



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA  
CURSO DE FISIOTERAPIA**

**LETÍCIA NICOLY FERREIRA BARBOSA**

**EFEITOS DO TRATAMENTO NEONATAL COM RESVERATROL SOBRE O  
CONSUMO ALIMENTAR E FENÓTIPO MUSCULAR DE RATOS SUBMETIDOS À  
PARALISIA CEREBRAL EXPERIMENTAL**

**RECIFE  
2025**

LETÍCIA NICOLY FERREIRA BARBOSA

**EFEITOS DO TRATAMENTO NEONATAL COM RESVERATROL SOBRE O  
CONSUMO ALIMENTAR E FENÓTIPO MUSCULAR DE RATOS SUBMETIDOS À  
PARALISIA CEREBRAL EXPERIMENTAL**

Trabalho apresentado à Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, como requisito para para conclusão do Curso de Fisioterapia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Kassia de Oliveira Gomes da Silva

**Co-orientadora:** Prof. Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ana Elisa Toscano Meneses da Silva Castro

**RECIFE  
2025**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Barbosa, Letícia Nicoly Ferreira.

Efeitos do tratamento neonatal com resveratrol sobre o consumo alimentar e o fenótipo muscular em ratos submetidos a paralisia cerebral experimental / Letícia Nicoly Ferreira Barbosa. - Recife, 2025.

32 : il., tab.

Orientador(a): Kássia de Oliveira Gomes da Silva

Coorientador(a): Ana Elisa Toscano

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Fisioterapia - Bacharelado, 2025.

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Paralisia cerebral. 2. Modelos animais. 3. Músculo esquelético. 4. Plasticidade fenotípica. 5. Resveratrol. I. Silva, Kássia de Oliveira Gomes da. (Orientação). II. Toscano, Ana Elisa. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

**EFEITOS DO TRATAMENTO NEONATAL COM RESVERATROL SOBRE O  
CONSUMO ALIMENTAR E FENÓTIPO MUSCULAR DE RATOS SUBMETIDOS À  
PARALISIA CEREBRAL EXPERIMENTAL**

Trabalho apresentado à Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, como requisito para para conclusão do curso de Fisioterapia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Aprovado em:10/02/2025

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Karla Mônica Ferraz Lambertz  
(Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Sabrina Pereira da Conceição  
(Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

MSc. Luan Kelwyny Thaywã Marques da Silva  
(Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho à minha avó, que, sob muito sol, me permitiu estudar no conforto. Dedico também à minha mãe, que abdicou tanto de si para se dedicar a mim e aos meus sonhos. Não as procure em menções acadêmicas, pois, a partir de seus sacrifícios, fui a primeira de minha casa a chegar aqui.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, meu refúgio e fortaleza, por me iluminar e guiar durante esses cinco anos, cuidando de tudo de forma extraordinária. Mesmo que a Letícia de 17 anos não compreendesse Seu propósito, escolher viver Sua vontade foi, sem dúvida, a melhor decisão da minha vida.

À minha avó, que nunca mediu esforços para que eu tivesse todas as oportunidades que ela não pode ter em sua vida, como estudar. Uma grande mulher, sem sombras de dúvida é minha maior inspiração de força.

À minha mãe, Taciana,, que sempre me incentivou, apoiou minhas escolhas e que sempre esteve de pé comigo em todos os momentos de luta e vitória.

À minha tia Silvânia, por acreditar nos meus sonhos, me impulsionar e sempre ter a certeza de que este dia chegaria.

À minha orientadora, Kássia de Oliveira Gomes, minha irmã científica que o destino me apresentou. Obrigada por todo o apoio e pelas orientações, mesmo que na reta final, fez toda a diferença e tornou tudo mais leve.

À minha co-orientadora, Profa. Ana Elisa Toscano, expresse minha profunda gratidão por todo o conhecimento compartilhado e pelo aprendizado construído ao longo dos anos. Sua dedicação e excelência acadêmica são fontes de grande admiração para mim.

À família que ganhei na Unidade de Estudos em Nutrição e Plasticidade Fenotípica, minha gratidão pelo acolhimento e por todo o conhecimento compartilhado. Vocês me fizeram sentir parte de uma verdadeira família, e é um privilégio poder contar com vocês, em especial Sabrina, Beatriz, Caio, Luan, Marcos e Joaci.

À todos os professores do departamento de fisioterapia que contribuíram para a minha formação, e as amigas que fiz na graduação, em especial a Maria Letícia, Amanda e Renata, vocês são pedaços de mim que irão ainda mais longe.

Aos meus pacientes, que moldaram não apenas a profissional que me tornei, mas também a pessoa que sou.

À todos meus amigos e familiares que torceram e oraram por mim.

## RESUMO

A paralisia cerebral (PC) é uma condição neurológica não progressiva resultante de lesão no cérebro em desenvolvimento. O resveratrol vem sendo utilizado como uma intervenção promissora em modelos de neurodegeneração (Alzheimer, Parkinson ou Huntington) e em modelos de hipóxia-isquemia, apresentando fortes ações antioxidantes e neuroprotetoras. Este estudo avaliou os efeitos do tratamento neonatal com resveratrol sobre o consumo alimentar e o fenótipo muscular em ratos submetidos à PC induzida. O modelo experimental incluiu anóxia perinatal (9L/min por 12 minutos nos dias P0 e P1) e restrição sensório-motora (16h/dia, P2–P29). Os animais receberam resveratrol ou solução salina por via intraperitoneal (P3–P21). Foram analisados peso corporal, consumo alimentar, força muscular e histomorfometria dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos (EDL). O grupo PCS apresentou menor peso corporal, consumo alimentar reduzido e menor força muscular comparado ao grupo CS. O tratamento com resveratrol reverteu parcialmente essas alterações, aumentando peso, força muscular e consumo alimentar. No fenótipo muscular, o grupo PCR mostrou aumento no perímetro muscular do músculo EDL, redução das fibras do tipo I e aumento das fibras tipo IIa e IIb), comparado ao PCS. Os achados sugerem que o tratamento neonatal com resveratrol foi capaz de atenuar os prejuízos ocasionados pela PC a curto prazo, favorecendo o crescimento corporal, a força muscular e a distribuição de fibras musculares, além de aumentar o consumo alimentar. Esses resultados indicam o potencial terapêutico do resveratrol para mitigar déficits musculares associados à PC, apontando para futuras investigações sobre seus mecanismos e efeitos a longo prazo.

**Palavras-chave:** paralisia cerebral; modelos animais; músculo esquelético; plasticidade fenotípica; resveratrol.

## **ABSTRACT:**

Cerebral palsy (CP) is a non-progressive neurological condition resulting from injury to the developing brain. Resveratrol has been investigated as a promising intervention in models of neurodegeneration (e.g., Alzheimer's, Parkinson's, and Huntington's diseases) and hypoxia-ischemia, exhibiting strong antioxidant and neuroprotective effects. This study assessed the effects of neonatal resveratrol treatment on food intake and muscle phenotype in rats subjected to induced CP. The experimental model involved perinatal anoxia (9 L/min for 12 minutes on postnatal days P0 and P1) and sensorimotor restriction (16 h/day, P2–P29). Animals received intraperitoneal injections of either resveratrol or saline solution (P3–P21). The study evaluated body weight, food intake, muscle strength, and histomorphometric parameters of the soleus and extensor digitorum longus (EDL) muscles. The PCS group exhibited lower body weight, reduced food intake, and decreased muscle strength compared to the CS group. Resveratrol treatment partially reversed these impairments, leading to increased body weight, muscle strength, and food intake. Regarding muscle phenotype, the PCR group demonstrated an increase in EDL muscle perimeter, a reduction in type I fibers, and an increase in type IIa and IIb fibers compared to the PCS group. These findings suggest that neonatal resveratrol treatment can attenuate CP-induced impairments in the short term, promoting body growth, muscle strength, and muscle fiber distribution, while also enhancing food intake. These results underscore the therapeutic potential of resveratrol in mitigating CP-associated muscle deficits, warranting further investigation into its mechanisms and long-term effects.

**Keywords:** cerebral palsy; model animals; skeletal muscle; phenotypic plasticity; resveratrol.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CR	Controle resveratrol
CS	Controle salina
EDL Extensor digitorum longus	(Extensor longo dos dedos)
PC	Paralisia Cerebral
PCR	Paralisia cerebral resveratrol
PCS	Paralisia cerebral salina
SNC	Sistema Nervoso Central

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	10
2 METODOLOGIA .....	12
2.1 Animais e condição de biotério.....	12
2.2 Modelo experimental de paralisia cerebral.....	12
2.3 Manipulação farmacológica.....	13
2.4 Grupos experimentais.....	13
2.5 Evolução Ponderal.....	14
2.6 Consumo alimentar.....	14
2.7 Análise de força muscular .....	14
2.8 Análise antropométrica e dos tipos de fibras dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos.....	15
2.9 Análise estatística .....	16
3 RESULTADOS.....	16
3.1 Peso corporal.....	16
3.2 Consumo alimentar.....	17
3.3 Força de preensão dos membros anteriores .....	18
3.4 Análise antropométrica dos músculos Sóleo e Extensor Longo dos Dedos (EDL) .....	19
3.5 Tipos de fibras musculares do músculo sóleo e EDL.....	20
4. DISCUSSÃO.....	21
5. FINANCIAMENTOS.....	26
6. REFERÊNCIAS.....	26
7. APÊNDICES.....	33
7.1 Ficha de avaliação dos animais.....	33
8. ANEXOS.....	34
8.1 Parecer da comissão de ética e uso animal.....	34

## 1. INTRODUÇÃO

A paralisia cerebral (PC) é um distúrbio do neurodesenvolvimento de cunho permanente e não progressivo, decorrente de uma lesão ocorrida no cérebro em desenvolvimento (Bax et al., 2005; Krigger, et al., 2006). Comumente observada na infância, é caracterizada por um fenótipo com consequências motoras, posturais e comportamentais (Novak et al., 2020; Vitrikas et al., 2020), ocasionando repercussões funcionais severas para o organismo. Afeta principalmente o sistema musculoesquelético, sendo observados prejuízos na locomoção e nos músculos envolvidos nesse processo (Da Conceição et al., 2021a; Da Conceição et al., 2021b). A prevalência da PC é 1,5 a 3 casos para cada 1000 nascidos vivos, variando conforme o acesso aos cuidados obstétricos e neonatais da região sociodemográfica (Gulati; Sondhi, 2017; Maenner et al., 2016; Oskoui et al., 2013; Peixoto et al., 2020).

Devido à complexidade envolvida em sua etiologia, suas causas não são totalmente compreendidas. Geralmente é causada por lesão cerebral antes ou durante o nascimento, sendo esse o principal fator causal (Sewell et al., 2014). Entretanto, as dificuldades relacionadas ao parto foram caracterizadas como o fator etiológico, levantando a hipótese que o distúrbio ocorre devido à asfixia neonatal ou anóxia, apesar das evidências limitadas (Brandenburg; Fogarty; Sieck, 2019).

Contudo, as consequências funcionais da PC vão além do sistema musculoesquelético, sendo possível observar prejuízos em outras funções do organismo, devido as lesões presentes no sistema nervoso central (SNC), nas quais são observadas também alterações disfuncionais no comportamento e na cognição dessas crianças (Rosenbaum et al., 2007; Bjelke et al., 1991; Colver et al., 2014). Estudos pré clínicos recentes apontam para a mesma direção, observando comportamentos depressivos e ansiosos (Herrera et al., 2018; Granja et al., 2021). Ademais, o comprometimento motor da PC pode impactar na deglutição, alimentação e digestão, levando à má nutrição em crianças com lesões cerebrais. Nessa perspectiva, o peso corporal é uma das esferas prejudicadas significativamente na PC, onde os animais apresentam um menor peso corporal (Da conceição et al., 2021) e disfunções no sistema estomatognático, que engloba estruturas envolvidas na mastigação e no comportamento alimentar. (Lacerda et al., 2017).

Os modelos animais de paralisia cerebral tornaram-se cruciais ao ilustrar as mudanças resultantes de lesões cerebrais precoces, comparáveis às ocorridas em crianças afetadas pela paralisia cerebral (Coq et al., 2016; Strata et al., 2004). Dentro dos modelos de paralisia cerebral, o modelo experimental que combina anóxia perinatal com a restrição sensório-motora das patas posteriores em ratos emergiu como uma ferramenta significativa para mimetizar os padrões motores da paralisia cerebral (Pereira et al., 2021).

Mediante esse modelo, observam-se características similares às da paralisia cerebral em humanos nos animais, tais como aumento do tônus muscular, comprometimento das funções motoras orais e prejuízos nas habilidades motoras (Strata et al., 2004; Lacerda et al., 2017b; Silva et al., 2016; Marcuzzo et al., 2010). Todavia, há uma carência de estudos que busquem investigar os mecanismos subjacentes à disfunção alimentar, utilizando esse modelo de paralisia cerebral.

Contudo, essas alterações podem ser mutáveis devido a condições ambientais, sobretudo no período crítico do desenvolvimento, levando a alterações permanentes nos organismos. Este fenômeno é conhecido como plasticidade fenotípica (Kelly et al., 2012) e se refere à capacidade do organismo emitir respostas adaptativas frente a determinados estímulos, onde o seu genótipo pode produzir diferentes fenótipos quando expostos a distintos estímulos ambientais (Agrawal, 2001), promovendo mudanças permanentes na forma e função de diversos sistemas, inclusive o sistema nervoso. Sob a ótica da plasticidade fenotípica, compreende-se que as alterações na PC podem ser mutáveis devido à exposição a tratamentos precoces, por conta da capacidade responsiva e plástica do sistema nervoso. A partir disso, o comportamento alimentar e o peso corporal podem ser afetados na PC, visto que é influenciado por eventos fisiológicos que podem ser modulados por eventos ambientais (Blundell; Goodson; Halford, 2001).

Nessa perspectiva, o uso de resveratrol, um subtipo de polifenol presente em alguns alimentos e bebidas, como o vinho tinto (Park et al., 2012), tem sido utilizado como uma intervenção promissora em modelos de neurodegeneração (Alzheimer, Parkinson ou Huntington) e em modelos de hipóxia-isquemia (Arteaga et al., 2014; Juul; Ferriero, 2014; Pan et al., 2016). O resveratrol apresenta fortes ações neuroprotetoras (Bastianetto; Ménard; Quirion, 2015), resultantes de sua atividade antioxidante (Arteaga et al., 2015), podendo reduzir a intensidade do processo

inflamatório e apoptose celular através da inibição de citocinas pró-inflamatórias TNF $\alpha$  e IL-6 (Palacz-wrobel et al., 2017; Pan et al., 2016). Dessa forma, o resveratrol demonstrou capacidade de reduzir significativamente a lesão cerebral, preservando áreas cerebrais como o córtex sensório-motor, e também reduzindo o dano à substância branca. Além disso, estudos em ratos no período neonatal demonstraram que o resveratrol é capaz de reduzir a perda de tecido cerebral após lesão hipóxica-isquêmica. (Arteaga et al., 2015; Juul; Ferriero, 2014; Pan et al., 2016, Palacz-wrobel et al., 2017). Assim, o resveratrol apresenta-se como uma ferramenta terapêutica promissora para os prejuízos provocados pela PC experimental.

## **2. Metodologia**

### **2.1 Animais e condições de biotério**

Trata-se de um estudo experimental com animais, nos quais os procedimentos foram efetuados de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e das normas internacionais do National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals (8ª ed). Utilizou-se filhotes ratos machos da espécie *Rattus Norvegicus Albinus*, da linhagem Wistar, nascidos no biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais ficaram resguardados no biotério de manutenção da Unidade de Estudos em Nutrição e Plasticidade Fenotípica (UENPF), com temperatura de  $22 \pm 2$  °C, ciclo claro-escuro invertido de 12/12 horas (Ciclo claro - 20:00 às 8:00; Ciclo escuro - 08:00 às 20:00, abrigados em gaiolas de polipropileno (46cmx34cmx20cm) forrada com maravalha estéril, com acesso livre à água e alimentação (dieta Labina – Purina S/A). O estudo foi realizado na Unidade de Estudo em Nutrição e Plasticidade Fenotípica (UENPF), localizado no Departamento de Nutrição da UFPE. O projeto encontra-se aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA: 0009/2020) (Anexo 1).

### **2.2 Modelo experimental de paralisia cerebral**

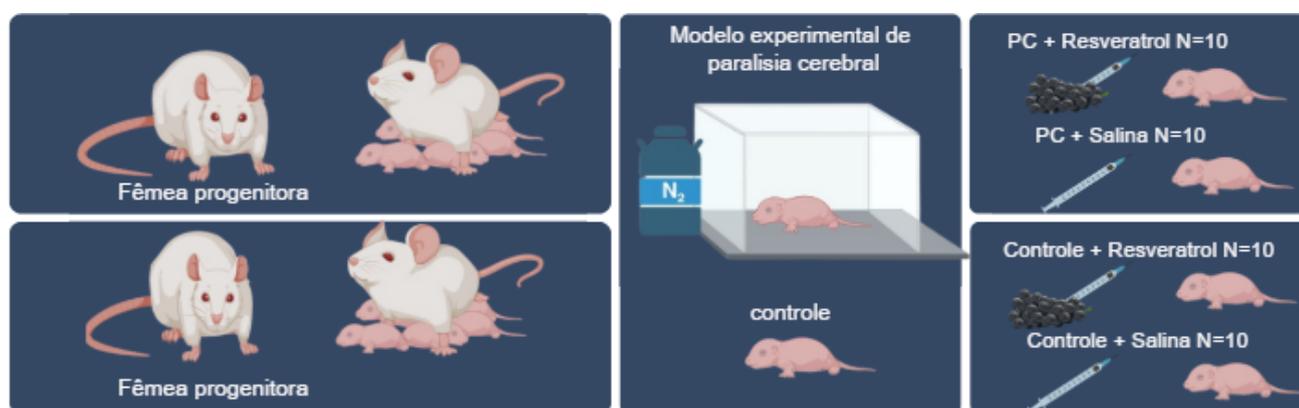
No presente estudo foi aplicado o modelo experimental de paralisia cerebral diplérgica espástica, que associa anóxia perinatal juntamente com a restrição

sensorio-motora dos membros posteriores dos animais, de acordo com os experimentos de Strata et al. (2004), Coq et al. (2008) e Marcuzzo et al. (2010). A anóxia pós-natal foi efetuada em dois episódios, sendo realizados no dia do nascimento (P0) e no primeiro dia pós-natal (P1). Os animais foram submetidos ao nitrogênio (100%) a 9L/min por 12 minutos cada dia, através de uma câmara de vidro levemente imersa em água a 37°C. Em seguida, foram postos em temperatura ambiente para recuperação, e após estabilização foram devolvidos às suas respectivas mães. A restrição sensorio-motora foi realizada do 2º ao 28º dia (P2 ao P28) de vida pós natal, sendo fixado nos membros inferiores uma órtese de epóxi por cerca de 16 horas por dia, com a intenção de limitar os movimentos da articulação do quadril, sem atrapalhar a eliminação de fezes e urina, e 8 horas de livre movimentação (Strata et al., 2004).

### 2.3 Manipulação farmacológica

A aplicação ocorreu no período neonatal, do 3º ao 21º dia de vida pós-natal, por via intraperitoneal, com administração do resveratrol (dose diária, 10mg/kg) ou salina (0,9% NaCl), com volume de injeção de 0,1 ml / 100 g peso do rato conforme pesagem diária (Girbovan e Plamondon et al., 2015).

### 2.4 Grupos experimentais



Fonte: A autora (2025)

Para obtenção dos filhotes foram utilizadas ratas fêmeas nulíparas e machos reprodutores, da espécie *Rattus Norvegicus Albinus* da linhagem Wistar, que foram

acasalados e mantidos no biotério do Departamento de Nutrição da UFPE. Após o nascimento, os filhotes machos foram distribuídos nos grupos experimentais de forma aleatória, sendo incluídos filhotes machos saudáveis com um peso corporal ideal (6 a 8 gramas). As filhotes fêmeas foram utilizadas apenas para completar a ninhada de 8 filhotes até o dia do desmame. Foram excluídos animais com má formação congênita e pais com mais de 120 dias de vida. Dessa maneira, foram formados os quatro grupos experimentais: Controle Salina (CS, n=10), com filhotes que receberam a solução 0,9% NaCl); Paralisia Cerebral + Salina (PCS, n=10), com filhotes que foram submetidos à PC experimental + solução 0,9% NaCl); Controle + Resveratrol (CR, n=10), com filhotes que receberam 10mg/kg de resveratrol em solução 0,9% NaCl); Paralisia Cerebral + Resveratrol (PCR, n=10), com filhotes que foram submetidos à PC experimental + 10mg/kg de resveratrol em solução 0,9% NaCl).

## **2.5 Evolução ponderal**

No que concerne ao desenvolvimento ponderal, o peso corporal dos filhotes foi registrado desde o seu nascimento até o 21º dia de vida pós-natal, representando o término do período de administração farmacológica. Além disso, a pesagem foi repetida no 29º dia de vida pós-natal (P29), que marca o dia da eutanásia dos animais. Para tal fim, utilizou-se uma balança digital eletrônica com a capacidade de 1 kg e sensibilidade de 0,1 g (modelo Marte, S-1000).

## **2.6 Consumo Alimentar**

Quanto ao consumo alimentar, após o 25º dia de vida pós-natal, os animais passaram por desmame, sendo separados das mães e alocados em gaiolas individuais até o P29. Durante esse período, foi monitorado o consumo alimentar por meio da disponibilização de dieta padrão de biotério (Nutrilab) em regime de livre acesso. O procedimento consistiu em ofertar o alimento, registrar o peso inicial e, após um intervalo de 24 horas, mensurar novamente o peso para determinar a quantidade consumida.

## **2.7 Avaliação da força muscular**

Nas idades de 22 e 28 dias de vida pós-natal foi realizada a análise da força muscular em todos os animais através do teste de força da preensão dos membros anteriores modificados (Taekshita et al., 2017). Cada animal deve se agarrar à barra de apoio do equipamento e exercer uma força de tração sobre ele em posição vertical enquanto o examinador o suspende pela cauda. Foram realizadas 3 tentativas com o intervalo de 1 minuto entre elas, utilizando o equipamento GripStrength System (SD Instruments), com capacidade de 200 Kgf, resolução 0,1 Kgf e acurácia de  $\pm 0,2\%$  (n=10 por grupo).

## **2.8 Análise antropométrica e dos tipos de fibras dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos (EDL)**

No 29º dia após o nascimento, após a eutanásia, foram coletados os músculos em questão para fins de investigação. A análise buscou identificar e caracterizar os diferentes tipos de fibras presentes, além de determinar a área e o perímetro das fibras musculares. Para isso, foram executadas secções transversais dos músculos, com espessura de 8 micrômetros, empregado um equipamento denominado criostato, a uma temperatura de  $-30^{\circ}\text{C}$ . As secções obtidas foram fixadas em lâminas e submetidas a uma técnica de coloração utilizando a ATPase miofibrilar, conforme estabelecido por Brooke e Kaiser (1970) e Lacerda et al. (2017b). A coloração das fibras musculares foi realizada em relação a três tipos distintos de fibras (I, IIa, IIb), de acordo com as variações na intensidade da coloração ATPase após uma pré-incubação em meio ácido (ph 4.55).

Os cortes resultantes desse processo foram posteriormente examinados por meio de um microscópio óptico Olympus BX-41, com ampliação de 100x. O microscópio foi conectado a um computador equipado com um software de captura de imagens denominado "Analysis Get It". Nesse contexto, cada secção histológica foi minuciosamente inspecionada, e as fibras musculares foram quantificadas e classificadas de acordo com os diferentes tipos, e esse quantitativo foi expresso como uma porcentagem do total de fibras presentes. Além disso, foi conduzida uma avaliação específica da área e do perímetro de cada fibra muscular. Nesse contexto, a área foi determinada como a medida da superfície ocupada por cada fibra, enquanto o perímetro é calculado pela soma das medidas de todos os lados de

cada fibra. Na realização da contagem e análise das dimensões das fibras, foi utilizado o software ImageJ.

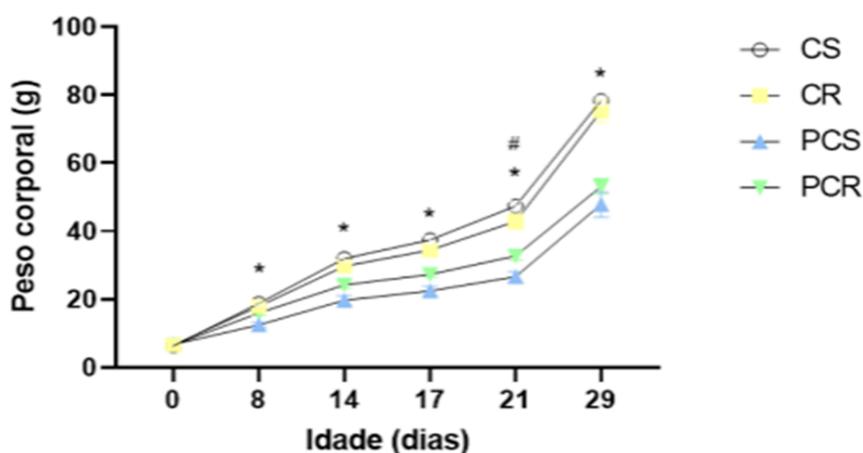
## 2.9 Análise Estatística

Os dados obtidos foram inicialmente analisados quanto à distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk). Constatada a normalidade, foram realizados os testes paramétricos Anova Two-Way, para comparação dos grupos nas análises realizadas em apenas uma idade do animal, ou o Anova Two-Way Medidas repetidas, para comparação dos grupos nas análises realizadas em mais de uma idade. Quando não observada a distribuição normal, foram adotados testes estatísticos não paramétricos como o teste de Kruskal-Wallis e Friedman. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão, ou como mediana e valores máximos e mínimos, sendo o nível de significância utilizado de 5%. Foi utilizado o software GraphPadPrism® versão 9 para análises dos dados e construção dos gráficos.

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Peso corporal

Serão apresentados os resultados dos filhotes que foram avaliados diariamente durante o período de lactação até o 29º dia de vida, a fim de compreender os efeitos a curto prazo do tratamento neonatal com resveratrol sobre o desenvolvimento neuromotor.

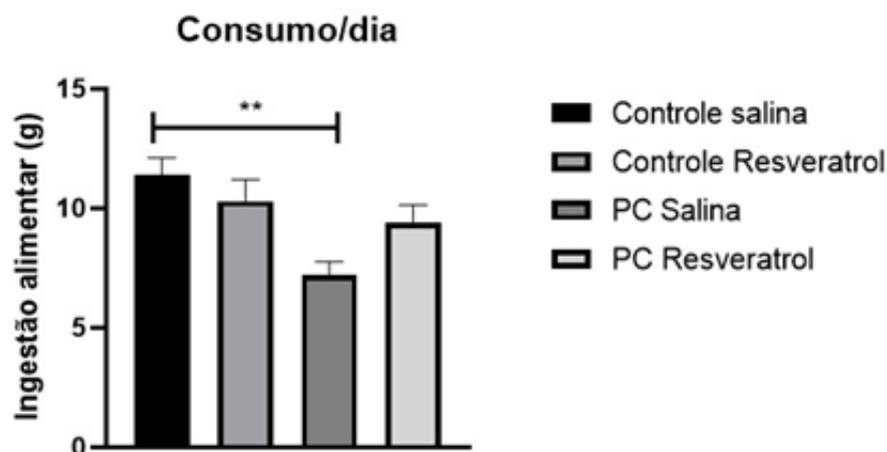


**Figura 1:** Evolução ponderal dos grupos experimentais aos 0, 8, 14, 17, 21 e 29 dias de vida pós-natal: Controle Salina (CS, n=10), Controle Resveratrol (CR, n=10), Paralisia Cerebral + Salina (PCS, n=10) e Paralisia Cerebral + Resveratrol (PCR, n=10). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP. ANOVA Two Way e teste post hoc de Tukey: CS x CR  $\alpha$ ; PCS x CS \*; PCS x PCR #.

O modelo experimental de paralisia cerebral provocou a redução do peso corporal dos animais aos 8 ( $p=0.0142$ ), 14 ( $p<0.0001$ ), 17 ( $p<0.0001$ ), 21 ( $p<0.0001$ ) e 29 ( $p<0.0001$ ) dias de vida pós-natal quando comparado ao grupo controle. O tratamento neonatal com resveratrol na PC experimental atenuou essa perda de peso no 21 dia de vida ( $p=0.0209$ ).

Como esperado, no P0 os animais foram homogêneos, não havendo diferença entre os grupos, pois este é o dia do nascimento. Nesta idade também não houve a aplicação de droga e nem a submissão do modelo de paralisia cerebral prévio. A partir do P8, observamos a diferença entre o grupo PC Salina e o grupo Controle Salina, mostrando que os animais submetidos ao modelo de PC apresentam menor peso corporal. E no P21 foi observado que o tratamento com Resveratrol em modelo de PC aumentou o peso corporal dos animais comparado ao grupo PCS.

### 3.2 Consumo alimentar



**Figura 2:** Consumo alimentar os 25, 26, 27,28 e 29 dias pós- natal dos grupos experimentais Controle Salina (CS, n=10), Controle Resveratrol (CR, n=10), Paralisia Cerebral + Salina (PCS, n=10) e Paralisia Cerebral + Resveratrol (PCR, n=10) A) Consumo/dia dos grupos experimentais: Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP. ANOVA Two Way e teste post hoc de Tukey: PCS x CS \*; PCS x PCR #; PCS x CS. \*= $p<0,05$ ; \*\*= $p<0,01$ ; \*\*\*= $p<0,001$ .

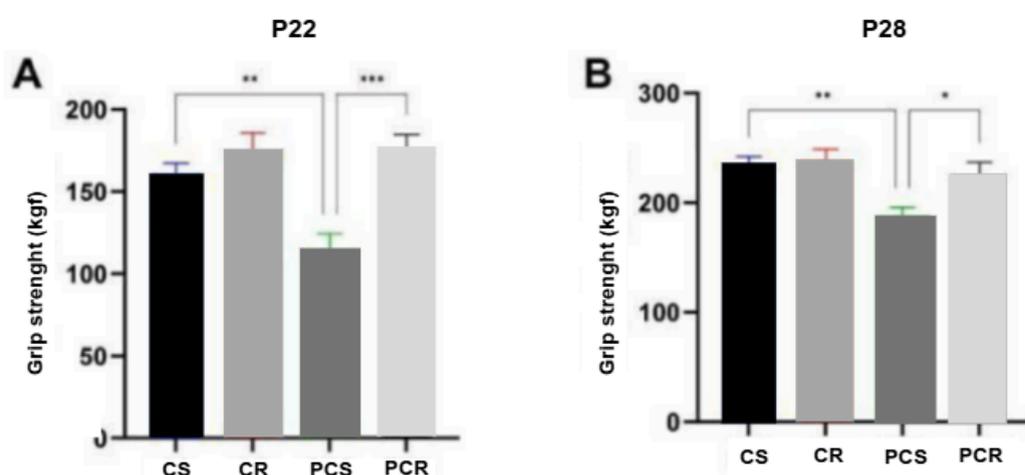
A análise do consumo alimentar demonstrou que o grupo PCS apresentou redução do consumo alimentar diário ( $p<0,01$ ) comparado ao CS. Já o grupo PCR

apresentou uma tendência a aumentar o consumo alimentar ( $p=0,04$ ), em comparação ao PCS. (Figura 3).

Houve uma tendência de aumento do consumo alimentar nos animais PC submetidos ao tratamento com resveratrol, em comparação com os animais PC Salina. Observa-se prejuízos no comportamento alimentar e no peso corporal advindos da PC, enquanto o resveratrol apresenta-se como um tratamento promissor nesses prejuízos.

Ademais, o seguinte estudo evidenciou que os animais PC têm uma diminuição no consumo alimentar devido à restrição sensoriomotora, que limita os movimentos dos animais, além da submissão a um estresse precoce (Coq et al., 2016; Strata et al., 2004). A PC experimental provocou alterações nas fibras musculares, resultando em alterações do trofismo, como também alteração do tônus muscular, evidentes no músculo masséter, músculo responsável pela mastigação. Através desse tipo de modelo, são observados nos animais o fenótipo encontrado na PC, como aumento do tônus muscular, prejuízo na função motora oral, diminuição na atividade locomotora, e danos nas habilidades motoras (Strata et al., 2004; Lacerda et al., 2017b; Silva et al., 2016; Marcuzzo et al., 2010).

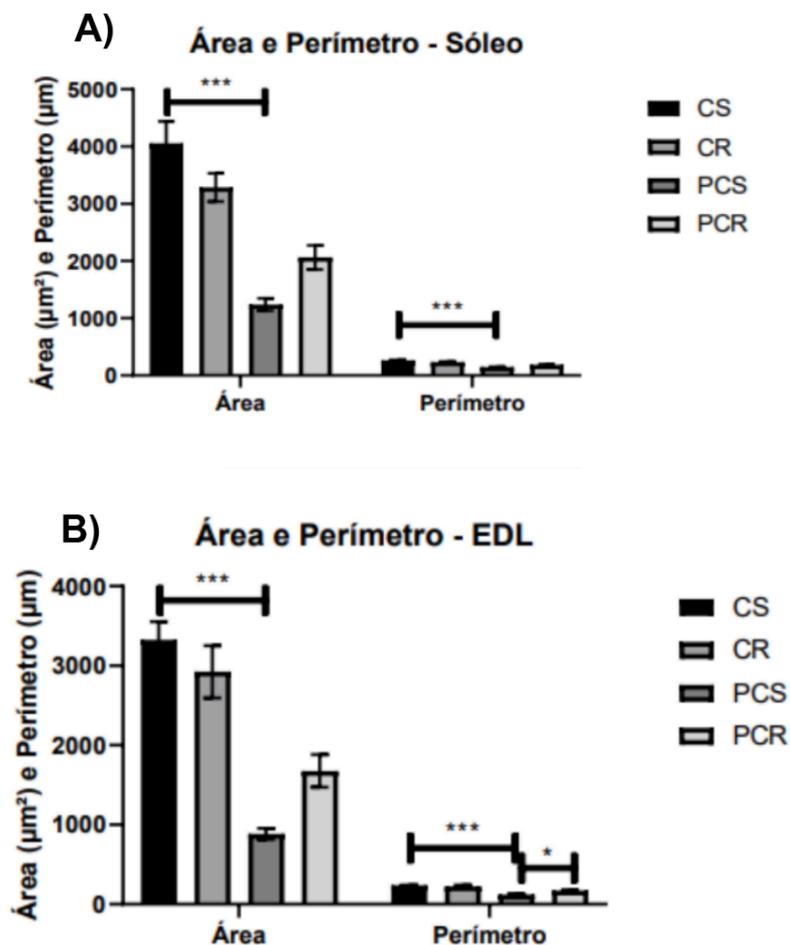
### 3.3 Força de preensão dos membros anteriores



**Figura 3:** Força muscular dos membros anteriores realizadas no 22 e 28° dia após o nascimento: Controle Salina (CS, n=10), Controle Resveratrol (CR, n=10), Paralisia Cerebral + Salina (PCS, n=10) Cerebral Palsy + Resveratrol (PCR, n=10). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP. ANOVA Two Way e teste post hoc de Tukey. ).  $p < 0.05$  (\* =  $p < 0.05$ ; \*\* =  $p < 0.01$ ; \*\*\* =  $p < 0.001$ ).

A análise de força muscular dos membros anteriores demonstrou que o resveratrol aumentou a força muscular na paralisia cerebral. Os animais do grupo PCS mostraram uma redução na força muscular aos 22 e 28 dias de vida pós-natal (Figura 3A e 3B) quando comparado com o grupo CS. O tratamento com Resveratrol demonstrou um aumento na força muscular no P22, sendo esse aumento ainda mais expressivo no P28 para o grupo PCR em comparação com PCS, com uma força de preensão muscular atingindo valores semelhantes aos obtidos em animais não-PC (Figura 3B).

### 3.4 Análise antropométrica dos músculos Sóleo e Extensor Longo dos Dedos (EDL)

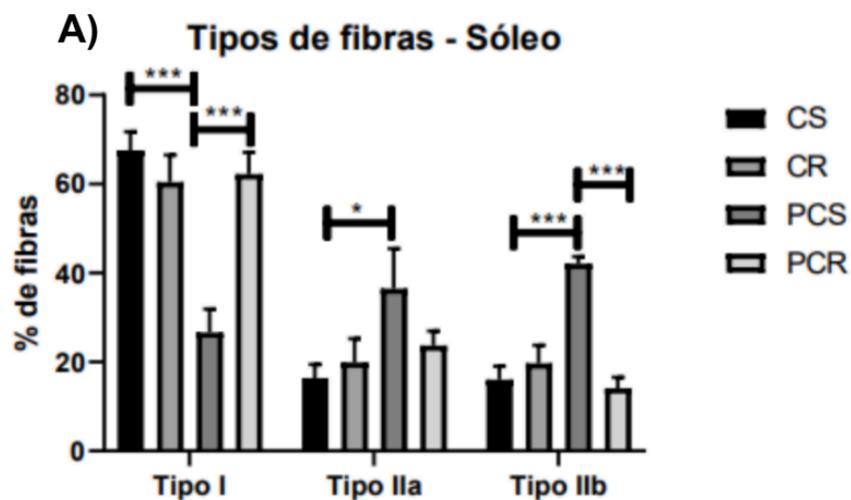


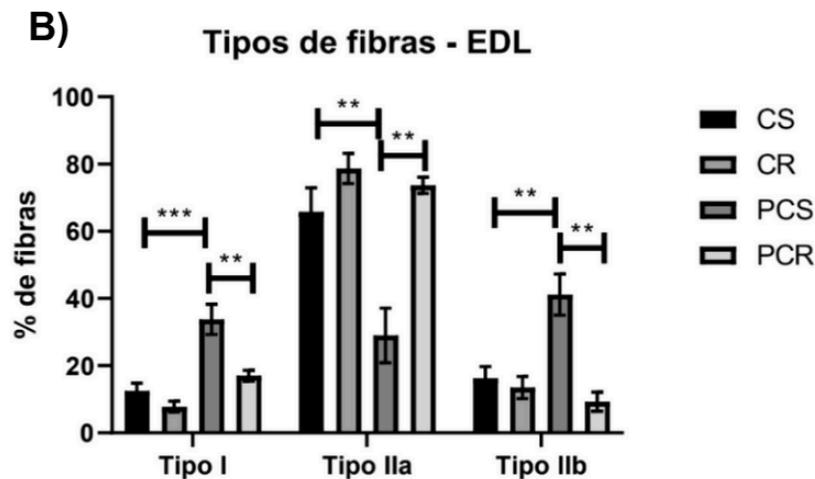
**Figura 4:** Área e Perímetro realizada no 29º dia após o nascimento, após a eutanásia dos grupos experimentais: Controle Salina (CS, n=10), Controle Resveratrol (CR, n=10), Paralisia Cerebral + Salina (PCS, n=10) e Paralisia Cerebral + Resveratrol (PCR, n=10). A) Área e perímetro do músculo sóleo B) Área e perímetro do EDL. Os dados foram expressos como média ± DP. ANOVA Two Way e teste post hoc de Tukey:

A área e perímetro muscular também foi afetado pela PC experimental, onde ambas as medidas se apresentaram reduzidas para os músculos sóleo e extensor longo dos dedos. Sendo assim, nas medidas do músculo sóleo, o grupo PCS apresentou redução da área ( $p < 0.0001$ ), como também a redução do perímetro ( $p < 0.0001$ ), comparado ao grupo CS (Figura A). De forma semelhante, a área e perímetro do músculo EDL também foi afetada. Dessa forma, o grupo PCS apresentou redução da área e do perímetro muscular em comparação com o grupo CS ( $p < 0.0001$ ). . Adicionalmente, o grupo PCR apresentou um aumento no perímetro do músculo EDL em comparação com o grupo PCS ( $p < 0.0232$ ).

A PC experimental provocou uma redução da área e do perímetro, visto que lesões cerebrais ocorridas durante o desenvolvimento precoce podem levar a desordem musculoesquelética. Contudo, o tratamento com Resveratrol em modelo de paralisia cerebral (PCR) levou ao aumento do perímetro do músculo EDL em comparação ao grupo PCS. O estudo evidenciou que a indução de PC promove uma atrofia muscular, como previsto por Marcuzzo et al. (2009). Entretanto, o resveratrol, através de seus efeitos protetores, foi capaz de atenuar a atrofia das fibras musculares em modelos animais (Huang et al, 2020; Bai et al., 2020; Asami et al, 2018).

### 3.5 Tipos de fibras musculares do músculo sóleo e EDL





**Figura 5.** Tipos de Fibra Musculares realizada no 29º dia após o nascimento, após a eutanásia dos grupos experimentais: Controle Salina (CS, n=10), Controle Resveratrol (CR, n=10), Paralisia Cerebral + Salina (PCS, n=10) e Paralisia Cerebral + Resveratrol (PCR, n=10) A) Tipos de fibras musculares do músculo sóleo B) Tipos de fibras musculares do músculo extensor longo dos dedos (EDL). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP. ANOVA Two Way e teste post hoc de Tukey.

A análise dos tipos de fibra muscular no músculo sóleo demonstrou que o grupo PCS apresenta redução nas fibras musculares tipo I ( $p < 0.0001$ ) e aumento nas fibras musculares do tipo IIa ( $p < 0.0379$ ) e IIb ( $p < 0.004$ ) quando comparado ao grupo CS. Por outro lado, o grupo PCR apresentou um aumento nas fibras musculares tipo I em relação ao grupo PCS ( $p < 0.0001$ ). No que tange à análise do músculo EDL, o grupo PCS obteve um aumento do número de fibras do tipo I ( $p < 0.006$ ) e IIb ( $p < 0.0083$ ), e uma diminuição nas fibras IIa ( $p < 0.0088$ ), quando comparado ao grupo CS. Tal dano é esperado pela PC experimental, que provoca alterações nas fibras musculares. Por outro lado, o grupo PCR teve uma diminuição das fibras do tipo I ( $p < 0.0032$ ) e IIb ( $p < 0.0012$ ), e aumento no número de fibras do tipo IIa ( $p < 0.0012$ ), quando comparado ao grupo PCS.

#### 4. DISCUSSÃO

No presente estudo foi possível observar o fenótipo motor da PC, visto pela redução da evolução ponderal, diminuição de área, perímetro, força muscular, consumo alimentar e pela alteração das proporções dos tipos de fibras musculares. E a partir desses desfechos, o tratamento neonatal com resveratrol foi capaz de aumentar o peso corporal, o perímetro do músculo EDL, a força muscular, e

reorganizar o fenótipo muscular, além de promover uma tendência no aumento do consumo alimentar.

Os resultados deste estudo demonstram que lesões perinatais podem comprometer o crescimento dos animais, refletido pela menor evolução do peso corporal a partir do 8º dia de vida nos grupos submetidos ao modelo experimental de PC, em comparação aos grupos controles. Esses achados também foram evidenciados em pesquisas anteriores que investigaram a anóxia perinatal combinada à restrição sensório-motora, observando atrasos persistentes no desenvolvimento ponderal (Coq et al., 2016; Strata et al., 2004; Silva et al., 2016). A exposição contínua a fatores estressores, como a restrição sensório-motora aplicada neste estudo, dificultou a locomoção, podendo assim levar à redução da ingestão alimentar, uma vez que a PC experimental causa disfunções neuromusculoesqueléticas, dentre elas, no sistema estomatognático em estruturas envolvidas na mastigação e no comportamento alimentar. (Lacerda et al., 2017).

Assim, os insultos sofridos no período perinatal (anóxia e restrição sensório-motora) podem interferir no desenvolvimento somático, assim como verificaram Coq et al. (2016) e Strata et al. (2004), e que a anóxia perinatal associada à restrição sensório-motora provocou efeitos duradouros nos animais com a redução do peso corporal, embora não cause anorexia (Marti, et al 1994).

Além disso, conforme demonstrado por Pereira et al. (2021), a redução da musculatura do sóleo e EDL, aliada à perda de massa óssea na tíbia, compromete a locomoção, sugerindo que as alterações musculoesqueléticas podem afetar diretamente o comportamento alimentar dos animais e, conseqüentemente, seu crescimento. A administração de resveratrol demonstrou atenuar, a curto prazo, a perda de peso nos animais com PC experimental, evidente a partir do 21º dia de vida, quando comparados ao grupo não tratado. Entretanto, ainda há uma carência de estudos na literatura que avaliem os efeitos desse composto sobre esse desfecho específico em modelos de PC, o que torna esses achados particularmente relevantes.

Na esfera do consumo alimentar, a PC experimental provocou uma redução do consumo alimentar diário. Além disso, houve uma tendência de aumento do consumo alimentar nos animais PC submetidos ao tratamento com resveratrol, em comparação com os animais PC Salina. Observa-se prejuízos no comportamento

alimentar e no peso corporal advindos da PC, enquanto o resveratrol apresenta-se como um tratamento promissor nesses prejuízos.

Ademais, o seguinte estudo evidenciou que os animais PC têm uma diminuição no consumo alimentar devido à restrição sensoriomotora, que limita os movimentos dos animais, além da submissão a um estresse precoce. Estudos utilizando este modelo de PC que associa anóxia e restrição sensorio motora dos membros posteriores (Strata et al., 2004; Coq et al., 2008) mostram que os animais apresentam alterações estruturais e no desenvolvimento, devido à lesão no sistema nervoso central em maturação e manutenção da incapacidade motora. Ademais, os estudos mostram alterações no tônus muscular (Strata et al., 2004), desorganização na representação cortical dos membros inferiores no córtex somatossensorial (S1) (Coq et al., 2008), redução na atividade locomotora e coordenação motora (Pereira et al., 2021; Silva et al., 2016), prejuízos na mastigação (Lacerda et al., 2017), como também as habilidades motoras são prejudicadas, semelhantes às ocorridas em crianças com PC (Marcuzzo et al., 2010).

Dessa forma, o nosso estudo evidenciou que os animais PC têm uma redução no consumo alimentar devido a restrição sensoriomotora, que limita os movimentos dos animais. Além disso, a PC experimental provocou alterações nas fibras musculares, resultando em alterações do trofismo. Além disso, a atrofia muscular em modelo experimental não se restringe apenas aos músculos periféricos dos membros posteriores, como também pode afetar os músculos da mastigação, influenciando seu processo de alimentação e conseqüentemente afetando o ganho de massa muscular em diferentes regiões do corpo (Silva et al., 2016; Pereira et al., 2021; Lacerda et al., 2017; Lacerda et al. 2017b).

A fraqueza muscular é uma característica predominante na paralisia cerebral, associada a anormalidades musculoesqueléticas, como redução da espessura e volume muscular (Multani et al., 2019; Elder et al., 2003; Graham e Selber, 2003). No presente estudo, é possível observar que a atrofia muscular ou a redução da densidade óssea, ocorre devido à restrição sensorio-motora, bem como alterações na ingestão de alimentos, contribuído para esse resultado (Marcuzzo et al., 2010). Esses achados corroboram com estudos anteriores que associam a PC à atrofia muscular decorrente da restrição sensorio-motora imposta pela condição (Pereira et al., 2021; Marcuzzo et al., 2010; Stigger et al., 2011). Contudo, foi demonstrado que

os polifenóis têm um potencial efeito preventivo na atrofia músculo-esquelética (Salucci e Falcieri, 2020). Entre eles, o resveratrol mostrou benefícios na prevenção da atrofia muscular induzida por desnervação (Asami et al., 2018) e obesidade (Bai et al., 2020; Huang et al., 2019). Estudos na literatura, no entanto, são escassos em relação aos seus efeitos na atrofia muscular induzida por lesão cerebral precoce, como foi evidenciado no presente estudo. Observamos que o resveratrol foi capaz de reverter as mudanças no padrão de distribuição dos tipos de fibras musculares resultantes do modelo de PC experimental.

Além disso, os polifenóis são bem conhecidos por aumentar a força e a massa muscular, promovendo a diferenciação de células-tronco musculares e a biogênese mitocondrial e reduzindo a produção de peróxido de hidrogênio, bem como a inflamação nos músculos esqueléticos (Yadav et al., 2022). Sugerindo possíveis formas de ação do resveratrol no sistema musculoesquelético, o que pode explicar o aumento da força muscular em animais. Ademais, os efeitos promissores do resveratrol estão relacionados aos seus efeitos na expressão de genes relacionados ao desenvolvimento muscular (Pereira et al., 2021), reduzindo, dessa maneira, a intensidade do processo de atrofia causado através desse modelo. Esses achados reforçam o potencial neuroprotetor do resveratrol, que pode estar relacionado à sua atividade antioxidante. Seu mecanismo de ação pode envolver a preservação da integridade e do potencial da membrana mitocondrial interna, além da redução das espécies reativas de oxigênio, o que contribui para a modulação da resposta inflamatória desencadeada pelo modelo de PC (Arteaga et al., 2015).

Na perspectiva de alterações musculoesqueléticas, o padrão de distribuição de tipos de fibras também foram prejudicados pelo PC experimental. Todavia, a quantidade de fibras é variável para cada músculo, com a população de fibras puras e híbridas juntas, influenciando na dinâmica do tecido. Por sua vez, o músculo sóleo é conhecido pela manutenção postural, com uma resistência à fadiga característica que consiste no fenótipo predominantemente em fibras do tipo I (contração lenta), ao contrário do músculo EDL, que é composto de fibras do tipo II (contração rápida) e é menos resistente à fadiga durante o seu recrutamento (Komiya et al., 2017; Schiaffino e Reggiani, 2011). Animais PC apresentaram inversão desse padrão de distribuição das fibras musculares. O grupo PCS apresentou fibras musculares tipo I diminuídas no sóleo e aumentados no EDL, e tipo II estavam aumentados no sóleo

e diminuídos no EDL. Alterações neuromusculares nesse modelo de PC são associadas à diminuição da atividade muscular devido à imobilização, justificando as alterações nos tipos de fibras do músculo sóleo e EDL.

No entanto, o resveratrol foi capaz de reverter as alterações no padrão de distribuição dos tipos de fibras musculares causados pela PC experimental, indicando que sua atuação pode estar relacionada a mecanismos de plasticidade muscular, em vez de um efeito direto no ganho de massa muscular. Esse achado sugere que o resveratrol pode modular a resposta adaptativa do tecido muscular à condição patológica, o que pode ter implicações importantes para futuras terapias voltadas à manutenção da função muscular na PC.

Assim, o fenótipo definitivo de uma fibra muscular esquelética adulta é o resultado de eventos que começam no embrião e são continuamente modulados e refinados ao longo da vida do organismo (Stockdale, 1992). Estudos mostraram que agressões ambientais, como a desnutrição durante os períodos críticos do desenvolvimento, modificam o fenótipo muscular e as propriedades biomecânicas do músculo em curto e longo prazo (Toscano et al., 2008; Toscano et al., 2010; Aragão et al., 2014; Ferraz-Pereira et al., 2015), com diminuição da quantidade e proporções de fibras musculares (Toscano et al., 2008). As mudanças diminuem a massa do músculo devido à redução da quantidade de miofibrilas e redução de fibras por músculo, causando hipotrofia (Lara, 2003). Além disso, os nervos motores têm um alto potencial para influenciar a composição e propriedades dos elementos funcionais do músculo, que é a fibra muscular, com o mecanismo de reinervação, sendo um resultado chave para a plasticidade muscular (Pette, 2002; Bassel-duby e Olson, 2006). Portanto, a distorção no padrão de tipagem das fibras musculares pode ser uma forma de adaptação muscular à demanda funcional atual, podendo estar relacionado à resistência limitada à fadiga. Nosso resultado corrobora outros estudos que utilizaram o mesmo modelo de PC (Pereira et al., 2021; Marcuzzo et al., 2010). De forma original, os resultados preliminares evidenciam que o tratamento neonatal como o resveratrol atenuou a curto prazo os danos no sistema neuromusculoesquelético. Assim, propomos que estudos futuros sejam desenvolvidos para esclarecer a atuação do resveratrol em sistemas adjacentes, como também os mecanismos moleculares e bioquímicos pelos quais o resveratrol exerce efeitos benéficos no sistema nervoso de animais saudáveis. No

entanto, uma limitação importante deste estudo foi a impossibilidade de avaliar os efeitos a longo prazo do resveratrol, uma vez que decorreu no período neonatal.

## 6. Financiamentos

Este projeto foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES)—Finance Code 001' and the French National Research Agency (ANR-19-CE14-0017-01, Project BONTO-19) for financial support.

## 7. Referências

Agrawal AA (2001). Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* 294: 321–326.

Arteaga, O., et al., 2015. Pretreatment with Resveratrol Prevents Neuronal Injury and Cognitive Deficits Induced by Perinatal Hypoxia-Ischemia in Rats. *PLoS One*. 6;10 (11), e0142424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142424>.

Asami Y, Aizawa M, Kinoshita M, Ishikawa J, Sakuma K. Resveratrol attenuates denervation-induced muscle atrophy due to the blockade of atrogen-1 and p62 accumulation. *Int J Med Sci* 2018; 15(6):628-637. doi:10.7150/ijms.22723. <https://www.medsci.org/v15p0628.htm>

Bai, Chyi-Huey<sup>1</sup>; Alizargar, Javad<sup>2</sup>; Peng, Ching-Yi<sup>3</sup>; Wu, Jia-Ping<sup>2,\*</sup>. Combination of Exercise Training and Resveratrol Attenuates Obese Sarcopenia in Skeletal Muscle Atrophy. *Chinese Journal of Physiology* 63(3):p 101-112, May–Jun 2020. | DOI: 10.4103/CJP.CJP\_95\_19

Bassel-Duby, R.; Olson, E. N. Signaling Pathways in Skeletal Muscle Remodeling. *Annual Review of Biochemistry*, v. 75, p. 19–37, 2006.

Bastianetto, S., Ménard, C., Quirion, R., 2014. Neuroprotective action of resveratrol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1852 (6), 1195-1201. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.09.011>.

Bax, M., et al., 2005. Executive Committee for the Definition of Cerebral Palsy. Proposed definition and classification of cerebral palsy, April 2005. *Dev Med Child Neurol.* 47 (8), 571-6. <https://doi.org/10.1017/s001216220500112x>.

Brandenburg, J. E.; Fogarty, M. J.; Sieck, G. C. A Critical Evaluation of Current Concepts in Cerebral Palsy. *Physiology (Bethesda, Md.)*, v. 34, n. 3, p. 216–229, 2019.

Blundell JE, Goodson S, Halford JC. Regulation of appetite: role of leptin in signalling systems for drive and satiety. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001 May;25 Suppl 1:S29-34. doi: 10.1038/sj.ijo.0801693. PMID: 11466583.

Coq, J.O., et al. 2008. Impact of neonatal asphyxia and hind limb immobilization on musculoskeletal tissues and S1 map organization: implications for cerebral palsy. *Exp Neurol.* 210 (1), 95-108. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.10.006>.

Coq, J.O., et al., 2016. Prenatal ischemia deteriorates white matter, brain organization, and function: implications for prematurity and cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol.* 4 (4), 7-11. <https://doi.org/10.1111/dmcn.13040>.

Da Conceição Pereira S., et al., 2021. Locomotion is impacted differently according to the perinatal brain injury model: Meta-analysis of preclinical studies with implications for cerebral palsy. *J Neurosci Methods.* 360, 109250. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2021.109250>.

Elder, G.C.B., Kirk, J., Stewart, G., Cook, K., Weir, D., Marshall, A., Leahey, L., 2003. Contributing factors to muscle weakness in children with cerebral palsy. *Dev. Med. Child Neurol.* 5, 542–550. <https://doi.org/10.1017/s0012162203000999>.

Graham, H.K., Selber, P., 2003. Musculoskeletal aspects of cerebral palsy. *J. Bone Joint Surg. Br.* 85 (2), 157–166. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.85b2.14066>.

Granja MG, Alves LP, Leardini-Tristão M, Saul ME, Bortoni LC, de Moraes FM, et al. (2021) Inflammatory, synaptic, motor, and behavioral alterations induced by gestational sepsis on the off- spring at different stages of life. *J Neuroinflammation*

[Internet]. 18(1):60. Available from: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-021-02106-1>

Girbovan, C., Plamondon, H., 2015. Resveratrol downregulates type-1 glutamate transporter expression and microglia activation in the hippocampus following cerebral ischemia reperfusion in rats. *Brain Research*, 1608, 203-214. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.02.038>.

Gulati, S., Sondhi, V., 2018. Cerebral Palsy: An Overview. *Indian J Pediatr*. 85 (11), 1006-1016. <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2475-1>.

Herrera MI, Udovin LD, Toro-Urrego N, Kusnier CF, Luaces JP, Capani F (2018) Palmitoylethanolamide ameliorates hippocampal damage and behavioral dysfunction after perinatal asphyxia in the immature rat brain. *Front Neurosci* [Internet]. 12(MAR):1–13. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2018.00145/full>

Huang Y, Zhu X, Chen K, Lang H, Zhang Y, Hou P, Ran L, Zhou M, Zheng J, Yi L, Mi M, Zhang Q. Resveratrol prevents sarcopenic obesity by reversing mitochondrial dysfunction and oxidative stress via the PKA/LKB1/AMPK pathway. *Aging (Albany NY)*. 2019 Apr 15; 11:2217-2240 . <https://doi.org/10.18632/aging.101910>

Juul, S.E., Ferriero, D.M., 2014. Pharmacologic neuroprotective strategies in neonatal brain injury. *Clin Perinatol*. 41 (1), 119-31. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2013.09.004>.

Kelly, S.A., Panhuis, T.M., Stoehr, A.M., 2012. Phenotypic plasticity: molecular mechanisms and adaptive significance. *Comprehensive Physiology* 2 (1), 1417-1439. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110008>.

Krigger, K.W., 2006. Cerebral palsy: an overview. *Am Fam Physician*. 73 (1), 91-100. PMID: 16417071.

Komiya Y et al. Mouse soleus (slow) muscle shows greater intramyocellular lipid droplet accumulation than EDL (fast) muscle: fiber type-specific analysis. *J Muscle Res Cell Motil*. Springer International, v. 38, n. 2, p. 163–73, 2017.

Lacerda, D.C., et al., 2017. Oro-facial functions in experimental models of cerebral

palsy: a systematic review. *J Oral Rehabil.* 44 (4), 251-260. <https://doi.org/10.1111/joor.12489>.

Lacerda, D.C., et al., 2017b. Perinatal undernutrition associated to experimental model of cerebral palsy increases adverse effects on chewing in young rats. *Physiol Behav.* 173, 69-78. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.01.043>.

Lara, M. A. P. (2003). *Algumas propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a um modelo de hipoatividade e tratada com exercício*. Dissertação de Mestrado, Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos. doi:10.11606/D.82.2003.tde-22042004-105001.

Maenner, M. J. et al. Prevalence of cerebral palsy and intellectual disability among children identified in two U.S. National Surveys, 2011–2013. *Ann Epidemiol.*, v. 26, n. 3, p. 222–226, 2016.

Marcuzzo, S., et al., 2010. Different effects of anoxia and hind-limb immobilization on sensorimotor development and cell numbers in the somatosensory cortex in rats. *Brain Dev.* 32 (4), 323-31. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2009.04.016>.

Marti, O., Marti, J. and Armario, A. (1994) Effects of Chronic Stress on Food Intake in Rats: Influence of Stressor Intensity and Duration of Daily Exposure. *Physiology & Behavior*, 55, 747-753. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90055-8](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9384(94)90055-8)

Multani, I., Manji, J., Tang, M.J., Howard, J.J., Graham, H.K., 2019. Sarcopenia, cerebral palsy, and botulinum toxin type A. *JBJS Reviews* 0 (8), 1–10. <https://doi.org/10.2106/JBJS.RVW.18.00153>.

Novak, I., Morgan, C., Fahey, M., Finch-Edmondson, M., Galea, C., Hines, A., Langdon, K., Namara, M. M., Paton, M. C., Popat, H., Shore, B., Khamis, A., Stanton, E., Finemore, O. P., Tricks, A., te Velde, A., Dark, L., Morton, N., & Badawi, N. (2020). State of the Evidence Traffic Lights 2019: Systematic Review of Interventions for Preventing and Treating Children with Cerebral Palsy. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 20(2). <https://doi.org/10.1007/s11910-020-1022-z>

Oskoui, M., et al., 2013. An update on the prevalence of cerebral palsy: a systematic

review and meta-analysis. *Dev Med Child Neurol.* 55 (6), 509-19. <https://doi.org/10.1111/dmncn.12080>.

Pan, S., et al., 2016. Resveratrol post-treatment protects against neonatal brain injury after hypoxia-ischemia. *Oncotarget.* 7 (48), 79247-79261. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13018>.

Park, sung-jun., et al. Resveratrol Ameliorates Aging-Related Metabolic Phenotypes by Inhibiting cAMP Phosphodiesterases. *Cell*, 03 fev 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.017>

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, dez. 2020.

Pereira, S.D.C., et., 2021. Fibroblast growth factor 19 as a countermeasure to muscle and locomotion dysfunctions in experimental cerebral palsy. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 12 (6), 2122-2133. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12819>.

Pette, D. The Adaptive Potencial of Sketal Muscle Fibers. *J. Appl. Physiol.*, v. 27, p. 423–448, 2002.

Rosenbaum, P., Paneth, N., Leviton, A., Goldstein, M., Bax, M., Colver, A., et al., 2007. The definition and classification of cerebral Palsy contents foreword historical perspective definition and classification document. *Dev. Med. Child Neurol.* 49 (109), 1–44.

Salucci S, Falcieri E. Polyphenols and their potential role in preventing skeletal muscle atrophy. *Nutr Res.* 2020 Feb;74:10-22. doi: 10.1016/j.nutres.2019.11.004. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31895993.

Schiaffino, S.; Reggiani, C. Fiber Types In Mammalian Skeletal Muscles. *Physiol Rev*, v. 91, p. 1447–1531, 2011.

Stigger, F., et al., 2011. 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. *Exp Neurol.* 228 (2), 183-91. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.01.001>.

Strata, F., et al., 2004. Effects of sensorimotor restriction and anoxia on gait and motor cortex organization: implications for a rodent model of cerebral palsy. *Neuroscience*. 129 (1), 141-56. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.07.024>.

Sewell, M.D., Eastwood, D.M., Wimalasundera, N., 2014. Managing common symptoms of cerebral palsy in children. *BMJ*. 349, g5474. <https://doi.org/10.1136/bmj.g5474>.

Silva, K.O., et al., 2016. Effects of maternal low-protein diet on parameters of locomotor activity in a rat model of cerebral palsy. *Int J Dev Neurosci*. 52 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.05.002>.

Stockdale, F. Myogenic Cell Lineages. *Developmental Biology*, v. 154, p. 284–298, 1992.

Takeshita H, Yamamoto K, Nozato S, Inagaki T, Tsuchimochi H, Shirai M, Yamamoto R, Imaizumi Y, Hongyo K, Yokoyama S, Takeda M, Oguro R, Takami Y, Itoh N, Takeya Y, Sugimoto K, Fukada SI, Rakugi H. Modified forelimb grip strength test detects aging-associated physiological decline in skeletal muscle function in male mice. *Sci Rep*. 2017 Feb 8;7:42323. doi: 10.1038/srep42323. PMID: 28176863; PMCID: PMC5296723.

Toscano, A.E., Manhães-de-Castro, R., Canon, F., 2008. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. *Nutrition*. 24 (3), 270-8. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2007.12.004>.

Toscano, A. E. et al. Passive stiffness of rat skeletal muscle undernourished during fetal development. *Clinics*, v. 65, n. 12, p. 1363–1369, 2010.

Vitrikas, K., et al. Cerebral Palsy: An Overview. **Am Fam Physician**, Feb 15;101(4):213-220. 2020.

Yadav, M. K., Kumari, I., Singh, B., Sharma, K. K., & Tiwari, S. K. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(2), 505-521. PMID:35015145. <http://doi.org/10.1007/s00253-021-11646-8>

# APÊNDICES

## Apêndice A - ficha de avaliação dos animais

Identificação do animal: \_\_\_\_\_ Sexo: macho Identificação da mãe: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: / /

Grupo experimental:

- Controle Veiculo +
- Controle Resveratrol
- Paralisia cerebral Salina
- Paralisia Cerebral Resveratrol

### PESO CORPORAL

P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25
P26	P27	P28	P29									

### CONSUMO ALIMENTAR

	P25	P226	P27	P28	P29	Consumo total
Peso da dieta						

### GRIP

	P22	P28
1 ° Tentativa		
2 ° Tentativa		
3 ° Tentativa		

## Anexo A - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA E USO DE ANIMAIS



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biotécnicas  
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-400 / Recife - PE - Brasil  
Fones: 2226 8842  
ceua@ufpe.br

Recife, 05 de maio de 2020

Ofício nº 16/20

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE  
Para: Prof. Ana Elisa Toscano Meneses da Silva de Castro  
Centro Acadêmico de Vitória  
processo nº0009/20

Certificamos que a proposta intitulada " Efeitos do tratamento com resveratrol e/ou com o fator de crescimento de fibroblastos 19 sobre o sistema neuro-músculo-esquelético de ratos submetidos à paralisia cerebral" , registrado com o nº0009/20 sob a responsabilidade da Prof. Ana Elisa Toscano Meneses da Silva de Castro o 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 28/04/2020

Finalidade	( ) Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	05/05/2020 à 28/02/2024
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico Wistar
Nº de animais	165 wistar
Peso/Idade	220-250g 90-120 dias/ 5-80g 1-29 dias, Adultos e neonatos
Sexo	Fêmeas = 30 e Machos = 15 e 120 neonatos machos.
Origem: Biotério de Criação	Biotério de criação do Departamento de Nutrição da UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de criação do Departamento de Nutrição da UFPE.

Atenciosamente



Prof. Sebastião R. F. Silva  
-Presidente CEUA/UFPE  
SIAPE 2343391