



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - CCS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO - POSNEURO

GLAYCIELE LEANDRO DE ALBUQUERQUE

**PARALISIA CEREBRAL E PLASTICIDADE DO DESENVOLVIMENTO: Efeitos do
tratamento neonatal com quercetina em ratos machos e fêmeas.**

Recife - PE

2025

GLAYCIELE LEANDRO DE ALBUQUERQUE

PARALISIA CEREBRAL E PLASTICIDADE DO DESENVOLVIMENTO: Efeitos do tratamento neonatal com quercetina em ratos machos e fêmeas.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Doutora em Neurociências.

Área de concentração: Neurociências;
Pesquisas experimentais com modelos animais.

Orientadora: Ana Elisa Toscano

Co-orientador: Raul Manhães de Castro

Recife - PE

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Albuquerque, Glayciele Leandro de.

Paralisia cerebral e plasticidade do desenvolvimento: efeitos do tratamento neonatal com quercetina em ratos machos e fêmeas / Glayciele Leandro de Albuquerque. - Recife, 2025.

86f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, 2025.

Orientação: Ana Elisa Toscano.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Paralisia cerebral; 2. Quercetina; 3. Comportamento; 4. Modelos animais. I. Toscano, Ana Elisa. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela força e sabedoria concedidas ao longo deste percurso. Por me permitir chegar até aqui e por colocar em meu caminho pessoas tão especiais, às quais expresso minha gratidão abaixo:

À minha família, pelo suporte incondicional e palavras de encorajamento, por entenderem minha ausência e por se fazerem presentes mesmo distantes. Aos meus pais, Anilza e Elizio, obrigada por todo amor e incentivo ao longo da minha vida e por sempre acreditarem em mim. À minha irmã, Glaydiane, por ser minha pessoa neste mundo, e ao meu cunhado, Wesley, obrigada a vocês por todo apoio e risadas, especialmente nos momentos difíceis. Aos meus sobrinhos, Elis, Nicole, Théo e Nicolas, que me fazem sentir uma felicidade genuína. E à minha filha de quatro patas, Nala, que esteve ao meu lado em incontáveis madrugadas de estudo.

A todas as minhas amigas – da infância, do colégio, da graduação, do mestrado e da vida – que foram chegando e ficando, torcendo e vibrando a cada conquista, sempre ao meu lado nos momentos de dificuldade e alegria, oferecendo apoio, conselhos e companhia em cada etapa dessa caminhada. Em especial, a Karol, Nanda e Mari, por se fazerem tão presentes. E também às amigas que o doutorado me deu, Débora e Márcia, por tornar tudo mais leve e dividirem a vida para além da pós-graduação.

À minha orientadora, Ana Elisa, pela confiança no meu trabalho, por me dar a oportunidade lá em 2014, na iniciação científica, e por sua dedicação, orientação precisa e paciência durante todo esse tempo que trabalhamos juntas. Sua experiência e ensinamentos foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para minha construção profissional enquanto pesquisadora e docente.

Aos estudantes que me auxiliaram no desenvolvimento desta pesquisa, Lucas, Marcos e Letícia, que disponibilizaram seu tempo e colaboração, tornando este estudo possível.

Aos colegas de pesquisa e amigos que fiz ao longo desta caminhada – Sabrina, Beatriz, Vanessa e Bárbara. E, em especial, a Caio, Henrique e Luan, que se tornaram grandes amigos e dividiram momentos de descontração, tornando essa trajetória mais leve.

Aos professores e funcionários da UFPE, por contribuírem para minha formação acadêmica e pelo ambiente acolhedor proporcionado durante todos esses anos da graduação a pós-graduação.

À banca examinadora, por aceitar o convite e por dedicar seu tempo e conhecimento à avaliação deste trabalho. Suas contribuições e questionamentos são essenciais para o aprimoramento desta pesquisa e para o meu crescimento acadêmico e profissional. Em especial, à Prof. Daniella Araujo, que esteve presente desde a minha banca de TCC, e ao Prof. Diego Visco, por quem tenho grande admiração.

Aos meus pacientes, que, com suas histórias, desafios e superações, me ensinaram tanto e reforçaram a importância do conhecimento e da empatia na prática profissional.

Aos meus alunos, que me inspiram diariamente com sua curiosidade, dedicação e entusiasmo. Ensinar é também aprender, e cada troca de conhecimento fortaleceu minha jornada acadêmica e profissional.

Por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, deixo aqui minha mais sincera gratidão. Concluir esta tese foi uma jornada desafiadora e enriquecedora, e não teria sido possível sem o apoio de tantas pessoas especiais. Serei eternamente grata!

RESUMO

A paralisia cerebral (PC) compreende um grupo de distúrbios neuromusculoesqueléticos resultantes de lesão cerebral fetal ou infantil. A quercetina demonstrou propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e neuroprotetoras em doenças neurológicas. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do tratamento neonatal com quercetina no desenvolvimento motor, integridade neuronal e inflamação no cerebelo de ratos submetidos à PC experimental. O modelo de PC foi induzido por anoxia pós-natal (P0 e P1) e restrição sensório-motora dos membros posteriores (P2 a P28). A quercetina (10 mg/kg) foi administrada intraperitonealmente de P2 a P22. Os animais foram analisados quanto ao crescimento somático; ontogênese reflexa; força muscular; coordenação motora; atividade locomotora e marcha em CatWalk; peso do músculo sóleo, integridade neuronal e inflamação no cerebelo. A PC experimental, independentemente do sexo, restringiu o ganho de peso corporal, o crescimento somático, o peso do músculo sóleo, a força muscular, a coordenação motora, a atividade locomotora e o desenvolvimento da marcha, e promoveu aumento da neuroinflamação no cerebelo. O tratamento neonatal com quercetina foi positivo no modelo de PC em machos, favorecendo o ganho de peso corporal, reduzindo o atraso na maturação de reflexos primitivos, aumentando a força muscular, melhorando a capacidade exploratória em campo aberto, diminuindo o tempo na fase de balanço durante a marcha e reduzindo a expressão de TNF- α no cerebelo. Em fêmeas, a quercetina teve efeito protetor ao estimular o crescimento somático, favorecendo a regularidade dos passos durante a marcha e prevenindo a integridade neuronal no cerebelo de animais com PC. Este estudo original apresenta dados relevantes sobre a maior vulnerabilidade dos machos em comparação às fêmeas, bem como o papel protetor da quercetina em ambos os sexos no desenvolvimento motor e na neuroinflamação na PC.

Palavras-chave: paralisia cerebral; quercetina; modelos animais; neurônios; comportamento

ABSTRACT

Cerebral palsy (CP) comprises a group of neuromusculoskeletal disorders resulting from fetal or infantile brain injury. Quercetin has demonstrated antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective properties in neurological diseases. Thus, this study aimed to evaluate the effects of neonatal treatment with quercetin on motor development, neuronal integrity and inflammation in the cerebellum of rats subjected to experimental CP. The CP model was induced by postnatal anoxia (P0 and P1) and sensorimotor restriction of the hind limbs (P2 to P28). Quercetin (10 mg/kg) was administered intraperitoneally from P2 to P22. The animals were analyzed for somatic growth; reflex ontogenesis; muscle strength; motor coordination; locomotor activity and gait in CatWalk; soleus muscle weight, neuronal integrity and inflammation in the cerebellum. Experimental CP, regardless of sex, restricted body weight gain, somatic growth, soleus muscle weight, muscle strength, motor coordination, locomotor activity and gait development, and promoted increased neuroinflammation in the cerebellum. Neonatal treatment with quercetin was positive in the male CP model, favoring body weight gain, reducing the delay in the maturation of primitive reflexes, increasing muscle strength, improving exploratory capacity in the open field, decreasing the time in the swing phase during gait and reducing the expression of TNF- α in the cerebellum. In females, quercetin had a protective effect by stimulating somatic growth, favoring the regularity of steps during gait and preventing neuronal integrity in the cerebellum of animals with CP. This original study presents relevant data on the greater vulnerability of males compared to females, as well as the protective role of quercetin in both sexes in motor development and neuroinflammation in CP.

Keywords: cerebral palsy; quercetin; animal models; neurons; behavior

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Representação esquemática dos grupos experimentais	32
Figura 2 -	Modelo de restrição sensório-motora de patas posteriores	32
Figura 3 -	Esquema representativo de análises experimentais nos animais	33
Figura 4 -	Captor de força vertical do Animal Grip Strength System	35
Figura 5 -	Desenvolvimento da atividade locomotora em campo aberto	36
Figura 6 -	Análise da marcha em CatWalk	37
Figura 7 -	Análise do peso corporal	41
Figura 8 -	Análise do comprimento corporal	42
Figura 9 -	Peso muscular do sóleo no P33	43
Figura 10 -	Análise da força de preensão palmar	45
Figura 11 -	Análise da coordenação motora	46
Figura 12 -	Avaliação da atividade locomotora	48
Figura 13 -	Avaliação de parâmetros estáticos da marcha em CatWalk	49
Figura 14 -	Avaliação de parâmetros dinâmicos da marcha em CatWalk	51
Figura 15 -	Expressão do gene TNF- α no cerebelo no P33	52
Figura 16 -	Densidade de neurônios maduros na camada granular do cerebelo	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Sequência de primer usada para análise de PCR	39
Tabela 2 -	Análise de ontogênese de reflexos	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABC	Complexo avidina-biotina peroxidase
Akt	Protein kinase B
ATP	Adenosina trifosfato
Atrogin1	Proteína codificada pelo gene FBXO32
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
BHE	Barreira hemato encefálica
BrdU	Bromodeoxiuridina
cDNA	DNA complementar
CEUA	Comissão de Ética em Uso animal
CONCEA	Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
CQF	Controle Quercetina Fêmea
CQM	Controle Quercetina Macho
CVF	Controle Veículo Fêmea
CVM	Controle Veículo Macho
DA	Doença de Alzheimer
DAB	Diaminobenzidina
DH	Doença de Huntington
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOHaD	Origens do Desenvolvimento da Saúde e da Doença
DP	Doença de Parkinson
EEFA-1α	Fator de alongamento 1-alfa 1
EROs	Espécies reativas de oxigênio
HI	Hipóxia-isquemia
H2O2	Peróxido de hidrogênio
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IL1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4

IL-6	Interleucina 6
IRAK1	Quinase 1 associada ao receptor de interleucina-1
LPS	Lipopolissacarídeo
MAPK	Proteína-quinases ativadas por mitógenos
MCAO	Oclusão da artéria cerebral média
MPTP	1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6- hydroxydopamine
mRNA	RNA mensageiro
mTOR	Alvo da rapamicina em mamíferos
Murf1	Muscle RING-finger protein-1
NeuN	Antígeno nuclear neuronal
Nf-κB	Fator nuclear kappa B
NfκBα	Fator nuclear kappa beta
NIH	Instituto Nacional de Saúde
NO	Óxido nítrico
NOS-2	Óxido nítrico sintetase-2
Nrf2	Fator nuclear derivado de eritróide 2
PARP	Poly ADP-ribose polymerase
PB	Solução tampão fosfato
PBS	Solução tampão fosfato salina
PBT	Solução tampão fosfato Triton
PC	Paralisia Cerebral
PCQF	Paralisia cerebral Quercetina Fêmea
PCQM	Paralisia cerebral Quercetina Macho
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PCVF	Paralisia cerebral Veículo Fêmea
PCVM	Paralisa cerebral Veículo Macho
PFA	Paraformaldeído
PGC-1α	Peroxisome-proliferator-activated receptor-γ coactivator-1 alfa
PI3K	Fosfoinositídeo-3-quinase
PP2A	Protein phosphatase 2A
p70S6K	p70 ribosomal S6 kinase
SNC	Sistema Nervoso Central
TLR4	Toll-like receptor 4

TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1	PARALISIA CEREBRAL E PLASTICIDADE DO DESENVOLVIMENTO	16
2.2	DIFERENÇAS SEXUAIS NA LESÃO CEREBRAL	21
2.3	EFEITOS DA QUERCETINA SOBRE O TECIDO MÚSCULOESQUELÉTICO E A NEUROINFLAMAÇÃO	23
3	OBJETIVOS	30
3.1	OBJETIVO GERAL	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4	METODOLOGIA	31
4.1	ANIMAIS	31
4.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS	31
4.3	PARALISIA CEREBRAL EXPERIMENTAL	32
4.4	TRATAMENTO COM QUERCETINA	33
4.5	CRESCIMENTO SOMÁTICO	33
4.6	ONTOGÊNESE DE REFLEXOS	33
4.7	FORÇA DE PREENSÃO PALMAR	34
4.8	COORDENAÇÃO MOTORA	35
4.9	DESENVOLVIMENTO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA	35
4.10	ANÁLISE DA MARCHA EM CATWALK	36
4.11	EUTANÁSIA E COLETA DOS TECIDOS	37
4.11.1	Imunocoloração	38
4.11.2	Análise da expressão gênica	38
4.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
5	RESULTADOS	40
5.1	ANÁLISE DO CRESCIMENTO SOMÁTICO	40
5.2	ONTOGÊNESE DE REFLEXOS	43
5.3	FORÇA DE PREENSÃO PALMAR	44
5.4	COORDENAÇÃO MOTORA	46
5.5	DESENVOLVIMENTO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA	47
5.6	ANÁLISE DA MARCHA EM CATWALK	48

5.7	EXPRESSÃO GÊNICA DE TNF- α NO CEREBELO	52
5.8	IMUNO-HISTOQUÍMICA DE NEUN NO CEREBELO	53
6	DISCUSSÃO	55
7	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62
	APÊNDICE A – FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DE CRESCIMENTO SOMÁTICO	69
	APÊNDICE B – FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DE ONTOGÊNESE REFLEXA	70
	APÊNDICE C - NEONATAL QUERCETIN TREATMENT DIFFERENTIALLY ATTENUATES MOTOR IMPAIRMENTS AND CEREBELLAR DAMAGE IN MALE AND FEMALE RATS SUBMITTED TO EXPERIMENTAL CEREBRAL PALSY	71
	APÊNDICE D - PERINATAL ANOXIA ASSOCIATED WITH SENSORIMOTOR RESTRICTION CAUSES MUSCLE ATROPHY AND MICROGLIAL ACTIVATION: META-ANALYSIS OF PRECLINICAL STUDIES WITH IMPLICATIONS FOR CEREBRAL PALSY	72
	APÊNDICE E - NEONATAL TREATMENT WITH FLUOXETINE ALTERS LOCOMOTOR ACTIVITY AND THE CORTICAL GLIAL/NEURON INDEX IN RATS WITH CEREBRAL PALSY	73
	APÊNDICE F - EARLY-LIFE MALNUTRITION ROLE IN MEMORY, EMOTIONAL BEHAVIOR AND MOTOR IMPAIRMENTS IN EARLY BRAIN LESIONS WITH POTENTIAL FOR NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS: A SYSTEMATIC REVIEW WITH META-ANALYSIS	74
	APÊNDICE G - NEONATAL KAEMPFEROL EXPOSURE ATTENUATES GAIT AND STRENGTH DEFICITS AND PREVENTS ALTERED MUSCLE PHENOTYPE IN A RAT MODEL OF CEREBRAL PALSY	75
	APÊNDICE H - LOCOMOTION IS IMPACTED DIFFERENTLY ACCORDING TO THE PERINATAL BRAIN INJURY MODEL: META-	76

**ANALYSIS OF PRECLINICAL STUDIES WITH IMPLICATIONS FOR
CEREBRAL PALSY**

**APÊNDICE I - MATERNAL EXPOSURE TO BUSULFAN REDUCES 77
THE CELL NUMBER IN THE SOMATOSENSORY CORTEX
ASSOCIATED WITH DELAYED SOMATIC AND REFLEX
MATURATION IN NEONATAL RATS**

ANEXO A – COMITÉ DE ÉTICA 78

INTRODUÇÃO

A Paralisia Cerebral (PC) compreende um grupo de transtornos do movimento e da postura com limitação funcional que são atribuídos a uma lesão de caráter não progressivo no sistema nervoso central do feto ou da criança em desenvolvimento (BAX et al., 2005; BLAIR, 2010). Essa condição pode estar associada a déficits na percepção somatossensorial e/ou alterações motoras e comportamentais (BAX et al., 2005). Estima-se que a PC acometa 1,6 em cada 1000 crianças nascidas vivas no mundo (MCINTYRE et al., 2022). Dentre os principais fatores de risco associados, destacam-se a asfixia, a prematuridade, o baixo peso ao nascer e também as distintas formas de desnutrição (CHEN et al., 2022). Além disso, o sexo masculino parece ser mais acometido do que o sexo feminino (ABD ELMAGID; MAGDY, 2021)

Vários componentes nutritivos dos alimentos têm efeitos benéficos, inclusive protetores, através de mecanismos epigenéticos semelhantes àqueles que interferem na plasticidade fenotípica, e, conseqüentemente, na plasticidade do desenvolvimento. As alterações fisiológicas resultantes da plasticidade fenotípica envolvem mudanças que ocorrem na vida precoce, sendo esse momento uma janela terapêutica importante para a implementação intervenções terapêuticas (BATESON et al., 2004; GLUCKMAN et al., 2007; GLUCKMAN; HANSON, 2004). Nesse sentido, os polifenóis, abundantes nos vegetais (BARET et al., 2013), são componentes nutritivos candidatos para regular a plasticidade fenotípica.

Os polifenóis apresentam uma ampla gama de propriedades anticancerígenas, antiteratogênicas, cardioprotetoras e neuroprotetoras (STEVANOVIC; DIOUF; GARCIA-PEREZ, 2009). São numerosas as funções nas quais os polifenóis possuem participação, incluindo assimilação de nutrientes, síntese proteica, atividade enzimática, formação de componentes estruturais e defesa contra os fatores de risco presentes no ambiente (CHEYNIER; TOMAS-BARBERAN; YOSHIDA, 2015). Além disso, o uso dos mais variados extratos tem sido associado a melhora de déficits cognitivos, provavelmente por melhorar a função neuronal através da neuroproteção (YOUUDIM; JOSEPH, 2001).

A quercetina, um polifenol flavonoide, tem demonstrado ser capaz de recuperar neurônios, através da inibição de respostas inflamatórias na hemorragia intracerebral (ZHANG et al., 2015). Em modelo de lesão medular aguda, a quercetina foi capaz de melhorar a locomoção e ter contribuído para a regeneração axonal (DU et al., 2018). Também foi observado que a quercetina pode prevenir a atrofia induzida pela

obesidade, suprimindo a resposta inflamatória (LE et al., 2014), e neutralizar o dano oxidativo no músculo atrofiado, reduzindo a peroxidação lipídica em animais desnervados (MUKAI et al., 2016a). Estudos mostraram ainda que a quercetina foi capaz de regular positivamente o PGC-1 α (peroxisome-proliferator-activated receptor- γ coactivator-1) e proteger o musculoesquelético distrófico dos danos celulares (SELSBY et al., 2016; SPAULDING et al., 2016). Até o presente momento, não existem estudos sobre os efeitos da quercetina em modelo experimental de PC.

Portanto, o objetivo desse estudo foi de avaliar as alterações ocorridas sobre o desenvolvimento motor e neuroinflamação na PC experimental e se o tratamento com quercetina pode ou não reverter essas alterações em ratos machos e fêmeas, a fim de se observar a resposta adaptativa imediata do organismo a esse polifenol. Essa abordagem inovadora pode favorecer a concepção de estratégias terapêuticas eficazes, instituídas precocemente no período crítico do desenvolvimento em indivíduos acometidos pela PC.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PARALISIA CEREBRAL E PLASTICIDADE DO DESENVOLVIMENTO

A Paralisia Cerebral (PC) é uma condição clínica de caráter não progressivo que se caracteriza por alterações da postura e do movimento em decorrência de lesões ocorridas no cérebro ainda imaturo (GRAHAM; PAGET; WIMALASUNDERA, 2019; ROSENBAUM et al., 2007). Os primeiros relatos da condição foram registrados em 1862 pelo médico William John Little, que descreveu alterações de rigidez e deformidades nos membros de crianças recém-nascidas após partos difíceis, ficando conhecida como doença de Little. No entanto, em 1889, o também médico William Osler definiu o termo “paralisia cerebral” após descrever uma série de casos de pacientes que tiveram dificuldades durante o parto e as repercussões motoras apresentadas nas crianças recém-nascidas (OSLER, 1889).

Após sua definição ser revisitada várias vezes, a PC ganhou uma nova e, até então, a última atualização no ano de 2007. Um grupo de especialistas internacionais reunidos em um Comitê Executivo, descreveu a PC como sendo *“um grupo de distúrbios permanentes do desenvolvimento do movimento e da postura, causando limitação de atividades, que são atribuídas a distúrbios não progressivos que ocorreram no desenvolvimento do cérebro fetal ou infantil. Os distúrbios motores da paralisia cerebral são frequentemente acompanhados por distúrbios de sensação, percepção, cognição, comunicação e comportamento; por epilepsia e por problemas musculoesqueléticos secundários”* (ROSENBAUM et al., 2007).

Por se tratar de um distúrbio heterogêneo quanto a sua epidemiologia, etiologia e fatores de risco, classificação e características clínicas, tem-se abordado sobre uma mudança na terminologia para “transtorno do espectro da paralisia cerebral” (METZ et al., 2022; SHEVELL, 2019). O termo espectro englobaria uma múltipla dimensão de variabilidade e a nova nomenclatura facilitaria uma maior consciência e garantiria um melhor direcionamento nos aspectos da saúde, da educação, de reabilitação, vocacional, recreativo e no envolvimento da comunidade (SHEVELL, 2019).

A PC é uma das mais comuns distúrbios do movimento da infância em todo o mundo (GRAHAM et al., 2016). A prevalência da PC na América do Norte, Europa, Ásia e Oceania entre as décadas de 1980 e 1990 era de 2,11 para cada 1000 nascidos vivos (OSKOU et al., 2013). No entanto, essas regiões tem demonstrado nos últimos 20 anos um declínio significativo dessa prevalência, sendo atualmente 1,6 indivíduos acometidos para cada 1000 nascidos vivos (MCINTYRE et al., 2022). É provável que

essa redução tenha ocorrido por se tratarem de regiões de países de alta renda e, conseqüentemente, existirem melhores ofertas de políticas de saúde pública, bem como assistência prestada a gestante e ao bebê no período pré e pós-natal (MCINTYRE et al., 2022).

Em contrapartida, os países subdesenvolvidos e em desenvolvimento tem uma prevalência maior do que os países desenvolvidos, sendo cerca de 3 a 3,4 crianças acometidas por 1.000 nascidas vivas (MCINTYRE et al., 2022). No Brasil, há uma carência de estudos que tenham avaliado a taxa de prevalência nacional, no entanto, há dados que demonstram uma variação de 1,37 a 5 em cada mil nascidos vivos em estados da região Nordeste do país (PEIXOTO et al., 2020). As más condições de cuidado pré-natal e o atendimento precário as gestantes podem ser fatores de risco para uma taxa de prevalência maior nesses locais (PEIXOTO et al., 2020; ZANON et al., 2018).

Os estudos epidemiológicos, além de orientar a alocação de políticas operacionais de saúde também servem para garantir uma melhor compreensão dos fatores de risco que podem estar associados a incidência da PC (OSKOUY et al., 2013; SADOWSKA; SARECKA-HUJAR; KOPYTA, 2020). Durante muitas décadas acreditava-se que a PC era causada exclusivamente pela hipóxia cerebral infantil, no entanto, atualmente sabe-se que os fatores de risco podem ser divididos de acordo com o momento em que ocorrem, estando relacionados aos períodos pré-natal, perinatal e pós-natal (ODDING; ROEBROECK; STAM, 2006).

Em uma recente revisão sistemática com metanálise publicada por Chen e colaboradores em 2022, foi observado que a hipertensão induzida pela gravidez materna, a ruptura prematura de membranas, o parto prematuro e a cesariana de emergência foram os principais fatores de risco de PC em crianças (CHEN et al., 2022a). Fatores pré-natais parecem ser responsáveis por 75% dos casos, enquanto os fatores peri e pós-natais correspondem a 10-18%, sendo o baixo peso ao nascer e a hipóxia as maiores causas perinatais e no pós-natal as infecções (HIMMELMANN, 2013; REDDIHOUGH; COLLINS, 2003; SADOWSKA; SARECKA-HUJAR; KOPYTA, 2020). Além disso, o sexo masculino parece ser mais acometido do que o sexo feminino (ABD ELMAGID; MAGDY, 2021a).

Apesar do momento do insulto ser uma forma de classificação da PC, muitos outros sistemas de classificação têm sido utilizados, sendo os principais quanto a topografia, que está relacionada às partes do corpo afetadas (hemiplegia, diplegia,

quadriplegia) e quanto ao distúrbio do movimento, que envolve o tônus neurológico (hipertônico e hipotônico) e/ou anormalidades do desenvolvimento (espasticidade, discinesia e ataxia) (GRAHAM; PAGET; WIMALASUNDERA, 2019; KORZENIEWSKI et al., 2008). A PC espástica é o fenótipo clínico mais predominante entre os indivíduos, incluindo 85 a 90% dos casos e está associada principalmente a diplegia, com cerca de 10 a 36% dos indivíduos acometidos. Esse fenótipo de PC espástico com diplegia se caracteriza pelo aumento do tônus e reflexos patológicos, movimentos e postura anormais e maior comprometimento dos membros inferiores (GRAHAM; PAGET; WIMALASUNDERA, 2019; PAKULA; VAN NAARDEN BRAUN; YEARGIN-ALLSOPP, 2009; SHEVELL, 2019).

Além dessas características comuns a PC espástica, existem outras características clínicas gerais da PC que estão relacionadas com a gravidade da deficiência motora, como a fraqueza muscular, rigidez e anormalidades na organização e função motora fina e grossa, que repercutem sobre a força, equilíbrio, marcha e atividades de vida diária (KOMAN; SMITH; SHILT, 2004; SANGER et al., 2003; VENKATESWARAN; SHEVELL, 2008). Concomitante a esses achados, os indivíduos também podem apresentar alterações de deglutição e fala, que resultam em desnutrição e atrofia e também alterações auditivas, cognitivas e comportamentais (GRAHAM et al., 2016; PAPAVALIOU et al., 2021; ZHANG; OSKOU; SHEVELL, 2015).

Assim, as alterações fenotípicas na PC são variadas e é importante levar em consideração o aspecto desenvolvimentista da PC para a busca de estratégias que visem impactar positivamente o seu quadro clínico (ROSENBAUM et al., 2007). Modelos de PC experimental têm sido desenvolvidos ao longo das últimas décadas na tentativa de reproduzir o fenótipo da PC e entender a fisiopatologia e respostas terapêuticas eficazes (DAN et al., 2015; GRAHAM et al., 2016). Trata-se de uma área de amplo estudo que engloba desde a modulação farmacológica da expressão gênica até a intervenção comportamental e cognitiva (DAN et al., 2015).

A reprodução de um fenótipo está associada a plasticidade fenotípica, que são alterações ocorridas no fenótipo, que é plástico e determinado geneticamente, com as mudanças ocorridas no ambiente, podendo afetar a morfologia, fisiologia e comportamento do indivíduo (SCHMID; GUILLAUME, 2017; SOMMER, 2020). Esse conceito de plasticidade fenotípica conquistou sua importância em 1989, através de um artigo de revisão publicado por Mary Jane West-Eberhard, que trouxe como uma

das principais contribuições a inter-relação entre ambiente e indivíduo (SOMMER, 2020). Nas últimas três décadas, uma nova teoria tem ganhado espaço na literatura, trata-se da “Origens do Desenvolvimento da Saúde e da Doença” (DOHaD), que tenta explicar as adaptações epigenéticas, não apenas durante o período fetal/neonatal mas em todo o período de desenvolvimento do indivíduo, em decorrência do ambiente (KUBOTA et al., 2015; SUZUKI, 2018).

Dessa forma, modelos animais permitem estudar a plasticidade do desenvolvimento por estabelecer uma relação causal entre mudanças no ambiente e no epigenótipo e/ou trajetórias de desenvolvimento (BIANCO-MIOTTO et al., 2017; ROSENTHAL; BROWN, 2007; WEST-EBERHARD, 2005). Isso garante uma visão mais mecanicista de como as mudanças no epigenótipo podem afetar a função (BIANCO-MIOTTO et al., 2017; LAFUENTE; BELDADE, 2019). Além disso, através dos modelos animais também é possível controlar fatores de confusão e garantir a avaliação de tecidos relevantes, como o tecido muscular e nervoso e o comportamento (BIANCO-MIOTTO et al., 2017).

Os modelos experimentais de PC em roedores incluem modelos de reperfusão/hipoperfusão, como a ligadura da artéria carótida, também considerados modelos de hipóxia/isquemia, modelos de anóxia perinatal, modelos de infecção/inflamação materna, como o uso de lipopolissacarídeo (LPS), modelos de lesão cirúrgica no cérebro, mutações genéticas, restrição de patas posteriores e combinações entre si (CAVARSAN; GORASSINI; QUINLAN, 2019; NORFLUS; GUTEKUNST, 2016). Esses modelos variam com relação a apresentação do desenvolvimento da lesão e a apresentação de fenótipos neurológicos e comportamentais.

A reperfusão ou hipoperfusão é considerado um dos primeiros modelos estabelecidos da PC, conhecido também como modelo de Rice-Vanucci (RUMAJOGEE et al., 2016). Ocasionalmente ligadura ou cauterização da artéria carótida comum, uni ou bilateralmente, e tem seu período de insulto entre os dias 1 e 10 de vida pós-natal do animal, que corresponde ao último trimestre de gestação no humano (NORFLUS; GUTEKUNST, 2016). Esse modelo acarreta em ativação de microglia e perda de neurônios no córtex, hipocampo e corpo caloso (BACK et al., 2002; SHELDON, R. ANN; CHUAI, JING; FERRIERO, 1996; ZAGHLOUL; PATEL; AHMED, 2017). Além disso, promove a ativação de macrófagos e prejudica o comportamento

em testes de marcha, coordenação, força, reflexo e cognição (CAI et al., 2001; DURÁN-CARABALI et al., 2017; FAN et al., 2005).

Os modelos de infecção/inflamação materna também são bastantes comuns na literatura, sendo o mais utilizado o LPS, no entanto, outros agentes excitotóxicos podem ser utilizados, como vírus, bactérias e fármacos (CAVARSAN; GORASSINI; QUINLAN, 2019). O LPS trata-se de um lipossacarídeo que é injetado durante o período pré-natal nas ratas mãe grávidas e induz uma resposta inflamatória sistêmica, podendo gerar insuficiência placentária e resultar em danos cerebrais graves (CORDEIRO, C.N.; TSIMIS, M; BURD, I, 2017; GINSBERG et al., 2017). É possível observar nesse modelo lesão de substância branca, ativação de microglia, ativação de interleucina IL1, aumento da frequência de natimortos, comprometimento da coordenação e marcha alterada (ROBERSON et al., 2006; STIGGER et al., 2011; YELLOWHAIR et al., 2018).

Outros modelos menos utilizados, como o modelo de lesão cirúrgica no cérebro, que promove uma excisão unilateral completa do córtex motor sem danos à substância branca subjacente, tende a preservar sinapses aferentes no corno ventral e acarreta em perda de interneurônios espinhais, porém sem déficit comportamental (GIBSON; ARNOTT; CLOWRY, 2000). Já a aspiração unilateral de estruturas corticais e subcorticais no sulco lateral, incluindo substância branca e núcleo profundo, promove propagação anormal da atividade muscular bilateral (ANDREANI; GUMA, 2008). Os modelos genéticos, como a mutação do receptor de glicina, promovem marcha anormal, hipertonia, espasmos mioclônicos em 1 mês, mas sintomas variáveis em 2 meses (BRANDENBURG et al., 2018).

Grande parte desses modelos supracitados não reproduzem déficits motores importantes, havendo uma necessidade de modelos que reproduzam o fenótipo motor, incluindo espasticidade e hiperreflexia, para se obter um resultado comportamental mais mensurável (CAVARSAN; GORASSINI; QUINLAN, 2019). Assim, o modelo animal que mais se aproxima do fenótipo da PC espástica é o de anóxia perinatal associada à restrição de patas posteriores que garante informações sobre o mecanismo subjacente às contraturas em crianças com PC (STRATA et al., 2004). O modelo foi proposto inicialmente por Strata e colaboradores (2004) e é composto por dois episódios de anóxia e restrição sensório-motora das patas posteriores por 28 dias. Esse modelo promove desorganização do córtex sensorial e motor, ativação microglial no córtex somatossensorial e hipocampo, menor área de

secção transversa no músculo sóleo, além de alteração na marcha e coordenação (LACERDA et al., 2017; MARCUZZO et al., 2010a; SILVA et al., 2016a).

Dessa forma, insultos precoces ao cérebro podem acarretar em adaptações fenotípicas e epigenéticas que podem se caracterizar por mudanças não-adaptativas a depender do nível, intensidade e período de acometimento da lesão (DENNIS et al., 2013). No entanto, é possível observar um alto nível de plasticidade após a lesão cerebral precoce (DENG; JENSEN, 2014). Assim, os modelos experimentais tentam reproduzir os mecanismos fisiopatológicos da PC ao passo que possibilitam uma janela terapêutica ideal para o desenvolvimento e a otimização de intervenções eficazes.

2.2 DIFERENÇAS SEXUAIS NA LESÃO CEREBRAL

Há uma extensa literatura clínica e animal sugerindo que homens tem mais susceptibilidade para o desenvolvimento de condições como autismo, deficiência intelectual, transtorno de déficit de atenção e PC (JARVIS, 2005; JOHNSTON; HAGBERG, 2007; MARLOW et al., 2005). Embora a PC seja mais frequentemente associada a lesões adquiridas, infecções/inflamações e prematuridade, sua prevalência é ainda maior em homens (HIMMELMANN; UVEBRANT, 2014; MARRET; VANHULLE; LAQUERRIERE, 2013). Dessa forma, o sexo tem demonstrado influenciar no desenvolvimento de lesões cerebrais neonatais através de diferenças ocorridas no cérebro ainda imaturo (CLOWRY; BASUODAN; CHAN, 2014; SHARMA; JOHNSTON; HOSSAIN, 2014). Essas diferenças podem estar relacionadas a fatores intrínsecos como maior vulnerabilidade biológica associada a organização cerebral, neuroinflamação associada ao aumento da resposta imune a ativação de células gliais, hormônios e polimorfismos genéticos (CHEN et al., 2022b; VASILEIADIS et al., 2009).

A prematuridade e o sexo masculino representam juntos um fator de risco extremo para o desenvolvimento da PC, onde cerca de até 70% das crianças nascidas vivas são afetadas (HIMMELMANN; UVEBRANT, 2014; JOHNSTON; HAGBERG, 2007a; MARLOW et al., 2005). Homens com nascimento pré-maturo tem menor massa cinzenta e branca do que homens atermo e do que mulheres pré-maturas (REISS et al., 2004). Em modelos animais de lesão cerebral neonatal, a maioria dos estudos consideram o intervalo do P0 ao P5 para indução de lesões neonatais, visto que se trata do período equivalente a uma criança nascida pré-termo (entre 24 a 30 semanas

de gestação) (MALLARD; VEXLER, 2015; MARRET; VANHULLE; LAQUERRIERE, 2013). Assim, estudos tem demonstrado que os animais machos tem maior carga de lesão na substância branca em roedores que sofreram lesão cerebral no P5 em comparação com as fêmeas (CLOWRY; BASUODAN; CHAN, 2014; JOHNSTON; HAGBERG, 2007).

Além disso, tanto a prematuridade, como a hipóxia-isquemia e a infecção/inflamação desencadeiam resposta imune e ativação microglial exacerbada, que também estão associadas a diferenças sexuais em modelos animais de lesão cerebral (AL MAMUN et al., 2018). Dessa forma, cascatas de sinalização e vias de morte celular estão diretamente relacionadas com o dimorfismo sexual, sendo os machos mais suscetíveis a atividade inflamatória através da resposta a lesão em um cérebro imaturo por ativação de citocinas inflamatórias, como Interleucina-1B (IL-1b) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), ativação de espécies reativas de oxigênio (EROs), aumento da permeabilidade mitocondrial e liberação de proteínas pré-apoptóticas (CHARRIAUT-MARLANGUE; BESSON; BAUD, 2018; KELLY et al., 2023). A cascata neuroinflamatória desencadeada após lesão promove também ativação glial anormal, acarretando em um perfil morfológico mais ativado nos machos neonatais, com cerca de 2 vezes maior do que nas fêmeas (CERGHET et al., 2009; LENZ; MCCARTHY, 2015; ROSENKRANTZ; HUSSAIN; FITCH, 2019). Em contrapartida, as fêmeas que sofreram hipóxia-isquemia apresentam um nível mais alto de neurogênese do que machos (SMITH et al., 2014).

A nível celular, o dimorfismo sexual pode ser atribuído aos efeitos dos hormônios como estrogênio e testosterona, uma vez que esses esteroides sexuais também podem influenciar o desenvolvimento cerebral por atuarem na resposta imune pós-natal (M. V. JOHNSTON AND HAGBERG, 2007; MURDEN et al., 2019). O estrogênio, embora em quantidade circulante relativamente pequena no neonato, demonstrou estar associado a menor risco de derrame em roedores fêmeas do que em roedores machos (NUÑEZ et al., 2007). Já a testosterona impacta o desenvolvimento do cérebro ao apresentar maior efeito neurotóxico em machos no primeiro ano de vida e também está associada a maior taxa de mortalidade após lesão cerebral devido ao seu aumento de excreção entre a 10-20ª semana gestacional e por apresentar um pico dentro das primeiras 24 horas de vida, seja em animais roedores ou nos humanos (CORBIER et al., 1992).

Boa parte da literatura associa as diferenças entre homens e mulheres as respostas distintas do sistema imune a uma lesão. Essa associação confere uma maior vantagem as mulheres pelo fato de que muitos dos genes relacionados ao sistema imunológico também estão relacionados ao cromossomo X. Assim, o fenótipo XX confere as mulheres um papel importante em sua resposta imune inata (KELLY et al., 2023; SPOLARICS, 2014). Vários genes que codificam a cascata apoptótica e homeostase hormonal são conferidos ao genótipo XX, como os receptores Toll-like (TLR)-4 associados a sinalização do fator nuclear kappa B (NFkB) e cinase 1 associada ao receptor de interleucina 1 (IRAK1), ambos com papéis sobre a resposta imunológica contra patógenos, sendo mais altamente expressos nas fêmeas do que nos machos neonatos (O'DRISCOLL et al., 2017; SPOLARICS, 2014). Dessa forma, parece plausível que a vulnerabilidade diferencial no cérebro seja influenciada diretamente pelos cromossomos sexuais.

Além disso, o cérebro masculino tem sido associado a recuperação limitada da plasticidade após lesão (SMITH et al., 2014). Essa limitação remota a aumento de déficits cognitivos, incluindo tarefas de memória e de processamento auditivo (AL MAMUN et al., 2018; SMITH et al., 2014). Outros parâmetros comportamentais também tem sido observados na literatura: machos submetidos a um modelo de PC tem desempenho prejudicado em tarefa de alcance habilidoso do membro anterior, padrão de marcha alterado e atividade exploratória aumentada em comparação com fêmeas (FRAGOPOULOU et al., 2019). No entanto, muitos estudos ainda não relatam o sexo dos animais usados ou usam apenas machos. Atualmente, os cuidados fetais, neonatais e pós-neonatais relativos ao cérebro e condições neurológicas não levam em consideração o sexo do feto ou do bebê (ROSENKRANTZ et al., 2019). Dessa forma, faz-se necessário estudar a influência do sexo na tentativa de propor estratégias terapêuticas mais direcionadas.

2.3 EFEITOS DA QUERCETINA SOBRE O TECIDO MÚSCULOESQUELÉTICO E A NEUROINFLAMAÇÃO

Os polifenóis são compostos naturais sintetizados em plantas e que se caracterizam principalmente por serem antioxidantes, atuando sobre o estresse oxidativo e processos inflamatórios (BERTELLI et al., 2021). Esses compostos são comumente encontrados na alimentação, como em frutas, vegetais, vinhos, cervejas, cereais, fazendo parte da dieta humana e tendo ganhado ampla visibilidade por

reduzir o risco de doenças relacionadas à idade, alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e doenças neurodegenerativas (BERTELLI et al., 2021; DEBELO; LI; FERRUZZI, 2020; PANDEY; RIZVI, 2009).

No sistema musculoesquelético as ações protetoras dos polifenóis dietéticos envolvem os efeitos antioxidantes sobre as EROs e disfunções mitocondriais (MALAGUTI; ANGELONI; HRELIA, 2013; NIKAWA; ULLA; SAKAKIBARA, 2021; SALUCCI; FALCIERI, 2020). Já as funções neuroprotetoras envolvem uma série de efeitos dentro do cérebro, incluindo o potencial de proteger os neurônios contra lesões induzidas por neurotoxinas, a capacidade de suprimir a neuroinflamação reduzindo a sinalização de estresse oxidativo/inflamatório e aumentando a sinalização protetora e o potencial de promover a memória e a função cognitiva (BARGER et al., 2008; MAQBOOL; ZEHRABI, 2021; RASOULI; FARZAEI; KHODARAHMI, 2017).

A metabolização dos polifenóis dá origem a produtos flavonóides e não-flavonóides com base no número de anéis fenólicos e a maneira como esses anéis interagem entre si, sendo os flavonóides os mais estudados na literatura devido a sua distribuição na natureza e a sua biodisponibilidade em quantidades consideráveis na dieta humana (RASOULI; FARZAEI; KHODARAHMI, 2017; SPENCER et al., 2008). Do grupo dos flavonóides, os principais grupos dietéticos encontrados são as flavonas (apigenina), flavonóis (quercetina), isoflavonas (genisteína), flavanonas (hesperetina), flavanóis (catequina) e antocianidinas (pelargonidina), e são estudados pelos potenciais benefícios à saúde (RASOULI; FARZAEI; KHODARAHMI, 2017; VAUZOUR, 2012).

A quercetina, que faz parte da subclasse flavonol da família dos flavonóides, é um dos polifenóis mais abundantes e foi isolada pela primeira vez em 1854, sendo encontrada em plantas e frutas, como maçãs, uvas, cebolas, tomates, frutas vermelhas, entre outras (BAYAZID; LIM, 2022; WRÓBEL-BIEDRAWA et al., 2022). Ela dá cor às frutas e vegetais e pode ser achada em grandes concentrações nesses alimentos (GREWAL et al., 2021). A sua absorção tem sido bem documentada via intestino delgado e o seu metabolismo ocorre por meio de órgãos como o fígado, intestinos e rins, onde exerce seu papel sistêmico antioxidante, modulando o sistema imunológico e atuando também no tecido musculoesquelético (MANACH et al., 2004; NAKAZATO; OCHI; WAGA, 2010; PANDEY; RIZVI, 2009); (ISLAM et al., 2021).

A relação entre os polifenóis dietéticos, como a quercetina, e o tecido musculoesquelético tem demonstrado grandes benefícios. O musculoesquelético é

um tecido plástico e qualquer alteração fisiológica ou patológica pode acarretar em modificações de trofismo muscular, como a atrofia, que é caracterizada por perda de massa e declínio da função motora (BODINE; BAEHR, 2014; FRATI et al., 2014). Geralmente a atrofia ocorre por aumento na degradação de proteínas musculares ou pela redução da síntese de proteínas e está associada a um alto estado inflamatório (BODINE; BAEHR, 2014; FRATI et al., 2014). Nesse contexto, a quercetina parece contribuir promovendo melhora no musculoesquelético atrofiado através da modulação do estresse oxidativo e da homeostase mitocondrial, além de alterações na função vascular e endotelial em modelos de atrofia induzida pela idade, obesidade, câncer e por desuso (CHARLES et al., 2013; MALAGUTI; ANGELONI; HRELIA, 2013; NIKAWA; ULLA; SAKAKIBARA, 2021; SALUCCI; FALCIERI, 2020). Assim, o papel antioxidante da quercetina neutraliza os efeitos prejudiciais da inflamação crônica ou do estresse oxidativo elevado, exercendo efeitos antiatróficos e modulando os fatores pró-atróficos ou vias de sinalização que contribuem para a atrofia muscular (NIKAWA; ULLA; SAKAKIBARA, 2021; SALUCCI; FALCIERI, 2020).

As evidências da quercetina no sistema musculoesquelético estão associadas aos efeitos mais sistêmicos. Para atingir o SNC é necessário que esse composto atravesse a barreira hemato encefálica (BHE) e atue localmente sobre esse tecido (MAQBOOL; ZEHRABI, 2021; VAUZOUR, 2012). Dessa forma, a quercetina também pode estar disponível no cérebro, independente da via de administração, onde exerce seu papel neuroprotetor e neuromodulatório direto (VAUZOUR, 2012; COSTA et al., 2016). Muitas condições clínicas de doenças neurodegenerativas, assim como o envelhecimento e outras doenças metabólicas, estão associadas à vulnerabilidade do cérebro, principalmente ao estresse oxidativo (FOLEY, 2019). A quercetina é conhecida por ser um composto antioxidante, antiinflamatório, cardioprotetor, anticonvulsivante e antidiabético (DABEEK; MARRA, 2019; LESJAK et al., 2018; RAUF et al., 2018; SALEHI et al., 2020). Mas também tem sido documentada pelo seu papel anti-neurodegenerativo (SHARMA et al., 2015).

As doenças neurológicas se caracterizam por envolverem um conjunto de mecanismos celulares que, quando alterados, resultam em comprometimentos comportamentais e cognitivos (SERWER, 2018). Existem diversas etiologias relacionadas com tais doenças, sendo comum a maioria delas a disfunção mitocondrial que acarreta em desequilíbrio nos níveis de cálcio e, conseqüentemente, em estresse oxidativo, ocasionando morte neuronal (AMANZADEH et al., 2019). A

quercetina tem demonstrado suas propriedades terapêuticas através da mediação de espécies reativas de oxigênio e regulação de vias de sinalização, como PI3K/Akt, tirosina quinase, proteína quinase C e MAPK, relacionadas à cognição, neurogênese e sobrevivência neuronal. Além da regulação da expressão gênica através de fatores de transcrição sensíveis ao redox, como o NF- κ B e Nrf2, envolvidos nesse processo (BAYAZID; LIM, 2022; DAJAS et al., 2013).

Embora a neuroinflamação seja um mecanismo de defesa, o cérebro não é suficientemente dotado de um sistema antioxidante bem organizado, podendo a neuroinflamação ser impulsionada por aumento na ativação de células gliais, citocinas pró-inflamatórias e EROs, induzindo a disfunção mitocondrial e morte neuronal (VAUZOUR, 2012). Dessa forma, a neuroinflamação é um mecanismo importante de ser modulado e que é alvo de estudos e intervenções terapêuticas, uma vez que pode estar presente em lesões neuronais ocorridas ao SNC durante o neurodesenvolvimento ou em doenças neurodegenerativas (ANAND DAVID; ARULMOLI; PARASURAMAN, 2016; COSTA et al., 2016). Nesse sentido, a quercetina tem demonstrado modular a atividade inflamatória por inibir a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , IL-1 β e IL-6, e favorecer a síntese de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10 (FIDELES et al., 2023a). Além de atuar reduzindo a ativação microglial e astrocitária descontrolada, atribuindo proteção contra a neuroinflamação (SPENCER et al., 2012).

Na Doença de Alzheimer (DA), o acúmulo de A β está envolvido com o desencadeamento de eventos neuroexcitotóxicos e neuroinflamatórios nessa doença (LAFERLA; GREEN; ODDO, 2007). A quercetina tem demonstrado efeitos benéficos em áreas do córtex e hipocampo de modelos experimentais de DA por atuar através de mecanismos de down-regulation sobre a disfunção mitocondrial e inflamação, diminuindo a expressão de EROs e da via apoptótica mitocondrial e também inibindo a ativação microglial e astrocitária e da via TLR4/ NF- κ B, diminuindo a ativação de fatores inflamatórios TNF- α , COX-2 (Ciclo-oxigenase-2), NOS-2 (Óxido nítrico sintetase-2), IL-1 β (HASHEMIAN et al., 2019; VARGAS-RESTREPO; SABOGAL-GUÁQUETA; CARDONA-GÓMEZ, 2018; WANG et al., 2014). Devido a doença de Alzheimer comprometer fortemente a cognição, a maioria dos estudos avaliam o comportamento do animal relacionado a memória, sendo observado que a quercetina nas mais variadas doses (25-100mg) recupera a função cognitiva alterada pela DA (LI et al., 2019; MARIA et al., 2003; PAULA et al., 2019). Além disso, o tratamento crônico

com quercetina em doses altas (100mg) em camundongos machos, idosos e submetidos a modelo de DA por LPS melhorou a coordenação, embora não tenha sido observados efeitos sobre a locomoção (PATIL et al., 2003).

A Doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum no mundo, ficando atrás apenas da DA e se caracteriza pela degeneração de neurônios dopaminérgicos, que está associado a um alto estado de neuroinflamação e que repercute em disfunções do sistema motor (WRÓBEL-BIEDRAWA et al., 2022). Em um modelo de DP induzido por MPTP (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-hydroxydopamine), camundongos tratados com quercetina (50mg) cronicamente apresentaram melhora do equilíbrio motor e coordenação (LV et al., 2012). Também foi possível observar atenuação da neurotoxicidade por aumentar a autofagia e apoptose no modelo de DP, bem como diminuição do estresse oxidativo (EL-HORANY et al., 2016). A quercetina (60mg) administrada agudamente foi capaz de proteger contra a perda de neurônios em ratos machos por inibir a ferroptose, ativando a proteína Nrf2 e melhorando as deficiências comportamentais motoras em análises de coordenação e locomoção em modelo de DP (LIN et al., 2022).

Em um outro modelo de Parkinson induzido por 6-Hydroxydopamine, a quercetina (25mg) melhorou a memória espacial em ratos machos, aumentou a taxa de disparo neuronal e modulou o estresse oxidativo por aumentar a expressão de BDNF, mantendo a função antioxidante (NAGHIZADEH et al., 2021; WANG et al., 2020a). Além disso, também tem sido demonstrado o papel protetor no aparecimento e evolução da DP, ratos machos que realizaram pré-suplementação com quercetina (50mg) antes de serem submetidos ao modelo de DP induzido por rotenona tiveram resultados mais significativos do que os ratos do grupo pós-suplementação, nos quesitos de melhora de níveis de neurotransmissão, atenuação de estresse oxidativo e melhora da atividade motora e cognitiva (MADIHA et al., 2021).

A Doença de Huntington (DH), embora se caracterize por ser uma doença de caráter genético que acarreta em perda progressiva de neurônios, a hipótese de que disfunções mitocondriais contribuam para desregulação transcricional do gene Huntington vem sendo estudada (KHAN et al., 2020; SANDHIR; MEHROTRA, 2013). A suplementação com quercetina (25mg) durante 21 dias, em modelo de DH induzida por ácido 3-nitropropiónico, foi capaz de restaurar níveis de ATP e reduzir o estresse oxidativo mitocondrial, melhorou déficits neurocomportamentais durante a marcha e também o padrão de pegada dos ratos (SANDHIR; MEHROTRA, 2013). Embora a

quercetina não tenha afetado a lesão neuronal no corpo estriado induzida por ácido 3-nitropropionico, ela diminuiu a proliferação microglial e revelou ausência ou redução da astrogliose (CHAKRABORTY et al., 2014; SANDHIR; MEHROTRA, 2013).

Modelos animais de convulsões também tem sido empregados para estudar os efeitos da quercetina sobre a epilepsia, um distúrbio neurológico que desencadeia neuroinflamação (DHIR, 2020). Em uma recente revisão publicada em 2022 por Prakash e colaboradores, foi discutida as propriedades anticonvulsivantes da quercetina e demonstrado o seu potencial papel de atividade neuroprotetora, anti-inflamatória e anti-oxidativa em modelos de epilepsia (PRAKASH et al., 2023). Em resumo, modelos de epilepsia crônica em ratos tratados com a quercetina (100mg) diminuiu as crises epiléticas e promoveu *down-regulation* de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β e NF- κ B) e *up-regulation* de citocinas anti-inflamatórias (IL-10 e IL-4), além de diminuir a ativação microglial (AHMED et al., 2021; WU et al., 2020).

Já na isquemia cerebral, a segunda causa mais comum de morte em todo mundo, a redução do oxigênio por consequente diminuição do fluxo sanguíneo, acarreta em danos celulares através da resposta inflamatória e estresse oxidativo (PARK et al., 2019). As propriedades da quercetina como papel protetor de desencadeamento de isquemia tem sido estudado. Em modelo de animal isquêmico cerebral por oclusão da artéria cerebral média (MCAO), a quercetina (10mg) aplicada antes da oclusão atenuou o aumento do déficit neurológico e infarto por regulação negativa da subunidade B de PP2A (Protein phosphatase 2A) contra lesão de MCAO e toxicidade de glutamato, além de prevenir a ativação de vias apoptóticas que afetam a expressão das proteínas caspase-3 e PARP (poly ADP-ribose polymerase) em ratos machos (PARK et al., 2019; PARK; SHAH; KOH, 2018). Em camundongos, em modelo de lesão cerebral hipóxico-isquêmica, a quercetina (50mg) aplicada em 3 momentos após a lesão, foi capaz de diminuir o volume de infarto cerebral e déficits de memória e função motora em campo aberto, inibindo o estresse oxidativo e respostas inflamatórias mediadas por TLR4 (Toll-like receptor 4) na microglia ativada (LE et al., 2020). Em modelo de lesão de isquemia/reperfusão cerebral, a quercetina (25mg) administrada durante 21 dias em ratos machos adultos, demonstrou aliviar o infarto cerebral, estresse oxidativo, expressão de mRNA de TNF- α e IL-1 β e atividade apoptótica da caspase 3 (JIN et al., 2019; WANG et al., 2020a; YANG et al., 2022).

As doenças que afetam o SNC são influenciadas pela homeostase do tecido, eventos decorrentes de desequilíbrios podem acarretar em alterações nesse microambiente que prejudicam a regeneração nervosa e a recuperação de funções neurológicas (FAN et al., 2018). A inflamação prolongada, a ativação microglial exacerbada, o aumento do estresse oxidativo, as disfunções mitocondriais e a apoptose celular são os principais eventos envolvidos na neurodegeneração e lesões do sistema nervoso (WANG; LIU, 2018). Em geral, estudos em animais suportam os efeitos protetores de muitos polifenóis dietéticos, esses compostos exercem seus efeitos visando diferentes vias celulares e moleculares em diferentes partes do corpo humano (PANDEY; RIZVI, 2009). A quercetina demonstrou desempenhar um papel importante sobre a regeneração do tecido em diversas doenças neurológicas, reduzindo o dano histopatológico, atenuando o estresse oxidativo e a expressão de citocinas pró-inflamatórias, diminuindo a ativação de micróglia e promovendo recuperação de funções neurológicas parâmetros comportamentais e de cognição (FIDELES et al., 2023a; WRÓBEL-BIEDRAWA et al., 2022). No entanto, a literatura ainda é escassa sobre os efeitos da quercetina nos sistemas musculoesquelético e nervoso em condições como a PC.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos do tratamento neonatal com quercetina sobre o desenvolvimento motor e a neuroinflamação no cerebello de ratos machos e fêmeas submetidos à paralisia cerebral experimental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar:

- a) crescimento somático;
- b) peso do músculo sóleo;
- c) ontogênese dos reflexos;
- d) força de preensão palmar;
- e) coordenação motora;
- f) desenvolvimento da atividade locomotora;
- g) análise da marcha;
- h) expressão gênica de $\text{TNF}\alpha$ no cerebello;
- i) densidade neuronal no cerebello.

4 METODOLOGIA

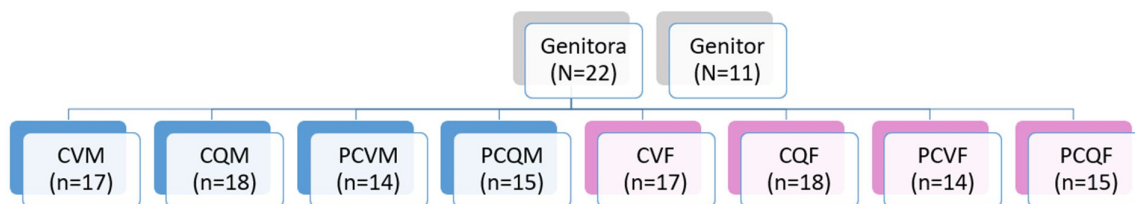
4.1 ANIMAIS

Para obtenção de neonatos, foram acasalados na proporção 1:2, 11 ratos machos (320-390g) e 22 fêmeas nulíparas (220-250g), da linhagem *Wistar* e espécie *Rattus norvegicus*, com idade entre 90 e 120 dias. A identificação da gestação foi realizada através da análise do ganho de peso corporal por meio de uma balança eletrônica (Marte, capacidade de 1 kg e sensibilidade de 0,01g). Os animais para acasalamento foram obtidos na colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Pernambuco, Brasil. Todos os animais foram mantidos em ambiente padrão de biotério, ciclo invertido (luz 20:00 às 8:00 e escuro 08:00 às 20:00 h), temperatura $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e com livre acesso à água e ração, mantidos em gaiolas de polipropileno (46cmx34cmx20cm) cobertas com maravalha esteril. O projeto 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 as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No.8023, revisado 1978). A Comissão de Ética em Uso animal (CEUA) da UFPE aprovou todos os procedimentos experimentais (processo N° 0075/2020 – Anexo A).

4.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados os filhotes de ratos machos e fêmeas provenientes do acasalamento prévio. Após o nascimento, no primeiro dia pós-natal, os filhotes foram ajustados para oito filhotes por ninhada, com peso entre 5-8 gramas. Permaneceram com suas respectivas genitoras durante o período de lactação, sendo aleatoriamente distribuídos, de acordo com o sexo, nos seguintes subgrupos: Controle Veículo Macho (CVM, n=17), Controle Quercetina Macho (CQM, n=18), PC Veículo Macho (PCVM, n=14), PC Quercetina Macho (PCQM, n=15) e Controle Veículo Fêmea (CVF, n=17), Controle Quercetina Fêmea (CQF, n=18), PC Veículo Fêmea (PCVF, n=14), PC Quercetina Fêmea (PCQF, n=15). Ao longo de todo o período de vida do animal foram realizados testes comportamentais. Os animais foram desmamados aos 25 dias de vida pós-natal. No 33º dia de vida pós-natal, os animais foram sacrificados para coleta de tecidos (Figura 1).

Figura 1 – Representação esquemática dos grupos experimentais

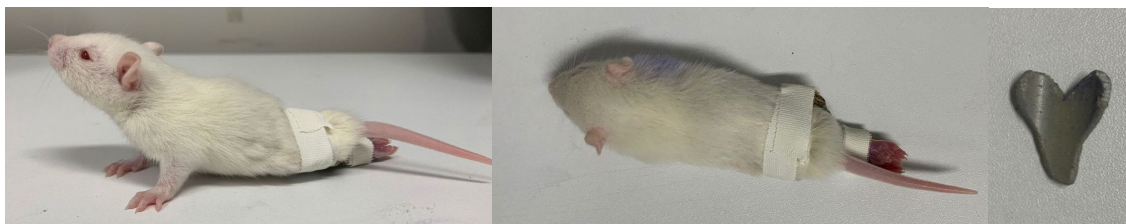


Fonte: a autora (2025)

4.3 PARALISIA CEREBRAL EXPERIMENTAL

O modelo experimental de paralisia cerebral baseia-se nos experimentos de STRATA et al (2004) e COQ et al., (2008). Este modelo associa a anóxia perinatal a um modelo de restrição sensório-motora dos membros posteriores. Ao nascer, os filhotes foram submetidos a dois episódios de anóxia, no dia do nascimento, considerado o P0 e no segundo dia pós-natal, considerado o P1. Para realização da anóxia, os filhotes foram colocados dentro de uma câmara de acrílico, parcialmente imersa em água a 37°C e expostos a nitrogênio (100% - White Martins, Brasil) a 9L/min por 12 minutos em cada dia. Os filhotes foram colocados em temperatura ambiente até recuperação da coloração e respiração normal e devolvidos às suas respectivas mães. Do P2 ao P28 foi realizada a restrição sensório-motora durante 16 horas por dia (das 15h às 7h do dia seguinte), nas 8 horas restantes os animais tinham livre movimentação (Figura 2). Para a imobilização sensório-motora um molde de epóxi foi usado de forma que apenas movimentos limitados da articulação do quadril fossem permitidos, deixando os membros posteriores estendidos com o auxílio de fita adesiva complementar ao molde reduzido. A eliminação de urina e fezes, bem como os cuidados maternos não foram prejudicados (SILVA et al., 2016).

Figura 2 – Modelo de restrição sensório-motora de patas posteriores

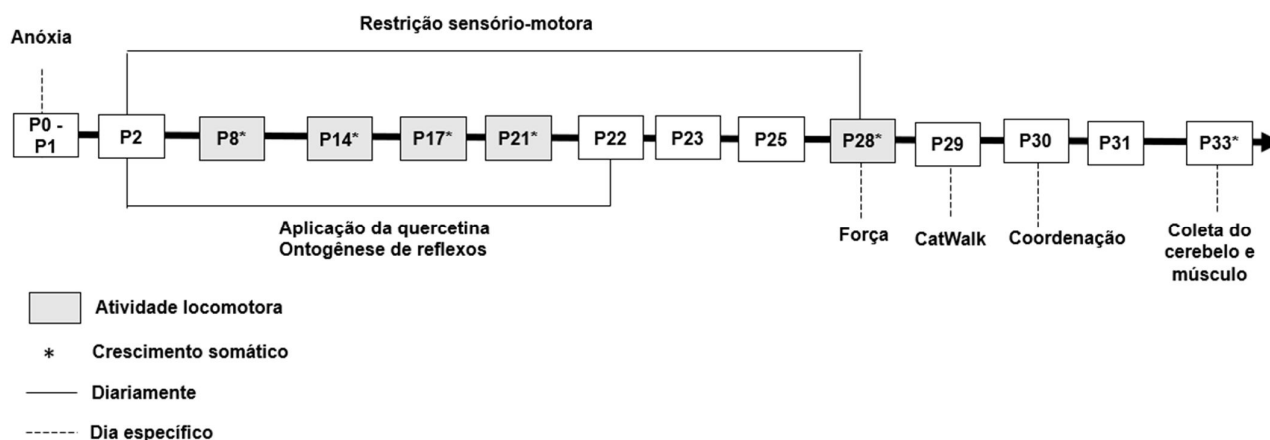


Fonte: a autora (2025)

4.4 TRATAMENTO COM QUERCETINA

Os filhotes machos e fêmeas alocados de forma aleatória, receberam as seguintes manipulações farmacológicas: quercetina (Sigma-Aldrich – Q4951 – 10g) (dose diária, 10 mg/kg) ou solução veículo, por via intraperitoneal (PARK et al., 2019). A quercetina foi diluída em dimetilsulfóxido (DMSO) ultra puro (Amresco – WN182 - 10ml) associado a solução salina. A solução veículo foi preparada apenas com DMSO ultra puro e solução salina. As aplicações ocorreram do P2 ao P22, no período da manhã (8:00h) (Figura 3).

Figura 3 - Esquema representativo de análises experimentais nos animais.



Fonte: a autora (2025).

4.5 CRESCIMENTO SOMÁTICO

O peso corporal dos filhotes foi registrado nos dias 8º, 14º, 17º, 21º, 28º e 33º dia de vida pós-natal, através de uma balança eletrônica (Marte, modelo S-1000, capacidade de 1 kg e sensibilidade de 0,01 g). Os comprimentos longitudinal e comprimento de cauda dos filhotes também foram avaliados nos mesmos dias, através de um paquímetro universal (JOMARCA®), sendo registrado em milímetros (mm) (DEIRÓ et al., 2006). As avaliações ocorreram no período da manhã, entre as 08:00 e 10:00 horas e foram registradas em ficha de avaliação individual do animal (Apêndice A).

4.6 ONTOGÊNESE DE REFLEXOS

Diariamente, do P2 ao P22 (entre as 8:00 e 10:00h), foi avaliado o aparecimento ou desaparecimento de reflexos relacionados à maturação motora e

registrados em ficha de avaliação individual (Apêndice B). As respostas reflexas foram avaliadas conforme descrito por (FOX, 1965; SMART; DOBBING, 1971)). O primeiro de uma série de três dias consecutivos em que a resposta esperada aparecer completamente foi considerado o dia da maturação do reflexo. As respostas observadas que indicavam a maturação dos reflexos são:

- a) Aversão ao precipício: O animal é colocado com as patas anteriores sobre a borda de uma superfície plana e alta, de maneira a detectar que há um precipício. A resposta é positiva quando o animal, no tempo máximo de 10 segundos, desloca-se para trás ou gira 45° do precipício.
- b) Resposta ao susto: O animal é submetido a um ruído agudo produzido pela percussão de um bastão metálico sobre um recipiente também metálico a uma distância de aproximadamente 10 cm. A resposta é positiva quando ocorre uma rápida retração com a imobilização involuntária do corpo do animal.
- c) Geotaxia negativa: O animal é colocado de cabeça para baixo no centro de uma rampa com 45° de inclinação revestida com papel crepom preto para garantir que o animal não deslize. O reflexo é positivo quando o animal se vira completamente para cima ou pelo menos 130 graus em um tempo de até 10 segundos.
- d) Queda livre: O animal é segurado pelas quatro patas com o dorso voltado para baixo a uma altura de 30 cm onde será solto sobre um leito de algodão (30 x 12 cm). A resposta é positiva quando o animal gira completamente o corpo e cai na superfície com o ventre voltado para baixo.

4.7 FORÇA DE PREENSÃO PALMAR

No P28, entre as 10:00 e 15:00 horas, a força de preensão que cada animal exerce sobre uma barra de apoio com os membros anteriores, foi avaliada através do Animal Grip Strength System (San Diego Instruments) (Figura 4). O animal agarra com as patas anteriores a barra de apoio, a sua cauda é puxada lentamente para trás a uma velocidade constante depois de agarrar a grade, para que a velocidade de tração do avaliador não influencie no teste. O pico de força foi registrado em gramas (g) no momento em que o rato soltou suas patas da grade. O captor foi redefinido para 0 gramas após cada tentativa. Em cada teste, as tentativas em que apenas uma pata dianteira, os membros posteriores foram usados ou o animal saiu da barra sem resistência, foram excluídos. Três tentativas, com intervalo de 1 minuto entre cada foram registradas, sendo a média das três o resultado final do teste. O teste foi

realizado por um único avaliador para garantir a confiabilidade dos dados (KIM et al., 2017).

Figura 4 – Captor de força vertical do Animal Grip Strength System



Fonte: a autora (2025).

4.8 COORDENAÇÃO MOTORA

A coordenação foi avaliada aos 30 dias de vida (P30), em barras paralelas. O aparelho consiste em duas hastes de aço paralelas com 115 cm de comprimento cada, onde o animal precisa atravessar durante o período de um minuto. Foram realizadas 3 tentativas por animal com intervalo de um minuto entre as tentativas, sendo registrado o tempo que o animal permaneceu parado na barra, registrado em segundos (s) e o número de erros cometidos que consistem em: se o animal colocar duas patas posteriores em uma haste, cair ou balançar sob as hastes (IDRUS et al., 2011).

4.9 DESENVOLVIMENTO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA

A atividade locomotora foi avaliada nos dias 8º, 14º, 17º, 21º e 28º dia de vida pós-natal, entre as 10:00 e 15:00 horas. O registro foi realizado com câmera (Citrox – Lente 2.8mm) em infravermelho posicionada a uma distância de 130cm do chão sobre campo aberto. O campo aberto utilizado tem formato circular (1m de diâmetro), delimitado por uma parede com 30 cm de altura, superfície interna na cor preta para contraste com a cor do animal e facilitação da aquisição de imagens (Figura 5). Cada animal foi colocado individualmente no centro do campo aberto, iniciando em seguida a gravação de 5 minutos, enquanto o animal se move livremente. Após o registro do

animal foi extraído algumas grandezas físicas a partir de um software específico de análise para se obter informações acerca do comportamento do animal. Para o registro das filmagens utilizou-se o software Ulead Video Studio®. Após filmagem, o vídeo foi analisado no software ANY-maze para obtenção dos seguintes parâmetros: Distância percorrida (m) e Velocidade média (m/s) (SILVA et al., 2016b).

Figura 5 – Desenvolvimento da atividade locomotora em campo aberto



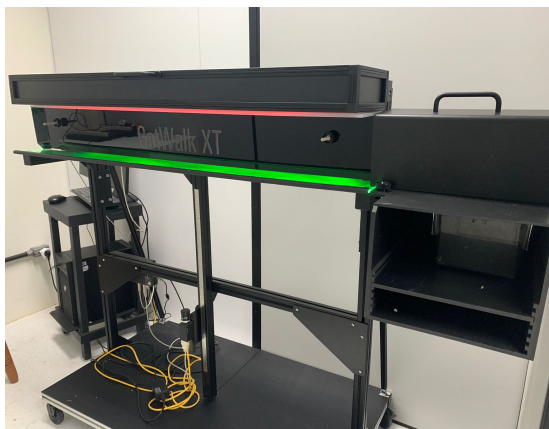
Fonte: a autora (2025).

4.10 ANÁLISE DA MARCHA EM CATWALK

O Catwalk (CatWalk XT – Noldus – versão 10.6) é um equipamento composto por uma passarela de placa de vidro, com cerca de 1 metro de comprimento, iluminada por luz fluorescente e conectada a um computador com software de detecção apropriado (Figura 6). O teste consiste em colocar um animal por vez na passarela para que este atravessasse de um canto ao outro em até 10 segundos. Cada pegada do animal é iluminada ao toque na passarela e seu contato registrado através de uma câmera posicionada abaixo da passarela. Para cada animal foi registrado 3 travessias compatíveis para análise e realizada a média. Após cada animal atravessar, o aparelho foi cuidadosamente limpo com papel toalha umedecido com álcool 70%. O teste foi realizado no dia P29 de vida pós-natal, entre as 10:00 e 15:00 horas. Foram determinados e quantificados os déficits no ciclo da marcha, sendo analisados os seguintes parâmetros: área máxima de contato (cm²), tempo em fase de apoio (s),

cadência (passos / segundo), índice de regularidade da sequência de passos (%), tempo em fase de balanço (s) (CHEN et al., 2017).

Figura 6 – Análise da marcha em CatWalk



Fonte: a autora (2025).

4.11 EUTANÁSIA E COLETA DE TECIDOS

Os filhotes machos e fêmeas dos grupos experimentais foram divididos em dois grupos de coleta, os animais que realizaram perfusão transcardíaca (n=5 por grupo) e os animais que foram submetidos a decapitação (n=5 por grupo). No dia do sacrifício (33 dias de vida pós-natal) os animais que realizaram perfusão transcardíaca foram anestesiados com Ketamina (100 mg/Kg) e Xilazina (12 mg/kg) e foi realizada a perfusão transcardíaca com 150 mL de solução salina tamponada em tampão fosfato e depois com 300 mL de paraformaldeído (PFA) a 4%. Após a perfusão, os cerebelos foram removidos e pós-fixados em paraformaldeído a 4% durante toda a noite. Em seguida, as amostras foram imersas em sacarose a 30% para crioproteção por 24 a 48 horas, sendo congeladas posteriormente em n-hexane e armazenadas em freezer -80°C até o dia da criosecção. As secções cerebelares (40 µm de espessura) foram obtidas utilizando um criostato (-30°C, Leica) e mantidos em solução anti-congelante até processamento por imuno-histoquímica. Os animais que foram eutanasiados por decapitação tiveram o cerebelo removido e imediatamente armazenados para posterior análise de expressão gênica. Além disso, também foi retirado o músculo sóleo da pata direita que foi imediatamente pesado, sendo registrado o valor em gramas (g).

4.11.1 Imunocoloração

Para a avaliação dos neurônios maduros no cerebelo, as secções (40 µm de espessura) foram tratadas com H₂O₂ (10%) em metanol durante 30 minutos e depois com H₂O₂ (10%) em tampão fosfato (0,1 M, pH 7,4) com Triton X100 (3%) (PB-T, St Louis) durante 15 minutos. Após esse tratamento inicial, foram incubadas a 4°C com anticorpo primário NeuN (IgG de rato, 1:200; ABCAM, Cambridge, U.K.) diluído com 5% de soro de cavalo em PBT durante 48 horas. Os tecidos foram incubados com o segundo anticorpo IgG biotinilado (anti-coelho, 1:750, Sigma-Aldrich, USA) por 2 horas. As secções foram colocadas em uma solução contendo avidina-biotina-peroxidase (ABC Elite Kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Finalmente, os antígenos foram revelados por uma solução contendo diaminobenzidina (DAB Kit, Vector Laboratories, USA) e montados em uma lâmina gelatinizada a 1%, cobertos com lamínulas com Cytoseal (Thermo Scientific, USA). A densidade celular foi avaliada no cerebelo nas áreas Crus 1 e 2. Quatro campos por secção para um total de 3-4 secções por animal foram avaliados nas regiões entre 8,40 e 15,48 mm bregma. As células foram contadas com ampliação de 40 × e expressas como um número de células/área usando um microscópio óptico com luz refletida (Olympus Optical, BX41TF, SC30 U-TV0.5XC-3, Japão). As análises foram realizadas usando o software ImageJ (<https://imagej.net/>).

4.11.2 Análise da expressão gênica

Amostras do cerebelo obtidas através da eutanásia por decapitação foram homogeneizadas em reagente Trizol® (Invitrogen) para extração do RNA total. Foram adicionados 200µl de clorofórmio para separação de fases. Após a centrifugação, a fase aquosa foi recuperada pela adição de 500µl de álcool isopropílico para precipitação do RNA. O pellet obtido foi lavado com etanol 75% e redissolvido em água livre de RNase. A pureza do RNA total foi quantificada usando o nanodrop pela razão A260/280. Na segunda fase, o kit Promega retrotranscreveu o RNA em cDNA. O cDNA resultante foi usado para amplificação por PCR usando o master mix (ITaq, BioRad). Os parâmetros considerados para a desnaturação inicial foram 5 min a 95°C, seguidos de 40 ciclos de 30 segundos a 95°C e 30 segundos a 60°C. Seguindo este protocolo, a expressão do fator de necrose tumoral (TNF-α) foi avaliada nas amostras obtidas (n= 5 por grupo). A expressão relativa do mRNA nas diferentes amostras foi calculada pelo método comparativo de Δ CT e fator de alongamento da tradução

eucariótica 1 alfa 1 (EEFA-1-alfa) como um gene de controle endógeno (housekeeping). A quantidade relativa de (TNF- α) pela expressão endógena de EEFA-1-alfa foi calculada pela fórmula $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Tabela 1).

Tabela 1. Sequência de primer usada para análise de PCR

Gene	Primer	Sequence (5'-3')
TNF-α	Forward	AAGCATGATCCGAGATGTGG
	Reverse	AGTAGACAGAAGAGCGTGGT
EEFA-1- alpha	Forward	TGAACCATCCAGGCAAATC
	Reverse	GCATGCTATGTGGGCTGTGT

TNF- α , Tumor necrosis factor alpha; Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1.

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados quanto à distribuição normal (teste de Kolmogorov-Sminorv). Quando observada distribuição normal, foram realizados os testes paramétricos adequados como o Anova TwoWay para comparação dos grupos nas análises realizadas em apenas uma idade do animal, ou o Anova TwoWay Medidas repetidas para comparação dos grupos nas análises realizadas em mais de uma idade. Quando observada distribuição não normal, foram adotados testes estatísticos não paramétricos (Kruskal-Wallis). O teste post-hoc de Tukey ou de Dunn foi realizado para todas as variáveis. Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão ou como mediana e intervalo interquartil, com nível de significância de 5%. Foi utilizado o software GraphPadPrism® 8 para análises e construção dos gráficos.

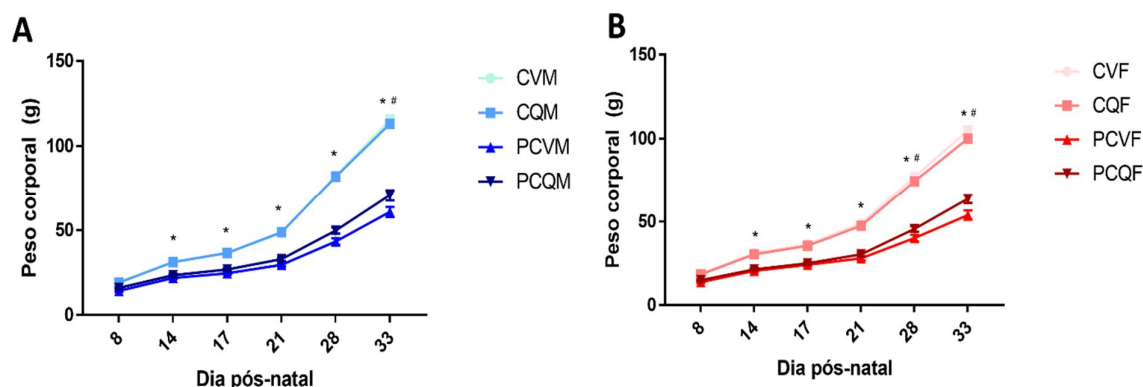
5 RESULTADOS

Os resultados provenientes do presente estudo foram enviados como artigo original para a revista internacional Life Science, fator de impacto 6,78 (Apêndice C). Uma revisão sistemática com metanálise foi desenvolvida e publicada na Neuroscience (International Brain Research Organization), fator de impacto 3,59 (Apêndice D). Um artigo original também foi publicado na Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, fator de impacto 2,27 (Apêndice E). Além de outros artigos em colaboração abrangendo esta linha de pesquisa (Apêndices F, G, H e I). Assim, serão apresentados a seguir os resultados originais provenientes apenas deste projeto.

5.1 ANÁLISE DO CRESCIMENTO SOMÁTICO

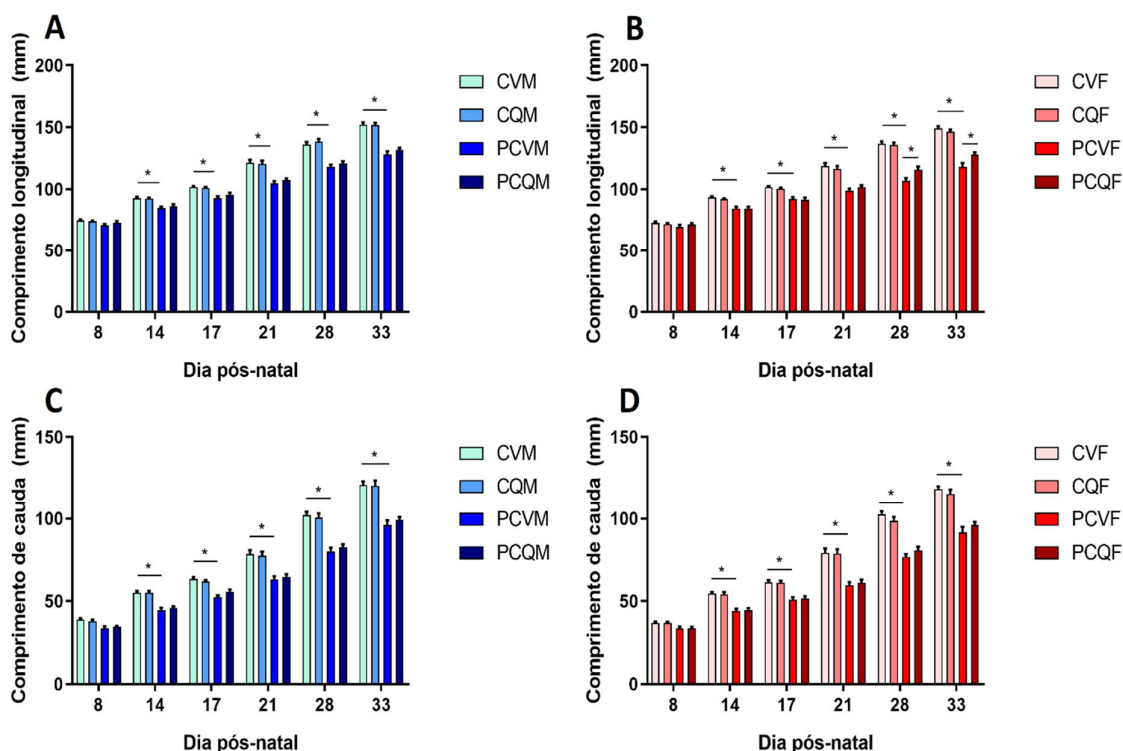
O peso corporal, o comprimento longitudinal e o comprimento de cauda tiveram um efeito significativo entre os grupos de animais machos [$F(3,65) = 62,991$, $p < 0,001$; $F(3,65) = 8,447$, $p < 0,001$; $F(3,65) = 9,183$, $p < 0,001$, respectivamente] e fêmeas [$F(3,64) = 76,226$; $p < 0,001$; $F(3,64) = 16,862$, $p < 0,001$; $F(3,64) = 10,783$, $p < 0,001$, respectivamente], sugerindo um impacto significativo da interação entre a PC e a quercetina durante o período neonatal.

Nos machos, o peso corporal reduziu significativamente a partir do P14 no grupo PC em comparação aos seus controles (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$), sugerindo o potencial efeito da PC sobre a restrição de ganho de peso corporal. O tratamento neonatal com quercetina não causou alterações significativas no peso corporal dos animais de controle. No entanto, o tratamento neonatal com quercetina em animais PC teve um efeito protetor sobre o peso corporal no P33, sendo significativamente maior em comparação aos animais PC tratados com o veículo (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 7A). Já nas fêmeas, o modelo de PC também restringiu o ganho de peso corporal em comparação ao seu grupo controle a partir do P14 (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 7B). Não houve alterações significativas no peso corporal dos animais de controle. A partir do P28, a administração de quercetina em fêmeas PC favoreceu o ganho de peso com aumento significativo em comparação ao grupo PC veículo (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 7B). Esses dados sugerem que o tratamento neonatal com quercetina reduz o impacto do modelo de PC, atenuando os efeitos sobre o peso corporal de machos e fêmeas.

Figura 7 – Análise do peso corporal

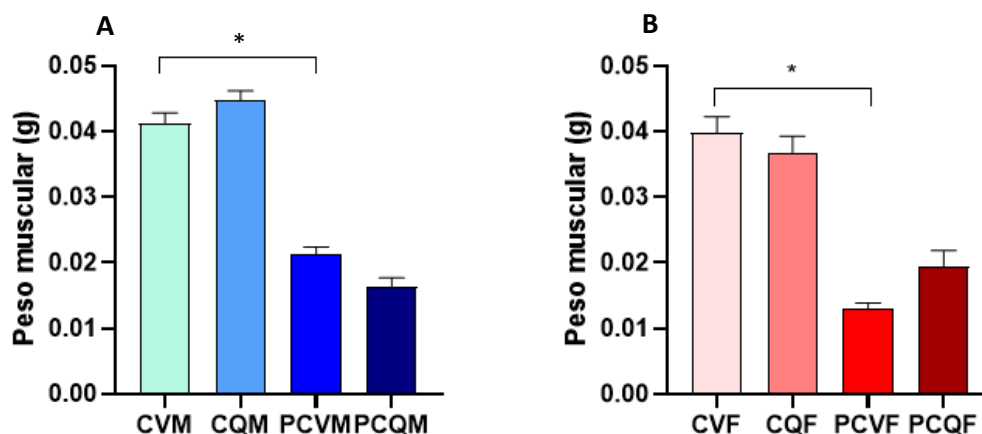
Fonte: a autora (2025). Peso corporal de ratos machos (A) e fêmeas (B) nas idades P8, P14, P17, P21, P28 e P33. CVM (Controle – Veículo - Macho, n=17); CQM (Controle – Quercetina - Macho, n=18); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=14); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=15); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=17); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=18); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=14); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=15). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medidas repetidas seguido do post-hoc teste de Tukey. * = CV vs. PCV; # = PCV vs. PCQ; $p < 0,001$.

O modelo de PC causou uma redução significativa no comprimento longitudinal e de cauda dos machos comparado ao grupo controle a partir do P14 (teste post hoc de Tukey: $p < 0,01$) (Figura 8A e 8C, respectivamente). Entretanto, o tratamento neonatal com quercetina não afetou o comprimento corporal dos animais de controle ou PC. Nas fêmeas, a PC induzida experimentalmente também reduziu o crescimento longitudinal e de cauda a partir do P14 em comparação ao seu controle (teste post hoc de Tukey: $p < 0,01$) (Figura 8B e 8D, respectivamente). Não houve comprometimento do crescimento entre animais controles. No entanto, a quercetina promoveu aumento do crescimento longitudinal em animais PC a partir do P28 quando comparado com o grupo PC veículo (teste post hoc de Tukey: $p < 0,01$) (Figura 8B). Esses dados sugerem que a PC induzida experimentalmente restringe o crescimento corporal nos animais machos e fêmeas. Já a administração de quercetina não apresenta impacto significativo sobre os machos. Porém, demonstra amenizar a restrição de crescimento longitudinal nas fêmeas.

Figura 8 – Análise do comprimento corporal

Fonte: a autora (2025). Comprimento longitudinal de ratos machos (A) e fêmeas (B); comprimento de cauda de ratos machos (C) e fêmeas (D) nas idades P8, P14, P17, P21, P28 e P33. CVM (Controle – Veículo - Macho, n=17); CQM (Controle – Quercetina - Macho, n=18); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=14); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=15); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=17); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=18); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=14); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=15). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medidas repetidas seguido do post-hoc teste de Tukey. *p<0,01

O peso do músculo sóleo mensurado no P33, demonstrou na análise de variância interação entre os machos ($F(1, 16) = 9,309$, $P=0,0076$) e entre as fêmeas ($F(1, 16) = 4,569$, $P=0,0483$). Nas análises de comparações múltiplas, foi observada a diminuição do peso muscular nos animais submetidos ao modelo de PC em comparação ao seu controle tanto nos machos como nas fêmeas (teste post hoc de Tukey: $p<0.05$) (Figura 9A e B). Esses resultados evidenciam o efeito do modelo experimental. No entanto, não foi observado efeito da quercetina entre os grupos experimentais de ambos os sexos.

Figura 9 – Peso muscular do sóleo no P33

Fonte: a autora (2025). Análise do peso do músculo sóleo em ratos machos (A) e fêmeas (B). (Controle – Veículo - Macho, n=5); CQM (Controle – Quercetina - Macho, n=5); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=5); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=5); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=5); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=5); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=5); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=5). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medida única seguido do post-hoc teste de Tukey: $p < 0.05$

5.2 ONTOGÊNESE DE REFLEXOS

A resposta de aversão ao precipício, geotaxia negativa, endireitamento em queda livre e resposta ao susto apresentaram atraso nos machos submetidos ao modelo de PC em relação ao grupo controle (Teste post hoc de Tukey: $p < 0,01$). O tratamento neonatal com quercetina não promoveu alterações significativas nos reflexos dos animais de controle. Já o tratamento com quercetina atenuou o impacto da PC nos reflexos de geotaxia negativa e resposta ao susto de machos comparado ao grupo PC veículo (teste post hoc de Tukey: $p < 0,05$). Nas fêmeas, foi observado atraso apenas nos reflexos de geotaxia negativa e queda livre de animais PC em comparação ao seu controle (teste post hoc de Tukey: $p < 0,01$). Não houve efeito da quercetina entre fêmeas controles ou PC. Esses dados sugerem o atraso de maturação de reflexos em decorrência da PC experimental tanto nos machos quanto nas fêmeas. Além disso, os resultados também sugerem efeitos protetores da

quercetina nos machos submetidos a PC experimental em reflexos relacionados a coordenação, equilíbrio e controle motor (Tabela 2).

Tabela 2 – Análise de ontogênese de reflexos

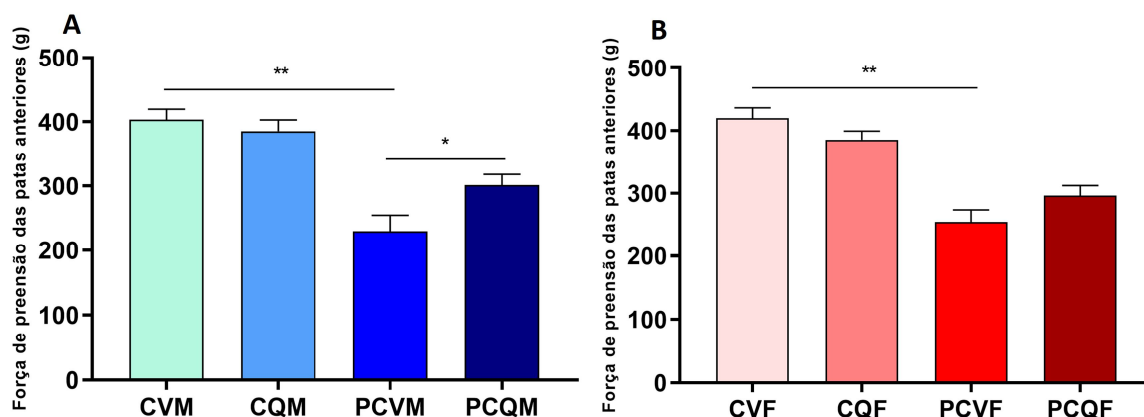
PARÂMETROS	GRUPOS							
	Machos				Fêmeas			
Ontogênese de reflexos	CVM	CQM	PCV M	PCQ M	CVF	CQF	PCVF	PCQF
Aversão ao precipício	6 (5-7)	6(5-7)	7(6-8.25)*	6(5-7)	6(6-7.5)	7(5-8)	7.5(6-9.25)	7(6-9)
Geotaxia negativa	10(9-10.5)	9(8-10)	16(12-.75-17)*	14(12-14)**	9(8-10)	10(8.7-5-11)	14(12-16)***	12(12-14)
Queda livre	11(10-12)	11(10-13)	13(11-14)*	13(11-14)	12(10-13)	11(9.7-5-13)	13.5(12.25-16)***	14(13-16)
Resposta ao susto	11(11-12)	12(11-12)	13(12-13.25)*	12(11-13)**	11(11-12)	12(11-12)	12(10.75-13.25)	12(11-13)

Fonte: a autora (2025). Dia pós-natal de aparecimento de reflexos durante o período neonatal. CVM (Controle – Veículo - Macho, n=17); CQM (Controle – Quercetina - Macho, n=18); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=14); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=15); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=17); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=18); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=14); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=15). Os dados estão apresentados em mediana e intervalo interquartil e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medida única seguido do post-hoc teste de Tukey. * = CVM vs. PCVM, p<0,01; ** = PCVM vs. PCQM, p<0,05; *** = CVF vs. PCVF; p<0,01.

5.3 FORÇA DE PREENSÃO PALMAR

Houve interação entre a PC e a quercetina na análise da força de preensão palmar entre os grupos experimentais dos machos [$F(1, 60) = 5,648$; $p=0,0207$] e das fêmeas [$F(1, 60) = 5,448$, $p=0,0230$]. As análises de comparações múltiplas revelaram que nos machos, ocorreu redução da força de preensão sobre a PC experimental em comparação ao seu grupo controle (teste post hoc de Tukey: $p<0,001$) (Figura 10A). Não houve efeito da quercetina entre machos controles. Além disso, o tratamento com quercetina associado a PC promoveu aumento significativo na força de preensão dos machos em comparação aos animais PC não tratados (teste post hoc de Tukey: $p<0,01$) (Figura 10A). Nas fêmeas, foi observado o efeito da PC sobre a força de preensão palmar por redução significativa quando comparadas ao seu controle não tratado (teste post hoc de Tukey: $p<0,001$) (Figura 10B). Não foi observado efeito da quercetina entre as fêmeas controles ou PC. Esses resultados sugerem que o tratamento neonatal com quercetina atenua os déficits de força em machos expostos ao modelo CP. Porém, sem efeitos sobre as fêmeas tratadas.

Figura 10 – Análise da força de preensão palmar

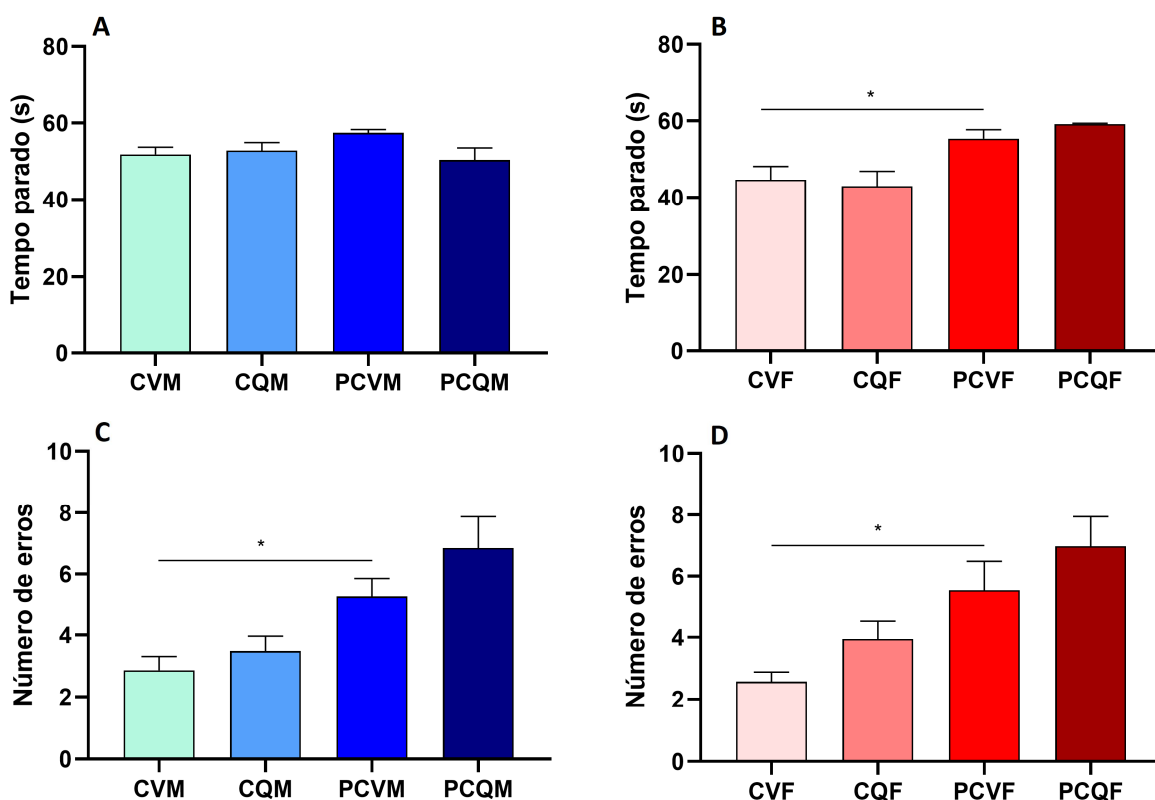


Fonte: a autora (2025). Força de preensão das patas anteriores em ratos machos (A) e fêmeas (B) avaliada no P28. CVM (Controle – Veículo - Macho, $n=17$); CQM (Controle – Quercetina - Macho, $n=18$); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, $n=14$); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, $n=15$); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, $n=17$); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, $n=18$); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, $n=14$); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, $n=15$). Os dados estão expressos em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medida única seguido do post-hoc teste de Tukey. * $p<0,01$; ** $p<0,001$.

5.4 COORDENAÇÃO MOTORA

Na análise da coordenação motora dos animais machos e fêmeas não houve interação entre os grupos no parâmetro de tempo parado (Machos = $F(1, 60) = 3,526$, $P=0,0653$; Fêmeas = $F(1, 60) = 0,8060$, $P=0,3729$), nem no número de erros cometidos (Machos = $F(1, 60) = 0,5288$, $P=0,4700$; Fêmeas = $F(1, 60) = 0,001451$, $P=0,9697$). No entanto, nas análises de comparações múltiplas, foi observado que o modelo experimental de PC repercute sobre a coordenação motora dos animais machos e fêmeas (teste post hoc de Tukey: $p<0.01$), sem efeito significativo da quercetina entre as comparações de grupos controles e PC de machos e fêmeas (Figura 11 A, B, C, D).

Figura 11 – Análise da coordenação motora



Fonte: a autora (2025). Tempo parado dos ratos machos (A) e fêmeas (B) e número de erros dos ratos machos (C) e fêmeas (D) no P30. CVM (Controle – Veículo - Macho, $n=17$); CQM (Controle – Quercetina - Macho, $n=18$); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, $n=14$); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, $n=15$); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, $n=17$); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, $n=18$); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, $n=14$); PCQF (Paralisia Cerebral –

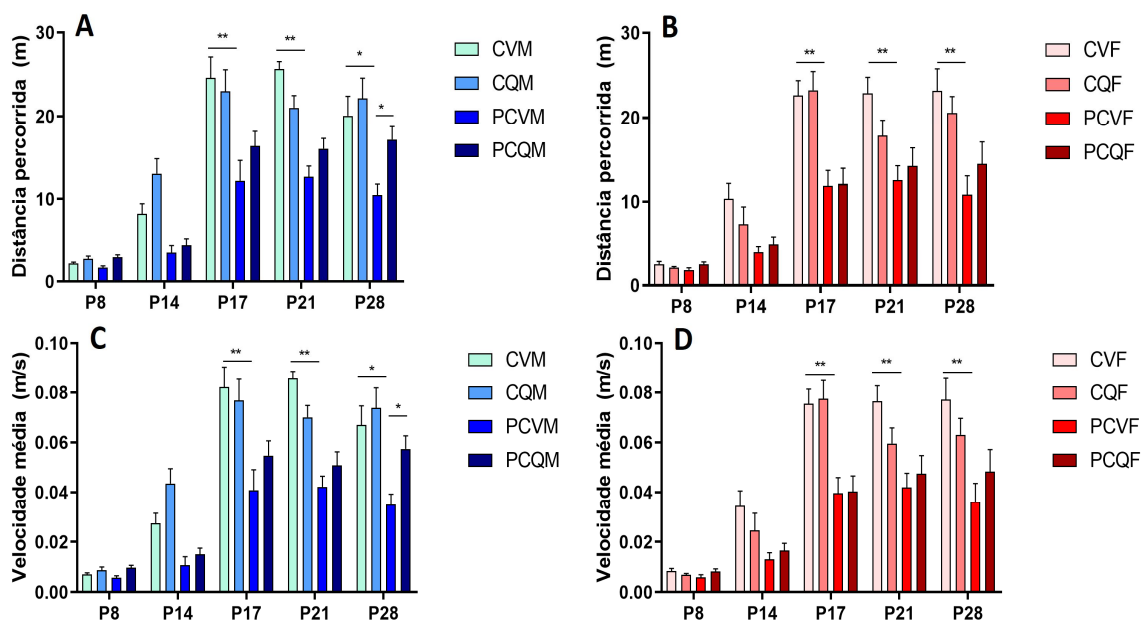
Quercetina - Fêmea, n=15). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medida única seguido do post-hoc teste de Tukey * $p < 0,01$

5.5 DESENVOLVIMENTO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA

A análise do desenvolvimento da atividade locomotora mostrou que houve efeito significativo de interação entre os grupos de animais machos nos parâmetros de distância percorrida [$F(12, 240) = 2,925, p < 0,0001$] e velocidade média [$F(12, 240) = 2,993, p < 0,0001$]. Na análise intergrupos das fêmeas também foram observadas interações entre esses parâmetros: distância percorrida [$F(12, 240) = 2,453, p < 0,001$] e velocidade média [$F(12, 240) = 2,304, p < 0,001$].

A capacidade exploratória dos machos foi afetada pelo modelo de PC. A distância percorrida e a velocidade média foram menores nos machos submetidos ao modelo de PC em comparação aos animais CVM a partir do P17 (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 12A e C). Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos controles. Ao P28, o tratamento com quercetina em machos PC acarretou em maior distância e velocidade média em relação aos machos PC não tratados (teste post hoc de Tukey: $p < 0,01$) (Figura 12A e C). Nas fêmeas, a partir do P17, também foi observada uma redução significativa da distância percorrida e da velocidade média em decorrência do modelo de PC utilizado em comparação ao grupo CVF (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 12B e D). No entanto, não foi observado efeito da quercetina entre os grupos controles ou PC. Esses dados demonstram que a exposição dos machos a quercetina estimula a atividade locomotora na PC. Contudo, as fêmeas não demonstraram sensibilidade ao tratamento com quercetina.

Figura 12 – Avaliação da atividade locomotora



Fonte: a autora (2025). Distância percorrida de ratos machos (A) e fêmeas (B); Velocidade média de ratos machos (C) e fêmeas (D) nas idades P8, P14, P17, P21 e P28. CVM (Controle – Veículo - Macho, n=17); CQM (Controle – Quercetina - Macho, n=18); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=14); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=15); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=17); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=18); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=14); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=15). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medidas repetidas seguido do post-hoc teste de Tukey * $p < 0,01$; ** $p < 0,001$

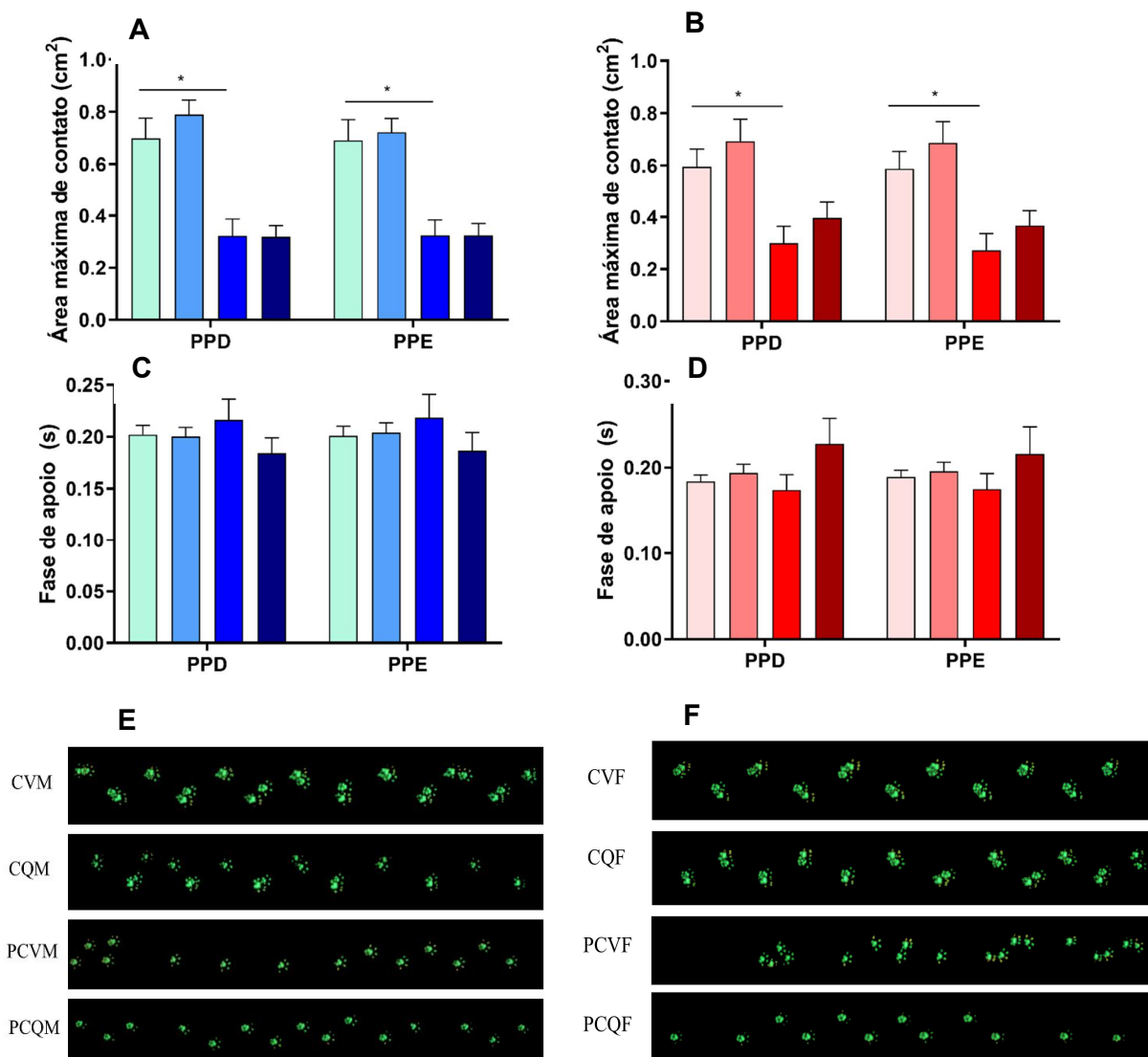
5.6 ANÁLISE DA MARCHA EM CATWALK

Parâmetros estáticos e dinâmicos de marcha foram avaliados através do sistema *CatWalk*. Na análise de variância, não foi observada interação entre os grupos PC e quercetina de machos ou fêmeas: área máxima de contato [Machos: $F(1, 60) = 0,2697$, $p = 0,6054$; Fêmeas: $F(1, 60) = 0,0005410$, $p = 0,9815$]; fase de apoio [Machos: $F(1, 60) = 1,546$, $p = 0,2186$; Fêmeas: $F(1, 60) = 1,206$, $p = 0,2766$]; cadência [Machos: $F(1, 60) = 1,688$, $p = 0,1988$; Fêmeas: $F(1, 60) = 0,8525$, $p = 0,3595$]; índice de regularidade de passos [Machos: $F(1, 60) = 1,134$, $p = 0,2912$; Fêmeas: $F(1, 60) =$

1,672, $p=0,2010$]; fase de balanço [Machos: $F(1, 60) = 1,789$, $p=0,1862$; Fêmeas: $F(1, 60) = 2,129$, $p=0,1498$].

Nas análises de parâmetros estáticos da marcha, o modelo de PC que associa a restrição de patas posteriores demonstrou alterar a área máxima de contato de ambas as patas de machos em comparação ao seu controle (teste post hoc de Tukey: $p<0,001$) (Figura 13A). Não foram observadas diferenças entre os grupos controles e nem efeito da quercetina sobre machos nesse parâmetro. Nas fêmeas, foi possível observar o efeito do modelo de PC sobre a redução da área máxima de contato em ambas as patas (teste post hoc de Tukey: $p<0,001$) (Figura 13B). Não foram observadas diferenças significativas entre animais controles ou sobre o efeito da quercetina em fêmeas PC nesse parâmetro. Na análise da fase de apoio, nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos de machos ou fêmeas (Figura 13C e D).

Figura 13 – Avaliação de parâmetros estáticos da marcha em CatWalk.

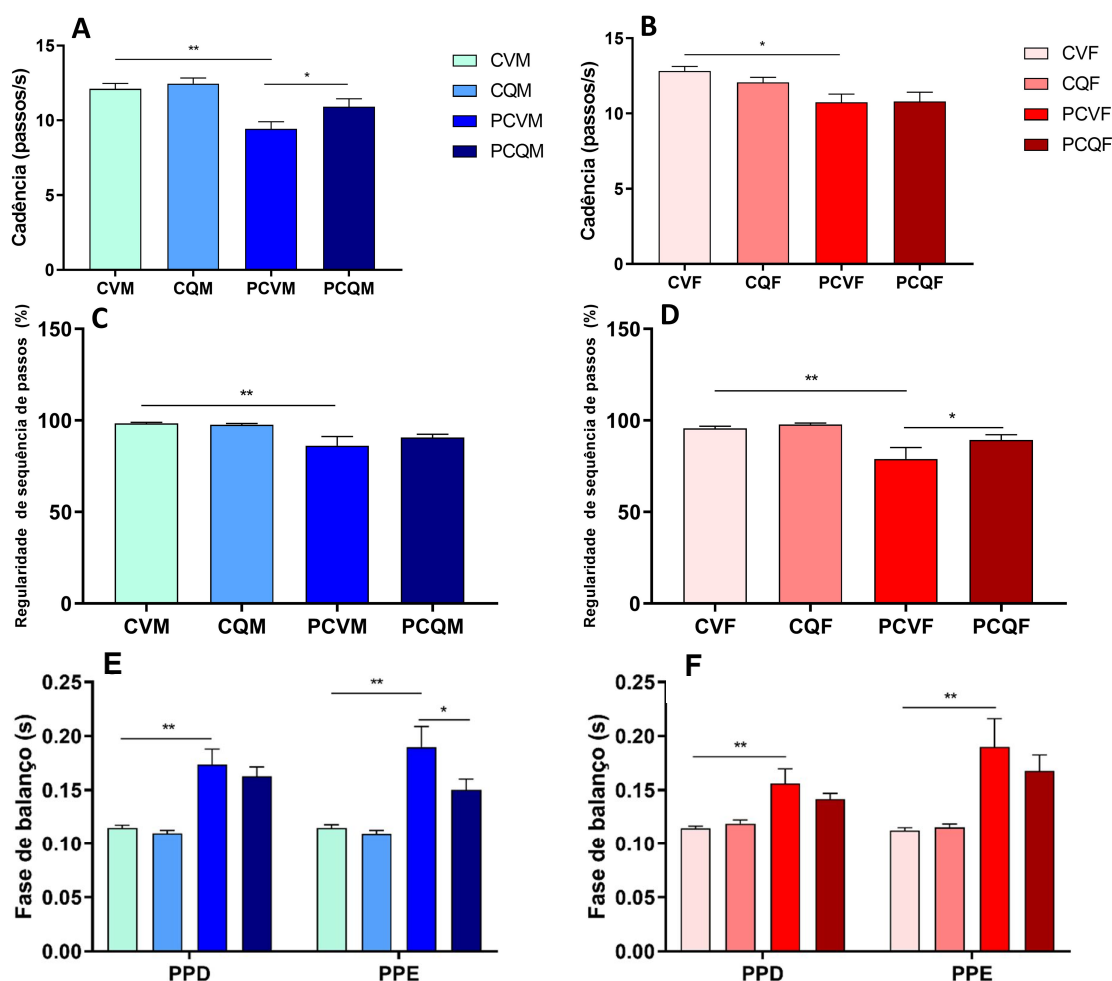


Fonte: a autora (2025). Análise dos parâmetros estáticos de marcha no P29. Área máxima de contato das patas posteriores nos ratos machos (A) e fêmeas (B); Fase de apoio em ratos machos (C) e fêmeas (D). Imagens representativas das pegadas durante a locomoção ativa na plataforma nos machos (E) e nas fêmeas (F). (Controle – Veículo - Macho, n=17); CQM (Controle – Quercetina - Macho, n=18); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=14); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=15); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=17); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=18); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=14); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=15). Pata Posterior Direita (PPD) e Pata Posterior Esquerda (PPE). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medida única seguido do post-hoc teste de Tukey. * $p < 0,001$

Nos parâmetros dinâmicos de marcha, as análises de comparações múltiplas demonstraram que houve uma menor cadência em decorrência do modelo de PC sobre os machos (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 14A), sem diferença significativa entre animais controles. O tratamento neonatal com quercetina demonstrou atenuar esse déficit na cadência de machos PC não tratados (teste post hoc de Tukey: $p < 0,05$) (Figura 14^a). Nas fêmeas, o modelo de PC também impactou sobre a cadência, reduzindo o número de passos por segundo (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 14B), porém sem efeito da quercetina entre fêmeas controles ou PC sobre esse parâmetro. O índice de regularidade de sequência de passos mostrou um efeito significativo da PC em animais machos, sendo observado uma diminuição no índice quando comparado ao grupo CVM (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 14C). No entanto, a regularidade de passos não foi impactada pelo tratamento com quercetina em machos controles ou PC. Nas fêmeas, foi possível observar o efeito da PC ao promover diminuição na regularidade da sequência de passos em comparação ao seu controle (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 14D). A quercetina atenuou esse déficit de coordenação entre os membros durante a marcha, ao aumentar a regularidade de passos em fêmeas PC (teste post hoc de Tukey: $p < 0,05$) (Figura 14D). Na fase de balanço, o modelo de PC demonstrou que os machos permaneceram um tempo maior na fase de balanço de ambas as patas posteriores em comparação ao grupo CVM (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura

14E). Sem diferenças significativas entre machos controles. Porém, a quercetina demonstrou minimizar esse tempo em animais PC, principalmente no membro posterior esquerdo em comparação aos machos PC não tratados (teste post hoc de Tukey: $p < 0,05$) (Figura 14E). Nas fêmeas, foi observado apenas o efeito do modelo de PC, acarretando em maior tempo na fase de balanço em ambas as patas em relação ao grupo controle (teste post hoc de Tukey: $p < 0,001$) (Figura 14F). Não houve resultados significativos da quercetina sobre as fêmeas controle ou PC. Esses dados sugerem que o tratamento neonatal com quercetina é capaz de mitigar alterações de marcha decorrentes do modelo de PC em animais machos, bem como promover melhor coordenação do padrão nas fêmeas.

Figura 14 – Avaliação de parâmetros dinâmicos da marcha em CatWalk.



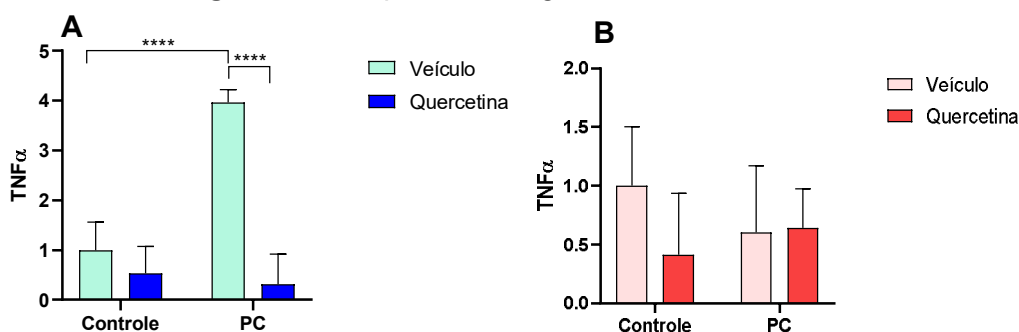
Fonte: a autora (2025). Análise dos parâmetros dinâmicos da marcha no P29. Cadência em ratos machos (A) e fêmeas (B); Índice de regularidade da sequência de

passos em ratos machos (C) e fêmeas (D); Velocidade média (velocidade média durante a locomoção ativa na plataforma) em ratos machos (E) e fêmeas (F); Fase de balanço em ratos machos (E) e fêmeas (F). (Controle – Veículo - Macho, n=17); CQM (Controle – Quercetina - Macho, n=18); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=14); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=15); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=17); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=18); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=14); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=15). Pata Posterior Direita (PPD) e Pata Posterior Esquerda (PPE). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medida única seguido do post-hoc teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$

5.7 EXPRESSÃO GÊNICA DE TNF- α NO CEREBELO

Ao analisar a expressão gênica da citocina pró-inflamatória TNF α , houve interação entre os grupos de machos [$F(1, 16) = 48,32$, $P < 0,0001$], porém não houve entre os grupos de fêmeas [$F(1, 16) = 2,047$, $P = 0,1718$]. Foi observado o efeito neuro inflamatório do modelo de PC nos machos por aumento da expressão de TNF α em animais PCVM em comparação ao seu controle (teste post hoc de Tukey: $p < 0,0001$) (Figura 15A). Não houve efeito sobre os grupos de machos controles. E o tratamento neonatal com quercetina demonstrou efeito protetor para a PC ao diminuir a expressão de TNF α no cerebelo de machos PC em relação ao grupo PC veículo (teste post hoc de Tukey: $p < 0,0001$) (Figura 15A). Não houve diferença significativa entre as comparações dos grupos de fêmeas (Figura 15B). Esses dados sugerem que a quercetina apresenta um papel anti-inflamatório na exposição de machos a PC, porém, sem efeitos sobre as fêmeas.

Figura 15 – Expressão do gene TNF α no cerebelo no P33

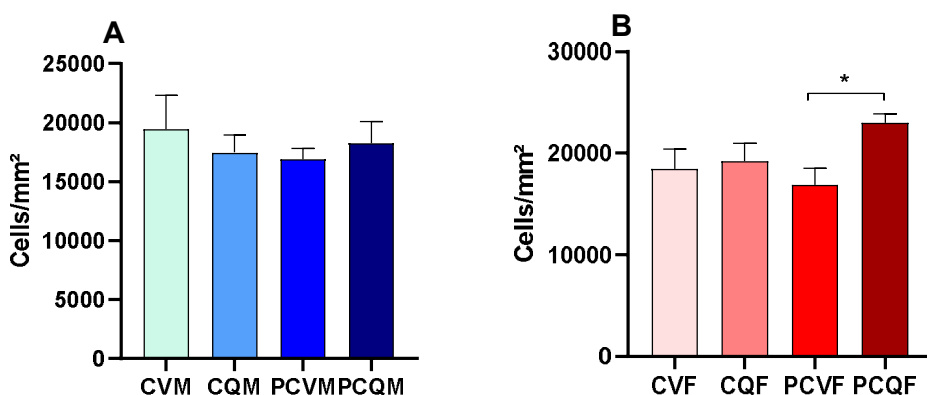


Fonte: a autora (2025). Expressão do gene TNF α no cerebelo no P33 nos machos (A) e fêmeas (B). (Controle – Veículo - Macho, n=5); CQM (Controle – Quercetina - Macho, n=5); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=5); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=5); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=5); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=5); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=5); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=5). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medida única seguido do post-hoc teste de Tukey: ****p<0.0001

5.8 IMUNO-HISTOQUÍMICA DE NEUN NO CEREBELO

A neurogênese foi mensurada através da densidade de neurônios maduros na camada granular do cerebelo. A análise de variância demonstrou que não houve interação entre os grupos de animais machos ($F(1, 16) = 0,7719$, $P=0,3926$). No entanto, foi observado interação entre as fêmeas ($F(1, 16) = 4,829$, $P=0,0441$). Na análise de comparações múltiplas, não foi observado efeito da PC ou da quercetina sobre a neurogênese nos grupos experimentais dos machos (Figura 16A). No entanto, nas fêmeas, apesar de não ter sido observado efeito do modelo de PC isoladamente, a quercetina demonstrou promover o aumento da produção de neurônios ao estimular a neurogênese em fêmeas PC em comparação a fêmeas PC não tratadas (teste post hoc de Tukey: $p<0,05$) (Figura 16B). Esses dados sugerem que os machos PC são menos sensíveis a exposição da quercetina, enquanto nas fêmeas PC a quercetina é capaz de estimular a neurogênese cerebelar.

Figura 16 – Densidade de neurônios maduros na camada granular do cerebelo



Fonte: a autora (2025). Análise da imuno-histoquímica de NeuN no cerebelo nos machos (A) e fêmeas (B). (Controle – Veículo - Macho, n=5); CQM (Controle –

Quercetina - Macho, n=5); PCVM (Paralisia Cerebral – Veículo - Macho, n=5); PCQM (Paralisia Cerebral – Quercetina - Macho, n=5); CVF (Controle – Veículo - Fêmea, n=5); CQF (Controle – Quercetina - Fêmea, n=5); PCVF (Paralisia Cerebral – Veículo - Fêmea, n=5); PCQF (Paralisia Cerebral – Quercetina - Fêmea, n=5). Os dados estão apresentados em média e erro padrão da média e foram analisados pelo teste ANOVA two-way medida única seguido do post-hoc teste de Tukey: $p < 0.05$

6 DISCUSSÃO

Até o presente momento, esse é o primeiro e único estudo que avaliou a PC experimental associada ao tratamento com quercetina em ratos machos e fêmeas. Os resultados provenientes desse estudo reforçam as alterações encontradas no modelo de PC em estudos anteriores. No entanto, os dados trazem novas descobertas ao avaliar o modelo de PC em fêmeas. Assim, a PC experimental foi capaz de promover restrição no ganho de peso corporal, do comprimento longitudinal, de cauda e do peso do músculo sóleo, atrasar a maturação de reflexos, acarretar déficit de força de preensão palmar e de coordenação, diminuir a atividade locomotora, alterar o padrão de marcha e estimular a neuroinflamação. Além disso, esse estudo foi capaz de trazer descobertas relacionadas ao tratamento neonatal com quercetina em animais PC. Interessantemente, os machos PC foram mais sensíveis ao tratamento com quercetina do que as fêmeas, apresentando maior ganho de peso corporal, diminuição no retardo no desaparecimento de reflexos primitivos, aumento da força de preensão palmar, melhor capacidade exploratória em campo aberto e menos tempo na fase de balanço durante a marcha, além de reduzir a expressão de TNF- α no cerebelo. Nas fêmeas, as descobertas encontradas trazem luz frente ao impacto da quercetina na PC ao demonstrar estimular o crescimento somático, favorecer a regularidade de passos durante a marcha e estimular a neurogênese no cerebelo.

O modelo de PC utilizado nesse estudo demonstrou impactar significativamente o crescimento somático dos animais ao reduzir o ganho de peso corporal, o comprimento longitudinal e de cauda em ambos os sexos, repercutindo sobre o fenótipo desenvolvido pelos animais. Corroborando esses achados, estudos anteriores também observaram esses efeitos em machos submetidos a PC experimental (DA SILVA SOUZA et al., 2023a; LACERDA et al., 2021; VISCO et al., 2023a). Embora as fêmeas também tenham apresentado resultados semelhantes aos machos sobre o modelo de PC utilizado, o mesmo não foi observado em um modelo de PC de hipóxia-isquemia (HI), onde o peso das fêmeas não foi afetado pela HI (DAHER et al., 2018). Além disso, contrariamente ao efeito protetor da quercetina observado sobre o crescimento somático ao P33 dos animais, estudos tem demonstrado que esse polifenol não parece impactar sobre a manutenção ou ganho de peso corporal em camundongos sedentários ou treinados ou em animais jovens e senescentes (CASUSO et al., 2014; QURESHI et al., 2011). No entanto, a quercetina na dieta parece prevenir a atrofia muscular por desuso em camundongos desnervados

(MUKAI et al., 2016). Esse efeito pode estar associado as possíveis propriedades anti-inflamatórias desse polifenol, ao ativar a fosforilação de Akt e aumentar a expressão de IGF-1, reguladores envolvidos na síntese muscular (MUKAI et al., 2016).

Dentre as características clínicas da PC que se encontram alteradas, está a presença de reflexos primitivos, cuja persistência leva a um comprometimento de função motora (SIGAFOOS et al., 2021; WAGH et al., 2019). No presente estudo, a anóxia perinatal associada a restrição de patas posteriores acarretou em atraso na maturação dos reflexos de aversão ao precipício, resposta ao susto, geotaxia negativa e queda livre de machos, sendo apenas os dois últimos alterados nas fêmeas. Estudos anteriores também identificaram anormalidades na maturação de reflexos de animais PC (FEATHER-SCHUSSLER; FERGUSON, 2016; PEREIRA et al., 2024; VISCO et al., 2022a). Nenhum estudo pré-clínico avaliou até então o efeito da quercetina sobre os reflexos primitivos. Em estudos que utilizaram o resveratrol ou kaempferol, compostos que também fazem parte da família dos polifenóis, foi observado o efeito protetor sobre machos PC em reflexos de geotaxia negativa e queda livre (PEREIRA et al., 2024; VISCO et al., 2022a), assim como observado no nosso estudo. Esses resultados sugerem que a quercetina é capaz de estimular o período de maturação normal dos reflexos, especialmente nos machos. Dessa forma, é possível que esses efeitos encontrados, tanto no nosso estudo como em estudos anteriores, estejam relacionados a janela terapêutica em que foi administrado o polifenol, e também ao papel antioxidante e antiinflamatório dos mesmos (PEREIRA et al., 2024; VISCO et al., 2022a).

O impacto do modelo de PC sobre o crescimento somático e reflexos primitivos revelam o desenvolvimento anormal dos animais após lesão, que repercute sobre a função motora alterada. Assim, foi observado déficit de força de preensão palmar em ambos os sexos nos animais PC. A redução da força de preensão das patas anteriores também foi observada em estudos prévios que utilizaram o presente modelo de PC em machos (DA SILVA SOUZA et al., 2023a; GOUVEIA et al., 2024; VISCO et al., 2023a). No entanto, em modelo de PC que utilizou LPS, foi observada a redução da força de preensão em fêmeas, mas não em machos (FRAGOPOULOU et al., 2019). A alteração de força muscular em crianças com PC é uma característica bastante comum e pode estar associada a perda de massa muscular combinada com controle neural alterado, o que ocasiona em declínio da função motora (STACKHOUSE; BINDER-MACLEOD; LEE, 2005; VERSCHUREN et al., 2018). Curiosamente, o

tratamento neonatal com quercetina parece desempenhar um papel importante na preservação da força de preensão em machos submetidos a PC experimental, sem efeitos sobre as fêmeas. A melhora da fraqueza muscular pode estar associada ao potencial efeito anti-inflamatório e antioxidante desse polifenol (BAZZUCCHI et al., 2020). Modelos de atrofia muscular induzida por câncer/quimioterapia tem demonstrado a atuação da quercetina ao assegurar a manutenção do desempenho da força muscular através de diversas vias de sinalização, como Akt/FoxO1/MuRF1/Atrogin-1, envolvidos na síntese de proteínas e da diminuição dos níveis de mediadores pró-inflamatórios, como TNF- α , IL-6, and IL-1 β nos músculos (HSU et al., 2023).

Crianças com PC tem um pobre controle motor, sendo comum nesses indivíduos alteração no equilíbrio e na coordenação. (SPITTLE; ORTON, 2014). A coordenação motora é uma habilidade dependente dos sistemas musculoesquelético, visual, vestibular e o processamento e integração das informações recebidas (KIMURA; YOKOZAWA; OZAKI, 2021). No nosso estudo, o modelo de PC demonstrou ter um impacto substancial sobre a coordenação motora dos animais de ambos os sexos. Corroborando tais achados, a performance no teste de rotarod demonstrou estar alterada em animais PC submetidos a anóxia perinatal e restrição de patas posteriores, comprometendo a coordenação dos machos (PEREIRA et al., 2021; VISCO et al., 2022a). Nós desconhecemos estudos que tenham avaliado coordenação motora de machos e fêmeas diante do modelo utilizado nesse estudo. No entanto, em um estudo que utilizou LPS como modelo de indução de PC, houve comprometimento da coordenação de ratos ao caminhar em uma escada horizontal tanto nos machos como nas fêmeas (FRAGOPOULOU et al., 2019). Embora existam dados na literatura sobre o uso de polifenóis, como o kaempferol, que teve impacto sobre a melhora da coordenação de animais PC (VISCO et al., 2022a), esses dados ainda são controversos devido aos resultados encontrados entre os estudos. Nos nossos resultados, a quercetina não promoveu benefícios sobre a PC em animais machos ou fêmeas, assim como observado no estudo de Pereira e colaboradores (2024), que utilizaram o resveratrol durante o período neonatal para analisar a coordenação em rotarod.

À medida que a maturação do SNC ocorre, os padrões motores de movimento tornam-se mais complexos e dependentes da combinação de diversos sistemas corporais (KIMURA; YOKOZAWA; OZAKI, 2021). Do ponto de vista

musculoesquelético, tanto a locomoção como o padrão de marcha são dependentes da combinação de fatores como crescimento somático, força muscular e coordenação (TATEM et al., 2014). No presente estudo, nós observamos déficit na atividade exploratória em campo aberto nos machos e fêmeas PC, com diminuição da distância percorrida e da velocidade média a partir do P14. Em revisão sistemática publicada por Pereira e colaboradores em 2021, foi observado que os déficits de locomoção e coordenação são potencializados pela combinação da lesão cerebral perinatal a restrição sensório-motora. A distância percorrida e a velocidade média são os parâmetros mais comuns documentados na literatura na avaliação da atividade locomotora espontânea (DA CONCEIÇÃO PEREIRA et al., 2021). Estudos anteriores têm demonstrado, assim como encontrado nos nossos resultados, que a distância percorrida e a velocidade média também se encontram diminuídas, afetando a capacidade exploratória dos animais (JUACY RODRIGUES COSTA-DE-SANTANA et al., 2023a; PEREIRA et al., 2021; VISCO et al., 2022). Interessantemente, tanto a distância percorrida como a velocidade média melhoraram no P28 nos machos PC tratados com quercetina. Assim, a quercetina administrada no período neonatal parece recuperar o desenvolvimento da locomoção no longo prazo em animais submetidos a PC. Estudos que utilizaram kaempferol ou resveratrol em modelo de PC também identificaram o papel protetor sobre tais parâmetros de locomoção de ratos machos no longo prazo (PEREIRA et al., 2024; VISCO et al., 2022b). Existe uma escassez de estudos que demonstrem os benefícios da quercetina sobre o desenvolvimento motor, assim, esses dados trazem implicações importantes para o tratamento de distúrbios do movimento relacionado a PC.

A PC também é capaz de mudar o padrão de marcha dos animais. Nos nossos resultados, a análise da marcha em CatWalk demonstrou alterações de parâmetros estáticos e dinâmicos, incluindo diminuição da área máxima de contato, da cadência, do índice de regularidade dos passos e da fase de balanço em ratos submetidos ao modelo de PC. Esses achados são similares aos encontrados em outros estudos, sugerindo o potencial efeito do modelo de PC ao reproduzir fenótipo padrão de alterações de locomoção (DA SILVA SOUZA et al., 2023b; JUACY RODRIGUES COSTA-DE-SANTANA et al., 2023b; VISCO et al., 2023a). É possível que as alterações de tônus muscular tanto em decorrência da lesão, como também da restrição das patas, bem como o atraso no crescimento e os déficits de força muscular e de coordenação possam ter contribuído para esses achados. Nosso estudo também

descobriu que a quercetina minimiza o impacto da PC sobre a cadência e fase de balanço nos machos e sobre a regularidade de passos nas fêmeas. É possível que esses resultados estejam associados ao efeito antioxidante e anti-inflamatório do uso do polifenol, assim como observado em um estudo anterior que utilizou o kaempferol (VISCO et al., 2023).

A redução de volumes de áreas cerebrais em crianças PC, incluindo redução significativa do volume do cerebelo, pode impactar sobre o controle de funções motoras (BERK et al., 2025; KUŁAK et al., 2016). O cerebelo é uma estrutura que está envolvida em atividades relacionadas a coordenação, equilíbrio, postura e aprendizagem (BECKINGHAUSEN; SILLITOE, 2019). É possível que as alterações motoras e comportamentais descritas até então estejam correlacionadas com os resultados encontrados nessa estrutura. Mudanças no circuito cortical e nas interações olivar-cerebelares, em decorrência de uma lesão cerebral nas primeiras 2 semanas de vida pós-natais, podem explicar mudanças comportamentais (GRAMSBERGEN, 2001). A atividade inflamatória foi analisada no cerebelo dos animais PC através da expressão de TNF- α , sendo observado uma hiper expressão desse marcador pró-inflamatório em animais machos submetidos ao modelo de PC, sem efeito sobre as fêmeas. Estudos prévios têm demonstrado que o cerebelo é uma estrutura comumente afetada pela PC experimental ao demonstrar atividade inflamatória exacerbada pelo aumento da densidade e de quantidade de micróglias ativadas nessa região (JUACY RODRIGUES COSTA-DE-SANTANA et al., 2023a; PEREIRA et al., 2024). Além disso, os machos são mais suscetíveis a atividade inflamatória através da resposta a lesão em um cérebro imaturo por ativação de citocinas inflamatórias, como Interleucina-1B (IL-1b) e o TNF- α (CHARRIAUT-MARLANGUE; BESSON; BAUD, 2018; KELLY et al., 2023). Confirmando o papel neuroprotetor da quercetina já observado em estudos anteriores (FIDELES et al., 2023b; LI et al., 2023; WANG et al., 2020b), o tratamento neonatal com quercetina foi capaz de diminuir a expressão de TNF- α em machos PC, reduzindo assim a atividade inflamatória cerebelar nesses animais.

Em uma recente revisão sistemática com meta-análise, publicada por Albuquerque e colaboradores em 2024, foi analisado os efeitos do modelo de PC que associa a anoxia perinatal e restrição de patas posteriores sobre parâmetros relacionados ao sistema nervoso. A atividade inflamatória exacerbada em diversas regiões cerebrais parece estar bem consolidada na literatura nesse modelo de PC (DE

ALBUQUERQUE et al., 2024). No entanto, há controvérsias quanto a atividade de células neurais sobre o modelo. No nosso estudo, não foi observado alterações decorrentes do modelo de PC sobre a densidade de neurônios maduros no cerebelo de machos ou fêmeas. Da mesma forma, estudos prévios também não demonstraram efeitos do modelo de PC sobre o número de neurônios ou sobre a densidade neuronal no córtex motor ou somatossensorial em ratos machos (DE ALBUQUERQUE et al., 2023; MARCUZZO et al., 2010b; SANCHES et al., 2021). No entanto, estudos utilizando o mesmo modelo demonstraram diminuição na marcação de BrdU+, um marcador de proliferação celular, no hipocampo (CALADO et al., 2023; VISCO et al., 2022). Contrariamente aos resultados observados sobre o modelo de PC, a quercetina foi capaz de estimular a densidade neuronal nas fêmeas PC, sem efeitos sobre os machos. Esse resultado é bastante promissor e original tendo em vista a escassez de resultados na PC. Em outras condições neurológicas, como na doença de Alzheimer e lesão medular, a quercetina aumentou o número de células-tronco/progenitoras neurais em proliferação no giro dentado e medula espinhal de ratos, possivelmente pela inibição da atividade Akt, mTOR e p70S6K (FIDELES et al., 2023c; KARIMIPOUR et al., 2019). Além disso, fêmeas que sofrem hipóxia-isquemia apresentam um nível mais alto de neurogênese do que machos (SMITH et al., 2014). Em contrapartida, estudos que utilizaram outros polifenóis não observaram efeitos decorrentes do tratamento neonatal sobre o modelo de PC, sugerindo que a falta de proliferação neuronal possa ocorrer em decorrência da resposta inflamatória precoce. (PEREIRA et al., 2024; VISCO et al., 2022).

7 CONCLUSÃO

O período neonatal é uma janela terapêutica importante por modular a plasticidade do desenvolvimento. Assim, o tratamento neonatal com quercetina foi capaz de melhorar parâmetros relacionados ao crescimento somático, reflexos, força de preensão, locomoção e neuroinflamação em machos submetidos a PC experimental. Nas fêmeas, o efeito benéfico da quercetina foi restrito ao crescimento somático, melhor coordenação de passos e aumento da densidade de neurônios. Dessa forma, os resultados provenientes desse estudo demonstraram que os machos são mais sensíveis ao modelo de PC do que as fêmeas. Além disso, essa alta sensibilidade pode estar associada a uma resposta terapêutica mais eficaz ao tratamento neonatal com quercetina. Assim, a quercetina tem potencial terapêutico para atuar modulando a função motora e a neuroproteção na PC, principalmente nos machos. Devido a inovação dos dados apresentados e a escassez na literatura associada a esse tema, sugere-se que mais estudos sejam desenvolvidos para a elucidação dos mecanismos envolvidos, especialmente para entender as respostas sexo-dependentes e, conseqüentemente, trazer novas perspectivas para o tratamento da PC.

REFERÊNCIAS

- ABD ELMAGID, D. S.; MAGDY, H. Evaluation of risk factors for cerebral palsy. **Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery**, v. 57, n. 1, p. 1–9, 2021a.
- AHMED, H. et al. In Silico and In Vivo: Evaluating the Therapeutic Potential of Kaempferol, Quercetin, and Catechin to Treat Chronic Epilepsy in a Rat Model. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, n. November, p. 1–16, 2021.
- AL MAMUN, A. et al. Inflammatory Responses are Sex Specific in Chronic Hypoxic–Ischemic Encephalopathy. **Cell Transplantation**, v. 27, n. 9, p. 1328–1339, 1 set. 2018.
- AMANZADEH, E. et al. Application of quercetin in neurological disorders: From nutrition to nanomedicine. **Reviews in the Neurosciences**, v. 30, n. 5, p. 555–572, 2019.
- ANAND DAVID, A. V.; ARULMOLI, R.; PARASURAMAN, S. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. **Pharmacognosy Reviews**, v. 10, n. 20, p. 84–89, 2016.
- ANDREANI, J. C. M.; GUMA, C. New animal model to mimic spastic cerebral palsy: The brain-damaged pig preparation. **Neuromodulation**, v. 11, n. 3, p. 196–201, 2008.
- BACK, S. A. et al. Selective vulnerability of late oligodendrocyte progenitors to hypoxia-ischemia. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 2, p. 455–463, 2002.
- BARET, P. et al. Dietary polyphenols preconditioning protects 3T3-L1 preadipocytes from mitochondrial alterations induced by oxidative stress. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 45, n. 1, p. 167–174, 2013.
- BARGER, J. L. et al. A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. **PLoS ONE**, v. 3, n. 6, 2008.
- BATESON, P. et al. Developmental plasticity and human health. **Nature**, v. 430, n. 6998, p. 419–421, 2004.
- BAX, M. et al. Proposed definition and classification of cerebral palsy, April 2005. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 47, n. 8, p. 571, 2005.
- BAYAZID, A. B.; LIM, B. O. Quercetin Is An Active Agent in Berries against Neurodegenerative Diseases Progression through Modulation of Nrf2/HO1. **Nutrients**, v. 14, n. 23, p. 1–13, 2022.

BAZZUCCHI, I. et al. Quercetin supplementation improves neuromuscular function recovery from muscle damage. **Nutrients**, v. 12, n. 9, p. 1–12, 1 set. 2020.

BECKINGHAUSEN, J.; SILLITOE, R. V. Insights into cerebellar development and connectivity. **Neuroscience Letters** Elsevier Ireland Ltd, , 1 jan. 2019.

BERK, E. et al. Correlation of Neuroanatomical Structures Related to Speech in Cerebral Palsy Patients Aged 0–17: A Retrospective MRI Study. **Children**, v. 12, n. 2, 1 fev. 2025.

BERTELLI, A. et al. Polyphenols: From Theory to Practice. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2595, 27 out. 2021.

BIANCO-MIOTTO, T. et al. Epigenetics and DOHaD: From basics to birth and beyond. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 8, n. 5, p. 513–519, 2017.

BLAIR, E. Epidemiology of the cerebral palsies. **Orthopedic Clinics of North America**, v. 41, n. 4, p. 441–455, 2010.

BODINE, S. C.; BAEHR, L. M. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 307, n. 6, p. E469-84, 2014.

BRANDENBURG, J. E. et al. Differences in lumbar motor neuron pruning in an animal model of early onset spasticity. **Journal of Neurophysiology**, v. 120, n. 2, p. 601–609, 2018.

CAI, Z. et al. Chronic ischemia preferentially causes white matter injury in the neonatal rat brain. **Brain Research**, v. 898, n. 1, p. 126–135, 2001.

CALADO, C. M. S. DA S. et al. Resveratrol Reduces Neuroinflammation and Hippocampal Microglia Activation and Protects Against Impairment of Memory and Anxiety-Like Behavior in Experimental Cerebral Palsy. **Molecular Neurobiology**, 2023.

CASUSO, R. A. et al. Quercetin effects on weight gain and caloric intake in exercised rats. **Biology of Sport**, v. 31, n. 1, p. 63–67, 2014.

CAVARSAN, C. F.; GORASSINI, M. A.; QUINLAN, K. A. Animal models of developmental motor disorders: Parallels to human motor dysfunction in cerebral palsy. **Journal of Neurophysiology**, v. 122, n. 3, p. 1238–1253, 2019.

CERGHET, M. et al. Sexual dimorphism in the white matter of rodents. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 286, n. 1–2, p. 76–80, nov. 2009.

CHAKRABORTY, J. et al. Quercetin improves behavioral deficiencies, restores astrocytes and microglia, and reduces serotonin metabolism in 3-nitropropionic acid-induced rat model of huntington's disease. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, v. 20, n. 1, p. 10–19, 2014.

CHARLES, A. L. et al. Polyphenols prevent ageing-related impairment in skeletal muscle mitochondrial function through decreased reactive oxygen species production. **Experimental Physiology**, v. 98, n. 2, p. 536–545, 2013.

CHARRIAUT-MARLANGUE, C.; BESSON, V. C.; BAUD, O. Sexually dimorphic outcomes after neonatal stroke and hypoxia-ischemia. **International Journal of Molecular Sciences** MDPI AG, , 1 jan. 2018.

CHEN, D. et al. Risk factors of cerebral palsy in children: a systematic review and meta-analysis. **Translational Pediatrics**, v. 11, n. 4, p. 556–564, 2022.

CHEN, H. et al. Establishing a reliable gait evaluation method for rodent studies. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 283, p. 92–100, 2017.

CHEYNIER, V.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; YOSHIDA, K. Polyphenols: From Plants to a Variety of Food and Nonfood Uses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 35, p. 7589–7594, 2015.

CLOWRY, G. J.; BASUODAN, R.; CHAN, F. What are the best animal models for testing early intervention in cerebral palsy? **Frontiers in Neurology** Frontiers Media S.A., , 2014.

CORDEIRO, C.N.; TSIMIS, M; BURD, I. Infections and Brains Development. **Pediatric emergency care**, v. 33, n. 12, p. 792–793, 2017.

COSTA, L. G. et al. Mechanisms of Neuroprotection by Quercetin: Counteracting Oxidative Stress and More. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

DA CONCEIÇÃO PEREIRA, S. et al. Locomotion is impacted differently according to the perinatal brain injury model: Meta-analysis of preclinical studies with implications for cerebral palsy. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 360, p. 109250, ago. 2021.

DA SILVA SOUZA, V. et al. Neonatal treatment with resveratrol decreases postural and strength impairments and improves mitochondrial function in the somatosensory cortex rats submitted to cerebral palsy. **Neurochemistry International**, v. 168, 1 set. 2023.

DABEEK, W. M.; MARRA, M. V. Dietary quercetin and kaempferol: Bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans. **Nutrients**, v. 11, n. 10, 2019.

DAHER, I. et al. Time- and sex-dependent efficacy of magnesium sulfate to prevent behavioral impairments and cerebral damage in a mouse model of cerebral palsy. **Neurobiology of Disease**, v. 120, p. 151–164, 1 dez. 2018.

DAJAS, F. et al. Neuroprotective Actions of Flavones and Flavonols: Mechanisms and Relationship to Flavonoid Structural Features. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 30–35, 2013.

- DAN, B. et al. Phenotypic plasticity and the perception-action-cognition-environment paradigm in neurodevelopmental genetic disorders. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 57, n. s2, p. 52–54, 2015.
- DE ALBUQUERQUE, G. L. et al. Neonatal treatment with fluoxetine alters locomotor activity and the cortical glial/neuron index in rats with cerebral palsy. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 101, n. 7, p. 327–339, 1 jul. 2023.
- DE ALBUQUERQUE, G. et al. Perinatal anoxia associated with sensorimotor restriction causes muscle atrophy and microglial activation: Meta-analysis of preclinical studies with implications for cerebral palsy. **Neuroscience**, v. 563, p. 93–109, dez. 2024.
- DEBELO, H.; LI, M.; FERRUZZI, M. G. Processing influences on food polyphenol profiles and biological activity. **Current Opinion in Food Science**, v. 32, p. 90–102, 2020.
- DEIRÓ, T. C. B. J. et al. Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats. **Physiology and Behavior**, v. 87, n. 2, p. 338–344, 2006.
- DENG, W.; JENSEN, F. E. Pathophysiology and plasticity in cerebral palsy. **Textbook of Neural Repair and Rehabilitation**, p. 211–217, 2014.
- DHIR, A. Natural polyphenols in preclinical models of epilepsy. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 6, p. 1268–1281, 2020.
- DU, G. et al. Quercetin protects rat cortical neurons against traumatic brain injury. **Molecular Medicine Reports**, v. 17, n. 6, p. 7859–7865, 2018.
- DURÁN-CARABALI, L. E. et al. Longer hypoxia–ischemia periods to neonatal rats causes motor impairments and muscular changes. **Neuroscience**, v. 340, p. 291–298, 2017.
- EL-HORANY, H. E. et al. Ameliorative Effect of Quercetin on Neurochemical and Behavioral Deficits in Rotenone Rat Model of Parkinson's Disease: Modulating Autophagy (Quercetin on Experimental Parkinson's Disease). **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 30, n. 7, p. 360–369, 2016.
- FAN, B. et al. Microenvironment Imbalance of Spinal Cord Injury. **Cell Transplantation**, v. 27, n. 6, p. 853–866, 2018.
- FAN, L. W. et al. Hypoxia-ischemia induced neurological dysfunction and brain injury in the neonatal rat. **Behavioural Brain Research**, v. 165, n. 1, p. 80–90, 2005.
- FEATHER-SCHUSSLER, D. N.; FERGUSON, T. S. A battery of motor tests in a neonatal mouse model of cerebral palsy. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2016, n. 117, 2016.

FIDELES, S. O. M. et al. Influence of the Neuroprotective Properties of Quercetin on Regeneration and Functional Recovery of the Nervous System. **Antioxidants**, v. 12, n. 1, p. 1–18, 2023.

FOLEY, T. D. Reductive Reprogramming: A Not-So-Radical Hypothesis of Neurodegeneration Linking Redox Perturbations to Neuroinflammation and Excitotoxicity. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 0, n. 0, p. 0, 2019.

FOX, W. M. Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. **Animal Behaviour**, v. 13, n. 2–3, p. 234–IN5, 1965.

FRAGOPOULOU, A. F. et al. Can Neonatal Systemic Inflammation and Hypoxia Yield a Cerebral Palsy-Like Phenotype in Periadolescent Mice? **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 10, p. 6883–6900, 2019.

FRATI, A. et al. Nutraceutical properties of chestnut flours: Beneficial effects on skeletal muscle atrophy. **Food and Function**, v. 5, n. 11, p. 2870–2882, 2014.

GIBSON, C. L.; ARNOTT, G. A.; CLOWRY, G. J. Plasticity in the rat spinal cord seen in response to lesions to the motor cortex during development but not to lesions in maturity. **Experimental Neurology**, v. 166, n. 2, p. 422–434, 2000.

GINSBERG, Y. et al. Maternal Inflammation, Fetal Brain Implications and Suggested Neuroprotection: A Summary of 10 Years of Research in Animal Models. **Rambam Maimonides Medical Journal**, v. 8, n. 2, p. e0028, 2017.

GLUCKMAN, P. D. et al. Metabolic plasticity during mammalian development is directionally dependent on early nutritional status. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 31, p. 12796–12800, 2007.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Living with the past: Evolution, development, and patterns of disease. **Science**, v. 305, n. 5691, p. 1733–1736, 2004.

GOUVEIA, H. J. C. B. et al. Maternal exposure to busulfan reduces the cell number in the somatosensory cortex associated with delayed somatic and reflex maturation in neonatal rats. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 103, n. November 2019, p. 101710, 2020.

GOUVEIA, H. J. C. B. et al. Creatine supplementation increases postnatal growth and strength and prevents overexpression of pro-inflammatory interleukin 6 in the hippocampus in an experimental model of cerebral palsy. **Nutritional Neuroscience**, v. 27, n. 5, p. 425–437, 3 maio 2024.

GRAHAM, D.; PAGET, S. P.; WIMALASUNDERA, N. Current thinking in the health care management of children with cerebral palsy. **Medical Journal of Australia**, v. 210, n. 3, p. 129–135, 2019.

GRAHAM, H. K. et al. Cerebral palsy. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, 2016.

GRAMSBERGEN, A. Normal and Abnormal Development of Motor Behavior: Lessons from Experiments in Rats. **Neural Plasticity**. [s.l.: s.n.].

GREWAL, A. K. et al. Mechanistic insights and perspectives involved in neuroprotective action of quercetin. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 140, n. March, p. 111729, 2021.

HASHEMIAN, M. et al. Neuroprotective effects of quercetin in alzheimer's disease. **Nutrients**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2019.

HIMMELMANN, K. **Epidemiology of cerebral palsy**. 1. ed. [s.l.: Elsevier B.V., 2013. v. 111

HIMMELMANN, K.; UVEBRANT, P. The panorama of cerebral palsy in Sweden. XI. Changing patterns in the birth-year period 2003-2006. **Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics**, v. 103, n. 6, p. 618–624, 2014.

HSU, T. H. et al. The combination of quercetin and leucine synergistically improves grip strength by attenuating muscle atrophy by multiple mechanisms in mice exposed to cisplatin. **PLoS ONE**, v. 18, n. 9 September, 1 set. 2023.

ISLAM, M. S. et al. Neuropharmacological Effects of Quercetin: A Literature-Based Review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, n. June, p. 1–16, 2021.

ISMAIL, F. Y.; FATEMI, A.; JOHNSTON, M. V. Cerebral plasticity: Windows of opportunity in the developing brain. **European Journal of Paediatric Neurology**, v. 21, n. 1, p. 23–48, 2017.

JARVIS, S. Case gender and severity in cerebral palsy varies with intrauterine growth. **Archives of Disease in Childhood**, v. 90, n. 5, p. 474–479, 1 maio 2005.

JIN, Z. et al. Quercetin improves blood-brain barrier dysfunction in rats with cerebral ischemia reperfusion via Wnt signaling pathway. **American Journal of Translational Research**, v. 11, n. 8, p. 4683–4695, 2019.

JOHNSTON, M. V; HAGBERG, H. Sex and the pathogenesis of cerebral palsy. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 49, n. 1, p. 74–78, 21 jan. 2007.

JUACY RODRIGUES COSTA-DE-SANTANA, B. et al. Motor deficits are associated with increased glial cell activation in the hypothalamus and cerebellum of young rats subjected to cerebral palsy. **Brain Research**, v. 1814, p. 148447, set. 2023.

KARIMIPOUR, M. et al. Quercetin promotes learning and memory performance concomitantly with neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the adult rat dentate gyrus. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 74, n. 1, p. 18–26, 26 maio 2019.

KELLY, L. A. et al. Sex differences in neonatal brain injury and inflammation. *Frontiers in Immunology*. **Frontiers Media SA**, 2023.

KHAN, H. et al. Dietary Flavonoids in the Management of Huntington's Disease: Mechanism and Clinical Perspective. **eFood**, v. 1, n. 1, p. 38–52, 2020.

KIM, M. et al. Neurobehavioral Assessments in a Mouse Model of Neonatal Hypoxic-ischemic Brain Injury. **Journal of visualized experiments : JoVE**, n. 129, p. 2–7, 2017.

KIMURA, A.; YOKOZAWA, T.; OZAKI, H. Clarifying the Biomechanical Concept of Coordination Through Comparison With Coordination in Motor Control. **Frontiers in Sports and Active Living**. Frontiers Media S.A., , 14 out. 2021.

KOMAN, L. A.; SMITH, B. P.; SHILT, J. S. Cerebral palsy. **Lancet**, v. 363, n. 9421, p. 1619–1631, 2004.

KORZENIEWSKI, S. J. et al. A systematic review of neuroimaging for cerebral palsy. **Journal of Child Neurology**, v. 23, n. 2, p. 216–227, 2008.

KUBOTA, T. et al. Understanding the epigenetics of neurodevelopmental disorders and DOHaD. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 6, n. 2, p. 96–104, 2015.

KUŁAK, P.; MACIORKOWSKA, E.; GOŚCIK, E. Volumetric Magnetic Resonance Imaging Study of Brain and Cerebellum in Children with Cerebral Palsy. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1–9, 2016.

LACERDA, D. C. et al. Perinatal undernutrition associated to experimental model of cerebral palsy increases adverse effects on chewing in young rats. **Physiology and Behavior**, v. 173, p. 69–78, maio 2017.

LACERDA, D. C. et al. Treatment with the essential amino acid L-tryptophan reduces masticatory impairments in experimental cerebral palsy. **Nutritional Neuroscience**, v. 24, n. 12, p. 927–939, dez. 2021.

LAFERLA, F. M.; GREEN, K. N.; ODDO, S. Intracellular amyloid- β in Alzheimer's disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 7, p. 499–509, 2007.

LAFUENTE, E.; BELDADE, P. Genomics of developmental plasticity in animals. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. JUL, p. 1–18, 2019.

LE, K. et al. Quercetin alleviates neonatal hypoxic-ischemic brain injury by inhibiting microglia-derived oxidative stress and TLR4-mediated inflammation. **Inflammation Research**, v. 69, n. 12, p. 1201–1213, 2020.

LE, N. H. et al. Quercetin protects against obesity-induced skeletal muscle inflammation and atrophy. **Mediators of Inflammation**, v. 2014, 2014.

LENZ, K. M.; MCCARTHY, M. M. A Starring Role for Microglia in Brain Sex Differences. **The Neuroscientist**, v. 21, n. 3, p. 306–321, 28 jun. 2015.

LESJAK, M. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. **Journal of Functional Foods**, v. 40, n. October 2017, p. 68–75, 2018.

LI, L. et al. Quercetin improves cerebral ischemia/reperfusion injury by promoting microglia/macrophages M2 polarization via regulating PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 168, p. 115653, dez. 2023.

LI, Y. et al. Activation of Nrf2 signaling by sitagliptin and quercetin combination against β -amyloid induced Alzheimer's disease in rats. **Drug Development Research**, v. 80, n. 6, p. 837–845, 2019.

LIN, Z. H. et al. Quercetin Protects against MPP+/MPTP-Induced Dopaminergic Neuron Death in Parkinson's Disease by Inhibiting Ferroptosis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, 2022.

LV, C. et al. Effect of quercetin in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine- induced mouse model of Parkinson's disease. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

MADIHA, S. et al. Quercetin exhibits potent antioxidant activity, restores motor and non-motor deficits induced by rotenone toxicity. **PLoS ONE**, v. 16, n. 11 November, p. 1–26, 2021.

MALAGUTI, M.; ANGELONI, C.; HRELIA, S. Polyphenols in Exercise Performance and Prevention of Exercise-Induced Muscle Damage. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, p. 1–9, 2013.

MALLARD, C.; VEXLER, Z. S. Modeling Ischemia in the Immature Brain. **Stroke**, v. 46, n. 10, p. 3006–3011, out. 2015.

MANACH, C. et al. Polyphenols: Food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727–747, 2004.

MAQBOOL, M.; ZEHRABI, M. Neuroprotective Role of Polyphenols in Treatment of Neurological Disorders: A Review. **Interventional Pain Medicine and Neuromodulation**, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2021.

MARCUZZO, S. et al. Different effects of anoxia and hind-limb immobilization on sensorimotor development and cell numbers in the somatosensory cortex in rats. **Brain and Development**, v. 32, n. 4, p. 323–331, 2010.

MARIA, S. A. et al. Triple-Transgenic Alzheimer's Disease Model Mice. **Science of Aging Knowledge Environment**, v. 2003, n. 32, p. 134–145, 2003.

MARLOW, N. et al. Neurologic and Developmental Disability at Six Years of Age after Extremely Preterm Birth. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 1, p. 9–19, 6 jan. 2005.

MARRET, S.; VANHULLE, C.; LAQUERRIERE, A. Pathophysiology of cerebral palsy. Em: **Handbook of Clinical Neurology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2013. v. 111p. 169–176.

MCINTYRE, S. et al. Global prevalence of cerebral palsy: A systematic analysis. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 64, n. 12, p. 1494–1506, 2022.

METZ, C. et al. Clinical Phenotype of Cerebral Palsy Depends on the Cause: Is It Really Cerebral Palsy? A Retrospective Study. **Journal of Child Neurology**, v. 37, n. 2, p. 112–118, 2022.

MUKAI, R. et al. Preventive effect of dietary quercetin on disuse muscle atrophy by targeting mitochondria in denervated mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 31, p. 67–76, 2016.

NAGHIZADEH, M. et al. Effects of quercetin on spatial memory, hippocampal antioxidant defense and BDNF concentration in a rat model of Parkinson's disease: An electrophysiological study. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 11, n. 6, p. 599–609, 2021.

NAKAZATO, K.; OCHI, E.; WAGA, T. Dietary apple polyphenols have preventive effects against lengthening contraction-induced muscle injuries. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 54, n. 3, p. 364–372, 2010.

NIKAWA, T.; ULLA, A.; SAKAKIBARA, I. Polyphenols and Their Effects on Muscle Atrophy and Muscle Health. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 4887, 12 ago. 2021.

NORFLUS, F.; GUTEKUNST, C. A. Animal Models and Treatments for Cerebral Palsy. **JSM Spine**, v. 1, n. 1, p. 1008, 2016.

ODDING, E.; ROEBROECK, M. E.; STAM, H. J. The epidemiology of cerebral palsy: Incidence, impairments and risk factors. **Disability and Rehabilitation**, v. 28, n. 4, p. 183–191, 2006.

OSKOUI, M. et al. An update on the prevalence of cerebral palsy: A systematic review and meta-analysis. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 55, n. 6, p. 509–519, 2013.

OSLER, W. **The cerebral palsies of children**. [s.l.] London : H.K. Lewis, 1889.

PAKULA, A. T.; VAN NAARDEN BRAUN, K.; YEARGIN-ALLSOPP, M. Cerebral Palsy: Classification and Epidemiology. **Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America**, v. 20, n. 3, p. 425–452, 2009.

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 5, p. 270–278, 2009.

PAPAVASILIOU, A. et al. Editorial: Cerebral Palsy: New Developments. **Frontiers in Neurology**, v. 12, n. August, p. 10–13, 2021.

PARK, D. J. et al. Quercetin alleviates the injury-induced decrease of protein phosphatase 2A subunit B in cerebral ischemic animal model and glutamate-exposed HT22 cells. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 81, n. 7, p. 1047–1054, 2019.

PARK, D. J.; SHAH, F. A.; KOH, P. O. Quercetin attenuates neuronal cells damage in a middle cerebral artery occlusion animal model. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 80, n. 4, p. 676–683, 2018.

- PATIL, C. S. et al. Protective effect of flavonoids against aging- and lipopolysaccharide-induced cognitive impairment in mice. **Pharmacology**, v. 69, n. 2, p. 59–67, 2003.
- PAULA, P. C. et al. Preventive effect of quercetin in a triple transgenic Alzheimer's disease mice model. **Molecules**, v. 24, n. 12, p. 1–10, 2019.
- PEIXOTO, M. V. DA S. et al. Características epidemiológicas da paralisia cerebral em crianças e adolescentes em uma capital do nordeste brasileiro. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 27, n. 4, p. 405–412, 2020.
- PEREIRA, S. DA C. et al. Fibroblast growth factor 19 as a countermeasure to muscle and locomotion dysfunctions in experimental cerebral palsy. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 12, n. 6, p. 2122–2133, 26 dez. 2021.
- PEREIRA, S. DA C. et al. Neonatal resveratrol treatment in cerebral palsy model recovers neurodevelopment impairments by restoring the skeletal muscle morphology and decreases microglial activation in the cerebellum. **Experimental Neurology**, v. 378, p. 114835, ago. 2024.
- QURESHI, A. A. et al. Inhibition of nitric oxide in LPS-stimulated macrophages of young and senescent mice by δ -tocotrienol and quercetin. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.lipidworld.com/content/10/1/239>>.
- RASOULI, H.; FARZAEI, M. H.; KHODARAHMI, R. Polyphenols and their benefits: A review. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. August, p. 1700–1741, 2017.
- RAUF, A. et al. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 11, p. 2109–2130, 2018.
- REDDIHOUGH, D. S.; COLLINS, K. J. The epidemiology and causes of cerebral palsy. **Australian Journal of Physiotherapy**, v. 49, n. 1, p. 7–12, 2003.
- REISS, A. L. et al. Sex differences in cerebral volumes of 8-year-olds born preterm. **The Journal of Pediatrics**, v. 145, n. 2, p. 242–249, ago. 2004.
- ROBERSON, R. et al. Postnatal inflammatory rat model for cerebral palsy: Too different from humans. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 195, n. 4, p. 1038–1044, 2006.
- ROSENBAUM, P. et al. A report: the definition and classification of cerebral palsy. **Developmental medicine and child neurology. Supplement**, v. 109, n. April, p. 8–14, 2007.
- ROSENKRANTZ, T. S.; HUSSAIN, Z.; FITCH, R. H. Sex differences in brain injury and repair in newborn infants: Clinical evidence and biological mechanisms. **Frontiers in Pediatrics** Frontiers Media S.A., 2019.
- ROSENTHAL, N.; BROWN, S. The mouse ascending: Perspectives for human-disease models. **Nature Cell Biology**, v. 9, n. 9, p. 993–999, 2007.

RUMAJOGEE, P. et al. Rodent hypoxia-ischemia models for cerebral palsy research: A systematic review. **Frontiers in Neurology**, v. 7, n. APR, 2016.

SADOWSKA, M.; SARECKA-HUJAR, B.; KOPYTA, I. Cerebral palsy: Current opinions on definition, epidemiology, risk factors, classification and treatment options. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 16, p. 1505–1518, 2020.

SALEHI, B. et al. Therapeutic Potential of Quercetin: New Insights and Perspectives for Human Health. **ACS Omega**, v. 5, n. 20, p. 11849–11872, 2020.

SALUCCI, S.; FALCIERI, E. Polyphenols and their potential role in preventing skeletal muscle atrophy. **Nutrition Research**, v. 74, p. 10–22, 2020.

SANCHES, E. F. et al. Experimental cerebral palsy causes microstructural brain damage in areas associated to motor deficits but no spatial memory impairments in the developing rat. **Brain Research**, v. 1761, 15 jun. 2021.

SANDHIR, R.; MEHROTRA, A. Quercetin supplementation is effective in improving mitochondrial dysfunctions induced by 3-nitropropionic acid: Implications in Huntington's disease. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1832, n. 3, p. 421–430, 2013.

SANGER, T. D. et al. Hypertonia in Childhood. **Pediatrics**, v. 111, n. 1, p. 89–97, 2003.

SCHMID, M.; GUILLAUME, F. The role of phenotypic plasticity on population differentiation. **Heredity**, v. 119, n. 4, p. 214–225, 2017.

SELSBY, J. T. et al. Oral quercetin administration transiently protects respiratory function in dystrophin-deficient mice. **Journal of Physiology**, v. 594, n. 20, p. 6037–6053, 2016.

SERWER, P. Hypothesis for the cause and therapy of neurodegenerative diseases. **Medical Hypotheses**, v. 110, n. July 2017, p. 60–63, 2018.

SHARMA, D. R. et al. Quercetin protects against aluminium induced oxidative stress and promotes mitochondrial biogenesis via activation of the PGC-1 α signaling pathway. **NeuroToxicology**, v. 51, p. 116–137, 2015.

SHARMA, J.; JOHNSTON, M. V; HOSSAIN, M. A. Sex differences in mitochondrial biogenesis determine neuronal death and survival in response to oxygen glucose deprivation and reoxygenation. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2202/15/9>>.

SHELDON, R. ANN; CHUAI, JING; FERRIERO, M. DONNA. A rat model for Hypoxic-ischemic brain damage in very premature infants. **Biology of the Neonate**, v. 69, p. 327–341, 1996.

SHEVELL, M. Cerebral palsy to cerebral palsy spectrum disorder. **Neurology**, v. 92, n. 5, p. 233–235, 2019.

SIGAFOOS, J. et al. Persistence of Primitive Reflexes in Developmental Disorders. **Current Developmental Disorders Reports** Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, , 1 jun. 2021.

SILVA, K. O. G. DA et al. Effects of maternal low-protein diet on parameters of locomotor activity in a rat model of cerebral palsy. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 52, p. 38–45, 2016.

SMART, J. L.; DOBBING, J. Vulnerability of developing brain. VI. relative effects of foetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain Research**, v. 33, n. 2, p. 303–314, 1971.

SOMMER, R. J. Phenotypic plasticity: From theory and genetics to current and future challenges. **Genetics**, v. 215, n. 1, p. 1–13, 2020.

SPAULDING, H. R. et al. Long-Term quercetin dietary enrichment partially protects dystrophic skeletal muscle. **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, p. 1–18, 2016.

SPENCER, J. P. E. et al. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: Strengths, limitations and application in nutrition research. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 12–22, 2008.

SPENCER, J. P. E. et al. Neuroinflammation: Modulation by flavonoids and mechanisms of action. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 33, n. 1, p. 83–97, 2012.

SPITTLE, A. J.; ORTON, J. Cerebral palsy and developmental coordination disorder in children born preterm. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine** W.B. Saunders Ltd, , 2014.

STACKHOUSE, S. K.; BINDER-MACLEOD, S. A.; LEE, S. C. K. Voluntary muscle activation, contractile properties, and fatigability in children with and without cerebral palsy. **Muscle & Nerve**, v. 31, n. 5, p. 594–601, 18 maio 2005.

STEVANOVIC, T.; DIOUF, P.; GARCIA-PEREZ, M. Bioactive Polyphenols from Healthy Diets and Forest Biomass. **Current Nutrition & Food Science**, v. 5, n. 4, p. 264–295, 2009.

STIGGER, F. et al. Effects of fetal exposure to lipopolysaccharide, perinatal anoxia and sensorimotor restriction on motor skills and musculoskeletal tissue: Implications for an animal model of cerebral palsy. **Experimental Neurology**, v. 228, n. 2, p. 183–191, 2011.

STRATA, F. et al. Effects of sensorimotor restriction and anoxia on gait and motor cortex organization: Implications for a rodent model of cerebral palsy. **Neuroscience**, v. 129, n. 1, p. 141–156, 2004.

SUZUKI, K. The developing world of DOHaD. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 9, n. 3, p. 266–269, 2018.

TATEM, K. S. et al. Behavioral and Locomotor Measurements Using an Open Field Activity Monitoring System for Skeletal Muscle Diseases. **Journal of Visualized Experiments**, n. 91, 29 set. 2014.

VARGAS-RESTREPO, F.; SABOGAL-GUÁQUETA, A. M.; CARDONA-GÓMEZ, G. P. Quercetin ameliorates inflammation in CA1 hippocampal region in aged triple transgenic Alzheimer's disease mice model. **Biomedica**, v. 38, p. 1–23, 2018.

VASILEIADIS, G. T. et al. Females Follow a More “Compact” Early Human Brain Development Model Than Males. A Case-Control Study of Preterm Neonates. **Pediatric Research**, v. 66, n. 5, p. 551–554, nov. 2009.

VAUZOUR, D. Dietary polyphenols as modulators of brain functions: Biological actions and molecular mechanisms underpinning their beneficial effects. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, 2012.

VENKATESWARAN, S.; SHEVELL, M. I. Comorbidities and clinical determinants of outcome in children with spastic quadriplegic cerebral palsy. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 50, n. 3, p. 216–222, 2008.

VERSCHUREN, O. et al. Determinants of muscle preservation in individuals with cerebral palsy across the lifespan: a narrative review of the literature. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**Wiley Blackwell, , 1 jun. 2018.

VISCO, D. B. et al. Neonatal kaempferol exposure attenuates impact of cerebral palsy model on neuromotor development, cell proliferation, microglia activation, and antioxidant enzyme expression in the hippocampus of rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 27, n. 1, p. 20–41, 2022.

VISCO, D. B. et al. Neonatal kaempferol exposure attenuates gait and strength deficits and prevents altered muscle phenotype in a rat model of cerebral palsy. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 83, n. 1, p. 80–97, 1 fev. 2023.

WAGH, S. C.; MALAWADE, M. R.; VARDHARAJULU, G. Effect of Specific Reflex Integration Approach on Primitive Reflexes in Spastic Cerebral Palsy Children. **International Journal of Health Sciences & Research** (www.ijhsr.org), v. 9, n. 6, p. 87, 2019.

WANG, D. M. et al. Effects of long-term treatment with quercetin on cognition and mitochondrial function in a mouse model of Alzheimer's disease. **Neurochemical Research**, v. 39, n. 8, p. 1533–1543, 2014.

WANG, Q.; LIU, C. Protective effects of quercetin against brain injury in a rat model of lipopolysaccharide-induced fetal brain injury. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 71, p. 175–180, 2018.

WANG, Y. Y. et al. Quercetin protects against cerebral ischemia/reperfusion and oxygen glucose deprivation/reoxygenation neurotoxicity. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 83, p. 108436, 2020a.

WEST-EBERHARD, M. J. Developmental plasticity and the origin of species differences. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. SUPPL. 1, p. 6543–6549, 2005.

WRÓBEL-BIEDRAWA, D. et al. A Flavonoid on the Brain: Quercetin as a Potential Therapeutic Agent in Central Nervous System Disorders. **Life**, v. 12, n. 4, 2022.

WU, D. et al. Ameliorating effect of quercetin on epilepsy by inhibition of inflammation in glial cells. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 20, n. 2, p. 854–859, 2020.

YANG, R. et al. Quercetin attenuates ischemia reperfusion injury by protecting the blood-brain barrier through Sirt1 in MCAO rats. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 24, n. 3, p. 278–289, 2022.

YELLOWHAIR, T. R. et al. Preclinical chorioamnionitis dysregulates CXCL1/CXCR2 signaling throughout the placental-fetal-brain axis. **Experimental Neurology**, v. 301, n. June 2017, p. 110–119, 2018.

YOUDIM, K. A.; JOSEPH, J. A. A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: A multiplicity of effects. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 6, p. 583–594, 2001.

ZAGHLOUL, N.; PATEL, H.; AHMED, M. N. A model of Periventricular Leukomalacia (PVL) in neonate mice with histopathological and neurodevelopmental outcomes mimicking human PVL in neonates. **PLOS ONE**, v. 12, n. 4, p. e0175438, 13 abr. 2017.

ZANON, M. A. et al. Prevalence and Characterization of the Cerebral Palsy in Maceió, a Northeast City of Brazil. **World Journal of Neuroscience**, v. 08, n. 03, p. 333–341, 2018.

ZHANG, J. Y.; OSKOU, M.; SHEVELL, M. A population-based study of communication impairment in cerebral palsy. **Journal of Child Neurology**, v. 30, n. 3, p. 277–284, 2015.

ZHANG, Y. et al. Quercetin Promotes Neuronal and Behavioral Recovery by Suppressing Inflammatory Response and Apoptosis in a Rat Model of Intracerebral Hemorrhage. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 1, p. 195–203, 2015.

APÊNDICE A – FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DE CRESCIMENTO SOMÁTICO

FICHA DE AVALIAÇÃO

NINHADA Nº: _____

GRUPO DE ESTUDO: _____

MARCAÇÃO DO FILHOTE: _____ SEXO: Fêmea () Macho ()

Dias	P0	P8	P14	P17	P21	P28	P33
	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____
Peso corporal							
Comprimento naso-anal							
Comprimento de cauda							

APÊNDICE B – FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DE ONTOGÊNESE REFLEXA

[illegible]

APÊNDICE C - NEONATAL QUERCETIN TREATMENT DIFFERENTIALLY ATTENUATES MOTOR IMPAIRMENTS AND CEREBELLAR DAMAGE IN MALE AND FEMALE RATS SUBMITTED TO EXPERIMENTAL CEREBRAL PALSY

Yahoo Mail - LFS-D-25-02054 - Confirming your submission to Life Sciences

16/03/2025, 20:07

LFS-D-25-02054 - Confirming your submission to Life Sciences

De: Life Sciences (em@editorialmanager.com)

Para: aeltoscano@yahoo.com.br

Data: domingo, 16 de março de 2025 às 20:07 BRT

Dear Professor Toscano,

Your submission entitled "Neonatal quercetin treatment differentially attenuates motor impairments and cerebellar damage in male and female rats submitted to experimental cerebral palsy" has been received by Life Sciences

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Managers as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/lfs/>.

It has been assigned the following manuscript number: **LFS-D-25-02054**.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Life Sciences

At Elsevier, we want to help all our authors to stay safe when publishing. Please be aware of fraudulent messages requesting money in return for the publication of your paper. If you are publishing open access with Elsevier, bear in mind that we will never request payment before the paper has been accepted. We have prepared some guidelines (<https://www.elsevier.com/connect/authors-update/seven-top-tips-on-stopping-apc-scams>) that you may find helpful, including a short video on Identifying fake acceptance letters (<https://www.youtube.com/watch?v=o5l8thD9XtE>). Please remember that you can contact Elsevier's Researcher Support team (<https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>) at any time if you have questions about your manuscript, and you can log into Editorial Manager to check the status of your manuscript (https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/29155/c/10530/supporthub/publishing/kw/status/).
#AU_LFS#

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, then you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. For more details see the journal guide for authors.

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. ([Remove my information/details](#)). Please contact the publication office if you have any questions.

APÊNDICE D - PERINATAL ANOXIA ASSOCIATED WITH SENSORIMOTOR RESTRICTION CAUSES MUSCLE ATROPHY AND MICROGLIAL ACTIVATION: META-ANALYSIS OF PRECLINICAL STUDIES WITH IMPLICATIONS FOR CEREBRAL PALSY

Neuroscience 563 (2024) 93–109

A3



Contents lists available at ScienceDirect

Neuroscience

journal homepage: www.elsevier.com/locate/nsc

Review

Perinatal anoxia associated with sensorimotor restriction causes muscle atrophy and microglial activation: Meta-analysis of preclinical studies with implications for cerebral palsy

Glayciele Leandro de Albuquerque^{a,b}, Vanessa da Silva Souza^{a,b},
Caio Matheus Santos da Silva Calado^{a,b}, Marcos Antônio da Silva Araújo^{a,b},
Lucas Rafael da Silva Fraga^b, Diego Bulcão Visco^{b,c}, Raul Manhães-de-Castro^b,
Ana Elisa Toscano^{b,d,*}

^a Graduate Program in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Center for Medical Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife-Pernambuco 50670-901, Brazil

^b Studies in Nutrition and Phenotypic Plasticity Unit, Center for Health Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife-Pernambuco 50670-420, Brazil

^c Laboratory of Neurofunctional, Department of Biological Sciences and Health, Federal University of Amapá, Macapá, Amapá, Brazil

^d Nursing Unit, Vitoria Academic Center, Federal University of Pernambuco, Vitoria de Santo Antão, Pernambuco 55608-680, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Cerebral palsy
Animal models
Perinatal anoxia
Sensorimotor restriction
Meta-analysis

ABSTRACT

Several experimental cerebral palsy models have been created to investigate cellular and molecular mechanisms involved in this condition and develop new therapeutic strategies. The model that has come closest to a motor phenotype similar to cerebral palsy is the one that combines perinatal anoxia with hindlimb sensorimotor restriction, as it induces visible changes at the peripheral and central levels. This systematic review with meta-analysis presents the impact of the cerebral palsy model that associates perinatal anoxia with hindlimb sensorimotor restriction on the nervous, muscular and skeletal systems. Studies with perinatal anoxia associated with sensorimotor restriction and which evaluated outcomes related to skeletal, muscle, or nervous tissue were recovered from the databases: Embase, PubMed, Scopus, and Web of Science. The methodological and quantitative assessment was performed after eligibility screening (PROSPERO - ID: CRD42023477770). After screening of 4,641 articles, 21 studies with a moderate quality of evidence were chosen to be included in this review and 11 articles were included in the meta-analysis. The results of the meta-analysis reported a significant reduction in the media area of the soleus muscle fibers, increased number of glia cells and glia/neuron index in the somatosensory cortex, increased microglial activation in the hippocampus, and no changes in the corpus callosum thickness or neuron cells. The combination of perinatal anoxia and sensorimotor restriction entails muscle deficits and excessive activation of glial cells in brain areas. These results contribute to a methodological refinement of cerebral palsy models and favor new studies proposed for methodological elucidation in animal experimentation.

Abbreviations: AKT, serine/threonine kinase; BW, body weight; BrdU, bromodeoxyuridine; CAT, catalase; CP, cerebral palsy; ChAT, choline O-acetyltransferase; CTGF, connective tissue growth factor; DG, dentate gyrus; Dmd, Dystrophin; EDL, extensor digitorum longus; GFAP, glial fibrillary acidic protein; GSH, glutathione; GSSH, glutathione persulfide; GST, glutathione-S transferase; IBA1, ionized calcium binding adaptor protein 1; Igfbp5, insulin-like growth factor-binding protein 5; IL1β, interleukin 1β; IL-6, interleukin-6; IRS1, insulin receptor substrate 1; Kcnn3, potassium calcium-activated channel subfamily N member 3; LPS, lipopolysaccharide; MW, mass weight; Murf1, RING-finger protein-1; Musk, muscle associated receptor tyrosine kinase; Myf5, myogenic factor 5; NeuN, neuronal nuclei; NMJ, neuromuscular junction; Pak1, phosphorylated AKT; Pax7, paired Box 7; PGC1α, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator; PND, postnatal day; SDHB, succinate dehydrogenase complex iron sulfur subunit B; SOD, superoxide dismutase; TFAM, transcription factor A, mitochondrial; TNF-α, tumor necrosis factor alpha.

* Corresponding author.

E-mail address: aeltoscano@yahoo.com.br (A. Elisa Toscano).

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2024.10.056>

Received 1 August 2024; Accepted 30 October 2024

Available online 6 November 2024

0306-4522/© 2024 International Brain Research Organization (IBRO). Published by Elsevier Inc. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

APÊNDICE E - NEONATAL TREATMENT WITH FLUOXETINE ALTERS LOCOMOTOR ACTIVITY AND THE CORTICAL GLIAL/NEURON INDEX IN RATS WITH CEREBRAL PALSY



B1

Article

Neonatal treatment with fluoxetine alters locomotor activity and the cortical glial/neuron index in rats with cerebral palsy

Gláyciele Leandro de Albuquerque^{a,b}, Raul Manhães-de-Castro^a, Diego Cabral Lacerda^{a,c}, Caio Matheus Santos da Silva Calado^a, André Teracio Bezerra de Moraes^a, Diego Bulcão Visco^{a,c}, Francisco Machado Manhães-de-Castro^a, and Ana Elisa Toscano^{a,d}

^aStudies in Nutrition and Phenotypic Plasticity Unit, Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil; ^bPost Graduate Program in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil; ^cPost Graduate Program in Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil; ^dDepartment of Nursing, CAV, Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil

Corresponding author: Ana Elisa Toscano (email: aeltoscano@yahoo.com.br)

Abstract

Cerebral palsy (CP) is characterized by motor disorders, including deficits in locomotor activity, coordination, and balance. Selective serotonin reuptake inhibitors have been shown to play an important role in brain plasticity. This study investigates the effect of neonatal treatment using fluoxetine on locomotor activity and histomorphometric parameters of the primary somatosensory cortex (S1) in rats submitted to an experimental model of CP. CP was found to reduce bodyweight and locomotion parameters and also to increase the glia/neuron index in the S1. Administration of fluoxetine 10 mg/kg reduced bodyweight, impaired locomotor activity parameters, and increased the number of glial cells and the glia/neuron ratio in the S1 in rats with CP. However, treatment with fluoxetine 5 mg/kg was not found to be associated with adverse effects on locomotor activity and seems to improve histomorphometric parameters by way of minor changes in the S1 in animals with CP. These results thus indicate that experimental CP, in combination with the use of a high dose of fluoxetine (10 mg/kg), impairs locomotor and histomorphometric parameters in the S1, while treatment with a low dose of fluoxetine (5 mg/kg) averts the negative outcomes associated with a high dose of fluoxetine in relation to these parameters but produces no protective effect.

Key words: cerebral palsy, locomotor activity, neurons, neuroglia, fluoxetine

1. Introduction

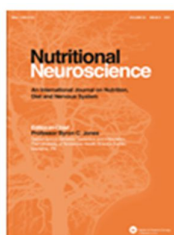
Cerebral palsy (CP) is considered a nervous disorder that is caused by an injury that manifests itself during brain development (Kriger 2020). The injury caused by CP results in neuron loss due to apoptosis and reduced dendritic arborization (Rocha-Ferreira and Hristova 2016). Along with damage to neurons, CP gives rise to an altered neurogenesis response after injury (Visco et al. 2021). Subsequent activation of microglia and oligodendrocytes leads to hypomyelination and neuron loss in important parts of the nervous system (Kannan et al. 2011). Experimentally induced CP causes damage to the nervous system that has a negative impact on the development of locomotor activity (Stigger et al. 2011; Silva et al. 2016) with long-term neuropathological changes (McAdams et al. 2017) and altered organization of the map of the primary somatosensory cortex (S1) (Coq et al. 2008).

The development of the serotonergic system has been shown to be impaired in the CP (Reinebrant et al. 2012). Hypoxia-ischemia-induced CP activates microglia, leading to excitotoxic lesions (Reinebrant et al. 2012). Damage to the

serotonergic system in the S1 thus seems to play an important role in the appearance of sensorimotor deficits typical of CP (Williams et al. 2017). Experimentally induced CP impairs the development of locomotor activity as a consequence of damage to the nervous system (Silva et al. 2016; Buratti et al. 2019). In addition, the manipulation of the serotonergic system seems to contribute to the development of parameters that reflect the integrity of the nervous system and protect neural cells from oxidative stress during brain development (Silva et al. 2014). Studies indicate that selective serotonin reuptake inhibitors may increase the production of brain-derived neurotrophic factor, which plays an important role in survival, neuron remodeling, and differentiation (De Foubert et al. 2004; Karpova et al. 2011; Liu et al. 2014). Selective serotonin reuptake inhibitors can regenerate hippocampal neurons, thereby affecting recovery of neurological function (Lee et al. 2004; Kubera et al. 2009; Li et al. 2009).

Clinical and experimental evidence has shown that selective serotonin reuptake inhibitors affect the neuromotor systems, with effects on the structure, function, and metabolism

APÊNDICE F - EARLY-LIFE MALNUTRITION ROLE IN MEMORY, EMOTIONAL BEHAVIOR AND MOTOR IMPAIRMENTS IN EARLY BRAIN LESIONS WITH POTENTIAL FOR NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS: A SYSTEMATIC REVIEW WITH META-ANALYSIS



Nutritional Neuroscience

An International Journal on Nutrition, Diet and Nervous System



A2

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: www.tandfonline.com/journals/ynns20

Early-life malnutrition role in memory, emotional behavior and motor impairments in early brain lesions with potential for neurodevelopmental disorders: a systematic review with meta-analysis

Caio Matheus Santos da Silva Calado, Raul Manhães-de-Castro, Vanessa da Silva Souza, Henrique José Cavalcanti Bezerra Gouveia, Sabrina da Conceição Pereira, Márcia Maria da Silva, Gláyciele Leandro de Albuquerque, Bruno Monteiro Paiva Lima, Augusto Vagner Soares Martins de Lira & Ana Elisa Toscano

To cite this article: Caio Matheus Santos da Silva Calado, Raul Manhães-de-Castro, Vanessa da Silva Souza, Henrique José Cavalcanti Bezerra Gouveia, Sabrina da Conceição Pereira, Márcia Maria da Silva, Gláyciele Leandro de Albuquerque, Bruno Monteiro Paiva Lima, Augusto Vagner Soares Martins de Lira & Ana Elisa Toscano (04 Jul 2024): Early-life malnutrition role in memory, emotional behavior and motor impairments in early brain lesions with potential for neurodevelopmental disorders: a systematic review with meta-analysis, Nutritional Neuroscience, DOI: [10.1080/1028415X.2024.2361572](https://doi.org/10.1080/1028415X.2024.2361572)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/1028415X.2024.2361572>



Published online: 04 Jul 2024.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 169



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

APÊNDICE G - NEONATAL KAEMPFEROL EXPOSURE ATTENUATES GAIT AND STRENGTH DEFICITS AND PREVENTS ALTERED MUSCLE PHENOTYPE IN A RAT MODEL OF CEREBRAL PALSY

Received: 11 June 2022 | Revised: 10 August 2022 | Accepted: 12 August 2022

DOI: 10.1002/jdn.10239

RESEARCH ARTICLE

INTERNATIONAL JOURNAL OF
DEVELOPMENTAL NEUROSCIENCE



WILEY

Neonatal kaempferol exposure attenuates gait and strength deficits and prevents altered muscle phenotype in a rat model of cerebral palsy

Diego Bulcão Visco^{1,2,3} | Raul Manhães de Castro^{2,3} |
Márcia Maria da Silva^{2,3} | Bárbara Juacy Rodrigues Costa de Santana^{3,7} |
Henrique José Cavalcanti Bezerra Gouveia^{2,3} |
Maria Laura Rodrigues de Moura Ferraz³ |
Gláyciele Leandro de Albuquerque^{3,7} | Diego Cabral Lacerda³ |
Diogo Antonio Alves de Vasconcelos^{2,3} | Omar Guzman Quevedo^{3,4,5,7} |
Ana Elisa Toscano^{2,3,6,7}

¹Laboratory of Neurofunctional, Department of Biological Science and Health, Federal University of Amapá, Macapá, Brazil

²Postgraduate Program in Nutrition (Posnutri), Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

³Studies in Nutrition and Phenotypic Plasticity Unit, Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

⁴Instituto Tecnológico Superior de Tacámbaro, Tacámbaro, Mexico

⁵Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, Instituto Mexicano del Seguro Social, Morelia, Mexico

⁶Nursing Unit, Vitória Academic Center, Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Brazil

⁷Postgraduate Program in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences (Posneuro), Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

Correspondence

Professor Dr. Ana Elisa Toscano, Nursing Unit, Vitória Academic Center, Federal University of Pernambuco, Rua do Alto do Reservatório s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.
Email: aeltoscano@yahoo.com.br

Funding information

This work was supported by the 'Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE)'. This study was financed in part by the 'Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES)—Finance Code 001.

Abstract

Cerebral palsy (CP) is characterized by brain damage at a critical period of development of the central nervous system, and, as a result, motor, behavioural and learning deficits are observed in those affected. Flavonoids such as kaempferol have demonstrated potential anti-inflammatory and neuroprotective properties for neurological disorders. This study aimed to assess the effects of neonatal treatment with kaempferol on the body development, grip strength, gait performance and morphological and biochemical phenotype of skeletal muscle in rats subjected to a model of CP. The groups were formed by randomly allocating male Wistar rats after birth to four groups as follows: C = control treated with vehicle, K = control treated with kaempferol, CP = CP treated with vehicle and CPK = CP treated with kaempferol. The model of CP involved perinatal anoxia and sensorimotor restriction of the hind paws during infancy, from the second to the 28th day of postnatal life. Treatment with kaempferol (1 mg/kg) was performed intraperitoneally during the neonatal period. Body weight and length, muscle strength, gait kinetics and

Abbreviations: CP, cerebral palsy; LH, left hind paw; PA, perinatal anoxia; p-AKT, phospho-protein kinase B/AKT; p-S6, phospho-ribosomal protein S6; P, postnatal day; RH, right hind paw.

APÊNDICE H - LOCOMOTION IS IMPACTED DIFFERENTLY ACCORDING TO THE PERINATAL BRAIN INJURY MODEL: META-ANALYSIS OF PRECLINICAL STUDIES WITH IMPLICATIONS FOR CEREBRAL PALSY

Journal of Neuroscience Methods 360 (2021) 109250



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Neuroscience Methods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jneumeth



Locomotion is impacted differently according to the perinatal brain injury model: Meta-analysis of preclinical studies with implications for cerebral palsy

Sabrina da Conceição Pereira^a, Raul Manhães-de-Castro^{a,b,c}, Diego Bulcão Visco^{b,c},
Glayciele Leandro de Albuquerque^a, Caio Matheus Santos da Silva Calado^b,
Vanessa da Silva Souza^a, Ana Elisa Toscano^{a,b,c,d,*}

^a Postgraduate Program in Neuropsychiatry and Behavior Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^b Studies in Nutrition and Phenotypic Plasticity Unit, Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^c Postgraduate Program in Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^d Department of Nursing, CAV, Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Cerebral palsy
Animal model
Locomotion
motor coordination
Meta-analysis

ABSTRACT

Background: Different approaches to reproduce cerebral palsy (CP) in animals, contribute to the knowledge of the pathophysiological mechanism of this disease and provide a basis for the development of intervention strategies. Locomotion and coordination are the main cause of disability in CP, however, few studies highlight the quantitative differences of CP models, on locomotion parameters, considering the methodologies to cause brain lesions in the perinatal period.

Methods: Studies with cerebral palsy animal models that assess locomotion parameters were systematically retrieved from Medline/PubMed, SCOPUS, LILACS, and Web of Science. Methodological evaluation of included studies and quantitative assessment of locomotion parameters were performed after eligibility screening.

Results: CP models were induced by hypoxia-ischemia (HI), Prenatal ischemia (PI), lipopolysaccharide inflammation (LPS), intraventricular haemorrhage (IVH), anoxia (A), sensorimotor restriction (SR), and a combination of different models. Overall, 63 studies included in qualitative synthesis showed a moderate quality of evidence. 16 studies were included in the quantitative meta-analysis. Significant reduction was observed in models that combined LPS with HI related to distance traveled (SMD -7.24 95 % CI [-8.98, -5.51], Z = 1.18, p < 0.00001) and LPS with HI or anoxia with sensory-motor restriction (SMD -6.01, 95 % CI [-7.67, -4.35], Z = 7.11), or IVH (SMD -4.91, 95 % CI [-5.84, -3.98], Z = 10.31, p < 0.00001) related to motor coordination.

Conclusion: The combination of different approaches to reproduce CP in animals causes greater deficits in locomotion and motor coordination from the early stages of life to adulthood. These findings contribute to methodological refinement, reduction, and replacement in animal experimentation, favoring translational purposes.

1. Introduction

Over the past few years, a variety of experimental models of early brain injury with implications for cerebral palsy (CP) have been proposed. These preclinical studies have revealed fundamental importance in elucidating the pathophysiological aspects related to CP and they are

based on the ability to reproduce neurofunctional changes observed in CP in humans (Cavarsan et al., 2019; Silva et al., 2016). CP is a multifactorial pathology that arises from insults on the brain and it can occur prenatally, perinatally, or postnatally (Graham et al., 2019). It is considered a non-progressive neurodevelopmental disorder that permanently impairs motor functions, and it is considered a more

Abbreviations: CP, cerebral palsy; HI, hypoxia-ischemia; LPS, lipopolysaccharide inflammation; IVH, intraventricular haemorrhage; A, anoxia; SR, sensorimotor restriction.

* Corresponding author at: Department of Nursing, CAV, Federal University of Pernambuco, Rua do Alto do Reservatório s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

E-mail address: aelitoscano@yahoo.com.br (A.E. Toscano).

<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2021.109250>

Received 18 March 2021; Received in revised form 3 June 2021; Accepted 5 June 2021

Available online 8 June 2021

0165-0270/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

APÊNDICE I - MATERNAL EXPOSURE TO BUSULFAN REDUCES THE CELL NUMBER IN THE SOMATOSENSORY CORTEX ASSOCIATED WITH DELAYED SOMATIC AND REFLEX MATURATION IN NEONATAL RATS

B2

Journal of Chemical Neuroanatomy 103 (2020) 101710



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Chemical Neuroanatomy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jchemneu

Maternal exposure to busulfan reduces the cell number in the somatosensory cortex associated with delayed somatic and reflex maturation in neonatal rats



Henrique J.C.B. Gouveia^a, Raul Manhães-de-Castro^b, Bárbara J.R. Costa-de-Santana^c,
Carolina R. Mendonça^a, Gláyciele Albuquerque^d, Diego Bulcão Visco^a, Diego Cabral Lacerda^a,
Ana Elisa Toscano^{c,*}

^a Post Graduate Program in Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^b Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^c Post Graduate Program in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^d Post Graduate Program in Physiotherapy, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^{*} Department of Nursing, CAV, Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Microcephaly
Rats
Central nervous system
Alkylating agents
Brain development

ABSTRACT

Busulfan is a bifunctional alkylating agent used for myeloablative conditioning and in the treatment of chronic myeloid leukemia due to its ability to cause DNA damage. However, in rodent experiments, busulfan presented a potential teratogenic and cytotoxic effect. Studies have evaluated the effects of busulfan on fetuses after administration in pregnancy or directly on pups during the lactation period. There are no studies on the effects of busulfan administration during pregnancy on offspring development after birth. We investigated the effects of busulfan on somatic and reflex development and encephalic morphology in young rats after exposure in pregnancy. The pregnant rats were exposed to busulfan (10 mg/kg, intraperitoneal) during the early developmental stage (days 12–14 of the gestational period). After birth, we evaluated the somatic growth, maturation of physical features and reflex-ontogeny during the lactation period. We also assessed the effects of busulfan on encephalic weight and cortical morphometry at 28 days of postnatal life. As a result, busulfan-induced pathological changes included: microcephaly, evaluated by the reduction of cranial axes, delay in reflex maturation and physical features, as well as a decrease in the morphometric parameters of somatosensory and motor cortex. Thus, these results suggest that the administration of a DNA alkylating agent, such as busulfan, during the gestational period can cause damage to the central nervous system in the pups throughout their postnatal development.

1. Introduction

In mammals, there are periods of development of physiological systems that are particularly vulnerable to physical, chemical and biological insults (Rice and Barone, 2000). This occurs because these periods, for example, gestation, are dependent on critical cellular processes that contribute to neural development (Rice and Barone, 2000). Although many processes occur after birth, many occur predominantly during pregnancy, such as neurogenesis, especially in humans, and neuronal migration (Raedler et al., 1980; Rice and Barone, 2000; Prins and Hoyda, 2003). At this stage, exposure to harmful environmental factors like infections, malnutrition and teratogenic agents, such as

busulfan, can disrupt these processes and cause damage (Furukawa et al., 2007; Ashwal et al., 2009). Indeed, impaired neuronal migration is one of the major causes of microcephaly (Furukawa et al., 2007). Thus, it is important to evaluate how the damages caused during pregnancy can impair development after birth.

Busulfan is a bifunctional alkylating agent used initially for the treatment of chronic myelogenous leukemia (CML) due to its ability to cause DNA damage (Iwamoto et al., 2004; Ohira et al., 2013a). Owing to its reduction of adverse effects when compared to X-Rays, busulfan then began to be used for a conditioning regimen before a hematopoietic stem cell transplant (HSCT) (Tutschka et al., 1987). However, in rodent experiments, busulfan presented a potential teratogenic and

* Corresponding author at: Department of Nursing, CAV, Federal University of Pernambuco, Rua do Alto do Reservatório s/n, Bela Vista, 55608-680 Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

E-mail address: aeltoscano@yahoo.com.br (A.E. Toscano).

<https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2019.101710>

Received 2 July 2019; Received in revised form 1 November 2019; Accepted 1 November 2019
Available online 07 November 2019

0891-0618/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife – PE – Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 30 de junho de 2021

Ofício nº 37/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Prof. Ana Elisa Toscano Meneses da Silva de Castro
Centro Acadêmico de Vitória
processo nº0075/2020

Certificamos que a proposta intitulada “**Paralisia cerebral e plasticidade do desenvolvimento: efeitos do tratamento neonatal com quercetina em ratos machos e fêmeas**”, registrado com o nº0075/2020 sob a responsabilidade da **Prof. Ana Elisa Toscano Meneses da Silva de Castro** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 29/06/2021

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	29/06/2021 a 07/08/2024.
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogênicos
Nº de animais	152animais
Peso/Idade	5g-140g gramas (1-36 dias) – 112 experimentais 220g-250 gramas (90-12- dias) – 40 animais para reprodução, 30 fêmeas e 10 machos
Sexo	Macho (66) e Fêmea (86)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Nutrição
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Nutrição

Atenciosamente


Prof. Sebastião R. F. Silva
-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691