



Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Ciências da Saúde

Departamento de Fisioterapia

Trabalho de Conclusão de Curso

**DIMINUIÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR SOB O EFEITO DO ANTAGONISTA
DO RECEPTOR REV-ERB ALFA EM MODELO EXPERIMENTAL DE RATOS
WISTAR**

RECIFE, 2022

MARIA GRACIELE FIRMINO DE SOUSA

DIMINUIÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR SOB O EFEITO DO
ANTAGONISTA DO RECEPTOR REV-ERB ALFA EM MODELO EXPERIMENTAL DE
RATOS WISTAR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos pré-requisitos para obtenção do grau de Fisioterapeuta.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Elisa Toscano Meneses da Silva Castro

Coorientadoras: Doutoranda Bárbara Juacy Rodrigues Costa de Santana e Mestranda Vanessa da Silva Souza

RECIFE, 2022

Trabalho de Conclusão de Curso redigido em forma de artigo científico, que foi elaborado seguindo as normas da Revista Neurochemistry International (qualis B1 na área 21/CAPES, fator de impacto 4.297). O artigo será submetido a esta revista na versão em inglês.

Artigo Original - DIMINUIÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR SOB O EFEITO DO ANTAGONISTA DO RECEPTOR REV-ERB ALFA EM MODELO EXPERIMENTAL DE RATOS WISTAR

DIMINUIÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR SOB O EFEITO DO ANTAGONISTA DO RECEPTOR REV-ERB ALFA EM MODELO EXPERIMENTAL DE RATOS WISTAR

Maria Graciele Firmino de Sousa¹; Bárbara Juacy Rodrigues Costa de Santana², Vanessa da Silva Souza²; Raul Manhães de Castro³; Ana Elisa Toscano Meneses da Silva Castro⁴.

¹Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Comportamento, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

³Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, Brasil.

⁴Departamento de Enfermagem, CAV, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória – PE, Brasil.

Correspondência do autor:

Ana Elisa Toscano, PhD.

Departamento de Enfermagem, Universidade Federal de Pernambuco, Rua do Alto do Reservatório s/n, Bela Vista, 55608-680 Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

E-mail: aeltoscano@yahoo.com.br

Endereço de E-mail:

graciisousa3@gmail.com (M.G.F. Sousa); barbara.jrcs@gmail.com (B.J.R.C. Santana); vaness4souza@gmail.com (V.S. Souza); manhaesdecastroraul@gmail.com (R. Manhães-de-Castro), aeltoscano@yahoo.com.br (A.E. Toscano).

DESTAQUES

- O modelo experimental de PC reduziu consumo alimentar
- O índice hepatossomático e de adiposidade não foram alterados
- A PC experimental reduziu peso corporal

RESUMO

A paralisia cerebral (PC) é uma condição com alterações neurológicas associadas às disfunções motoras crônicas mais comum em crianças. Em países subdesenvolvidos sabe-se que 7 a cada 1000 crianças nascidas vivas apresentam essa disfunção. Atualmente não se encontra apenas crianças com PC, mas também jovens e adultos, o que pode provocar alguns problemas de saúde como a síndrome metabólica, devido ao tempo gasto com o sedentarismo. O receptor REV-ERB α faz parte de um conjunto de fatores transcricionais e é um receptor amplamente distribuído no organismo. O antagonista do REV-ERB α , o SR8272, pareceu restabelecer a função muscular, aumentar massa magra, reduzir a degradação protéica e a fibrose muscular, além de aumentar o pool de células satélites em Camundongos com Distrofia muscular de Duchenne. Com isso, objetivamos verificar as desordens metabólicas em ratos submetidos a PC e as possíveis repercussões do tratamento com o antagonista dos receptores REV-ERB α sobre parâmetros metabólicos. Utilizamos ratos da linhagem Wistar e mantivemos até o 30º dia pós natal e assim formamos os seguintes grupos experimentais: Controle Salina (CS) (N=10), Controle Antagonista (CA) (N=10), PC Salina (PCS) (N=10), PC Antagonista (PCA) (N=10). Verificamos o peso corporal; consumo alimentar; índice hepatossomático; índice de adiposidade. O efeito da PC ocasionou redução do peso corporal a partir do P14 até o final da vida dos ratos associado à redução do consumo alimentar, porém não houve alteração no índice de adiposidade e do índice hepatossomático. Concluímos que o modelo experimental de PC provoca grandes sequelas ao animal e não houve resultados associados ao fármaco.

PALAVRAS-CHAVES: PC; consumo alimentar; índice hepatossomático; índice de adiposidade.

1. INTRODUÇÃO

A Paralisia cerebral (PC) é uma condição com alterações neurológicas associadas às disfunções motoras crônicas mais comum em crianças (COLVER et al., 2014). Apesar do grande número de casos, há poucos estudos sobre as modificações secundárias à lesão neurológica da PC, e particularmente, sobre as eventuais alterações metabólicas. Comparado a população geral, indivíduos com PC apresentam um risco elevado de desenvolver depósito de gordura e problemas cardiovasculares (HEYN et al., 2020). A PC e, portanto, suas consequências metabólicas secundárias ocorrem no período crítico do desenvolvimento dos sistemas nervoso e muscular. A PC em criança se comporta através do atraso em habilidades motoras, desordem em tônus muscular e do movimento (PEREIRA et al. 2021).

As deficiências motoras pronunciadas na PC levam ao sedentarismo de forma semelhante àquele observado em pessoas com lesões na medula espinal (BAUMAN et al., 2009). Nos indivíduos com lesão de medula espinal, a pronunciada atrofia muscular está relacionada ao aumento de adiposidades, resistência à insulina, dislipidemias e diabetes mellitus tipo 2 (BAUMAN et al., 1994). Contudo, na PC, o acometimento neuromuscular ocorre desde estágios precoces da vida, exacerbando o risco de doenças metabólicas (OLIVEIRA et al., 2016; LACERDA et al., 2017). Devido a atrofia muscular, pacientes com PC apresentam desequilíbrio na composição corporal, com redução do conteúdo de proteínas e da massa magra, e consequente aumento da massa gorda (ROMERO-CORRAL et al., 2010; GAJDOSIK et al., 2001). Sendo assim, uma intervenção com tratamento pode trazer benefícios a esses sinais e sintomas da PC, como melhorar a função corporal e redução da espasticidade (NOVAK et al. 2020).

O receptor REV-ERB α é classificado como receptor nuclear, cujo ligante endógeno reconhecido até o momento é o grupo heme (RAGHURAN et al., 2007). É receptor amplamente distribuído no organismo, sobretudo no fígado, tecido adiposo, músculo esquelético e encéfalo (DUMAS et al., 1994; ENMARK et al., 1994) e é transcrito de maneira circadiana, com pico por volta de seis horas após o início da fase clara (PATEL et al., 2016). O receptor REV-ERB α faz parte de um conjunto de fatores transcricionais, chamados de genes relógios, que atuam num mecanismo chamado de feedback transcricional translacional, comandando ritmos de 24 horas na expressão de uma grande quantidade de genes alvos (PREITNER et al., 2002).

Em estudos realizados com os REV-ERBs em célula-tronco embrionária (ES) de camundongos, os mesmos têm demonstrado regular várias funções fisiológicas, como regulação de funções metabólicas, inflamatórias e neuronais (IKEDA et al., 2019). Os REV-ERBs mostraram regular expressões gênicas em conjunto com o metabolismo lipídico hepático controlando a ação dos glicocorticóides no fígado em decorrência da comunicação com o HNF6 (IKEDA et al. 2019).

A expressão do gene Rev-erb α em mioblastos C2C12 de camundongos está relacionada à redução da miogênese (RAICHUR et al., 2007). Além disso, a expressão ectópica do gene Rev-erb α em células musculares reprimiu a formação de miotubos, por intermédio da supressão da expressão da MyoD, MyoG e P21 (DOWNES et al., 1995). Também a expressão desses três genes é reduzida com o aumento da expressão do gene Rev-erb α (BURKER et al., 1996). Por outro lado, Welch e colaboradores (2017), recentemente, publicaram seus achados sobre o tratamento com antagonista do receptor REV-ERB α , o SR8278, em camundongos com Distrofia Muscular de Duchenne, uma doença que também promove perda muscular importante como observada na PC (WELCH et al.,

2017). Destaca-se, nos achados desse estudo, que o SR8278 promoveu aumento da massa magra e da função muscular, redução da degradação proteica e da fibrose muscular, além de aumentar o pool de células satélites musculares (WELCH et al., 2017).

Assim, uma vez que são observadas alterações metabólicas secundárias à PC (PETERSON et al., 2012) e que o antagonista do REV-ERB pareceu restabelecer a função muscular em camundongos que apresentavam importante perda muscular (WELCH et al., 2017), a proposta do estudo foi avaliar as alterações metabólicas, através do peso corporal, consumo alimentar, índice de adiposidade e hepatossomático em ratos wistar com PC.

2. METODOLOGIA

2.1 Animais e condições de biotério

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar, os animais foram mantidos em ambiente com ciclo invertido de luz (21:00 às 9:00) e escuridão (09:00 às 21:00 h), temperatura $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e com livre acesso à água e ração. Para obtenção de neonatos, foram acasalados animais machos e fêmeas nulíparas (proporção 1:2), não consanguíneos, com idade entre 90 e 120 dias. O estudo seguiu as normas do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA), de acordo com a lei 11.794 de 8 de Outubro de 2008, e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals e foi Aprovado pela Comissão de Ética em Uso animal (CEUA) da UFPE, número do comitê de ética (0036/2019).

Após o nascimento das proles, 40 ratos machos foram avaliados quanto os efeitos do tratamento precoce com o antagonista dos receptores REV-ERB α sobre os parâmetros metabólicos e as funções motoras em animais submetidos a PC do P1 ao P28 dias de vida pós-natal. Assim, foram formados os seguintes grupos experimentais: Controle Salina (CS) (N=10), Controle Antagonista (CA) (N=10), PC Salina (PCS) (N=10), PC Antagonista (PCA) (N=10).

2.2 Grupos experimentais

O tratamento com o antagonista do receptor REV-ERB α foi realizado no período entre os dias 22^o e 28^o de vida pós-natal. Do 22^o e 28^o é possível observar déficits motores importantes no modelo experimental de PC, conforme estudos anteriores realizados por nosso grupo de pesquisa (SILVA et al., 2016). Além disso, a escolha deste intervalo de idade para a manipulação farmacológica compreende também a um período crítico para o desenvolvimento muscular, no qual o sistema muscular é bastante sensível às influências ambientais (TOSCANO et al., 2008). O antagonista dos receptores REV-ERB α que foi utilizado é o SR8278, na dose de 3mg/kg diluídos no veículo com (Dimetilsulfóxido) DMSO/PBS (Tampão fosfato-salino), na proporção de 5:5 (Yunxia Xue et al. 2017), via intraperitoneal.

2.3 Modelo Experimental de PC

O modelo experimental de PC foi baseado nos experimentos de Strata et al. (2004), Coq et al. (2008) e Silva et al. (2016). No dia do nascimento, os filhotes foram submetidos a dois episódios de anóxia, o primeiro ocorreu no dia do nascimento, considerado o P0 e o segundo, no segundo dia pós-natal, considerado o P1. Do P2 ao P28 foi realizada a restrição sensorio-motora durante 16 horas por dia (das 20h às 12h do dia seguinte), nas 8 horas restantes foi permitida a livre movimentação.

2.4 Coleta de Dados

2.4.1 Peso corporal

Os animais foram pesados nos P0, 8, 14, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30. Para medida dos mesmos foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte (modelo ASF11), capacidade máxima 500g e mínima 0,002g.

2.4.2 Consumo alimentar

Para avaliação do consumo alimentar, fez-se necessário o registro do peso corporal antes e depois da mensuração do consumo alimentar. Foi retirada a ração do animal 12h antes da mensuração alimentar.

2.4.3 Eutanásia

Os animais de 30 dias de vida pós-natal pertencentes aos diferentes grupos experimentais foram sacrificados por decapitação, em seguida as estruturas foram pesadas e armazenadas no -80°.

2.4.4 Índice hepatossomático (IHS)

O fígado dos animais aos 30 de vida pós-natal da segunda fase do estudo foram dissecados e o IHS foi obtido pela relação entre o peso do fígado (PF) e o peso corporal (PC), sendo $IHS = PF/PC \times 100$.

2.4.5 Índice de adiposidade

Nos animais aos 30 de vida pós-natal da primeira e segunda fase do estudo, o índice de adiposidade foi calculado pela seguinte fórmula: índice de adiposidade = $(\text{gordura corporal [GC]}/\text{PCF} \times 100)$ (TAYLOR E PHILLIPS,1996). A gordura corporal foi calculada como a soma do peso dos depósitos de gordura individuais, conforme indicado a seguir: GC = gordura epididimal + gordura retroperitoneal + gordura visceral, PCF=Peso corporal final.

2.4.6 Análise estatística

Inicialmente os dados coletados foram analisados quanto a normalidade das variáveis através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Sendo constatada a distribuição normal, foram realizados os testes paramétricos adequados através do teste Anova 2-Way seguido do teste de Tukey's. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão ou como mediana (valores máximos e mínimos), sendo o nível de significância utilizado de 5% ($p < 0,05$). Foi utilizado o software GraphPadPrism® versão 8 para análises dos dados e construção dos gráficos.

3. RESULTADOS

3.1 Pesagem corporal

Os animais submetidos à PC apresentaram menor peso corporal comparado ao grupo controle e controle tratado a partir do 14º dia de vida pós-natal (post test Tukey's: $p < 0.05$; Figura 1).

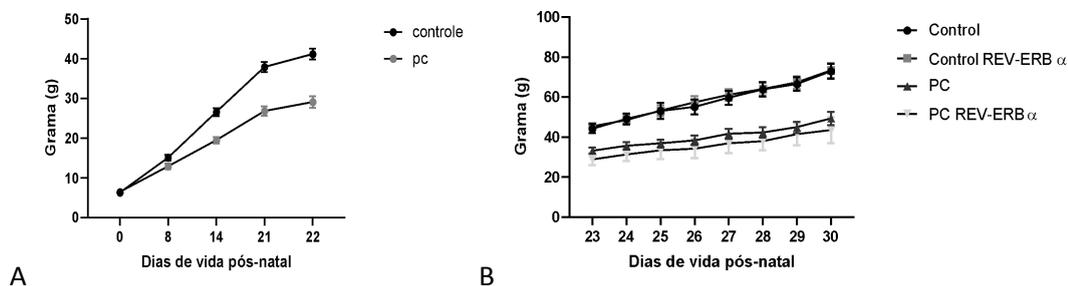


Figura 1. Pesagem dos animais do grupo controle (Veículo e REV-ERB α) e PC (Veículo e rev-erb α). Aos 0, 8, 14, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 e 30 dias de vida pós-natal. Controle (n° de animal = 20) e PC (n° de animal = 16) do 0 aos 22 dias de vida pós natal (A). Controle (n° de animal = 10), controle REV-ERB α (n° de animal = 10), PC (n° de animal = 8) e PC REV-ERB α (n° de animal = 8) do 23 ao 30 dia de vida pós-natal(B). Valores expressos em média \pm erro padrão, * $p < 0,05$ ANOVA two way, seguido de teste Tukey's. * C vs PC; # C REV-ERB α vs \$ PC REV-ERB α .

3.2 Consumo Alimentar

Os animais do grupo submetido à PC apresentaram menor consumo alimentar mesmo no grupo tratado com o antagonista do REV-ERB alfa (post test Tukey's: $p < 0.05$; Figura 2).

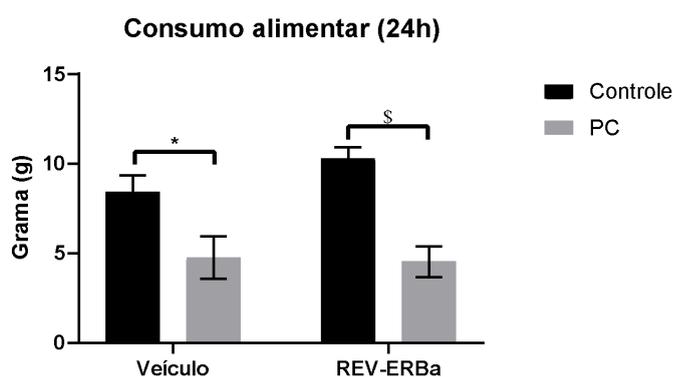


Figura 2. Consumo alimentar dos animais do grupo controle (Veículo e REV-ERB α) e PC (Veículo e REV-ERB α) aos 30 dias de vida pós-natal. Controle (n° de animal = 8), controle REV-ERB α (n° de animal = 10), PC (n° de animal = 9) e PC REV-ERB α (n° de animal = 9). Valores expressos em média \pm erro padrão, * $p < 0,05$ ANOVA two way, seguido de teste Tukey's. * C vs PC; # C REV-ERB α vs \$ PC REV-ERB α .

3.3 Índice Hepatosomático

Não houve diferença entre os grupos quanto à análise da força muscular no teste de suspensão (post test de Tukey: n.s.; Figura 3).

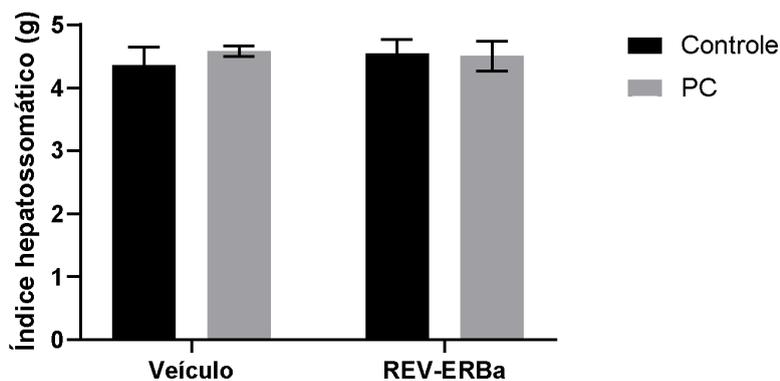


Figura 3. Índice hepatossomático corporal dos animais do grupo controle (Veículo e REV-ERB α) e PC (Veículo e REV-ERB α) aos 30 dias de vida pós-natal. Controle (n° de animal = 9), controle REV-ERB α (n° de animal = 9), PC (n° de animal = 10) e PC REV-ERB α (n° de animal = 8). Valores expressos em média \pm erro padrão, * $p < 0,05$ ANOVA two way, seguido de teste Tukey's.

3.4 Índice de adiposidade

Não houve diferença entre os grupos quanto à análise da força muscular no teste de suspensão (post test de Tukey: n.s.; Figura 4).

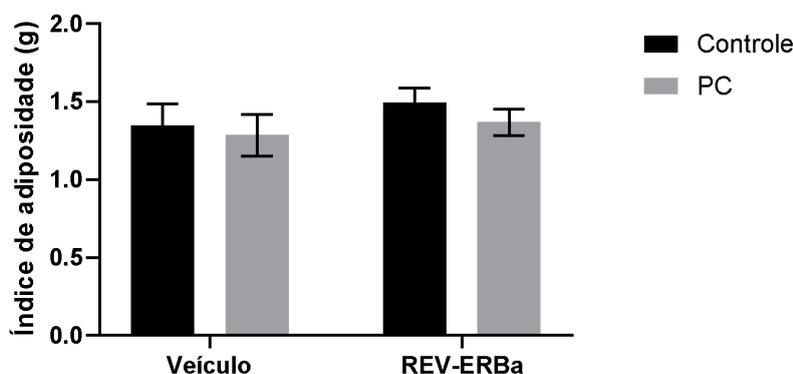


Figura 4. Índice de adiposidade corporal dos animais do grupo controle (Veículo e REV-ERB α) e PC (Veículo e REV-ERB α) aos 30 dias de vida pós-natal. Controle (n° de animal = 7), controle REV-ERB α (n° de animal = 7), PC (n° de animal = 8) PC REV-ERB α (n° de animal = 7). Valores expressos em média \pm erro padrão, * $p < 0,05$ ANOVA two way, seguido de teste Tukey's.

4. DISCUSSÃO

O peso corporal dos animais com PC mostrou-se reduzido em comparação ao grupo controle e controle tratado, indicando que a falta de capacidade motora atrapalha o consumo alimentar dos mesmos, impedindo assim o aumento do ganho de peso. O que também é comprovado quando se é analisado estatisticamente o consumo alimentar do animal, sendo o PC menor, porém o índice hepatossomático e de adiposidade não apresentaram mudanças.

Os animais com PC demonstraram diminuição do peso corporal a partir do P14 e se manteve até o final da vida dos ratos. Silva e colaboradores (2016), encontrou que o peso corporal de ratos wistar com PC diminui com o tempo causado pela dificuldade de locomoção e conseqüentemente da busca pelo alimento, assim como Lacerda et al. (2019) também verificou diminuição de peso fortificando o resultado que o modelo de PC produz sequelas que se fazem permanecer ao longo da vida mesmo depois de parar de realizar a restrição sensorio-motora e o fármaco não pôde trazer benefícios a esse parâmetro.

O consumo alimentar dos animais com PC foi diminuído mesmo nos grupos tratados, resultado também encontrado por Lacerda e colaboradores (2019) o consumo alimentar dos PC estiveram diminuídos. Diversos estudos indicam que, animais submetidos a PC apresentam diversas anormalidades ao receber o leite materno, incluindo regurgitação nasal do leite, inabilidade de manter o leite no interior da cavidade oral e perda do leite por gotejamento (DERRICK et al., 2007). Os modelos experimentais de indução da PC promovem diversos déficits em funções orofaciais, incluindo: dificuldade em alcançar e adquirir o alimento, redução dos movimentos da cabeça durante alimentação, problemas na função olfatória e prejuízos na coordenação de sucção, mastigação, prejuízos nos músculos

mastigatórios (masseter e digástrico) (LACERDA, et al., 2017). Com isso entendemos que esses mesmos problemas permanecem após o desmame mesmo nos animais que receberam o rev-erb α .

O índice de adiposidade nos mostrou não ser diferente do grupo controle para o tratado, devemos considerar que os sistemas musculoesquelético e cardiorrespiratório não estavam totalmente desenvolvidos antes da lesão cerebral, o que provoca prejuízos para a maturação do desenvolvimento desses sistemas e, portanto, há atraso no desenvolvimento motor que pode gerar impacto na participação em atividades físicas (Damiano et al., 2006). O padrão de atividade física em crianças com PC é pouco conhecido, mas já se sabe que elas apresentam baixo Nível de Atividade Física (NAF), o que traz mais preocupações devido ao maior risco de problemas de saúde associado às suas deficiências (Zwier et al, 2010; Ryan et al., 2015), se sabe que atividade física diminuída e aumento do tempo gasto com o sedentarismo (CS) estão associados com doenças crônicas e excesso de peso (Ryan et al., 2015). Porém, Ryan e colaboradores (2015) verificaram em crianças com PC que não existiu uma correlação entre o sedentarismo e os problemas de adiposidade e com o índice hepatossomático.

Com isso, verificamos que o modelo experimental de PC foi capaz de provocar sequelas irreversíveis nos animais. O antagonista do REV-ERB α não foi capaz de promover melhora nos parâmetros analisados e como consequência melhorar a qualidade de vida dos animais, mas a PC visando como sedentarismo, não comprometeu o fígado com uma quantidade exacerbada de gorduras que pudesse alterar seu índice assim como também não se mostrou com a adiposidade aumentada em relação aos controles. Como perspectivas futuras, observamos a necessidade de realizar a análise molecular dos tecidos coletados para resultados mais claros.

5. CONFLITO DE INTERESSE

Nada a declarar.

6. REFERÊNCIAS

- Bauman, A., Bull, F., C., & T. et al. (2009). *O Estudo Internacional de Prevalência de Atividade Física: resultados de 20 países. Int J Behav Nutr Phys Act* (Vols. 6, 21).
- Colver A, Fairhurst C, & Pharoah PO. (2014). Cerebral palsy. In *Lancet*: 5;383(9924):1240-9.
- Coq, J. O. (2008). *Impact of neonatal asphyxia and hind limb immobilization on musculoskeletal tissues and SI map organization: implications for cerebral palsy. Exp Neurol*.
- Damiano DL. (2006). *Activity, Activity, Activity: Rethinking Our Physical Therapy Approach to Cerebral Palsy. Phys Ther*: 86(11):1534-40.
- Derrick M, Luo NL, Bregman JC, Jilling T, Ji X, & Fisher K, et al. (2004). *Preterm fetal hypoxia-ischemia causes hypertonia and motor deficits in the neonatal rabbit: a model for human cerebral palsy? J Neurosci*. 24(1):24-34.
- Dumas G, Kelso JAS, & Nadel J. (2014). *Combater o paradoxo da cognição social por meio de abordagens em várias escalas. Frente. Psychol*. 5:882.10.33890.00882.

Enmark, & Eva, et al. (1994). Identificação de um novo membro da superfamília de receptores nucleares que está intimamente relacionado com Rev-ErbA. In *Biochemical and biophysical research communication*. 204.1. 49-56.

Gajdosik, & Richard L. (2001). Extensibilidade passiva do músculo esquelético: revisão da literatura com implicações clínicas. In *Clinical biomechanics*. 16.2: 87-101.

Ikeda R, Tsuchiya Y, Koike N, Umemura Y, Inokawa H, Ono R, Inoue M, Sasawaki Y, Grieten T, Okubo N, Ikoma K, Fujiwara H, Kubo T, Yagita K. *REV-ERB α and REV-ERB β function as key factors regulating Mammalian Circadian Output*. *Sci Rep*. 2019 Jul 15;9(1):10171.

Heyn PC, Tagawa A, Pan Z, Thomas S, Carollo JJ. *Prevalence of metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors in adults with cerebral palsy*. *Dev Med Child Neurol*. 2019 Apr;61(4):477-483.

Lacerda, D. C., FERRAZ-PEREIRA, K. N., BEZERRA DE MORAIS, A. T., & COSTA-DE-SANTANA, B. J. R. et al. (2017). *Oro-facial functions in experimental models of cerebral palsy: a systematic review*. *Journal of Oral Rehabilitation*. v.44, n.4, p.251–260.

Lacerda DC, Manhães-de-Castro R, Gouveia HJCB, Tourneur Y, Costa de Santana BJ, Assunção Santos RE, Olivier-Coq J, Ferraz-Pereira KN, Toscano AE. *Treatment with the essential amino acid L-tryptophan reduces masticatory impairments in experimental cerebral palsy*. *Nutr Neurosci*. 2019.

Novak I, Morgan C, Fahey M, Finch-Edmondson M, Galea C, Hines A, Langdon K, Namara MM, Paton MC, Popat H, Shore B, Khamis A, Stanton E, Finemore OP, Tricks A, Te Velde A, Dark L, Morton N, Badawi N. *State of the Evidence Traffic Lights 2019: Systematic Review of Interventions for Preventing and Treating Children with Cerebral Palsy*. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2020 Feb 21.

Pereira, S. C., Manhães-de-Castro R, Visco DB, de Albuquerque GL, da Silva Calado CMS, da Silva Souza V, Toscano AE. *Locomotion is impacted differently according to the perinatal brain injury model: Meta-analysis of preclinical studies with implications for cerebral palsy*. *J Neurosci Methods*. 2021.

Patel, T. (2016). *Multiparadigmatic Studies of Culture: Needs, Challenges, and Recommendations for Management Scholars*. *European Management Review*, forthcoming.

Peterson BK, Weber JN, Kay EH, Fisher HS, & Hoekstra HE. (2012). *Double Digest RADseq: Um Método Barato para Descoberta SNP De Novo e Genotipagem em Espécies Modelo e Não Modelo*. *PLoS ONE*. 7 (5): e37135.

Preitner N, Damiola F, Lopez-Molina L, Zakany J, Duboule D, Albrecht U, & Schibler U. (2002). *The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator*. *Cell*. 110(2):251-60.

Raghuram S, Stayrook KR, & Huang P, et al. (2007). *Identificação do heme como o ligante para os receptores nucleares órfãos REV-ERB α e REV-ERB β* . *Nat Struct Mol Biol.*: 14 (12): 1207-1213.

Raichur, & Suryaprakash, et al. (2007). O receptor órfão γ relacionado ao retinóide regula vários genes que controlam o metabolismo nas células do músculo esquelético: ligações para a modulação da produção de espécies reativas de oxigênio. *Journal of Molecular Endocrinology*. 39.1:29-44.

Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Korenfeld Y, Boarin S, Korinek J, Jensen MD, Parati G, & Lopez-Jimenez F. (2010). *Normal weight obesity: a risk factor for cardiometabolic dysregulation and cardiovascular mortality*. *Eur Heart J*; 31(6):737-46.

Ryan JM, Hensey O, McLoughlin B, Lyons A, & Gormley J. (2015).) *Associations of Sedentary Behaviour, Physical Activity, Blood Pressure and Anthropometric Measures with Cardiorespiratory Fitness in Children with Cerebral Palsy*. *Plos One.*; Vol. 10(4).

Silva, K. O., PEREIRA, S. C., & PORTOVEDO, M. et al. (2016). *Effects of maternal low-protein diet on parameters of locomotor activity in a rat model of cerebral palsy*. *Int J Dev Neurosci*. (Vol. 52, pp. 38–45).

Strata, J. et al. (2004). *Effects of sensorimotor restriction and anoxia on gait and motor cortex organization - implications for a rodent model of cerebral palsy*. *Neuroscience* (Vol. 129, n.1, pp.141-156.).

Welch, R. D. et al. (2017). *Pharmacological inhibition of REV-ERB stimulates differentiation, inhibits turnover and reduces fibrosis in dystrophic muscle*, *Scientific Reports*. : v.7 n.1 p. 17142.

Yunxia Xue. (2017). *Modulation of Circadian Rhythms Affects Corneal Epithelium Renewal and Repair in Mice*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*.