OF INTERESTS**

54  
55  
56  
57  
58 The authors declare no conflicts of interest.  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

**REFERENCES**

- 1  
2  
3  
4 [1] C.K. Balasubramanian, D.J. Clark, E.J. Fox, Walking adaptability after a  
5 stroke and its assessment in clinical settings., *Stroke Res. Treat.* 2014  
6 (2014) 591013. <https://doi.org/10.1155/2014/591013>.  
7  
8  
9  
10 [2] D.J. Geerse, M. Roerdink, J. Marinus, J.J. van Hilten, Assessing Walking  
11 Adaptability in Parkinson's Disease: "The Interactive Walkway," *Front.*  
12 *Neurol.* 9 (2018) 1096. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.01096>.  
13  
14  
15 [3] G. Yogev-Seligmann, J.M. Hausdorff, N. Giladi, The role of executive  
16 function and attention in gait, *Mov. Disord.* 23 (2008) 329–342.  
17 <https://doi.org/10.1002/mds.21720>.  
18  
19  
20 [4] C. Timmermans, M. Roerdink, M.W. van Ooijen, C.G. Meskers, T.W.  
21 Janssen, P.J. Beek, Walking adaptability therapy after stroke: Study  
22 protocol for a randomized controlled trial, *Trials.* 17 (2016) 425.  
23 <https://doi.org/10.1186/s13063-016-1527-6>.  
24  
25  
26 [5] A. Vahedipour, O. Haji Maghsoudi, S. Wilshin, P. Shamble, B. Robertson,  
27 A. Spence, Uncovering the structure of the mouse gait controller: Mice  
28 respond to substrate perturbations with adaptations in gait on a  
29 continuum between trot and bound, *J. Biomech.* 78 (2018) 77–86.  
30 <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2018.07.020>.  
31  
32  
33 [6] C. Bellardita, O. Kiehn, Phenotypic characterization of speed-associated  
34 gait changes in mice reveals modular organization of locomotor networks,  
35 *Curr. Biol.* 25 (2015) 1426–1436.  
36 <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.04.005>.  
37  
38  
39 [7] L.E. Wearick-Silva, R. Orso, L.A. Martins, K.C. Creutzberg, A. Centeno-  
40 Silva, L.L. Xavier, R. Grassi-Oliveira, R.G. Mestriner, Dual influences of  
41 early life stress induced by limited bedding on walking adaptability and  
42 *Bdnf/TrkB* and *Drd1/Drd2* gene expression in different mouse brain  
43 regions, *Behav. Brain Res.* 359 (2019) 66–72.  
44 <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.10.025>.  
45  
46  
47 [8] R.H. Silva, R. Frussa-Filho, The plus-maze discriminative avoidance task:  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 A new model to study memory-anxiety interactions. Effects of  
2 chlordiazepoxide and caffeine, *J. Neurosci. Methods*. 102 (2000) 117–  
3 125. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(00\)00289-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(00)00289-2).  
4

5  
6 [9] L.K. Smith, G.A. Metz, Dietary restriction alters fine motor function in rats,  
7 *Physiol. Behav.* 85 (2005) 581–592.  
8 <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.06.013>.  
9

10  
11 [10] K.M. Heiderstadt, R.M. McLaughlin, D.C. Wright, S.E. Walker, C.E.  
12 Gomez-Sanchez, The effect of chronic food and water restriction on  
13 open-field behaviour and serum corticosterone levels in rats, *Lab. Anim.*  
14 34 (2000) 20–28. <https://doi.org/10.1258/002367700780578028>.  
15  
16

17  
18 [11] M.W. Eysenck, N. Derakshan, R. Santos, M.G. Calvo, Anxiety and  
19 cognitive performance: Attentional control theory, *Emotion*. 7 (2007) 336–  
20 353. <https://doi.org/10.1037/1528-3542.7.2.336>.  
21  
22

23  
24 [12] N.C. Smith, M. Bellamy, D.J. Collins, D. Newell, A test of processing  
25 efficiency theory in a team sport context, *J. Sports Sci.* 19 (2001) 321–  
26 332. <https://doi.org/10.1080/02640410152006090>.  
27  
28

29  
30 [13] P. V. Nguyen, Comparative plasticity of brain synapses in inbred mouse  
31 strains, *J. Exp. Biol.* 209 (2006) 2293–2303.  
32 <https://doi.org/10.1242/jeb.01985>.  
33  
34

35  
36 [14] A.R. Hernandez, S.P. Winesett, Q.P. Federico, S.A. Williams, S.N. Burke,  
37 D.J. Clark, A Cross-species Model of Dual-Task Walking in Young and  
38 Older Humans and Rats, *Front. Aging Neurosci.* 12 (2020) 276.  
39 <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00276>.  
40  
41

42  
43 [15] J. Langan, R.D. Seidler, Age differences in spatial working memory  
44 contributions to visuomotor adaptation and transfer, *Behav. Brain Res.*  
45 225 (2011) 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.014>.  
46  
47

48  
49 [16] W. Russell, R. Burch, *The principles of humane experimental technique*,  
50 (1959).  
51 [http://117.239.25.194:7000/jspui/bitstream/123456789/1342/1/PRILIMINE](http://117.239.25.194:7000/jspui/bitstream/123456789/1342/1/PRILIMINARY_AND_CONTENTS.pdf)  
52 [RY AND CONTENTS.pdf](http://117.239.25.194:7000/jspui/bitstream/123456789/1342/1/PRILIMINARY_AND_CONTENTS.pdf) (accessed January 25, 2021).  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65
- [17] A.K. Kraeuter, P.C. Guest, Z. Sarnyai, The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior, in: *Methods Mol. Biol.*, Humana Press Inc., 2019: pp. 99–103. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_9).
- [18] A.K. Kraeuter, P.C. Guest, Z. Sarnyai, The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents, in: *Methods Mol. Biol.*, Humana Press Inc., 2019: pp. 69–74. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_4).
- [19] R. Trullas, P. Skolnick, Differences in fear motivated behaviors among inbred mouse strains, *Psychopharmacology (Berl)*. 111 (1993) 323–331. <https://doi.org/10.1007/BF02244948>.
- [20] A.K. Kraeuter, P.C. Guest, Z. Sarnyai, The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice, in: *Methods Mol. Biol.*, Humana Press Inc., 2019: pp. 105–111. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_10).
- [21] J.A. Morgan, G. Singhal, F. Corrigan, E.J. Jaehne, M.C. Jawahar, B.T. Baune, The effects of aerobic exercise on depression-like, anxiety-like, and cognition-like behaviours over the healthy adult lifespan of C57BL/6 mice, *Behav. Brain Res.* 337 (2018) 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.09.022>.
- [22] C.J. Miedel, J.M. Patton, A.N. Miedel, E.S. Miedel, J.M. Levenson, Assessment of Spontaneous Alternation, Novel Object Recognition and Limb Claspings in Transgenic Mouse Models of Amyloid- $\beta$  and Tau Neuropathology, *J. Vis. Exp.* (2017) 55523. <https://doi.org/10.3791/55523>.
- [23] G.A. Metz, I.Q. Whishaw, Cortical and subcortical lesions impair skilled walking in the ladder rung walking test: A new task to evaluate fore- and hindlimb stepping, placing, and co-ordination, *J. Neurosci. Methods*. 115 (2002) 169–179. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(02\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(02)00012-2).
- [24] K. Gawel, E. Gibula, M. Marszalek-Grabska, J. Filarowska, J.H. Kotlinska, Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents—methodological consideration, *Naunyn. Schmiedeberg's Arch.*

Pharmacol. 392 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00210-018-1589-y>.

- 1  
2  
3 [25] W.R. Young, A.M. Wing, M.A. Hollands, Influences of State Anxiety on  
4 Gaze Behavior and Stepping Accuracy in Older Adults During Adaptive  
5 Locomotion, *Journals Gerontol. Ser. B Psychol. Sci. Soc. Sci.* 67B (2012)  
6 43–51. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbr074>.  
7  
8  
9  
10 [26] K.R. Lohse, D.E. Sherwood, A.F. Healy, Neuromuscular effects of shifting  
11 the focus of attention in a simple force production task, *J. Mot. Behav.* 43  
12 (2011) 173–184. <https://doi.org/10.1080/00222895.2011.555436>.  
13  
14  
15  
16 [27] M.J. Hogan, Divided attention in older but not younger adults is impaired  
17 by anxiety, *Exp. Aging Res.* 29 (2003) 111–136.  
18 <https://doi.org/10.1080/03610730303712>.  
19  
20  
21  
22 [28] W.H. Gage, R.J. Sleik, M.A. Polych, N.C. McKenzie, L.A. Brown, The  
23 allocation of attention during locomotion is altered by anxiety, *Exp. Brain*  
24 *Res.* 150 (2003) 385–394. <https://doi.org/10.1007/s00221-003-1468-7>.  
25  
26  
27  
28 [29] F.J. van der Staay, Animal models of behavioral dysfunctions: Basic  
29 concepts and classifications, and an evaluation strategy, *Brain Res. Rev.*  
30 52 (2006) 131–159. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.01.006>.  
31  
32  
33  
34 [30] L.M. Fraser, R.E. Brown, A. Hussin, M. Fontana, A. Whittaker, T.P.  
35 O'leary, L. Lederle, A. Holmes, A. Ramos, Measuring anxiety-and  
36 locomotion-related behaviours in mice: a new way of using old tests,  
37 *Psychopharmacol.* 211 (2010) 99–112. [https://doi.org/10.1007/s00213-](https://doi.org/10.1007/s00213-010-1873-0)  
38 [010-1873-0](https://doi.org/10.1007/s00213-010-1873-0).  
39  
40  
41  
42  
43  
44 [31] A. Ramos, Animal models of anxiety: do I need multiple tests?, *Trends*  
45 *Pharmacol. Sci.* 29 (2008) 493–498.  
46 <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.07.005>.  
47  
48  
49  
50 [32] J.F. Cryan, A. Holmes, Model organisms: The ascent of mouse:  
51 Advances in modelling human depression and anxiety, *Nat. Rev. Drug*  
52 *Discov.* 4 (2005) 775–790. <https://doi.org/10.1038/nrd1825>.  
53  
54  
55  
56 [33] X.L. An, J.X. Zou, R.Y. Wu, Y. Ying, F.D. Tai, S.Y. Zeng, J. Rui, Z. Xia,  
57 E.Q. Liu, B. Hugh, Strain and sex Differences in Anxiety-Like and Social  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

Behaviors in C57Bl/6J and BALB/cJ Mice, *Exp. Anim.* 60 (2011) 111–123.  
<https://doi.org/10.1538/expanim.60.111>.

- [34] C. V. Vorhees, M.T. Williams, Assessing spatial learning and memory in rodents, *ILAR J.* 55 (2014) 310–332. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilu013>.
- [35] J. Fenner, D. Heathcote, J. Jerrams-Smith, The development of wayfinding competency: Asymmetrical effects of visuo-spatial and verbal ability, *J. Environ. Psychol.* 20 (2000) 165–175.  
<https://doi.org/10.1006/jevp.1999.0162>.
- [36] E. Flouri, E. Papachristou, E. Midouhas, The role of neighbourhood greenspace in children’s spatial working memory, *Br. J. Educ. Psychol.* 89 (2019) 359–373. <https://doi.org/10.1111/bjep.12243>.
- [37] F. Ayoubi, C.P. Launay, C. Annweiler, O. Beauchet, Fear of Falling and Gait Variability in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis, *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 16 (2015) 14–19.  
<https://doi.org/10.1016/j.jamda.2014.06.020>.
- [38] P. Sorrentino, A. Lardone, M. Pesoli, M. Liparoti, S. Montuori, G. Curcio, G. Sorrentino, L. Mandolesi, F. Foti, The Development of Spatial Memory Analyzed by Means of Ecological Walking Task, *Front. Psychol.* 10 (2019) 728. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00728>.
- [39] M.R. Hunsaker, R.E. von Leden, B.T. Ta, N.J. Goodrich-Hunsaker, G. Arque, K. Kim, R. Willemsen, R.F. Berman, Motor deficits on a ladder rung task in male and female adolescent and adult CGG knock-in mice, *Behav. Brain Res.* 222 (2011) 117–121.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.039>.
- [40] M.B. Carreira, R. Cossio, G.B. Britton, Individual and sex differences in high and low responder phenotypes, *Behav. Processes.* 136 (2017) 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2017.01.006>.

## Figure Legends

**Figure 1. Walking adaptability performance in the Ladder Rung Walking Test. (A)** Forelimb performance, **(B)** Hindlimb performance, **(C)** Combined Limbs performance. Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. One-way ANOVA and Tukey's post hoc tests were used. \* superior performers vs. inferior performers; # superior performers vs. regular performers; † regular performers vs. inferior performers.

**Figure 2. Anxiety-like behavior in the Elevated Plus Maze test. (A)** Distance traveled, **(B)** Number of entries in the open arms, **(C)** Number of entries in the closed arms, **(D)** Time spent in the open arms, **(E)** Time spent in the closed arms, **(F)** Time spent in the center, **(G)** Avoidance index. Data are expressed in 25-50-75 percentile and range (minimum and maximum). Kruskal Wallis and Mann-Whitney tests were used. # superior performers vs. regular performers; † regular performers vs. inferior performers.

**Figure 3. Spatial Memory in the Y-Maze test. (A)** Entries in arm A, **(B)** Entries in arm B, **(C)** Entries in arm C, **(D)** Time spent in arm A, **(E)** Time spent in arm B, **(F)** Time spent in arm C, **(G)** % Spontaneous alternation, **(H)** Preference index, **(I)** % Entries in arm A, **(J)** % Entries in arm B, **(K)** % Entries in arm C, **(L)** % Time spent in arm A, **(M)** % Time spent in arm B, **(N)** % Time spent in arm C. Data are expressed in 25-50-75 percentile and range (minimum and maximum). The Kruskal Wallis and Mann-Whitney tests were used.

## Supplementary Figure Legends

**Supplementary Figure 1. Experimental Design.**

**Supplementary Figure 2. Group division (inferior, regular and superior performers) based on the mice cohort performance (percentiles) in the ladder rung walking test (LRWT).**

**Supplementary Figure 3. Mice locomotion pattern in the Open Field test. (A)** Distance traveled, **(B)** Time spent in peripheral zone, **(C)** Time spent in the central zone, **(D)** Number of entries in the peripheral zone, **(E)** Number of entries in the central zone, **(F)** % of time spent in the peripheral zone, **(G)** % of time spent in the central zone, **(H)** % of entries in the peripheral zone, **(I)** % of entries in the central zone. Data are expressed in 25-50-75 percentile and range (minimum and maximum). Kruskal Wallis and Mann-Whitney tests were used.

**Supplementary Figure 4. Spatial Memory in the Barnes Maze test. (A)** Primary latency, **(B)** Total latency, **(C)** Search strategy, **(D)** Number of primary errors, **(E)** Number of total errors, **(F)** Probe trial total latency, **(G)** Probe trial total errors, **(H)** Probe trial search strategy. Data are expressed in 25-50-75 percentile and range (minimum and maximum). The Kruskal Wallis and Mann-Whitney tests were used.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

Figure 1

[Click here to access/download;Figure;Figure 1.doc](#)

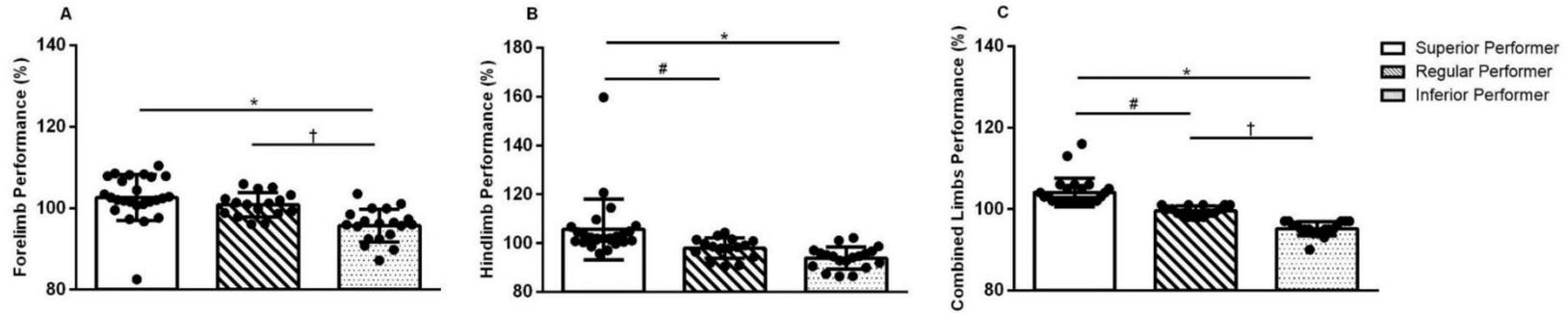


Figure 2

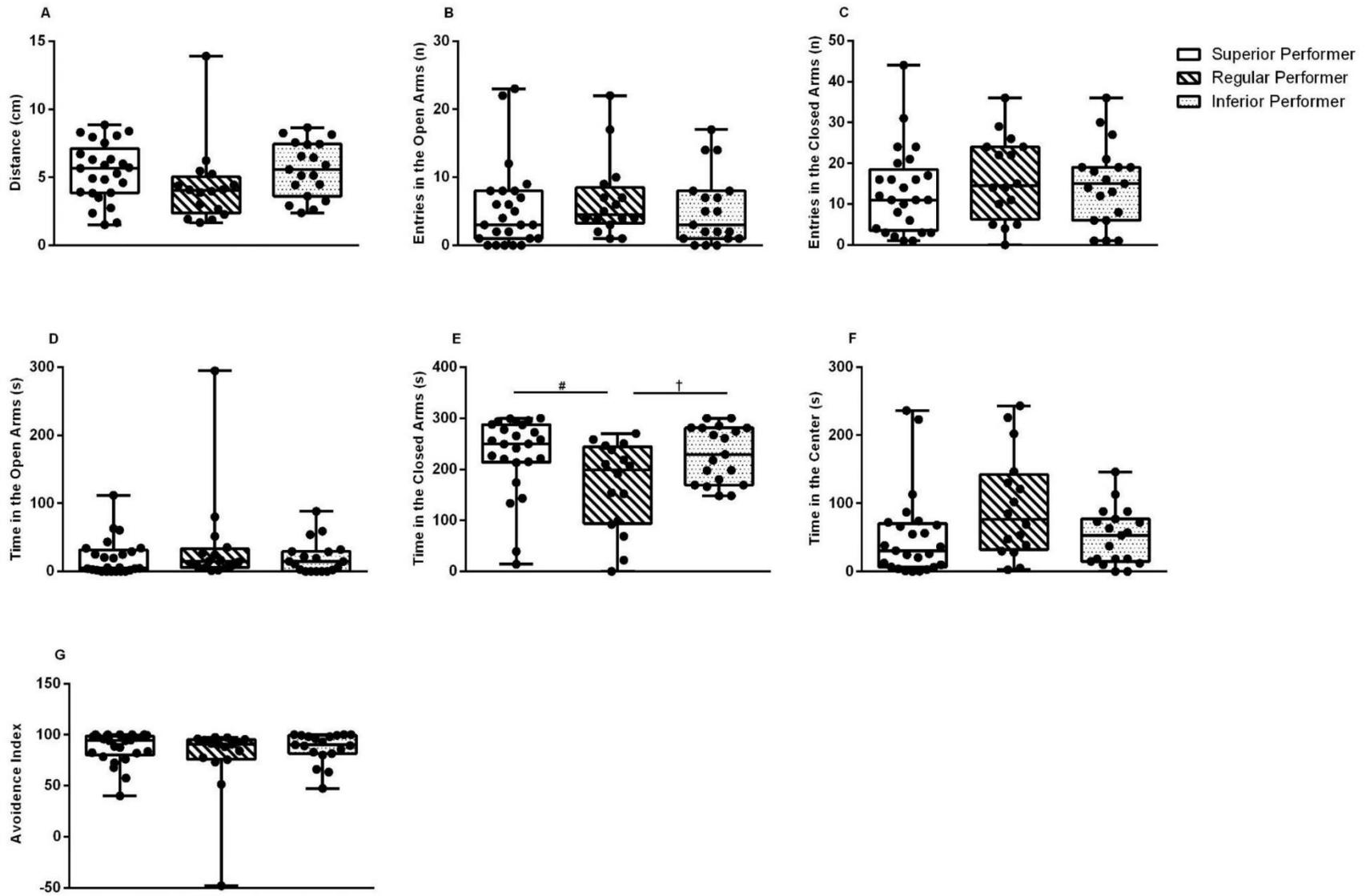
[Click here to access/download;Figure;Figure 2.doc](#)

Figure 3

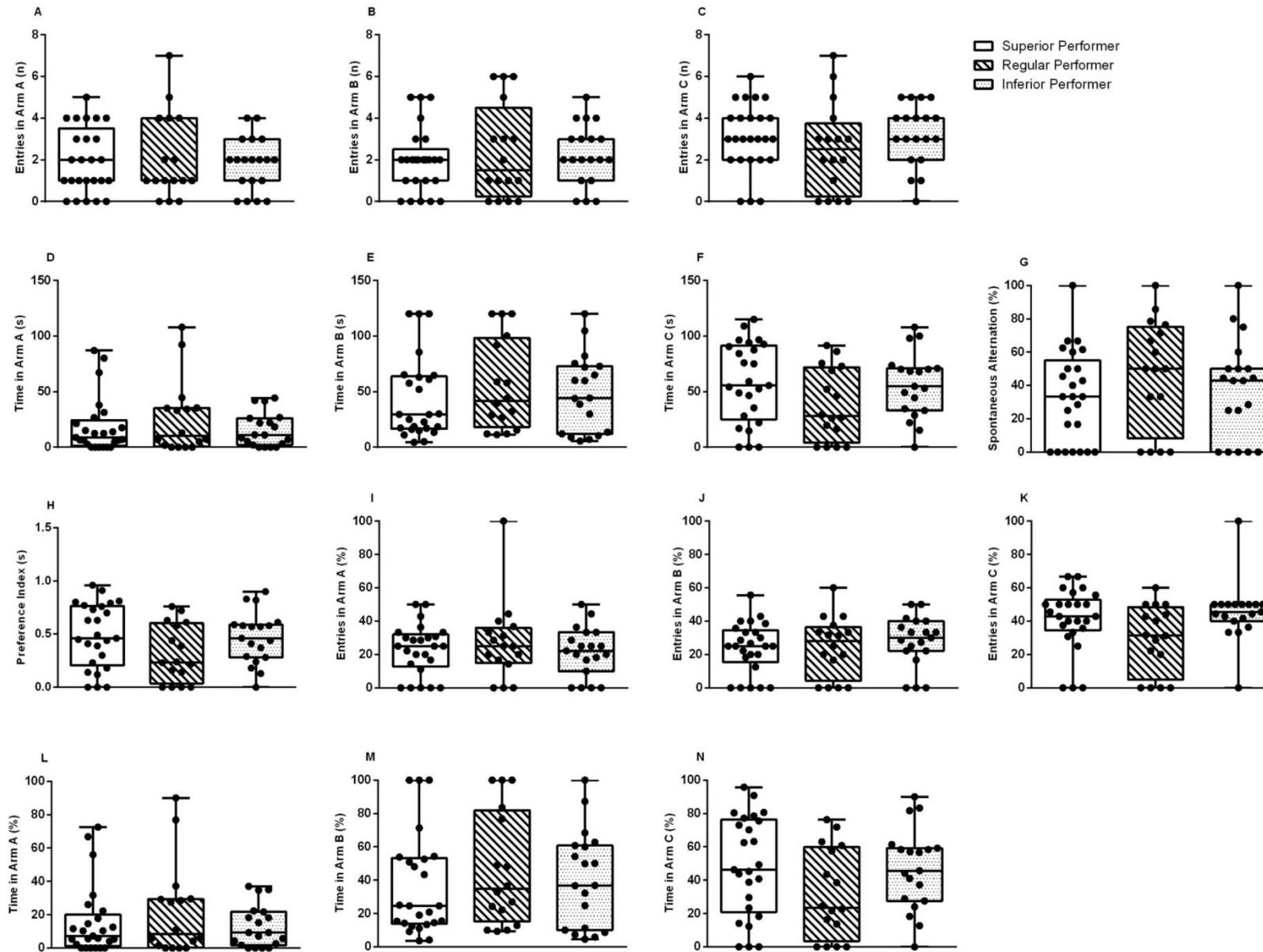
[Click here to access/download;Figure;Figure 3.doc](#)


Table 1

[Click here to access/download;Table;Table 1.doc](#)

Table 1. Overall ROC curve statistics. SD: standard deviation; P: level of significance; CI 95%: confidence interval 95%.

Test / Variable	Area	SD	P	CI 95%
<b>a) Open Field</b>				
Entries in the Periphery (%)	0.482	0.079	0.83	0.327 – 0.638
<b>b) Elevated Plus Maze</b>				
Time in the Closed Arms (s)	0.732	0.068	0.01*	0.599 – 0.864
<b>c) Y-Maze</b>				
Entries in Arm C (%)	0.692	0.081	0.02*	0.532 – 0.851
<b>d) Barnes Maze</b>				
Search strategy Day 4 (mean)	0.434	0.086	0.43	0.265 – 0.603

Note: \* P ≤ 0.05

Table 2. Quantitative Poisson regression model to test the relationship between variables of interest with the extreme behaviors in the LRWT. Exp (B): odds ratio; P: level of significance; 95% CI: 95% confidence interval.

Test / Variable	Exp(B)	P	CI 95%
<b>a) Open Field</b>			
Entries in the Periphery (%)	1.000	0.94	0.994 – 1.005
<b>b) Elevated Plus Maze</b>			
Time in the Closed Arms (s)	1.003	0.02*	1.000 – 1.006
<b>c) Y-Maze</b>			
Entries in Arm C (%)	1.009	0.03*	1.001 – 1.018
<b>d) Barnes Maze</b>			
Search strategy Day 4 (mean)	0.837	0.36	0.572 – 1.225

Note: \*  $P \leq 0.05$

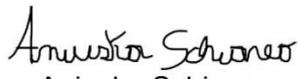
Table 3. Qualitative Poisson regression model to test the relationship between the variables of interest and the extreme behaviors of the LRWT. Exp (B): odds ratio; P: level of significance; 95% CI: 95% confidence interval.

Test / Variable	Exp(B)	P	CI 95%
<b>a) Open Field</b>			
Entries in the Periphery (%)	1.000	0.93	0.994 – 1.006
<b>b) Elevated Plus Maze</b>			
Time in the Closed Arms (219s)	1.390	0.05*	0.996 – 1.941
<b>c) Y-Maze</b>			
Entries in Arm C (42%)	1.258	0.15	0.917 – 1.726
<b>d) Barnes Maze</b>			
Search strategy Day 4 (mean)	0.833	0.37	0.310 – 1.038

Note: \* P ≤ 0.05

**Conflict of interest disclosure**

All the authors (signed below) declare there is no conflict of interest that could inappropriately influence this research, including financial and/or personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence this work.

  
Aniuska Schiavo

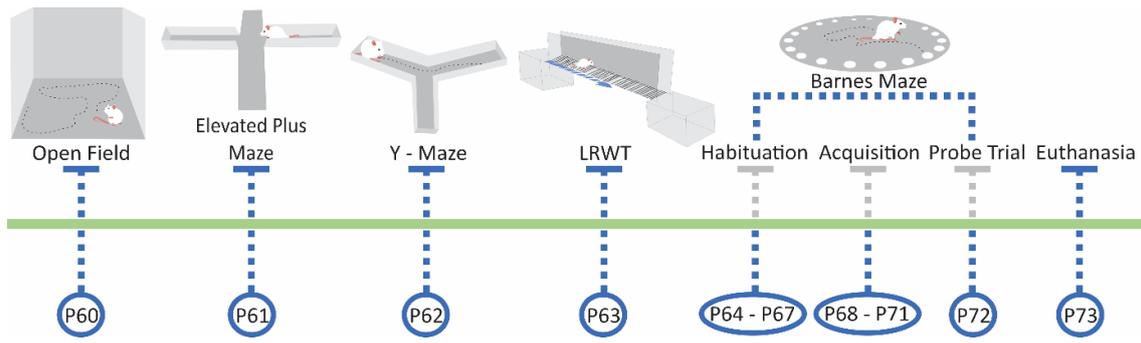
  
Lucas Athaydes Martins

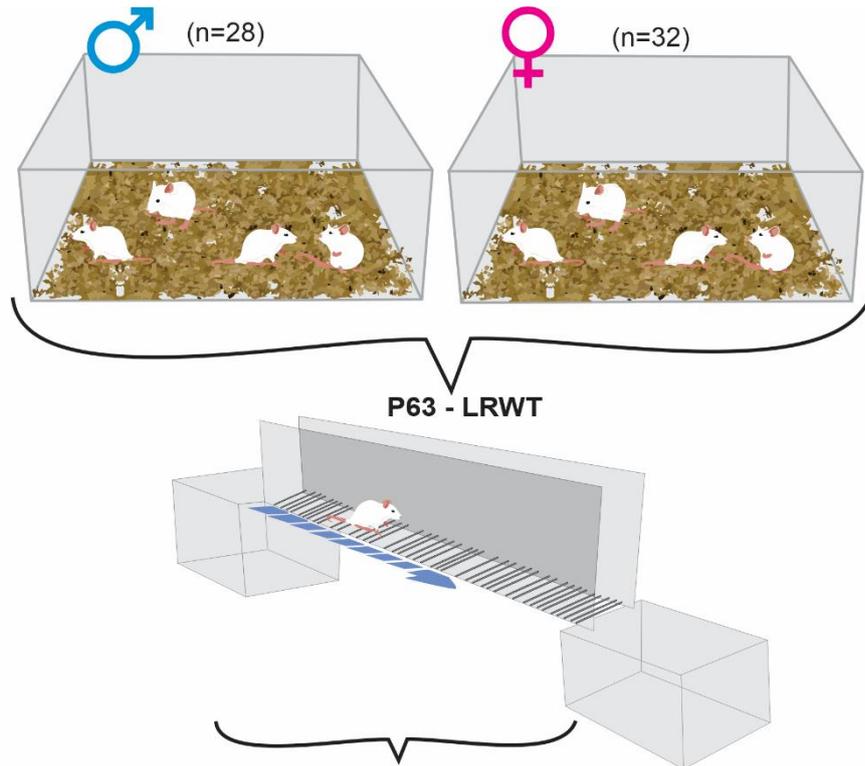
  
Luís Eduardo Wearick-Silva

  
Rodrigo Orso

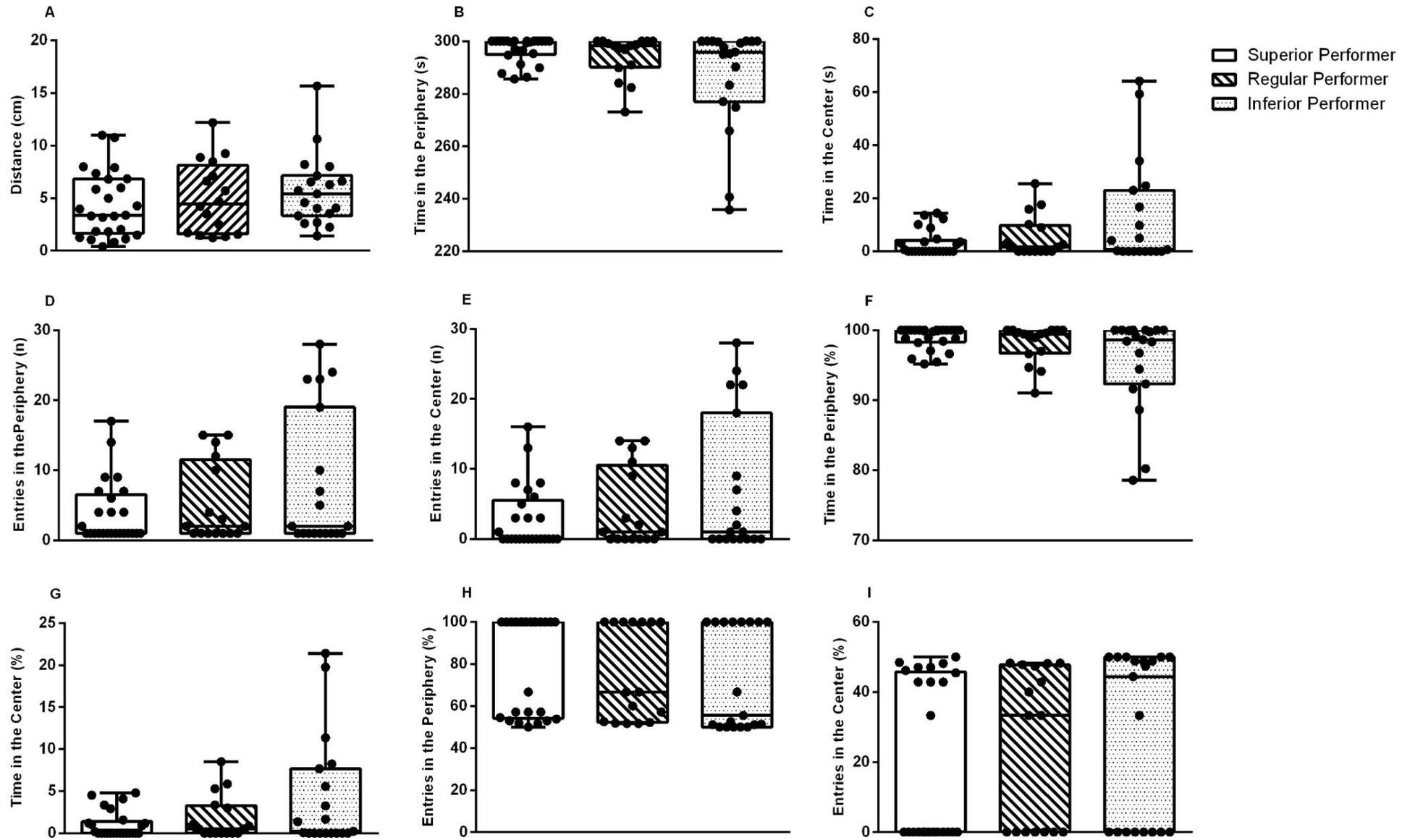
  
Léder Leal Xavier

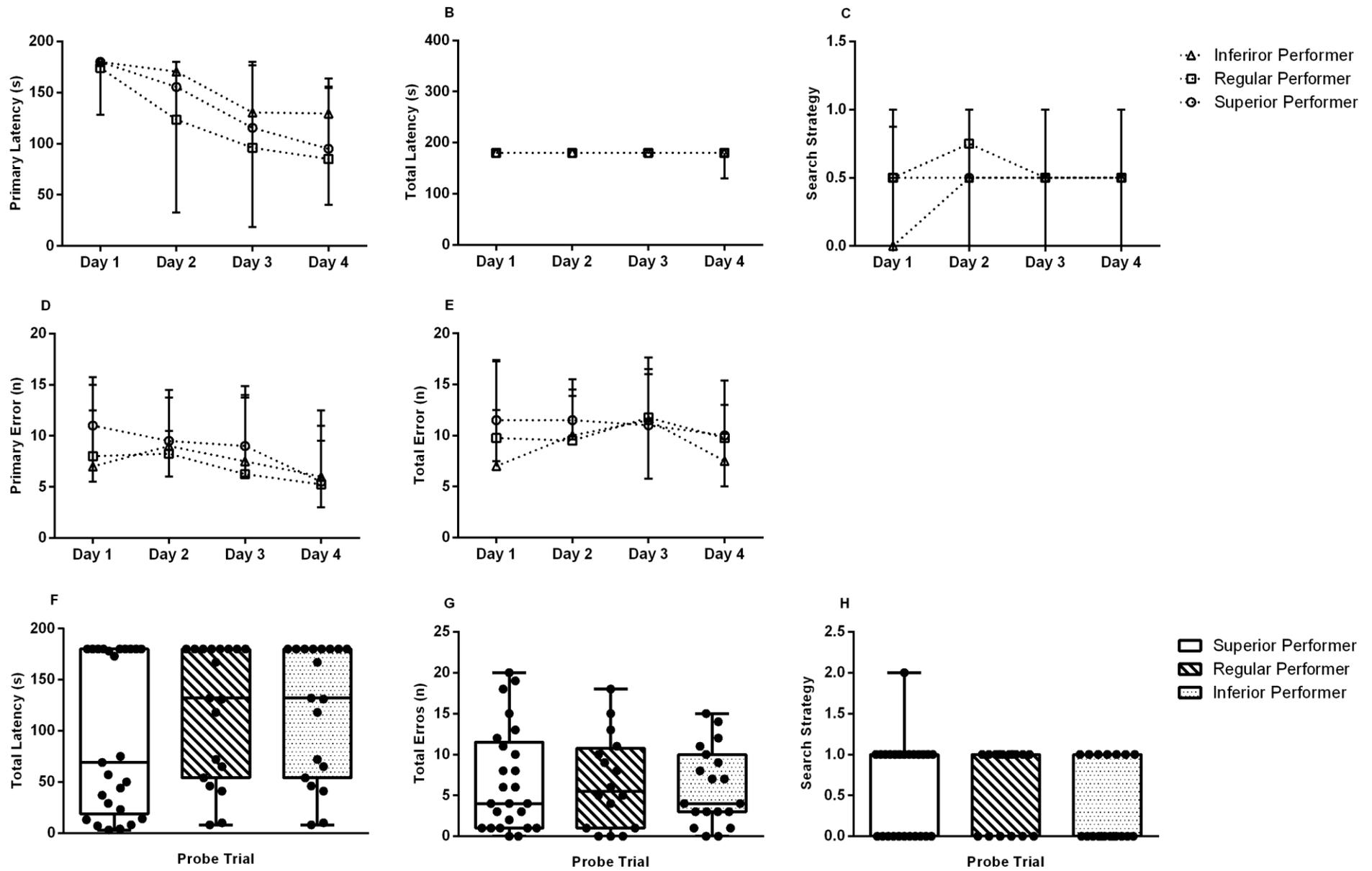
  
Régis Gemerasca Mestriner





Percentiles	Score Combined <i>Limbs Normalized (%)</i>	Groups	♂	♀
<25	97	<i>Inferior Performers (n)</i>	9	10
26>74	100.50	<i>Regular Performers (n)</i>	7	9
>75	102	<i>Superior Performers (n)</i>	12	13





Supplementary Table 1. Behavioral characterization of the studied mice cohort.

Variables	Mean	Standard Deviation	Median	Minimum	Maximum	Percentiles		
						25	50	75
<b>Open Field</b>								
Distance (cm)	4.96	3.26	4.23	0.39	15.66	2.08	4.23	7.05
Entries in the Periphery (n)	5.55	7.00	1.50	1.00	28.00	1.00	1.50	8.50
Time in the Periphery (s)	292.99	12.86	298.60	235.80	300.00	290.40	298.60	300.00
Entries in the Center (n)	4.65	7.10	1.00	0.00	28.00	0.00	1.00	7.75
Time in the Center(s)	6.77	12.89	0.40	0.00	64.20	0.00	0.40	9.60
Entries in the Periphery (%)	76.57	23.16	66.67	50.00	100.00	52.28	66.67	100.00
Time in the Periphery (%)	97.66	4.28	99.53	78.60	100.00	96.79	99.53	100.00
Entries in the Center (%)	23.42	23.16	33.33	0.00	50.00	0.00	33.33	47.71
Time in the Center (%)	2.25	4.29	0.13	0.00	21.40	0.00	0.13	3.20
<b>Elevated Plus Maze</b>								
Distance (cm)	5.16	2.34	5.02	1.52	13.91	3.53	5.02	6.52
Entries in the Open Arms (n)	5.61	5.69	4.00	0.00	23.00	1.00	4.00	8.00
Time in the Open Arms (s)	24.66	42.94	12.50	0.00	294.80	1.85	12.50	29.25
Time in the Center (s)	62.64	63.16	50.40	0.00	243.00	12.92	50.40	86.45
Entries in the Closed Arms (n)	14.53	10.05	14.00	0.00	44.00	6.00	14.00	21.00
Time in the Closed Arms (s)	212.61	77.31	227.75	0.00	300.00	169.02	227.75	273.65
Avoidance Index	84.86	22.38	91.02	-47.90	100.00	80.38	91.02	97.56
<b>Y-Maze</b>								
Entries in Arm A (n)	1.95	1.61	2.00	0.00	7.00	1.00	2.00	3.00
Time in Arm A (s)	19.56	24.78	9.95	0.00	108.00	1.88	9.95	30.20
Entries in Arm B (n)	2.16	1.71	2.00	0.00	6.00	1.00	2.00	3.00
Time in Arm B (s)	48.33	36.89	39.05	4.42	120.00	15.58	39.05	70.30
Entries in Arm C (n)	2.98	1.72	3.00	0.00	7.00	2.00	3.00	4.00
Time in Arm C (s)	52.10	33.67	52.77	0.00	115.00	23.01	52.77	75.80
Entries in Arm A (%)	23.61	17.54	25.00	0.00	100.00	14.30	25.00	33.30
Time in Arm A (%)	16.30	20.65	8.30	0.00	90.00	1.55	8.30	25.15
Entries in Arm B (%)	25.36	15.80	27.00	0.00	60.00	17.07	27.00	36.22
Time in Arm B (%)	40.28	30.74	32.55	3.70	100.00	13.02	32.55	58.57
Entries in Arm C (%)	39.36	19.64	42.90	0.00	100.00	32.02	42.90	50.00
Time in Arm C (%)	43.42	28.06	44.00	0.00	95.80	19.15	44.00	63.15
Preference Index (s)	0.43	0.28	0.44	0.00	0.96	0.19	0.44	0.63
Spontaneous Alternation (%)	38.43	29.80	42.86	0.00	100.00	0.00	42.86	60.00
<b>Ladder Rung Walking Test</b>								
Forelimb Performance Score (%)	99.96	5.41	100.82	82.54	110.44	96.53	100.82	103.12
Hindlimb Performance Score (%)	99.92	9.99	99.44	86.43	159.69	94.84	99.44	102.16
Combined Limbs Performance Score (%)	100.06	4.58	100.50	90.00	116.00	97.00	100.50	102.00

<b>Barnes Maze</b>								
Primary Latency Day 1 (mean)	156.70	40.31	180.00	22.00	180.00	140.87	180.00	180.00
Primary Latency Day 2 (mean)	133.21	56.17	158.25	9.50	180.00	95.62	158.25	180.00
Primary Latency Day 3 (mean)	113.12	60.74	114.50	6.50	180.00	62.00	114.50	180.00
Primary Latency Day 4 (mean)	99.08	58.98	96.50	7.00	180.00	45.00	96.50	154.12
Primary Error Day 1 (mean)	10.32	6.24	9.25	0.00	28.00	5.50	9.25	14.50
Primary Error Day 2 (mean)	9.11	4.66	9.00	0.50	18.50	5.50	9.00	12.87
Primary Error Day 3 (mean)	9.27	6.04	7.50	0.00	26.00	4.62	7.50	14.00
Primary Error Day 4 (mean)	7.18	5.08	5.50	1.00	26.50	3.50	5.50	11.12
Total Latency Day 1 (mean)	178.00	9.30	180.00	121.00	180.00	180.00	180.00	180.00
Total Latency Day 2 (mean)	178.59	17.12	180.00	126.00	280.00	180.00	180.00	180.00
Total Latency Day 3 (mean)	168.23	33.60	180.00	37.00	180.00	180.00	180.00	180.00
Total Latency Day4 (mean)	171.48	114.36	180.00	32.00	990.00	143.25	180.00	180.00
Total Erro Day 1 (mean)	11.30	6.31	10.50	2.50	28.00	6.12	10.50	15.75
Total Erro Day 2 (mean)	11.12	4.71	10.50	3.00	25.00	8.00	10.50	14.50
Total Erro Day 3 (mean)	12.12	6.36	11.50	1.00	28.50	7.62	11.50	16.50
Total Erro Day 4 (mean)	9.70	5.48	8.50	1.50	27.00	5.00	8.50	13.50
Search Strategy Day 1 (mean)	0.43	0.44	0.50	0.00	1.50	0.00	0.50	1.00
Search Strategy Day 2 (mean)	0.57	0.46	0.50	0.00	1.50	0.00	0.50	1.00
Search Strategy Day 3 (mean)	0.59	0.54	0.50	0.00	2.00	0.00	0.50	1.00
Search Strategy Day 4 (mean)	0.52	0.39	0.50	0.00	1.00	0.00	0.50	1.00
Total Latency Probe Trial (s)	102.93	118.00	74.21	3.00	180.00	29.00	118.00	180.00
Total Erro Probe Trial (n)	6.53	5.00	5.59	0.00	20.00	1.00	5.00	10.75
Search Strategy Probe Trial	0.53	1.00	0.53	0.00	2.00	0.00	1.00	1.00

Supplementary Table 2. Behavioral comparison between male and female mice.

Test / Variables	Female	Male	
<b>Open Field</b>	<b>Median (II 25/75)</b>	<b>Median (II 25/75)</b>	<b>P</b>
Distance (cm)	4.84 (1.63 / 6.78)	3.80 (2.33 / 7.13)	0.88
Entries in the Periphery (n)	1.00 (1.00 / 7.00)	2.00 (1.00 / 9.00)	0.82
Time in the Periphery (s)	297.50 (290.40 / 300.00)	299.05 (291.10 / 300.00)	1.00
Entries in the Center (n)	0.00 (0.00 / 7.00)	1.00 (0.00 / 8.00)	0.70
Time in the Center (s)	0.00 (0.00 / 9.60)	0.65 (0.00 / 8.83)	0.75
Entries in the Periphery (%)	100.00 (52.29 / 100.00)	66.67 (51.95 / 100.00)	0.61
Time in the Periphery (%)	99.17 (96.80 / 100.00)	99.69 (97.03 / 100.00)	1.00
Entries in the Center (%)	0.00 (0.00 / 47.72)	33.33 (0.00 / 48.05)	0.61
Time in the Center (%)	0.00 (0.00 / 3.20)	0.22 (0.00 / 2.95)	0.75
<b>Elevated Plus Maze</b>	<b>Median (II 25/75)</b>	<b>Median (II 25/75)</b>	<b>P</b>
Distance (cm)	5.19 (3.61 / 6.32)	4.66 (3.18 / 7.53)	0.78
Entries in the Open Arms (n)	2.50 (1.00 / 6.75)	6.00 (3.00 / 8.75)	0.06
Time in the Open Arms (s)	6.25 (1.28 / 26.48)	14.35 (4.28 / 35.05)	0.25
Time in the Center (s)	30.20 (7.43 / 73.75)	59.75 (25.53 / 106.75)	0.09
Entries in the Closed Arms (n)	11.50 (4.25 / 20.50)	16.00 (10.25 / 23.25)	0.10
Time in the Closed Arms (s)	249.70 (192.63 / 281.38)	216.25 (149.50 / 260.13)	0.14
Avoidance Index	93.80 (83.03 / 98.09)	90.33 (76.34 / 95.91)	0.22
<b>Y-Maze</b>	<b>Median (II 25/75)</b>	<b>Median (II 25/75)</b>	<b>P</b>
Entries in Arm A (n)	1.50 (0.00 / 3.00)	2.00 (1.00 / 3.75)	0.31
Time in Arm A (s)	9.96 (0.00 / 34.85)	9.85 (2.15 / 26.79)	0.85
Entries in Arm B (n)	2.00 (0.25 / 4.00)	2.00 (1.00 / 3.00)	0.97
Time in Arm B (s)	31.17 (12.75 / 79.57)	43.94 (18.52 / 65.06)	0.81
Entries in Arm C (n)	3.00 (1.25 / 4.00)	3.00 (2.00 / 4.00)	0.52
Time in Arm C (s)	53.68 (17.80 / 84.58)	51.12 (28.24 / 75.33)	0.82
Entries in Arm A (%)	21.10 (0.00 / 32.68)	25.00 (20.00 / 33.30)	0.24
Time in Arm A (%)	8.30 (0.00 / 29.03)	8.20 (1.83 / 22.30)	0.86
Entries in Arm B (%)	29.30 (4.18 / 37.98)	25.00 (18.65 / 33.30)	0.85
Time in Arm B (%)	26.00 (10.60 / 66.30)	36.65 (15.40 / 54.20)	0.81
Entries in Arm C (%)	40.85 (29.15 / 50.00)	44.95 (34.08 / 50.00)	0.36
Time in Arm C (%)	44.75 (14.85 / 70.50)	42.60 (23.55 / 62.75)	0.82
Preference Index (s)	0.44 (0.14 / 0.70)	0.42 (0.23 / 0.62)	0.75
Spontaneous Alternation (%)	41.43 (0.00 / 50.00)	43.65 (20.83 / 64.58)	0.67
<b>Ladder Rung Walking Test</b>	<b>Mean <math>\pm</math> SD</b>	<b>Mean <math>\pm</math> SD</b>	<b>P</b>
Forelimb Performance Score (%)	100.55 $\pm$ 4.26	99.30 $\pm$ 6.50	0.37
Hindlimb Performance Score (%)	98.72 $\pm$ 7.44	101.30 $\pm$ 12.29	0.32
Combined Limbs Performance Score (%)	99.81 $\pm$ 4.59	100.36 $\pm$ 4.64	0.65
<b>Barnes Maze</b>	<b>Median (II 25/75)</b>	<b>Median (II 25/75)</b>	<b>P</b>

Primary Latency Day 1 (mean)	180.00 (141.38 / 180.00)	180.00 (137.50 / 180.00)	0.83
Primary Latency Day 2 (mean)	158.25 (126.50 / 180.00)	141.00 (92.63 / 180.00)	0.64
Primary Latency Day 3 (mean)	117.75 (54.13 / 180.00)	110.25 (71.63 / 180.00)	0.97
Primary Latency Day 4 (mean)	96.25 (40.25 / 157.88)	96.50 (45.00 / 146.88)	0.91
Primary Error Day 1 (mean)	9.75 (5.13 / 14.50)	9.00 (5.50 / 14.75)	0.85
Primary Error Day 2 (mean)	10.50 (6.50 / 14.38)	7.75 (4.25 / 9.88)	0.03*
Primary Error Day 3 (mean)	8.00 (4.50 / 14.88)	7.50 (5.13 / 13.38)	0.94
Primary Error Day 4 (mean)	5.00 ( 2.63 / 9.75)	6.25 (4.50 / 11.88)	0.24
Total Latency Day 1 (mean)	180.00 (180.00 / 180.00)	180.00 (180.00 / 180.00)	0.67
Total Latency Day 2 (mean)	180.00 (180.00 / 180.00)	180.00 (180.00 / 180.00)	0.17
Total Latency Day 3 (mean)	180.00 (180.00 / 180.00)	180.00 (180.00 / 180.00)	0.45
Total Latency Day4 (mean)	180.00 (132.88 / 180.00)	180.00 (163.38 / 180.00)	0.46
Total Erro Day 1 (mean)	10.50 (5.63 / 15.63)	10.25 (6.63 / 15.75)	0.82
Total Erro Day 2 (mean)	11.25 (9.13 / 15.63)	10.00 (5.63 / 13.50)	0.09
Total Erro Day 3 (mean)	11.50 (7.25 / 16.50)	11.25 (7.88 / 17.63)	0.75
Total Erro Day 4 (mean)	6.75 (4.00 / 12.75)	12.75 (6.38 / 14.88)	0.01*
Search Strategy Day 1 (mean)	0.50 (0.00 / 1.00)	0.50 (0.00 / 0.88)	0.95
Search Strategy Day 2 (mean)	0.50 (0.00 / 1.00)	0.50 (0.00 / 1.00)	0.75
Search Strategy Day 3 (mean)	0.50 (0.00 / 1.00)	0.75 (0.00 / 1.00)	0.61
Search Strategy Day 4 (mean)	0.50 (0.00 / 1.00)	0.50 (0.13 / 1.00)	0.60
Total Latency Probe Trial (s)	70.50 (15.50 / 180.00)	131.50 (38.00 / 180.00)	0.55
Total Erro Probe Trial (n)	4.00 (1.00 / 9.75)	6.50 (3.00 / 11.75)	0.28
Search Strategy Probe Trial	0.50 (0.00 / 1.00)	1.00 (0.00 / 1.00)	0.88

Note: Kruskal Wallis test \*p<0,05

Supplementary Table 3. ROC Curve coordinates using the variable 'time in the EPM closed arms' (s) to predict extreme percentiles in the LRWT.

<b>Cut</b>	<b>Sensitivity</b>	<b>Specificity</b>
171.5500	0.795	0.437
177.0000	0.773	0.437
185.5000	0.750	0.437
194.2500	0.750	0.500
197.7500	0.727	0.500
202.2000	0.705	0.500
208.2500	0.705	0.562
211.5500	0.705	0.625
213.8500	0.682	0.625
216.2500	0.659	0.625
218.1500	0.636	0.625
219.2500	0.636	0.687
220.5000	0.614	0.687
223.7500	0.591	0.687
227.7500	0.568	0.687
233.5000	0.545	0.687
239.5000	0.545	0.750
243.7000	0.523	0.750
247.9500	0.523	0.812
249.7000	0.500	0.812

Supplementary Table 4. ROC Curve coordinates of the variable 'percentage of entries in the Y-Maze arm C (new arm)' to predict extreme percentiles in the LRWT.

<b>Cut off Point</b>	<b>Sensitivity</b>	<b>Specificity</b>
32.4500	0.864	0.562
34.5000	0.795	0.562
36.0500	0.773	0.562
36.9500	0.750	0.562
38.7500	0.727	0.562
40.8500	0.636	0.625
42.3000	0.614	0.625
43.3500	0.545	0.687
44.1000	0.545	0.750
44.9500	0.500	0.750
47.7500	0.455	0.750

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da marcha em modelos murinos contribui para a compreensão de diversos aspectos neurobiológicos, sejam eles comportamentais, celulares ou moleculares (MEDEIROS et al., 2018; WEARICK-SILVA et al., 2019). Embora alguns estudos em seres humanos já tenham estudado a relação entre a adaptabilidade da marcha, a memória e a ansiedade, especialmente em quadros disfuncionais (YOUNG; HOLLANDS, 2010; YOUNG; WING; HOLLANDS, 2012), os mecanismos subjacentes ao fenômeno ainda são pouco conhecidos e carecem de modelos animais válidos para o seu estudo em níveis celular e molecular. Sabe-se que os modelos animais são particularmente úteis para relacionar diversos aspectos neurobiológicos e seus impactos potenciais sobre o comportamento motor (MEDEIROS et al., 2018; WEARICK-SILVA et al., 2019). Assim, neste estudo, buscamos avaliar a relação entre a capacidade de adaptação da marcha com os níveis normais de ansiedade (KAMEDA et al., 2007; RAMOS; MORMÈDE, 1997) e de alguns parâmetros de memória espacial e temporal (BRODY; HOLTZMAN, 2006; KALUEFF et al., 2007; STREKALOVA et al., 2005) em uma corte de camundongos isogênicos.

Ante ao exposto ao longo desta dissertação, acreditamos que o trabalho realizado possa contribuir sobremaneira para a área do comportamento motor, da gerontologia biomédica e das neurociências. Especificamente, demonstramos que existe uma variação natural do comportamento símile de ansiedade que pode prever, ao menos em parte, a capacidade natural de adaptação da marcha. Tais achados são o primeiro passo para que se possa explorar o uso de agentes farmacológicos e a investigação acerca de quais vias neurais são importantes neste processo de interação cognitivo-motora que resulta na capacidade de adaptação da marcha. Acreditamos, assim, que este estudo fornece valiosos *insights* para futuras investigações, não apenas para as neurociências, mas também para a área da locomoção e envelhecimento, já que a capacidade de adaptação da marcha é um aspecto vital para prevenir as quedas da própria altura em idosos quando realizam o seu processo de mobilidade funcional diária. Por fim, os presentes resultados abrem uma nova linha de investigação em nosso grupo de pesquisa, a qual acreditamos que possa gerar muitos frutos em diversas temáticas relacionadas ao tema que foi investigado pela presente dissertação.

## 7 CONCLUSÃO

Concluimos que camundongos Balb/cJ intactos apresentam uma variabilidade natural da capacidade da adaptação da marcha que pode ser predita, em parte, pelo traço ansioso em seu espectro de normalidade. Além disso, observamos que o comportamento símile de ansiedade normal talvez exerça um efeito *dual* sobre o desempenho de adaptação da marcha. Estudos futuros são necessários para avaliar os mecanismos cognitivo-motores, em níveis celular e molecular, que interagem com o comportamento símile de ansiedade para determinar padrões comportamentais de adaptação da marcha.

## REFERÊNCIAS

- ABBRUZZESE, G.; BERARDELLI, A. Sensorimotor integration in movement disorders. **Movement Disorders**, v. 18, n. 3, p. 231–240, 1 mar. 2003.
- ABELLAN VAN KAN, G. et al. Gait speed at usual pace as a predictor of adverse outcomes in community-dwelling older people an International Academy on Nutrition and Aging (IANA) task force. **Journal of Nutrition, Health and Aging**, v. 13, n. 10, p. 881–889, 2009.
- ABOUTORABI, A. et al. **The effect of aging on gait parameters in able-bodied older subjects: a literature review** **Aging Clinical and Experimental Research** Springer International Publishing, , 1 jun. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26210370/>>. Acesso em: 21 jul. 2020
- AKULA, S. et al. The trajectory of gait development in mice. **bioRxiv**, p. 774885, 19 set. 2019.
- ALJONDI, R. et al. A decade of changes in brain volume and cognition. **Brain Imaging and Behavior**, v. 13, n. 2, p. 554–563, 15 abr. 2019.
- AN, X. L. et al. Strain and sex Differences in Anxiety-Like and Social Behaviors in C57Bl/6J and BALB/cJ Mice. **Experimental Animals**, v. 60, n. 2, p. 111–123, 2011.
- ANG, E. T. et al. Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. **Brain Research**, v. 1113, n. 1, p. 186–193, 3 out. 2006.
- ANGUERA, J. A. et al. Failure to engage spatial working memory contributes to age-related declines in visuomotor learning. **Journal of Cognitive Neuroscience**, v. 23, n. 1, p. 11–25, jan. 2011.
- ASAI, T. et al. Does dual-tasking provide additional value in timed “up and go” test for predicting the occurrence of falls? A longitudinal observation study by age group (young-older or old-older adults). **Aging Clinical and Experimental Research**, 2020.
- AYOUBI, F. et al. **Fear of Falling and Gait Variability in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis** **Journal of the American Medical Directors Association** Elsevier Inc., , 1 jan. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25230892/>>. Acesso em: 20 jan. 2021
- BACH, M. E. et al. **Impairment of Spatial but Not Contextual Memory in CaMKII Mutant Mice with a Selective Loss of Hippocampal LTP in the Range of the 0 Frequency** **Cell**. [s.l: s.n.].
- BAIR, W.-N. et al. Of Aging Mice and Men: Gait Speed Decline Is a Translatable Trait, With Species-Specific Underlying Properties. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 74, n. 9, p. 1413–1416, 2019.
- BALASUBRAMANIAN, C. K.; CLARK, D. J.; FOX, E. J. Walking adaptability after a

stroke and its assessment in clinical settings. **Stroke research and treatment**, v. 2014, p. 591013, 2014.

BALTES, P. B.; FREUND, A. M.; LI, S. The Psychological Science of Human Ageing. In: **The Cambridge Handbook of Age and Ageing**. [s.l.] Cambridge University Press, 2009. p. 47–71.

BARBOSA, A. R. et al. Functional limitations of Brazilian elderly by age and gender differences: data from SABE Survey. **Cadernos de saúde pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública**, v. 21, n. 4, p. 1177–1185, 2005.

BARNES, C. A. Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 93, n. 1, p. 74–104, fev. 1979.

BEAUCHET, O. et al. **Gait analysis in demented subjects: Interests and perspectives** *Neuropsychiatric Disease and Treatment* DOVE Medical Press Ltd., , 2008. Disponível em: </pmc/articles/PMC2515920/?report=abstract>. Acesso em: 30 jul. 2020

BEILock, S. L.; CARR, T. H. On the fragility of skilled performance: What governs choking under pressure? **Journal of Experimental Psychology: General**, v. 130, n. 4, p. 701–725, 2001.

BELLARDITA, C.; KIEHN, O. Phenotypic characterization of speed-associated gait changes in mice reveals modular organization of locomotor networks. **Current Biology**, v. 25, n. 11, p. 1426–1436, 1 jun. 2015.

BERTOGLIO, L. J.; CAROBREZ, A. P. Behavioral profile of rats submitted to session 1-session 2 in the elevated plus-maze during diurnal/nocturnal phases and under different illumination conditions. **Behavioural Brain Research**, v. 132, n. 2, p. 135–143, 14 maio 2002.

BLAND, K. et al. Spatiotemporal variability underlying skill in curved-path walking. **Gait & Posture**, v. 67, p. 137–141, 1 jan. 2019.

BLAZER, D. G.; YAFFE, K.; LIVERMAN, C. T. **Cognitive aging: Progress in understanding and opportunities for action**. [s.l.] National Academies Press, 2015.

BRACH, J. S. et al. Gait variability and the risk of incident mobility disability in community-dwelling older adults. **Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 62, n. 9, p. 983–988, 2007.

BRODY, D. L.; HOLTZMAN, D. M. Morris water maze search strategy analysis in PDAPP mice before and after experimental traumatic brain injury. **Experimental Neurology**, v. 197, n. 2, p. 330–340, fev. 2006.

BUNKER, J. P. **The role of medical care in contributing to health improvements**

**within societies***International Journal of Epidemiology*Oxford University Press, , 1 dez. 2001. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ije/article/30/6/1260/651763>>. Acesso em: 26 ago. 2020

CALVO, M. G.; EYSENCK, M. W. Anxiety and Performance: The Processing Efficiency Theory. **Cognition and Emotion**, v. 6, n. 6, p. 409–434, 1 nov. 1992.

CARREIRA, M. B.; COSSIO, R.; BRITTON, G. B. Individual and sex differences in high and low responder phenotypes. **Behavioural Processes**, v. 136, p. 20–27, 1 mar. 2017.

CHOI, S.; SHIN, G. Effects of an intentional gait modification on lower limb alignment. **Proceedings of the Human Factors and Ergonomics Society Annual Meeting**, v. 61, n. 1, p. 936–939, 28 set. 2017.

COSCO, T. D. et al. **Operational definitions of successful aging: A systematic review***International Psychogeriatrics*Int Psychogeriatr, , mar. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24308764/>>. Acesso em: 24 ago. 2020

COSCO, T. D.; HOWSE, K.; BRAYNE, C. Healthy ageing, resilience and wellbeing. 2017.

CRUZ-JIMENEZ, M. **Normal Changes in Gait and Mobility Problems in the Elderly***Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*W.B. Saunders, , 1 nov. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1047965117300529>>. Acesso em: 8 set. 2020

CRYAN, J. F.; HOLMES, A. **Model organisms: The ascent of mouse: Advances in modelling human depression and anxiety***Nature Reviews Drug Discovery*Nat Rev Drug Discov, , set. 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16138108/>>. Acesso em: 23 dez. 2020

CULHAM, J. C.; KANWISHER, N. G. **Neuroimaging of cognitive functions in human parietal cortex***Current Opinion in Neurobiology*Elsevier Ltd, , 1 abr. 2001. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11301234/>>. Acesso em: 13 out. 2020

D'ESPOSITO, M. **From cognitive to neural models of working memory.** *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.* **Anais...**Royal Society, 29 maio 2007Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17400538/>>. Acesso em: 13 out. 2020

DUCHARME, S. W. et al. Association between stride time fractality and gait adaptability during unperturbed and asymmetric walking. **Human Movement Science**, v. 58, p. 248–259, 1 abr. 2018.

DUMAS, J. A. What Is Normal Cognitive Aging? Evidence from Task-Based Functional Neuroimaging. **Current Behavioral Neuroscience Reports**, v. 2, n. 4, p. 256–261, 16 dez. 2015.

ELISABETH, J. et al. **FUNCTIONAL STATUS IN ELDERLY PEOPLE AFTER ACUTE CARE AND QUALITY OF LIFE AT ONE-YEAR FOLLOW-UP** *Health Science Journal*. [s.l.] iMedPub, 2017. Disponível em: <<http://www.hsj.gr>>. Acesso em: 3 set. 2020.

ESQUENAZI, D.; DA SILVA, S. B.; GUIMARÃES, M. A. Aspectos fisiopatológicos do envelhecimento humano e quedas em idosos. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, n. 2, p. 11–20, 31 mar. 2014.

EVERSHEIM, U.; BOCK, O. Evidence for processing stages in skill acquisition: A dual-task study. **Learning and Memory**, v. 8, n. 4, p. 183–189, 2001.

EYSENCK, M. W. et al. **Anxiety and cognitive performance: Attentional control theory** *Emotion*, maio 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17516812/>>. Acesso em: 13 out. 2020

FAGERSTRÖM, C.; BORGLIN, G. Mobility, functional ability and health-related quality of life among people of 60 years or older. **Aging Clinical and Experimental Research**, v. 22, n. 5–6, p. 387–394, 2010.

FENNER, J.; HEATHCOTE, D.; JERRAMS-SMITH, J. The development of wayfinding competency: Asymmetrical effects of visuo-spatial and verbal ability. **Journal of Environmental Psychology**, v. 20, n. 2, p. 165–175, 1 jun. 2000.

FLOURI, E.; PAPACHRISTOU, E.; MIDOUHAS, E. The role of neighbourhood greenspace in children's spatial working memory. **British Journal of Educational Psychology**, v. 89, n. 2, p. 359–373, 5 jun. 2019.

FORHAN, M.; GILL, S. V. **Obesity, functional mobility and quality of life** *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism* *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, abr. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23731875/>>. Acesso em: 26 ago. 2020

FRASER, L. M. et al. Measuring anxiety-and locomotion-related behaviours in mice: a new way of using old tests. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 211, n. 1, p. 99–112, 2010.

GAGE, W. H. et al. The allocation of attention during locomotion is altered by anxiety. **Experimental Brain Research**, v. 150, n. 3, p. 385–394, 2003.

GAI, J. et al. Factors related to falls of elderly women residents in a community. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 327–332, 2010.

GAWEL, K. et al. **Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents—methodological consideration** *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* Springer Verlag, 15 jan. 2019.

GEERSE, D. J. et al. Assessing Walking Adaptability in Parkinson's Disease: "The Interactive Walkway". **Frontiers in Neurology**, v. 9, p. 1096, 12 dez. 2018.

GEORGOPOULOS, A. P. **Cognitive motor control: Spatial and temporal aspects***Current Opinion in Neurobiology*Elsevier Ltd, , 1 dez. 2002.

GOLDMAN-RAKIC, P. S.; BATES, J. F.; CHAFEE, M. V. The prefrontal cortex and internally generated motor acts. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 2, n. 6, p. 830–835, 1 dez. 1992.

GOMES, M. J. et al. **Skeletal muscle aging: Influence of oxidative stress and physical exercise***Oncotarget*Impact Journals LLC, , 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5386774/?report=abstract>. Acesso em: 3 set. 2020

GRAY, R. Attending to the Execution of a Complex Sensorimotor Skill: Expertise Differences, Choking, and Slumps. **Journal of Experimental Psychology: Applied**, v. 10, n. 1, p. 42–54, 2004.

GREGUS, A. et al. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. **Behavioural Brain Research**, v. 156, n. 1, p. 105–114, 6 jan. 2005.

GUTIÉRREZ, M.; TOMÁS, J. M.; CALATAYUD, P. Contributions of Psychosocial Factors and Physical Activity to Successful Aging. **The Spanish journal of psychology**, v. 21, p. E26, 30 jul. 2018.

HARRIS-WARRICK, R. M. **Neuromodulation and flexibility in Central Pattern Generator networks***Current Opinion in Neurobiology*Elsevier Current Trends, , 1 out. 2011.

HAUSDORFF, J. M. et al. Walking is more like catching than tapping: Gait in the elderly as a complex cognitive task. **Experimental Brain Research**, v. 164, n. 4, p. 541–548, jul. 2005.

HAUSDORFF, J. M.; RIOS, D. A.; EDELBERG, H. K. Gait variability and fall risk in community-living older adults: A 1-year prospective study. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 82, n. 8, p. 1050–1056, 1 ago. 2001.

HAWKINS, K. A. et al. Walking on uneven terrain in healthy adults and the implications for people after stroke. **NeuroRehabilitation**, v. 41, n. 4, p. 765–774, 2017.

HEIDERSTADT, K. M. et al. The effect of chronic food and water restriction on open-field behaviour and serum corticosterone levels in rats. **Laboratory Animals**, v. 34, n. 1, p. 20–28, 2000.

HERNANDEZ, A. R. et al. A Cross-species Model of Dual-Task Walking in Young and Older Humans and Rats. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 12, p. 276, 2 set. 2020.

HERSSENS, N. et al. **Do spatiotemporal parameters and gait variability differ across the lifespan of healthy adults? A systematic review***Gait and Posture*Elsevier B.V., , 1 jul. 2018. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0966636218307094>>. Acesso em: 24 jul. 2020

HIKOSAKA, O. et al. **Central mechanisms of motor skill learning***Current Opinion in Neurobiology* Elsevier Ltd, , 1 abr. 2002. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12015240/>>. Acesso em: 28 jul. 2020

HOGAN, M. J. Divided attention in older but not younger adults is impaired by anxiety. **Experimental Aging Research**, v. 29, n. 2, p. 111–136, abr. 2003.

HORN, M. A.; TRAFFORD, A. W. **Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodelling***Journal of Molecular and Cellular Cardiology* Academic Press, , 1 abr. 2016. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26578393/>>. Acesso em: 3 set. 2020

HOUDIJK, H. et al. Assessing Gait Adaptability in People With a Unilateral Amputation on an Instrumented Treadmill With a Projected Visual Context. **Physical Therapy**, v. 92, n. 11, p. 1452–1460, 1 nov. 2012.

HUNSAKER, M. R. et al. Motor deficits on a ladder rung task in male and female adolescent and adult CGG knock-in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 222, n. 1, p. 117–121, 12 set. 2011.

JOSEPH, A. M.; ADHIHETTY, P. J.; LEEUWENBURGH, C. Beneficial effects of exercise on age-related mitochondrial dysfunction and oxidative stress in skeletal muscle. **Journal of Physiology**, v. 594, n. 18, p. 5105–5123, 15 set. 2016.

KAJA, S. et al. Loss of Spatial Memory, Learning, and Motor Function During Normal Aging Is Accompanied by Changes in Brain Presenilin 1 and 2 Expression Levels. **Molecular Neurobiology**, v. 52, n. 1, p. 545–554, 25 ago. 2015.

KALUEFF, A. V. et al. Hypolocomotion, anxiety and serotonin syndrome-like behavior contribute to the complex phenotype of serotonin transporter knockout mice. **Genes, Brain and Behavior**, v. 6, n. 4, p. 389–400, jun. 2007.

KAMEDA, S. R. et al. Dissociation of the effects of ethanol on memory, anxiety, and motor behavior in mice tested in the plus-maze discriminative avoidance task. **Psychopharmacology**, v. 192, n. 1, p. 39–48, maio 2007.

KOMADA, M.; TAKAO, K.; MIYAKAWA, T. Elevated Plus Maze for Mice Protocol Protocol. **J. Vis. Exp**, n. 22, p. 1088, 2008.

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.] Humana Press Inc., 2019a. v. 1916p. 99–103.

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.] Humana Press Inc., 2019b. v. 1916p. 69–74.

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.] Humana Press Inc., 2019c. v. 1916p. 105–111.

LADEIRA GARBACCIO, J. I. et al. Envelhecimento e qualidade de vida de idosos residentes da zona rural Aging and quality of life of elderly people in rural areas Envejecimiento y calidad de vida de los ancianos residentes de la zona rural. **Rev Bras Enferm**, n. 71, p. 776–84, 2017.

LAM, W. K.; MAXWELL, J. P.; MASTERS, R. Analogy learning and the performance of motor skills under pressure. **Journal of Sport and Exercise Psychology**, v. 31, n. 3, p. 337–357, 2009.

LANGAN, J.; SEIDLER, R. D. Age differences in spatial working memory contributions to visuomotor adaptation and transfer. **Behavioural Brain Research**, v. 225, n. 1, p. 160–168, 20 nov. 2011.

LATHE, R. Mice, gene targeting and behaviour: More than just genetic background. **Trends in Neurosciences**, v. 19, n. 5, p. 183–186, 1 maio 1996.

LEBRASSEUR, N. K. **Gait as an Integrative Measure and Predictor of Health Across Species** *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences* Oxford University Press, , 16 ago. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31074770/>>. Acesso em: 10 set. 2020

LEÓN, I.; TASCÓN, L.; CIMADEVILLA, J. M. Age and gender-related differences in a spatial memory task in humans. **Behavioural Brain Research**, v. 306, p. 8–12, 1 jun. 2016.

LERCH, R. A.; SIMS, C. R. Decision theory, motor planning, and visual memory: deciding where to reach when memory errors are costly. **Experimental Brain Research**, v. 234, n. 6, p. 1589–1597, 1 jun. 2016.

LIN, L. Y. Differences between preschool children using tablets and non-tablets in visual perception and fine motor skills. **Hong Kong Journal of Occupational Therapy**, v. 32, n. 2, p. 118–126, 1 dez. 2019.

LOHSE, K. R.; SHERWOOD, D. E.; HEALY, A. F. Neuromuscular effects of shifting the focus of attention in a simple force production task. **Journal of Motor Behavior**, v. 43, n. 2, p. 173–184, mar. 2011.

LORD, S. R.; DELBAERE, K.; STURNIEKS, D. L. Aging. In: **Handbook of Clinical Neurology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2018. v. 159p. 157–171.

LOTAN, M. et al. Thinking, walking, Talking: integratory Motor and Cognitive Brain Function. **Article**, v. 4, p. 1, 2016.

LUFT, A. R.; BUITRAGO, M. M. **Stages of motor skill learning** *Molecular Neurobiology* Humana Press, , 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16385137/>>. Acesso em: 28 jul. 2020

MALIK, A.; HOENIG, L. J. Can aging be slowed down? **Clinics in Dermatology**, v. 37, n. 4, p. 306–311, 1 jul. 2019.

MALONE, L. A.; BASTIAN, A. J.; TORRES-OVIEDO, G. How does the motor system correct for errors in time and space during locomotor adaptation? **Journal of Neurophysiology**, v. 108, n. 2, p. 672–683, 15 jul. 2012.

MALOUIN, F. et al. Brain activations during motor imagery of locomotor-related tasks: A PET study. **Human Brain Mapping**, v. 19, n. 1, p. 47–62, 1 maio 2003.

MANDAL, P. et al. Predictive Walking-Age Health Analyzer. **IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics**, v. 22, n. 2, p. 363–374, 1 mar. 2018.

MASTERS, R.; MAXWELL, J. The theory of reinvestment. **International Review of Sport and Exercise Psychology**, v. 1, n. 2, p. 160–183, set. 2008.

MATTSON, M. P.; ARUMUGAM, T. V. **Hallmarks of Brain Aging: Adaptive and Pathological Modification by Metabolic States** Cell Metabolism Cell Press, , 5 jun. 2018.

MEDEIROS, F. M. et al. Can an aversive, extinction-resistant memory trigger impairments in walking adaptability? An experimental study using adult rats. **Neuroscience Letters**, v. 665, p. 224–228, 5 fev. 2018.

MENZ, H. B.; LORD, S. R.; FITZPATRICK, R. C. Age-related differences in walking stability | Age and Ageing | Oxford Academic. **Age and Ageing**, v. 32, n. 2, p. 137–142, mar. 2003.

MESTRINER, R. G. et al. Behavior outcome after ischemic and hemorrhagic stroke, with similar brain damage, in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 244, p. 82–89, 1 maio 2013.

METZ, G. A.; WHISHAW, I. Q. Cortical and subcortical lesions impair skilled walking in the ladder rung walking test: A new task to evaluate fore- and hindlimb stepping, placing, and co-ordination. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 115, n. 2, p. 169–179, 15 abr. 2002.

METZ, G. A.; WHISHAW, I. Q. The ladder rung walking task: A scoring system and its practical application. **Journal of Visualized Experiments**, n. 28, 2009.

MIEDEL, C. J. et al. Assessment of Spontaneous Alternation, Novel Object Recognition and Limb Clasping in Transgenic Mouse Models of Amyloid- $\beta$  and Tau Neuropathology. **J. Vis. Exp**, n. 123, p. 55523, 2017.

MIRELMAN, A. et al. Gait. In: **Handbook of Clinical Neurology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2018. v. 159p. 119–134.

MORGAN, J. A. et al. The effects of aerobic exercise on depression-like, anxiety-like, and cognition-like behaviours over the healthy adult lifespan of C57BL/6 mice. **Behavioural Brain Research**, v. 337, p. 193–203, 30 jan. 2018.

- MORTAZA, N.; AZUAN ABU OSMAN, N.; MEHDIKHANI, M. Are the spatio-temporal parameters of gait capable of distinguishing a faller from a non-faller elderly? **Eur J Phys Rehabil Med**, p. 677–91, 2014.
- NEEDHAM, A. Improvements in Object Exploration Skills May Facilitate the Development of Object Segregation in Early Infancy. **Journal of Cognition and Development**, v. 1, n. 2, p. 131–156, 2000.
- NGUYEN, P. V. **Comparative plasticity of brain synapses in inbred mouse strains****Journal of Experimental Biology**J Exp Biol, , jun. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16731805/>>. Acesso em: 11 out. 2020
- NUTT, J. G. Classification of gait and balance disorders . **Adv Neurol** , p. 135–141, 2001.
- O’CONNOR, S. M.; KUO, A. D. Direction-dependent control of balance during walking and standing. **Journal of Neurophysiology**, v. 102, n. 3, p. 1411–1419, set. 2009.
- OBAS, V.; VASAN, R. S. **The aging heart****Clinical Science**Portland Press Ltd, , 1 jul. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29986877/>>. Acesso em: 3 set. 2020
- PAINSIPP, E. et al. Delayed stress-induced differences in locomotor and depression-related behaviour in female neuropeptide-Y Y1 receptor knockout mice. **Journal of Psychopharmacology**, v. 24, n. 10, p. 1541–1549, out. 2010.
- PARÉ, W. P.; TEJANI-BUTT, S.; KLUCZYNSKI, J. The Emergence Test: Effects of psychotropic drugs on neophobic disposition in Wistar Kyoto (WRY) and Sprague Dawley rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 25, n. 8, p. 1615–1628, 1 nov. 2001.
- PAVOL, M. et al. **Characteristics as Risk Factors for Falling From Trips Induced in Older Adults****Journal of Gerontology: MEDICAL SCIENCES**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://academic.oup.com/biomedgerontology/article-abstract/54/11/M583/544811>>. Acesso em: 21 jul. 2020.
- PITTS, M. W. Barnes Maze Procedure for Spatial Learning and Memory in Mice HHS Public Access. v. 8, n. 5, 2018.
- RAMOS, A. Animal models of anxiety: do I need multiple tests? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 29, n. 10, p. 493–498, out. 2008.
- RAMOS, A.; MORMÈDE, P. Stress and emotionality: A multidimensional and genetic approach. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 22, n. 1, p. 33–57, 27 dez. 1997.
- RAMOS, L. R. et al. Polifarmácia e polimorbidade em idosos no Brasil: um desafio em saúde pública. **Rev Saúde Pública**, v. 50, n. 2, p. 1–13, 2016.

RANTAKOKKO, M.; MÄNTY, M.; RANTANEN, T. Mobility Decline in Old Age. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 41, n. 1, p. 19–25, jan. 2013.

RASMUSSEN, L. J. H. et al. Association of Neurocognitive and Physical Function With Gait Speed in Midlife. **JAMA network open**, v. 2, n. 10, p. e1913123, 2 out. 2019.

REISMAN, D. S.; BLOCK, H. J.; BASTIAN, A. J. Interlimb coordination during locomotion: What can be adapted and stored? **Journal of Neurophysiology**, v. 94, n. 4, p. 2403–2415, out. 2005.

ROGERS, D. C. et al. Use of SHIRPA and discriminant analysis to characterise marked differences in the behavioural phenotype of six inbred mouse strains. **Behavioural Brain Research**, v. 105, n. 2, p. 207–217, 15 nov. 1999.

ROGERS, H. L.; CROMWELL, R. L.; GRADY, J. L. Adaptive changes in gait of older and younger adults as responses to challenges to dynamic balance. **Journal of Aging and Physical Activity**, v. 16, n. 1, p. 85–96, 1 jan. 2008.

ROSINI DA SILVA, J. et al. ANÁLISE DA ALTERAÇÃO DO EQUILÍBRIO, DA MARCHA E O RISCO DE QUEDA EM IDOSOS PARTICIPANTES DE UM PROGRAMA DE FISIOTERAPIA. **Colloquium Vitae**, v. 6, n. 3, p. 11–18, 20 dez. 2014.

ROTH, K. A.; KATZ, R. J. Stress, behavioral arousal, and open field activity-A reexamination of emotionality in the rat. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 3, n. 4, p. 247–263, 1979.

RUSSELL, W.; BURCH, R. The principles of humane experimental technique. 1959.

SAFTARI, L. N.; KWON, O. S. Ageing vision and falls: A review. **Journal of Physiological Anthropology**, v. 37, n. 1, 21 fev. 2018.

SAKREIDA, K. et al. Cognitive control structures in the imitation learning of spatial sequences and rhythms - An fMRI study. **Cerebral Cortex**, v. 28, n. 3, p. 907–923, 2018.

SANTOS, T. C. DOS; TRAVENSOLO, C. DE F. Comparação da força muscular respiratória entre idosos sedentários e ativos: estudo transversal. **Rev. Kairós**, v. 14, n. 4, p. 107–121, 2011.

SCHULZ, B. W. Minimum toe clearance adaptations to floor surface irregularity and gait speed. **Journal of Biomechanics**, v. 44, n. 7, p. 1277–1284, 29 abr. 2011.

SENNA, P. N. DE et al. Physical training improves non-spatial memory, locomotor skills and the blood brain barrier in diabetic rats. **Brain Research**, v. 1618, p. 75–82, 27 ago. 2015.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Healthy human aging: intrinsic and environmental factors. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. 0, 31 ago.

2017.

SHERIDAN, P. L.; HAUSDORFF, J. M. The role of higher-level cognitive function in gait: Executive dysfunction contributes to fall risk in Alzheimer's disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, v. 24, n. 2, p. 125–137, jul. 2007.

SHIMADA, H. et al. Gait adaptability and brain activity during unaccustomed treadmill walking in healthy elderly females. **Gait & Posture**, v. 38, n. 2, p. 203–208, 1 jun. 2013.

SILVA, R. H.; FRUSSA-FILHO, R. The plus-maze discriminative avoidance task: A new model to study memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 102, n. 2, p. 117–125, 30 out. 2000.

SMITH, L. K.; METZ, G. A. Dietary restriction alters fine motor function in rats. **Physiology and Behavior**, v. 85, n. 5, p. 581–592, 7 ago. 2005.

SMITH, N. C. et al. A test of processing efficiency theory in a team sport context. **Journal of Sports Sciences**, v. 19, n. 5, p. 321–332, maio 2001.

SOARES MENEZES, K. V. R. et al. **Instruments to evaluate mobility capacity of older adults during hospitalization: A systematic review** *Archives of Gerontology and Geriatrics* Elsevier Ireland Ltd, , 1 set. 2017.

SORRENTINO, P. et al. The Development of Spatial Memory Analyzed by Means of Ecological Walking Task. **Frontiers in Psychology**, v. 10, n. MAR, p. 728, 29 mar. 2019.

SOUBRA, R.; CHKEIR, A.; NOVELLA, J. L. **A Systematic Review of Thirty-One Assessment Tests to Evaluate Mobility in Older Adults** *BioMed Research International* Hindawi Limited, , 2019. Disponível em: [/pmc/articles/PMC6610744/?report=abstract](https://doi.org/10.1155/2019/6610744). Acesso em: 5 out. 2020

STERN, Y. et al. Brain reserve, cognitive reserve, compensation, and maintenance: operationalization, validity, and mechanisms of cognitive resilience. **Neurobiology of Aging**, v. 83, p. 124–129, 1 nov. 2019.

STINS, J. F.; ROERDINK, M.; BEEK, P. J. To freeze or not to freeze? Affective and cognitive perturbations have markedly different effects on postural control. **Human Movement Science**, v. 30, n. 2, p. 190–202, abr. 2011.

STREKALOVA, T. et al. Stress-induced hyperlocomotion as a confounding factor in anxiety and depression models in mice. **Behavioural Pharmacology**, v. 16, n. 3, p. 171–180, maio 2005.

TAYLOR, J. A.; THOROUGHMAN, K. A. Divided attention impairs human motor adaptation but not feedback control. **Journal of Neurophysiology**, v. 98, n. 1, p. 317–326, jul. 2007.

TAYLOR, J. A.; THOROUGHMAN, K. A. Motor Adaptation Scaled by the Difficulty of

a Secondary Cognitive Task. **PLoS ONE**, v. 3, n. 6, p. e2485, 18 jun. 2008.

TIMMERMANS, C. et al. Walking adaptability therapy after stroke: Study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 17, n. 1, p. 425, 26 ago. 2016.

TRULLAS, R.; SKOLNICK, P. Differences in fear motivated behaviors among inbred mouse strains. **Psychopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 323–331, jun. 1993.

VAHEDIPOUR, A. et al. Uncovering the structure of the mouse gait controller: Mice respond to substrate perturbations with adaptations in gait on a continuum between trot and bound. **Journal of Biomechanics**, v. 78, p. 77–86, 10 set. 2018.

VALENTINUZZI, V. S. et al. Locomotor response to an open field during C57BL/6J active and inactive phases: Differences dependent on conditions of illumination. **Physiology and Behavior**, v. 69, n. 3, p. 269–275, 1 maio 2000.

VAN DER STAAY, F. J. **Animal models of behavioral dysfunctions: Basic concepts and classifications, and an evaluation strategy** **Brain Research Reviews** Brain Res Rev, , 30 ago. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16529820/>>. Acesso em: 5 jan. 2021

VANSWEARINGEN, J. M.; STUDENSKI, S. A. Aging, Motor Skill, and the Energy Cost of Walking: Implications for the Prevention and Treatment of Mobility Decline in Older Persons. **MEDICAL SCIENCES Cite journal as: J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 69, n. 11, p. 1429–1436, 2014.

VEIGA, B. et al. Evaluation of functionality and disability of older elderly outpatients using the WHODAS 2.0. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 19, n. 6, p. 1015–1021, dez. 2016.

VERGHESE, J. et al. Epidemiology of gait disorders in community-residing older adults. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 54, n. 2, p. 255–261, fev. 2006.

VORHEES, C. V.; WILLIAMS, M. T. Assessing spatial learning and memory in rodents. **ILAR Journal**, v. 55, n. 2, p. 310–332, 2014.

WEARICK-SILVA, L. E. et al. Dual influences of early life stress induced by limited bedding on walking adaptability and Bdnf/TrkB and Drd1/Drd2 gene expression in different mouse brain regions. **Behavioural Brain Research**, v. 359, p. 66–72, 1 fev. 2019.

WEBBER, S. C.; PORTER, M. M.; MENEZES, V. H. Mobility in older adults: A comprehensive framework. **Gerontologist**, v. 50, n. 4, p. 443–450, 2010.

WEERDESTeyN, V.; HOLLANDS, K. L.; HOLLANDS, M. A. Gait adaptability. In: **Handbook of Clinical Neurology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2018. v. 159p. 135–146.

WOLPERT, D. M.; GHAMRANI, Z. Computational principles of movement neuroscience. **Nature Neuroscience**, v. 3, n. 11s, p. 1212–1217, 2000.

WOLPERT, D. M.; GHAHRAMANI, Z.; JORDAN, M. I. An internal model for sensorimotor integration. **Science**, v. 269, n. 5232, p. 1880–1882, 29 set. 1995.

WONG, W. L. et al. Reinvestment and falls in community-dwelling older adults. **Neurorehabilitation and Neural Repair**, v. 22, n. 4, p. 410–414, jul. 2008.

WONG, W. L. et al. **The role of reinvestment in walking and falling in community-dwelling older adults: Letters to the editor** *Journal of the American Geriatrics Society* *J Am Geriatr Soc*, , maio 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19470013/>>. Acesso em: 13 out. 2020

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Relatório mundial de envelhecimento e saúde World Health Organization**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.google.com/search?q=relatorio+mundial+de+envelhecimento+e+saude+oms&oq=relatorio+mundial+de+envelhecimento+e+saude+oms&aqs=chrome..69i57j0.10367j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>>. Acesso em: 1 out. 2020.

XAVIER, F. M. F. et al. Elderly people's definition of quality of life. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 25, n. 1, p. 31–39, 2003.

YANG, L. et al. The Effects of Early Exercise on Motor, Sense, and Memory Recovery in Rats with Stroke. **American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 96, n. 3, p. e36–e43, 1 mar. 2017.

YILMAZ, T.; GEDIKLI, Ö.; YILDIRIM, M. **Evaluation of spatial memory and locomotor activity during hypercortisolism induced by the administration of dexamethasone in adult male rats** *Brain Research* Elsevier B.V., , 21 jan. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899314005824>>. Acesso em: 13 out. 2020

YILMAZER-HANKE, D. M. et al. Anxiety-related behavior and densities of glutamate, GABAA, acetylcholine and serotonin receptors in the amygdala of seven inbred mouse strains. **Behavioural Brain Research**, v. 145, n. 1–2, p. 145–159, 17 out. 2003.

YOGEV-SELIGMANN, G.; HAUSDORFF, J. M.; GILADI, N. **The role of executive function and attention in gait** *Movement Disorders* NIH Public Access, , 15 fev. 2008. Disponível em: <[pmc/articles/PMC2535903/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/182535903/)>. Acesso em: 21 jul. 2020

YOSHIE, M. et al. Music performance anxiety in skilled pianists: Effects of social-evaluative performance situation on subjective, autonomic, and electromyographic reactions. **Experimental Brain Research**, v. 199, n. 2, p. 117–126, nov. 2009.

YOUNG, W. R. et al. Examining links between anxiety, reinvestment and walking when talking by older adults during adaptive gait. **Experimental Brain Research**, v. 234, n. 1, p. 161–172, 1 jan. 2016.

YOUNG, W. R.; HOLLANDS, M. A. Can telling older adults where to look reduce falls? Evidence for a causal link between inappropriate visual sampling and

suboptimal stepping performance. **Experimental Brain Research**, v. 204, n. 1, p. 103–113, jul. 2010.

YOUNG, W. R.; WING, A. M.; HOLLANDS, M. A. Influences of state anxiety on gaze behavior and stepping accuracy in older adults during adaptive locomotion. **Journals of Gerontology - Series B Psychological Sciences and Social Sciences**, v. 67 B, n. 1, p. 43–51, 2012.

## ANEXO A - Aprovação da comissão científica



# SIPESQ

Sistema de Pesquisas da PUCRS

---

Código SIPESQ: 8955

Porto Alegre, 21 de dezembro de 2018.

Prezado(a) Pesquisador(a),

A Comissão Científica da ESCOLA DE MEDICINA da PUCRS apreciou e aprovou o Projeto de Pesquisa "IMPACTO DO ESTRESSE NA INFÂNCIA E ADOLESCÊNCIA (SECOND HIT) SOBRE A ADAPTABILIDADE DA MARCHA NA VIDA ADULTA: UM ESTUDO EM MODELO MURINO". Este projeto necessita da apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). Toda a documentação anexa deve ser idêntica à documentação enviada ao CEUA, juntamente com o Documento Unificado gerado pelo SIPESQ.

Atenciosamente,

Comissão Científica da ESCOLA DE MEDICINA

---

## ANEXO B - Aprovação do CEUA



# SIPESQ

## Sistema de Pesquisas da PUCRS

Código SIPESQ: 8955

Porto Alegre, 18 de março de 2019

Prezado(a) Pesquisador(a),

A Comissão de Ética no Uso de Animais da PUCRS apreciou e aprovou o Projeto de Pesquisa "IMPACTO DO ESTRESSE NA INFÂNCIA E ADOLESCÊNCIA (SECOND HIT) SOBRE A ADAPTABILIDADE DA MARCHA NA VIDA ADULTA: UM ESTUDO EM MODELO MURINO" coordenado por REGIS GEMERASCA M E S T R I N E R .

Sua investigação, respeitando com detalhe as descrições contidas no projeto e formulários avaliados pela CEUA, está autorizada a partir da presente data.

Informamos que é necessário o encaminhamento de relatório final quando finalizar esta investigação. Adicionalmente, ressaltamos que conforme previsto na Lei no. 11.794, de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca), que regulamenta os procedimentos para o uso científico de animais, é função da CEUA zelar pelo cumprimento dos procedimentos informados, realizando inspeções periódicas nos locais de pesquisa.

Duração do Projeto: 18/03/2019 - 18/03/2020

Nº de Animais	Espécie
240	Mus Musculus
48	Mus Musculus
24	Mus Musculus
Total de Animais: 312	

Atenciosamente,

Comissão de Ética no Uso de Animais(CEUA)

## **ANEXO C - Comprovante de submissão**

Manuscript Number: GAIPOS-D-21-00368

CAN ANXIETY-LIKE BEHAVIOR AND SPATIAL MEMORY PREDICT THE EXTREMES OF WALKING ADAPTABILITY PERFORMANCE IN FACILITY REARED MICE?

Dear Dr Mestriner,

Your above referenced submission has been assigned a manuscript number: GAIPOS-D-21-00368.

To track the status of your manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/gaipos/>, and navigate to the "Submissions Being Processed" folder.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,  
Gait & Posture