



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

ANA VANUIRE ROMBI

**PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS ATENUAM EFEITOS CRÔNICOS
DO TABAGISMO PASSIVO EM PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS
EM RATOS: UM ESTUDO ALEATORIZADO E CONTROLADO**

Presidente Prudente - SP
2019

ANA VANUIRE ROMBI

**PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS ATENUAM EFEITOS CRÔNICOS
DO TABAGISMO PASSIVO EM PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS
EM RATOS: UM ESTUDO ALEATORIZADO E CONTROLADO**

Defesa de Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Área de concentração: Fisiopatologia animal.

Orientador:
Prof. Dr. Hermann Bremer Neto

636.089 986 5 Rombi, Ana Vanuire.
R762p Probióticos, prebióticos e simbióticos atenuam efeitos crônicos do tabagismo passivo em parâmetros fisiológicos e bioquímicos em ratos: um estudo aleatorizado e controlado / Ana Vanuire Rombi. – Presidente Prudente, 2019.
57f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2019.
Bibliografia.
Orientador: Hermann Bremer Neto

1. Fumaça do cigarro. 2. Alimentos funcionais. 3. Toxicologia. I. Título.

ANA VANUIRE ROMBI

PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS ATENUAM EFEITOS CRÔNICOS DO TABAGISMO PASSIVO EM PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM RATOS: UM ESTUDO ALEATORIZADO E CONTROLADO

Defesa de Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Área de concentração: Fisiopatologia animal.

Presidente Prudente, 28 de Março de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hermann Bremer Neto
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Osimar de Carvalho Sanches
Universidade de Santo Amaro – UNISA
São Paulo - SP

Prof. Dra. Rogéria Keller
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus, pois sem o dom da minha vida não teria realizado este trabalho, e com minha fé superei muitas barreiras que achei serem impossíveis.

Aos meus pais que sempre acreditaram em mim, e sempre me apoiaram nos sonhos que almejo, e fazem o impossível para me ajudar a concretizá-los.

À minha vó que mesmo sem ter qualquer estudo, sempre me guiou para que eu seguisse trilhar o caminho do bem, da humildade, da honestidade e me ensinando a viver a vida da melhor forma de acordo com sua experiência de vida.

Dedico também ao meu namorado, Vinícius, que teve grande participação nesta realização, me ajudando em todos os sentidos, e nunca desistiu de mim.

À minha sogra e ao meu sogro que sempre esteve á disposição para tirar minhas dúvidas, pois sendo eles professores não poderia me espelhar em outras pessoas, pois estou trilhando para a mesma profissão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e meus anjos da guarda, por cuidar sempre de mim todos os dias da minha vida. Pois peguei muita estrada durante esses dois anos.

Agradeço a minha família que sempre esteve ao meu lado, e nunca me desampararam. Sempre me deram força para conquistar meus objetivos e me auxiliaram nas situações difíceis.

Aos meus tios, Iraci e Valdemar, que me acolheram como uma filha em sua casa.

Ao Marcos que teve total contribuição nesta pesquisa, e sempre foi muito prestativo e paciente para comigo.

E ao Prof. Dr. Hermann Bremer Neto, meu orientador, o meu reconhecimento pela oportunidade de realizar este trabalho ao lado de uma pessoa tão sábia, meu respeito e admiração e honra por ter sido sua orientada.

E por fim a todos os colegas e amigos que pude fazer durante esses anos que estive no mestrado.

*“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação.
Mas se você não fizer nada, não existirão resultados”.*

Mahatma Gandhi

RESUMO

Probióticos, prebióticos e simbióticos atenuam efeitos crônicos do tabagismo passivo em parâmetros fisiológicos e bioquímicos em ratos: um estudo aleatorizado e controlado

Este estudo examinou os efeitos protetores dos alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e simbiótico, contra a toxicidade crônica induzida pela fumaça de cigarro no rato. Noventa e seis ratos machos jovens foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos (n = 12): controle (C), dieta basal (DB); probiótico (Pro), DB + probiótico; prebiótico (Pre), DB + prebiótico; simbiótico (Sym), DB + probiótico + prebiótico; tabagismo controle (CT), DB + protocolo de exposição ao tabagismo passivo (PT); tabagismo probiótico (ProT), Pro + PT; tabagismo prebiótico (PreT), Pre + PT; e tabagismo simbiótico (SymT), Sym + PT. Após o período experimental de 189 dias os animais foram anestesiados, colhidas amostras de sangue e eutanasiados. Os resultados foram submetidos à análise da normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, seguido do teste ANOVA one-way, com contrastes pelo método de Tukey (P<0,05). Observamos uma atenuação significativa dos efeitos deletérios da exposição dos ratos a fumaça do cigarro em relação ao ganho de peso e suplementados com alimentos funcionais. Houve também uma acentuada melhora nos valores médios das enzimas hepáticas (ALT, AST, GGT E FA), aumento nos níveis de proteínas séricas (albumina e globulinas). A média do nível sanguíneo da glicemia foi atenuado pelos alimentos funcionais e exposição crônica a fumaça do cigarro, diminuindo riscos de diabetes e por fim nos valores de uréia e creatinina também foi observada uma atenuação os efeitos tóxicos da fumaça do cigarro evitando possíveis riscos de doenças relacionadas ao rim. Concluímos que alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e simbiótico, atenuam os efeitos deletérios nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos de ratos expostos cronicamente fumaça do cigarro.

Palavras chave: fumaça do cigarro, alimentos funcionais, fígado, rim, toxicologia.

ABSTRACT

Probiotics, prebiotics and symbiotics attack chronic effects of passive tobacco in physiological and biochemical parameters in rats: a randomized and controlled study

This study examined the protective effects of functional, probiotic, prebiotic and symbiotic foods against chronic cigarette smoke-induced toxicity in rats. Ninety-six young male rats were randomly assigned to eight groups (n = 12): control (C), basal diet (DB); probiotic (Pro), DB + probiotic; prebiotic (Pre), DB + prebiotic; symbiotic (Sym), DB + probiotic + prebiotic; control smoking (TC), DB + passive smoking exposure protocol (PT); probiotic smoking (ProT), Pro + PT; prebiotic smoking (PreT), Pre + PT; and symbiotic smoking (SymT), Sym + PT. After the experimental period of 189 days the animals were anesthetized, blood samples were collected and euthanized. The results were submitted to normality analysis by the Shapiro Wilk test, followed by the one-way ANOVA test, with contrasts by the Tukey method ($P < 0.05$). We observed a significant attenuation of the deleterious effects of rat exposure to cigarette smoke in relation to weight gain and supplemented with functional foods. There was also a marked improvement in liver enzyme mean values (ALT, AST, GGT, and FA), and increased serum protein levels (albumin and globulins). The mean blood glucose level was attenuated by functional foods and chronic exposure to cigarette smoke, decreasing risks of diabetes and finally the values of urea and creatinine was also observed attenuating the toxic effects of cigarette smoke avoiding possible risk of disease. related to the kidney. We conclude that functional, probiotic, prebiotic and symbiotic foods attenuate the deleterious effects on physiological and biochemical parameters of rats chronically exposed to cigarette smoke.

Keywords: cigarette smoke, functional foods, liver, kidney, toxicology.

SUMÁRIO

1 ARTIGO.....	10
ANEXO A.....	50
ANEXO B.....	51

1 **Probióticos, prebióticos e simbióticos atenuam efeitos crônicos do tabagismo passivo em**
2 **parâmetros fisiológicos e bioquímicos em ratos: um estudo aleatorizado e controlado**

3

4 **Ana Vanuire Rombi¹; Júlia Belone Lopes²; Bruna Lutti Ortiz²; Heliard Rodrigues dos**
5 **Santos Caetano; Marcos Natal Rufino¹; Osimar de Carvalho Sanches³ ; Hermann**
6 **Bremer-Neto¹**

7

8 **RESUMO**

9 Este estudo examinou os efeitos protetores dos alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e
10 simbiótico, contra a toxicidade crônica induzida pela fumaça de cigarro no rato. Noventa e
11 seis ratos machos jovens foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos (n = 12): controle
12 (C), dieta basal (DB); probiótico (Pro), DB + probiótico; prebiótico (Pre), DB + prebiótico;
13 simbiótico (Sym), DB + probiótico + prebiótico; tabagismo controle (CT), DB + protocolo de
14 exposição ao tabagismo passivo (PT); tabagismo probiótico (ProT), Pro + PT; tabagismo
15 prebiótico (PreT), Pre + PT; e tabagismo simbiótico (SymT), Sym + PT. Após o período
16 experimental de 189 dias os animais foram anestesiados, colhidas amostras de sangue e
17 eutanasiados. Os resultados foram submetidos à análise da normalidade pelo teste de Shapiro
18 Wilk, seguido do teste ANOVA one-way, com contrastes pelo método de Tukey (P<0,05).
19 Observamos uma atenuação significativa dos efeitos deletérios da exposição dos ratos a
20 fumaça do cigarro em relação ao ganho de peso e suplementados com alimentos funcionais.
21 Houve também uma acentuada melhora nos valores médios das enzimas hepáticas (ALT,
22 AST, GGT E FA), aumento nos níveis de proteínas séricas (albumina e globulinas). A média
23 do nível sanguíneo da glicemia foi atenuado pelos alimentos funcionais e exposição crônica a

¹ Graduando da Medicina, Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente – SP, Brasil.

² Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina; Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente – SP, Brasil.

³ Universidade de Santo Amaro – UNISA; Mestrado e Bem Estar Animal, SP – Brasil.

1 fumaça do cigarro, diminuindo riscos de diabetes e por fim nos valores de uréia e creatinina
2 também foi observada uma atenuação os efeitos tóxicos da fumaça do cigarro evitando
3 possíveis riscos de doenças relacionadas ao rim. Concluimos que alimentos funcionais,
4 probiótico, prebiótico e simbiótico, atenuam os efeitos deletérios nos parâmetros fisiológicos
5 e bioquímicos de ratos expostos cronicamente fumaça do cigarro.

6 **Palavras chave:** fumaça do cigarro, alimentos funcionais, fígado, rim, toxicologia.

7

8 **ABSTRACT**

9 **Keywords:** cigarette smoke, functional foods, liver, kidney, toxicology.

10 **INTRODUÇÃO**

11

12 A fumaça do tabaco é uma mistura dinâmica (FRICKER et al., 2018) e reativa
13 contendo cerca de 5.000 substâncias químicas (NAGAIE et al., 2014). e uma das principais
14 causas de doenças evitáveis e que pode causar diversas infecções em todo corpo devido aos
15 efeitos tóxicos da fumaça do cigarro tanto em humano, quanto em modelos animais
16 (FELDMAN; ANDERSON, 2013). Tabagismo passivo é a inalação da fumaça de derivados
17 do tabaco por indivíduos não fumantes e em ambientes fechados e respirando as mesmas
18 substâncias tóxicas que o fumante inala (BENTO, 2018).

19 Existem fortes evidências de que as trocas gasosas devido à exposição crônica à
20 fumaça do cigarro causam diminuição da oferta de oxigênio em nível intestinal e sistêmico,
21 levando o crescimento de novos vasos sanguíneos (angiogênese), disfunção da barreira
22 epitelial do trato gastrointestinal (TGI), nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e aumentando o risco
23 de desenvolver doenças (FRICKER et al., 2018; OKAMOTO et al., 2018). Os efeitos
24 deletérios da exposição à fumaça de cigarro causam também alterações nos parâmetros
25 fisiológicos (ganho e perda de peso) (COSTA; SANTOS; PAIVA, 2014; MIRI-

1 MOGHADDAM et al., 2014), nutricionais (EL.GOLLI et al., 2016; RUPPRECHT et al.,
2 2016) e bioquímicos: colesterol total, HDL, LDL, triglicerídeos (MCMURRAY; HICKS;
3 THOMPSON, 1985), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST),
4 fosfatase alcalina (FA) (ALSALHEN; ABDALSALAM, 2014), proteínas totais (PHILLIPS et
5 al., 2017), glicose (LÓPEZ ZUBIZARRETA et al., 2017), uréia e creatinina (DESAI et al.,
6 2016).

7 Em murinos e humanos, a exposição a agentes deletérios e à fumaça do cigarro
8 demonstrou causar estresse oxidativo e esse efeito foi atenuado pela suplementação de
9 alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e simbiótico, devido aos papéis antiinflamatório,
10 imunomodulador e antioxidante (BEZERRA et al., 2015; GEORGE KERRY et al., 2018;
11 GIBSON et al., 2017; HAMED et al., 2018; HILL et al., 2014; YOUNAN et al., 2018).
12 Obviamente seria interessante se esses alimentos funcionais pudessem ser recomendados para
13 outras finalidades que não a prevenção de doenças pulmonares, entretanto, existem evidências
14 empíricas insuficientes em relação aos parâmetros fisiológicos e bioquímicos. Nesse sentido
15 este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos dos alimentos funcionais, probióticos,
16 prebióticos e simbióticos, suplementados na dieta de ratos jovens expostos cronicamente a
17 fumaça de cigarro, em relação aos parâmetros fisiológicos e bioquímicos.

18

19 **MATERIAL E MÉTODOS**

20 **Animais e cuidados**

21 O estudo foi conduzido em conformidade com os princípios éticos da Declaração
22 Universal dos Direitos Animais da Organização das Nações Unidas para a Educação, a
23 Ciência e a Cultura (UNESCO) e o protocolo do estudo foi aprovado pelo Comissão de Ética
24 no Uso de Animais, sob o protocolo nº 3575, da Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE,
25 Brazil.

1 Noventa e seis ratos Wistar machos jovens (*Rattus norvegicus albinus*), 21 dias de
2 idade, massa corpórea inicial média de $43,1 \pm 3,2$ g foram alojados em gaiolas individuais,
3 com ciclos de 12h de luz/12h escuro a $23 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade $57 \pm 9\%$ e média de trocas de ar de
4 15 trocas/hora. As dietas e água potável da torneira foram fornecidas à vontade, exceto
5 durante os períodos de exposição.

6 A ocultação da alocação, a estratégia de manejo e tratamentos dos grupos de animais
7 foram realizadas para reduzir o viés no estudo (MA et al., 2017). O experimento durou 189
8 dias, com 5 dias de adaptação e 184 dias de estratégia de manejo experimental, exposição à
9 fumaça de cigarro e alimentação com as dietas controle e experimentais (Figura 1).

10

11 **Desenho Experimental**

12 Os animais foram agrupados por meio de uma tabela de sequências numéricas
13 aleatórias geradas pelo programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016) e distribuídos
14 em oito grupos experimentais (n=12). Metade dos grupos experimentais foram submetidos a
15 protocolo de exposição à fumaça de cigarro e alimentados com as dietas: controle; probiótico;
16 prebiótico; e simbiótico (respectivamente grupos CT, ProbT, PrebT e SymbT). Os grupos não
17 submetidos ao protocolo de exposição à fumaça de cigarro e alimentados com as dietas
18 controle e experimentais compuseram os grupos C, Prob, Preb e Symb. As dietas controle e
19 experimentais foram formuladas para atender às necessidades nutricionais dos ratos
20 (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1995) e estão dispostas na Tabela 1. Os parâmetros
21 fisiológicos (peso corpóreo inicial, peso corpóreo final e ganho de peso), foram mensurados
22 semanalmente.

23

24 **Cigarro e geração da fumaça**

1 No período de adaptação e experimental a exposição à fumaça de cigarro, foram
2 utilizados cigarros de marca comercial (Tabacalera del Este S.A., Hernandarias, Paraguai). As
3 concentrações médias de alcatrão, nicotina e CO de $10,2 \pm 0,1$ mg/cigarro, $0,8 \pm 0,0$
4 mg/cigarro de nicotina e $10,1 \pm 0,1$ mg/cigarro de monóxido de carbono foram determinados
5 conforme Renne et al. (2006). Os métodos de condicionamento a exposição e geração de
6 fumaça foram realizados conforme descritos por Tsuji et al. (2013).

7

8 **Caracterização da atmosfera de exposição à fumaça**

9 As concentrações de material particulado total úmido (WTPM) e monóxido de
10 carbono (CO) foram monitoradas via monitor de aerossol em tempo real (RAM; Microdust,
11 Pro; Casella, Amherst, NH, EUA) e monitor de CO (TxiPro® - BioSystems Diagnostics Pvt.
12 Ltd., EUA). O coeficiente de variação (% CV) da concentração de exposição (WTPM) estava
13 na faixa de $\pm 10\%$ por análise gravimétrica com uso do filtro de fibra de vidro Cambridge 47
14 mm (Performance Systematix Inc., Grand Rapids, MI, EUA). As concentrações reais médias
15 de exposição foram calculadas a partir da massa coletada nos filtros e o volume total de ar
16 extraído pelos filtros (TSUJI et al., 2013). A temperatura e a umidade da atmosfera de exposição
17 foram medidas diariamente usando detector de umidade/temperatura (Hygrotherm, Qualitäts-
18 Erzeugnis, TFA, Germany).

19

20 **Protocolo de exposição ao tabagismo passivo**

21 *Período de adaptação e experimental*

22 Durante cinco dias, período de adaptação, os animais dos grupos CT, ProbT, PrebT e
23 SymbT foram expostos 10 minutos por dia à fumaça do cigarro numa câmara, com
24 temperatura controlada de 22°C e os animais dos grupos C, Prob, Preb e Symb pelo mesmo
25 período sob ventilação forçada de ar. No período experimental, de 184 dias, os animais dos
26 grupos CT, ProbT, PrebT e SymbT foram expostos à fumaça de cigarro por 60 minutos

1 diários, sendo 30 minutos no período da manhã (7:00h) e 30 minutos no período da noite
2 (19:00h), cinco dias por semana. A concentração média da fumaça do cigarro foi ajustada
3 para conter 350 partes por milhão (ppm) de monóxido de carbono (CO) durante o período de
4 exposição (TxiPro[®] - BioSystems Diagnostics Pvt. Ltd., EUA) (KOZMA et al., 2014) e os
5 grupos C, Prob, Preb e Symb pelo mesmo período sob ventilação forçada de ar.

6

7 **Eutanásia e coleta de amostras**

8 Ao final do período experimental (210 dias de idade), todos os animais foram
9 pesados e anestesiados com uma dose de 30 mg Kg⁻¹ de peso vivo de Tiopental
10 (Thiopentax[®], Cristália - Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. - Brasil) por via
11 intraperitoneal. Após a anestesia foram colhidas amostras de sangue por punção cardíaca e os
12 ratos foram eutanasiados por exsanguinação (PAIVA; MAFFILI; SANTOS, 2005).

13

14 **Análises Bioquímicas**

15 Após o processamento das amostras de sangue, o soro e o plasma foram separados
16 para realização da avaliação da atividade enzimática [aspartato aminotransferase (AST),
17 alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA) e gama-glutamilttransferase (GGT) e
18 níveis séricos das proteínas totais, albumina, globulina. Foi dosado também colesterol total,
19 colesterol HDL, colesterol LDL, triglicerídeos para avaliação do perfil lipídico, uréia e
20 creatinina com intuito de avaliar a função renal e níveis plasmáticos de glicose. Todas as
21 dosagens foram realizadas utilizando o analisador automático BioPlus modelo Bio200F
22 (Bioplus Produtos para Laboratórios Ltda., Brasil) com reagentes da marca LabTest (Labtest
23 Diagnóstica S.A., Brasil) (SPINELLI et al., 2014).

24

25 **Análise Estatística**

1 Parâmetros fisiológicos e bioquímicos foram apresentados como média \pm erro padrão
2 e submetidos à análise da normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, em seguida foi empregado
3 o teste ANOVA *one-way*, com contrastes pelo método de Tukey. Todas as análises foram
4 realizadas no programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016). O nível de
5 significância adotado foi de 5%.

6

7 **RESULTADOS**

8 **Parâmetros fisiológicos**

9 A atmosfera de exposição à fumaça de cigarro foi bem controlada no estudo. Não
10 houve remoção devido à morte prematura ou condição que denotasse sofrimento após
11 exposição crônica à fumaça do cigarro ou a ventilação do ar. Imediatamente após a exposição,
12 os animais do grupo CT exibiram atividade locomotora diminuída, marcha atáxica, respiração
13 irregular, comportamento indicativo de náusea e ruído nasal. Esses sinais foram
14 repetidamente observados durante o período experimental, porém o ruído nasal permanecia
15 até o próximo período de exposição. Os grupos suplementados com alimentos funcionais e
16 expostos a fumaça do cigarro, ProbT, PrebT e SymbT, apresentaram uma discreta respiração
17 irregular e ruído nasal locomotora diminuída, marcha atáxica, comportamento indicativo de
18 náusea e ruído nasal.

19 A média do peso inicial dos ratos não diferiu significativamente entre os grupos
20 analisados ($P > 0,05$). O peso médio corporal foi reduzido em todos os grupos expostos à
21 fumaça de cigarro e nos grupos suplementados com alimentos funcionais essa redução foi
22 significativamente menor ($P < 0,05$). A média do peso dos grupos Prob e Preb foram menores
23 ($P < 0,05$) do que os grupos C e Symb (Figura 2).

24

25 **Perfil hepático**

1 As concentrações séricas das enzimas ALT, AST, FA e GGT foram maiores
2 ($P < 0,05$) no grupo CT em relação aos grupos ProT, PreT e SymbT. Os grupos C, Prob, Preb e
3 Symb não diferiram entre si ($P > 0,05$) (Tabela 2).

4

5 **Proteínas séricas**

6 As médias das proteínas séricas (proteínas totais, albumina e globulina) foram
7 menores no grupo CT em comparação com o grupo C ($P < 0,05$). Os resultados revelaram que
8 nos grupos expostos à fumaça do cigarro e suplementados com alimentos funcionais (ProbT,
9 PrebT e SymbT) os níveis médios destas proteínas foram significativamente maiores que o
10 grupo CT ($P < 0,05$). Os grupos C, Prob, Preb e Symb não diferiram entre si ($P > 0,05$) (Tabela
11 2).

12

13 **Perfil lipídico**

14 O nível de colesterol do grupo CT foi significativamente maior ($P < 0,05$) do que os
15 demais grupos. Os grupos ProbT, PrebT, SymbT, C e Prob não diferiram entre si ($P > 0,05$). Os
16 grupos Prob, Preb e Symb não diferiram entre si (Tabela 2).

17 O nível médio do colesterol HDL foi menor no grupo CT e não diferiu somente do
18 grupo ProT ($P > 0,05$). Os grupos C, Prob, Preb, Symb, ProbT, PreT e SymbT não diferiram
19 entre si ($P > 0,05$).

20 Os níveis de colesterol LDL e triglicerídeos do grupo CT se revelaram mais elevados
21 quando comparamos ao grupo C ($P < 0,05$). O LDL não teve diferença significativa com os
22 grupos fumantes e suplementados, e o TG não teve diferença significativa com o grupo
23 ProbT, mais teve com PrebT e SymbT. No entanto é possível afirmar que as dosagens
24 bioquímicas apontaram melhora significativa do perfil lipídico nos grupos suplementados

1 com alimentos funcionais, expostos ou não a fumaça do cigarro, quando comparados aos
2 grupos controles.

3

4 **Perfil renal e nível de glicose plasmática**

5 Os níveis séricos da ureia, creatinina e glicose se revelaram mais elevados no grupo
6 CT comparado ao grupo C. Os níveis de uréia nos grupos ProbT, PrebT e SymbT não
7 diferiram dos demais grupos experimentais. A média do nível sérico de creatinina do grupo
8 CT é significativamente maior ($P>0,05$) comparado ao grupo C. Os níveis séricos de
9 creatinina dos grupos Prob, Preb, Symb, ProbT, PrebT e Simb não diferiram do grupo C. Os
10 grupos Prob, Preb e Symb diferiram dos grupos ProbT, PrebT e SimbT. A média do nível
11 sérico de glicose do grupo CT é significativamente maior ($P>0,05$) comparado ao grupo C. Os
12 níveis séricos de glicose dos grupos Prob, Preb, Symb não diferiram do grupo C. A média dos
13 níveis de glicose dos grupos ProbT, PrebT e SymbT diferiram dos grupos Prob e Symb. A
14 média dos níveis séricos de glicose nos grupos ProbT, PrebT e SymbT não diferiram do grupo
15 CT.

16

17 **DISCUSSÃO**

18 Humanos, especialmente nos primeiros anos de vida, são mais vulneráveis à fumaça
19 do tabaco. Algumas razões para isso incluem sua imaturidade imunológica, vias aéreas
20 estreitas e curtas, e longa permanência em locais fechados, como no domicílio (ÖBERG et al.,
21 2011; SIGAUD; CASTANHEIRA; COSTA, 2016). Além disso, os bebês e crianças inalam o
22 dobro da quantidade de pó doméstico em comparação com adultos, e assim inalam mais
23 fumaça do cigarro (THOMSON; WILSON; HOWDEN-CHAPMAN, 2006) e nessa
24 população existe maior contato mão/objeto/boca, o que proporciona maior absorção do fumo
25 através do sistema digestório, além do inalado passivamente pelo sistema respiratório (MATT

1 et al., 2004). Já na adolescência, o contato com o tabagismo causa efeitos mais longos,
2 levando a taxas de dependência de nicotina maiores e mais duradouras, que tem como
3 consequências alterações fisiológicas, cerebrais e problemas cognitivos (PONZONI et al.,
4 2015).

5 A composição da microbiota intestinal está associada ao tabagismo em homens; em
6 particular, a microbiota intestinal dos fumantes é composta de níveis significativamente mais
7 altos de Bacteroidetes. Além disso, apresentam menores proporções de Firmicutes e
8 Proteobacteria em comparação com os que nunca fumaram (LEE et al., 2018)

9 Utilizou-se como modelo experimental ratos na fase de crescimento, pois em
10 murinos é possível investigar aspectos do ciclo de dependência da nicotina e que não se
11 consegue facilmente em humanos no início do uso (CASEY; JONES, 2010). Além disso, na
12 fase de crescimento dos murinos a farmacocinética da nicotina é afetada substancialmente,
13 assim como o aumento dos níveis plasmáticos e cerebrais desse composto e seus metabólitos
14 (CASEY; JONES, 2010; CRAIG et al., 2014). Os parâmetros farmacocinéticos afetados
15 podem incluir a absorção (MANGONI; JACKSON, 2003), distribuição (MOLANDER;
16 HANSSON; LUNELL, 2001), excreção (MCLEAN; LE COUTEUR, 2004) e metabolismo
17 (AUDRAIN-MCGOVERN; BENOWITZ, 2011).

18 Os efeitos tóxicos da exposição à fumaça foram observados imediatamente após a
19 exposição, exibindo atividade locomotora diminuída, marcha atáxica, respiração irregular,
20 comportamento indicativo de náusea e ruído nasal. Esses sinais desapareceram até o próximo
21 período de exposição. Após 189 dias de exposição crônica, os resultados revelaram uma
22 diminuição significativa do peso corporal e ganho de peso nos ratos expostos à fumaça do
23 cigarro e esses efeitos podem estar associados à ação tóxica da nicotina.

24 Esse composto (nicotina) pode se ligar aos receptores de acetilcolina nicotínicos
25 $\alpha\beta4$ e induz a liberação de vários neurotransmissores, como catecolaminas, serotonina,

1 acetilcolina e ácido γ -aminobutírico. Esses neurotransmissores ativam a pro-
2 opiomelanocortina (POMC) e o transcrito regulado pela cocaína-anfetamina (CART), com
3 consequente supressão da alimentação e aumento da taxa metabólica (MINEUR et al., 2011).

4 No tecido adiposo, a nicotina induz a lipólise por estimulação simpaticomimética
5 periférica, aumentando o gasto energético periférico e a termogênese, resultando em um
6 aumento no gasto energético e consequente menor ganho de peso (ANDERSSON; ARNER,
7 2001; VERHAEGEN; VAN GAAL, 2017). Além disso, estudos concluíram que a natureza
8 imunossupressora da fumaça do cigarro altera a composição do microbioma. Os mecanismos
9 que têm sido sugeridos para explicar o efeito do fumo sobre o microbioma intestinal incluem:
10 aumento do estresse oxidativo, alterações das junções intestinais e composição da mucina
11 intestinal, e mudanças no equilíbrio ácido-base (SAVIN et al., 2018; VOGTMANN et al.,
12 2015).

13 Nos grupos de ratos suplementados com alimentos funcionais, probióticos
14 (*Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum* e
15 *Bifidobacterium longum*), prebiótico (mananoligossacarídeo) e simbiótico (associação de
16 probiótico e prebiótico) e expostos a fumaça do cigarro os resultados revelaram aumento
17 significativo do ganho de peso e peso final em relação ao grupo CT, demonstrando o efeito
18 benéfico desses alimentos quando adicionados à dieta. Esses efeitos podem ser devido à
19 manutenção ou alteração benéfica da microbiota (MORAES; COLLA, 2006; THOMAS;
20 GREER, 2010).

21 Nos últimos anos, ficou claro que a microbiota desempenha um papel crucial na
22 fisiologia humana e está envolvida na fisiopatologia das doenças crônicas dentro e fora do
23 intestino (CLEMENTE et al., 2012), particularmente em fumantes (SHIMAUCHI et al.,
24 2008).

1 A elevação significativa das enzimas hepáticas (ALT, AST, FA e GGT) no grupo
2 CT, reforça o efeito deletério do tabagismo passivo (ADEKOMI et al., 2011; AVTI et al.,
3 2010; VGBOR et al., 2013). ALT e AST são indicadores reconhecidos de alterações
4 hepáticas, apesar da não especificidade (SALUNKE et al., 2011; ZUO et al., 2014) e são as
5 primeiras enzimas a mostrar elevação plasmática em situações de lesão dos hepatócitos
6 (ADEKOMI et al., 2011; AVTI et al., 2010). Esses efeitos são decorrentes dos constituintes
7 fitoquímicos do tabaco, incluindo a nicotina (BO, 2005; KERNER, 2004; SALAHSHOOR et
8 al., 2016) e que induzem a inflamação dos hepatócitos, bloqueio dos sinusóides do fígado
9 (VGBOR et al., 2013) e formação de oxidantes, que por sua vez induzem estresse oxidativo e
10 a oxidação de proteínas e grupos tiol (BARREIRO et al., 2010; WIECZFINSKA et al., 2018),
11 causando o extravasamento de ALT e AST do conteúdo celular com consequente elevação
12 plasmática (VGBOR et al., 2013).

13 Além disso, metais tóxicos como alumínio, cádmio, crômio, cobre, chumbo,
14 mercúrio, níquel e zinco encontrados no tabaco, papel de cigarro, filtros e fumaça de cigarro
15 incrementam esses efeitos, pois alteram a homeostase de metais no corpo humano
16 (BERNHARD; ROSSMANN; WICK, 2005; NAIR et al., 2013; SMITH; LIVINGSTON;
17 DOOLITTLE, 1997).

18 O tabagismo passivo aumenta os níveis séricos de FA, produzidos pelo osso e pelo
19 rim, bem como pelo fígado em humanos (GORDON, 1993; JANG et al., 2012) e animais
20 (VGBOR et al., 2013), o que reforça os resultados observados nesse estudo. Evidências
21 atribuem o dano hepatocelular à ação da nicotina e seu principal metabólito, a cotinina, que
22 induzem toxicidade hepática e apoptose hepatocelular através de efeitos diretos, indiretos,
23 imunológicos e oncogênicos. O efeito tóxico direto da nicotina e cotinina estão relacionados
24 ao aumento do estresse oxidativo, peroxidação de lipídios, degradação dos hepatócitos e dano
25 ao DNA pelos radicais livres gerados pela ruptura da cadeia respiratória mitocondrial, e todos

1 causam lesão hepatocelular (EL-SHERBEENY et al., 2016; EL-ZAYADI, 2006; HUSAIN et
2 al., 2001; OGENYI et al., 2015).

3 A elevação significativa do GGT no grupo de ratos do grupo CT está associada à
4 indução de inflamação em animais e humanos (BO, 2005; KERNER, 2004; SHIELS et al.,
5 2014) e é considerada também marcadora de estresse oxidativo (YUAN; MEEKER;
6 FERGUSON, 2017). As espécies reativas de oxigênio produzidas pela exposição à fumaça do
7 cigarro induzem a degeneração celular de mitocôndrias hepáticas e microsossomais por causa de
8 mudanças sutis de membrana e que são suficientes para permitir a passagem de enzimas
9 intracelulares. A indução de GGT aumenta a glutatona intracelular, que é protetora contra o
10 estresse oxidativo. Ferro e cobre catalisam a reação entre GGT e glutatona e causam
11 lipoperoxidação e mutagênese, levando a GGT a ser potencialmente prejudicial (VGBOR et
12 al., 2013).

13 Os ratos suplementados com alimentos funcionais na dieta e expostos cronicamente a
14 fumaça de cigarro apresentaram uma diminuição significativa nos parâmetros séricos
15 hepáticos analisados (ALT, AST, FA e GGT), em relação aos do grupo CT, indicando uma
16 atenuação dos efeitos tóxicos nos hepatócitos. Estudos recentes aludem o papel do
17 microbioma intestinal na patogênese das doenças, pois o microbioma intestinal é suscetível à
18 influência de fatores ambientais, como o tabagismo (SAVIN et al., 2018).

19 Os probióticos demonstraram potencial como estratégia de prevenção ou terapia para
20 múltiplas doenças gastrointestinais, incluindo doenças hepáticas de diferentes etiologias
21 (KONTUREK et al., 2018). Embora os mecanismos exatos dos efeitos benéficos dos
22 probióticos no eixo do fígado / intestino ainda não estejam completamente elucidados, os
23 efeitos terapêuticos favoráveis dos probióticos podem resultar da (1) modulação da
24 composição do microbioma intestinal e da produção de fatores antibacterianos; (2)
25 modificação da permeabilidade e função do epitélio intestinal; e / ou (3) modulação do

1 sistema imunológico nos níveis local e sistêmico (KIRPICH; MCCLAIN, 2012; NG et al.,
2 2009; SHERMAN; OSSA; JOHNSON-HENRY, 2009).

3 Bactérias probióticas como *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium* demonstraram efeitos
4 promissores na atenuação do acúmulo de gordura hepática, redução da resistência à insulina,
5 limitação do dano hepático oxidativo e inflamatório e diminuição dos lipídios séricos (XU et
6 al., 2011). Em humanos foi demonstrado o efeito benéfico dos probióticos no dano hepático,
7 juntamente com diminuição nos níveis de aminotransferases e redução nas concentrações de
8 colesterol total e colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) (WONG et al., 2013).

9 Da mesma forma, alguns prebióticos limitaram a lesão hepática e reduziram os níveis
10 de aminotransferase sérica e insulina (KESHAVARZIAN et al., 1994; MUTLU et al., 2009),
11 e esses benefícios estão associados à capacidade dos alimentos funcionais (prebióticos) de
12 aumentar a integridade, contratatura do epitélio e restauração da permeabilidade intestinal,
13 modulando o dano crônico as células hepáticas (COMMANE et al., 2005; GRATZ, 2010;
14 LOGUERCIO, 2002), assim como reduzir a translocação bacteriana (BERG;
15 GARLINGTON, 1979), produção de citocinas, fator de necrose tumoral (TNF- α) e
16 hepatotoxinas causadoras de inflamação hepática (GRATZ, 2010; WIEST; LAWSON;
17 GEUKING, 2014).

18 Resultados promissores também foram observados como o uso de simbiótico
19 (*Bifidobacterium longum* e frutoligossacarídeos), num estudo randomizado, duplo-cego,
20 controlado com placebo, que demonstrou melhora nos testes bioquímicos e neuropsicológicos
21 em 30 pacientes humanos com cirrose hepática e tratados por três meses em comparação com
22 o grupo placebo (MALAGUARNERA et al., 2012).

23 A concentração sérica de proteínas totais e as frações albumina e globulina foram
24 menores nos animais expostos cronicamente a fumaça de cigarro. Em humanos estudos
25 observaram redução de proteínas totais (ROOHI; ASHRAF, 2017), albumina e globulinas,

1 que incluem IgG, IgA e IgM (GONZALEZ-QUINTELA et al., 2008; ROOHI; ASHRAF,
2 2017), devido aos efeitos deletérios da fumaça do cigarro no fígado ou em linfócitos
3 (PESSIONE et al., 2001), assim como aumento da atividade da caspase 3, levando a
4 apoptose celular (MAZZONE et al., 2010; MINICUCCI et al., 2016). Além disso, os
5 produtos químicos da fumaça do cigarro podem ter efeito direto e indireto no perfil de
6 proteínas séricas, por alterarem diretamente as propriedades de ligação da albumina,
7 resultando na sua degradação no fígado e perda de albumina pelo rim (hipoalbuminúria)
8 (ROOHI; ASHRAF, 2017).

9 Nos grupos suplementados com probióticos, prebióticos e simbióticos os níveis
10 destas proteínas foram significativamente maiores que o grupo CT. Esses resultados
11 corroboram com os resultados de (YOUNAN et al., 2018) no qual os alimentos funcionais
12 atenuaram os efeitos hepatotóxicos de metal pesado, cromo, e elevou as concentrações
13 séricas das proteínas totais e as frações albumina e globulina nos ratos suplementados com
14 probióticos, prebióticos e simbióticos. Outros estudos relatam resultados semelhantes em
15 ratos suplementados com microrganismos probióticos: *Lactobacillus acidophilus* LA 14 e
16 *Bifidobacterium longum* BL 05 (LOLLO et al., 2012), *Lactobacillus acidophilus* (NCFM®) e
17 *Bifidobacterium lactis* (Bi-07) (IRWIN et al., 2018) e *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus*
18 *rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*,
19 *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus bulgaricus* (ESLAMPARAST et al., 2014);
20 prebiótico, *Larix occidentalis* (IRWIN et al., 2018), frutooligossacarídeo e também quando
21 suplementados concomitantemente formando simbióticos (ESLAMPARAST et al., 2014).

22 A ação dos prebióticos na função hepática ainda não está clara, no entanto, acredita-
23 se que os prebióticos são capazes de regular a ação das enzimas hepáticas lipogênicas,
24 elevar a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), como o butirato o propionato
25 e acetato. Especialmente o butirato é capaz de modular a acetilação de histonas,

1 aumentando assim a disponibilidade de numerosos genes para fatores de transcrição, e leva
2 ainda a modulação da produção de mucinas (SCHLEY; FIELD C.J., 2002). Foi
3 demonstrado que FOS e vários outros prebióticos aumentam a contagem de leucócitos nos
4 gânglios linfóides associados ao intestino (GALTs) e no sangue periférico o que leva ao
5 aumento da secreção de IgA pelos GALTs, estimula a função fagocitária dos macrófagos
6 intra-inflamatórios (MARKOWIAK; SLIZEWSKA, 2017).

7 A fumaça do cigarro pode acarretar desequilíbrio sistêmico no perfil lipídico
8 (NELSON, 2013). Esses efeitos prejudiciais sobre os níveis séricos de colesterol total,
9 colesterol HDL, colesterol LDL e triglicérides foram observados nesse estudo. Os valores de
10 colesterol total, triglicérides e colesterol LDL, aumentaram significativamente no grupo
11 exposto ao tabagismo passivo e não suplementado, comparado com o grupo C. Já o nível do
12 colesterol HDL diminuiu.

13 A fumaça de cigarro tem vários radicais livres e que quando introduzidos no
14 organismo, danifica algumas macromoléculas vitais e modifica o metabolismo de proteínas e
15 lipídeos, podendo levar a uma dislipidemia, principal combustível da aterogênese (DEATON;
16 MARLIN, 2003). A dislipidemia: triglicérides, LDL e VLDL elevados, juntamente com o
17 HDL diminuído, está associada à ocorrência de lesões ateroscleróticas no endotélio vascular
18 (NELSON, 2013; SONAGRA et al., 2017) e predispõe a um risco aumentado de ocorrência
19 de doenças cardiovasculares em tabagistas (LEE et al., 2017).

20 Os mecanismos biológicos que ligam o tabagismo e a aterogênese são complexos,
21 mas uma ligação presumida é que a nicotina estimula o sistema simpático adrenal a secretar
22 catecolaminas. Essas catecolaminas aumentam a lipólise e a concentração de ácidos graxos
23 livres no plasma, que por sua vez aumenta a síntese hepática do triglicérides e VLDL na
24 corrente sanguínea (AN et al., 2016; LEE; COOKE, 2011; LEE et al., 2011; OATES;
25 WOOD; BENOWITZ, 1988), à medida que o triglicérides e o VLDL sérico aumenta, a

1 probabilidade de seu encontro com HDL e a proteína de transferência de colesterol éster
2 (CETP) aumenta. A CETP é responsável pela troca de triglicérides com éster de colesterol
3 (CE) entre partículas VLDL e HDL. Essas partículas de HDL ricas em triglicérides e pobres
4 em CE são menos estáveis, pelo que se desintegram e há quedas do nível de HDL no soro
5 (TALAYERO; SACKS, 2011). Desta forma o aumento do triglicérides e VLDL está
6 associado à diminuição do nível de HDL em fumantes.

7 As partículas de LDL são derivadas de partículas de VLDL. De tal forma, o
8 aumento do VLDL leva ao aumento do LDL no plasma. À medida que o nível sérico de
9 HDL diminui, o transporte reverso de colesterol também diminui. Devido a estas razões, a
10 deposição de colesterol no tecido periférico aumenta. Os efeitos do tabagismo nas
11 lipoproteínas plasmáticas são atribuídos também à diminuição da atividade da lipoproteína
12 lipase (LPL), da atividade plasmática da enzima lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) e
13 ao aumento dos ácidos graxos livres (AGL), enquanto a lipase hepática (HL) não é
14 influenciada.

15 Mesmo na ausência de dislipidemia, o tabagismo prejudica várias etapas do
16 transporte reverso do colesterol (ATHYROS et al., 2013), esse mecanismo de ação justifica o
17 nível de HDL baixo no grupo controle intoxicado com fumaça de cigarro em nosso trabalho.

18 Estudos demonstram os mecanismos da utilização de probióticos na diminuição do
19 colesterol sérico, através da capacidade de micróbios probióticos para desconjugar
20 enzimaticamente o ácido biliar usando hidrolase de sal biliar (BSH) (BEGLEY; HILL;
21 GAHAN, 2006; BRASHEARS; GILLILAND; BUCK, 1998; NOCIANITRI et al., 2017). Na
22 forma conjugada, o ácido biliar se dissolverá principalmente de modo que uma pequena
23 porção é absorvida no intestino, desta forma, a maioria é excretada pelas fezes, o colesterol
24 absorvido será então usado para sintetizar novos ácidos da bile (que é uma resposta
25 homeostática), resultando na diminuição do nível sérico de colesterol.

1 Outro estudo testou a conversão de colesterol a coprostanol pela redutase de
2 colesterol utilizando cepas de lactobacilos, as cepas estudadas foram capazes de produzir
3 colesterol redutase intracelular, também foi detectada a colesterol redutase extracelular,
4 indicando que a bioconversão do colesterol em coprostanol poderia também ocorrer fora da
5 célula, e isso pôde beneficiar o hospedeiro reduzindo os níveis de colesterol no sangue (LYE;
6 RUSUL; LIONG, 2010; NOCIANITRI et al., 2017).

7 Neste estudo os probióticos demonstraram capacidade de modificar a concentração
8 das lipoproteínas, elevando HDL e reduzindo LDL. (YOUNAN et al., 2018) demonstrou que
9 os probióticos têm um importante poder de desintoxicação, aumento dos níveis de HDL e
10 diminuição dos níveis de LDL em ratos intoxicados por metal pesado, crômio hexavalente,
11 que também está presente na fumaça do cigarro.

12 Os probióticos diminuíram a concentração plasmática de triglicerídeos, corroborando
13 resultados semelhantes em camundongos intoxicados com fumaça de cigarro e suplementados
14 com esse alimento funcional (SALAHUDDIN et al., 2013), que tem papel fundamental na
15 remediação de agentes tóxicos. Estudos realizados por (HARISA et al., 2009; SALAJ et al.,
16 2013) afirmam que o efeito hipotrigliceridêmico dos probióticos pode estar relacionado ao
17 início da atividade das lipases (especialmente a LPL), que são responsáveis pelo metabolismo
18 dos triglicerídeos, diminuindo a absorção intestinal de lipídios ou aumentando o catabolismo
19 lipídico e/ou a atividade antioxidante.

20 As dosagens bioquímicas dos indicadores da função renal mostraram elevação das
21 concentrações plasmáticas da creatinina e da ureia dos animais do grupo exposto a fumaça do
22 cigarro e não suplementado com alimentos funcionais. Esses resultados estão em
23 concordância com estudo que demonstrou que a exposição à fumaça do cigarro é capaz de
24 elevar a concentração da creatinina e da ureia de ratos (DRUMMOND et al., 2016;
25 OKONKWO et al., 2013).

1 A fumaça de cigarro possui substâncias nefrotóxicas, dentre elas o cádmio (Cd) e
2 chumbo (Pb) (COOPER, 2006; DESAI et al., 2016; FADROWSKI et al., 2010; GOLLI et al.,
3 2016), que provocam alterações na função tubular proximal acarretando aumento da
4 creatinina e ureia sérica. Além disso, Jaimes et al. demonstraram que compostos estáveis tiol-
5 reativos presentes na fumaça do cigarro podem ativar a NADPH oxidase e aumentar a
6 produção vascular de espécies reativas de oxigênio (ROS), reduzindo a bioatividade do NO e
7 causar disfunção endotelial (JAIMES et al., 2004).

8 A análise dos parâmetros bioquímicos básicos e clássicos utilizados para avaliação
9 da função renal mostrou alterações significativas no grupo de ratos suplementados com
10 probiótico, prebiótico e simbiótico na dieta e expostos cronicamente a fumaça de cigarro.

11 Essa redução dos efeitos deletérios podem ser devido a modulação benéfica desses
12 alimentos funcionais no crescimento bacteriano no cólon, aumentando a concentração de
13 microrganismos sacarolíticos e diminuindo a concentração de espécies proteolíticas,
14 resultando na redução da geração de toxinas prejudiciais ao rim (VENKATESWARLU et al.,
15 2017).

16 Os probióticos podem impedir a ligação de substâncias entéricas patogênicas,
17 dificultando a ligação aos receptores locais, causando um aumento da depuração do patógeno
18 no trato gastrointestinal e evitando assim que invadam o hospedeiro (LINDEN et al., 2008).
19 Estimulam também a imunidade inata do sistema de sinalização para as células dendríticas,
20 que podem translocar para os linfonodos mesentéricos, onde induzem as células T reguladoras
21 (FoxP3 +) e a produção de citocinas anti-inflamatórias (interleucina-10 e fator de crescimento
22 transformador- β (DALMASSO et al., 2006). Além disso, têm a capacidade de promover a
23 diferenciação de células B e aumentar a produção de IgA secretora que adere à camada de
24 muco que recobre o epitélio do intestino e se liga a micro-organismos patogênicos reduzindo
25 sua capacidade de obter acesso às células endoteliais (KOPPE; MAFRA; FOUQUE, 2015).

1 A suplementação do prebiótico também reduziu os níveis bioquímicos de ureia e
2 creatinina, o possa ser decorrente da capacidade desse alimento funcional de poder expandir o
3 crescimento de populações microbianas benéficas específicas, como *Lactobacillus* e
4 *Bifidobacterium* (BINDELS et al., 2015) e no grupo que foi alimentado com dieta
5 suplementada com simbiótico, verificamos resultados similares, evidenciando os mesmos
6 resultados dos alimentos adicionados de maneira separada na ração.

7 As dosagens de glicemia nos animais do grupo CT foram significativamente maiores
8 quando comparados ao grupo C. Esse resultado pode ser devido à ação da nicotina, que induz
9 diretamente a hiperglicemia pela ativação da glicogenólise e gliconeogênese nas células
10 hepáticas (JÓSE et al., 2009; VU et al., 2014). Também tem sido associado à resistência à
11 insulina e à diminuição da tolerância à glicose, o que poderia culminar no desenvolvimento de
12 diabetes tipo 2 (WU et al., 2015). No estudo de Adhami et al. (2016), 49% da população de
13 camundongos expostos à fumaça de cigarro desenvolveram sintomas de resistência à insulina
14 e síndrome metabólica, apresentando aumento da glicemia de jejum e insulina sérica em
15 jejum. E em contraste, a pesquisa de Ebersbach-Silva et al. (2013), não observou alteração na
16 glicemia de jejum após exposição à fumaça de cigarro.

17 Os efeitos da nicotina são atribuídos a um aumento da lipólise no tecido adiposo
18 através da ativação de AMPK α 2. Através da ativação de AMPK α 2 no tecido adiposo branco,
19 a nicotina prejudica a sinalização da insulina, regula a lipólise e eleva as concentrações de
20 ácidos graxos livres circulantes (AGL), induzindo resistência à insulina. Promove também
21 redistribuição lipídica e deposição de gordura ectópica, por exemplo, esteatose hepática,
22 aumentando os triglicerídeos hepáticos e séricos.

23 Yadav et al. (2013) relataram que o probiótico VSL#3 [quatro estirpes de
24 lactobacilos (*Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* e *L. delbrueckii subsp.*
25 *bulgaricus*), três estirpes de bifidobactérias (*Bifidobacterium longum*, *B. breve* e *B. infantis*) e

1 *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*] levou à modulação da composição da
2 microbiota intestinal e a um aumento no hormônio glucagon-like peptide (GLP-1), esse
3 peptídeo semelhante ao glucagon é visto como um hormônio produzido nas células L
4 intestinais, que agem via circulação na saciedade no cérebro, motilidade intestinal e secreção
5 de insulina e glucagon na ilhota pancreática. Os efeitos benéficos do VSL#3 foram associados
6 com um aumento nos níveis de um ácido graxo de cadeia curta (AGCCs): butirato. Usando
7 um sistema de cultura de células, demonstraram ainda que o butirato promoveu a liberação de
8 GLP-1 a partir de células-L intestinais. Estes resultados suportam a noção de que o eixo flora-
9 butirato-GLP-1 probiótico-intestinal promove a eficiência metabólica e protege contra os
10 efeitos deletérios da obesidade induzida por dieta rica em gordura e diabetes (CHAPMAN;
11 PLOSKER; FIGGITT, 2007).

12 As evidências que apoiam o uso de alimentos funcionais: probióticos, prebióticos e
13 simbióticos estão claramente aumentando em humanos e modelos animais, porém várias
14 questões permanecem: (i) Qual(is) microrganismo(s) poderá(rão) reduzir os efeitos deletérios
15 da fumaça de cigarro? (ii) Qual é a dose mínima ou concentração necessária de cada
16 probiótico necessário para ver um benefício? E (iii) é uma mistura de probióticos sinérgicos
17 em comparação com o uso de uma cepa particular?

18 À medida que a compreensão do microbioma humano cresce, aprofundamos nossa
19 apreciação de quão individualizado e complexo é o ambiente microbiano do ser humano.
20 Imaginamos a necessidade de, por fim, customizar um regime de cuidados com o trato
21 digestório para cada ser humano após a amostragem da única “impressão digital”
22 microbiológica do paciente. Nossos resultados enfatizam que em regimes de exposição
23 biologicamente relevantes (fumaça de cigarro) é fundamental estudar alimentos funcionais
24 que possam reduzir as respostas fisiopatológicas em modelos animais e em humanos.

25

1 CONCLUSÃO

2 A suplementação dos alimentos funcionais: probiótico (*Lactobacillus acidophilus*,
3 *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum* e *Bifidobacterium longum*), prebiótico
4 (mananoligossacarídeo) e simbiótico (combinação de probiótico e prebiótico) na dieta de
5 ratos, como modelo animal, reduzem os efeitos tóxicos deletérios da exposição crônica ao
6 tabagismo passivo, em relação a parâmetros fisiológicos (peso e ganho de peso) e
7 bioquímicos (perfis hepático; proteico; lipídico; renal e glicêmico).

8

9 REFERÊNCIAS

- 10 ADEKOMI, D. A. et al. Exposure to smoke extract of *Datura stramonium* leaf : Some of its
11 effects on the heart , liver , lungs , kidneys and testes of male Sprague Dawley rats. **Journal**
12 **of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 3, n. June, p. 67–75, 2011.
- 13 ADHAMI, N. et al. A Health Threat to Bystanders Living in the Homes of Smokers: How
14 Smoke Toxins Deposited on Surfaces Can Cause Insulin Resistance. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3,
15 p. e0149510, 2 Mar. 2016.
- 16 ALSALHEN, K. S.; ABDALSALAM, R. D. Effect of cigarette smoking on liver functions: a
17 comparative study conducted among smokers and non-smokers male in El-beida City, Libya.
18 **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 3, n. 7, p. 291–295, 2014.
- 19 AN, H. M. et al. Smoking and Serum Lipid Profiles in Schizophrenia. **Neuroscience Bulletin**,
20 v. 32, n. 4, p. 383–388, Aug. 2016.
- 21 ANDERSSON, K.; ARNER, P. Systemic nicotine stimulates human adipose tissue lipolysis
22 through local cholinergic and catecholaminergic receptors. **International Journal of**
23 **Obesity**, v. 25, n. 8, p. 1225–1232, Aug. 2001.
- 24 ATHYROS, V. G. et al. Effect of tobacco smoking and smoking cessation on plasma
25 lipoproteins and associated major cardiovascular risk factors: a narrative review. **Current**

- 1 **Medical Research and Opinion**, v. 29, n. 10, p. 1263–1274, Oct. 2013.
- 2 AUDRAIN-MCGOVERN, J.; BENOWITZ, N. L. Cigarette Smoking, Nicotine, and Body
3 Weight. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, n. 1, p. 164–168, 1 Jul. 2011.
- 4 AVTI, P. K. et al. Involvement of Various Molecular Events in Cellular Injury Induced by
5 Smokeless Tobacco. **Chemical Research in Toxicology**, v. 23, n. 7, p. 1163–1174, Jul. 2010.
- 6 BARREIRO, E. et al. Cigarette smoke-induced oxidative stress: A role in chronic obstructive
7 pulmonary disease skeletal muscle dysfunction. **American Journal of Respiratory and
8 Critical Care Medicine**, v. 182, n. 4, p. 477–488, 2010.
- 9 BEGLEY, M.; HILL, C.; GAHAN, C. G. M. Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics Bile
10 Salt Hydrolase Activity in Probiotics. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n.
11 3, p. 1729–1738, 2006.
- 12 BENTO, E. B. **Avaliação da aplicação de uma ferramenta pedagógica para o estudo do
13 fumo passivo com os licenciandos em biologia da Universidade Regional do Cariri, CE.**
14 [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.
- 15 BERG, R. D.; GARLINGTON, A. W. Translocation of certain indigenous bacteria from the
16 gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse
17 model. **Infection and immunity**, v. 23, n. 2, p. 403–11, Feb. 1979.
- 18 BERNHARD, D.; ROSSMANN, A.; WICK, G. Metals in cigarette smoke. **IUBMB Life
19 (International Union of Biochemistry and Molecular Biology: Life)**, v. 57, n. 12, p. 805–
20 809, 1 Dec. 2005.
- 21 BEZERRA, R. C. et al. Efeito do probiótico após toxicidade hepática do dicromato de
22 potássio em ratos. **Colloquium Agrariae. ISSN: 1809-8215**, v. 10, n. 2, p. 57–66, 2015.
- 23 BINDELS, L. B. et al. Opinion: Towards a more comprehensive concept for prebiotics.
24 **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 5, p. 303–310, May 2015.
- 25 BO, S. Associations between γ -glutamyl transferase, metabolic abnormalities and

- 1 inflammation in healthy subjects from a population-based cohort: A possible implication for
2 oxidative stress. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11, n. 45, p. 7109, 2005.
- 3 BRASHEARS, M. M.; GILLILAND, S. E.; BUCK, L. M. Bile Salt Deconjugation and
4 Cholesterol Removal from Media by *Lactobacillus casei*. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n.
5 8, p. 2103–2110, Aug. 1998.
- 6 CASEY, B. J.; JONES, R. M. Neurobiology of the Adolescent Brain and Behavior:
7 Implications for Substance Use Disorders. **Journal of the American Academy of Child &
8 Adolescent Psychiatry**, v. 49, n. 12, p. 1189–1201, Dec. 2010.
- 9 CHAPMAN, T. M.; PLOSKER, G. L.; FIGGITT, D. P. Spotlight on VSL#3 Probiotic
10 Mixture in Chronic Inflammatory Bowel Diseases1. **BioDrugs**, v. 21, n. 1, p. 61–63, 2007.
- 11 CLEMENTE, J. C. C. et al. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An
12 Integrative View. **Cell**, v. 148, n. 6, p. 1258–1270, 16 Mar. 2012.
- 13 COMMANE, D. M. et al. Effects of Fermentation Products of Pro- and Prebiotics on Trans-
14 Epithelial Electrical Resistance in an In Vitro Model of the Colon. **Nutrition and Cancer**, v.
15 51, n. 1, p. 102–109, Jan. 2005.
- 16 COOPER, R. G. Effect of tobacco smoking on renal function. **Indian Journal of Medical
17 Research**, v. 124, n. 3, p. 261–268, 2006.
- 18 COSTA, S. T. B. F.; SANTOS, L.; PAIVA, B. Sara Todo Bom Ferreira Da Costa Tabagismo
19 , Composição Corporal E. 2014.
- 20 CRAIG, E. L. et al. Craig et al. - 2014 - Nicotine pharmacokinetics in rats is altered as a
21 function of age, impacting the interpretation of animal mod(103).pdf. **The American Society
22 for Pharmacology and experimental Therapeutics**, n. September, p. 1447–1455, 2014.
- 23 DALMASSO, G. et al. *Saccharomyces boulardii* Inhibits Inflammatory Bowel Disease by
24 Trapping T Cells in Mesenteric Lymph Nodes. **Gastroenterology**, v. 131, n. 6, p. 1812–1825,
25 Dec. 2006.

- 1 DEATON, C. M.; MARLIN, D. J. Exercise-associated oxidative stress. **Clinical Techniques**
2 **in Equine Practice**, v. 2, n. 3, p. 278–291, Sep. 2003.
- 3 DESAI, S. V. et al. Tobacco chewing and smoking -risk for renal diseases. **Biomedical**
4 **Research (India)**, v. 27, n. 3, p. 682–686, 2016.
- 5 DRUMMOND, C. A. et al. Cigarette smoking causes epigenetic changes associated with
6 cardiorenal fibrosis. **Physiological Genomics**, v. 48, n. 12, p. 950–960, Dec. 2016.
- 7 EBERSBACH-SILVA, P. et al. Cigarette smoke exposure severely reduces peripheral insulin
8 sensitivity without changing GLUT4 expression in oxidative muscle of Wistar rats. **Arquivos**
9 **Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 1, p. 19–26, Feb. 2013.
- 10 EL-SHERBEENY, N. A. et al. Agmatine protects rat liver from nicotine-induced hepatic
11 damage via antioxidative, antiapoptotic, and antifibrotic pathways. **Naunyn-Schmiedeberg's**
12 **Archives of Pharmacology**, v. 389, n. 12, p. 1341–1351, Dec. 2016.
- 13 EL-ZAYADI, A.-R. Heavy smoking and liver. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12,
14 n. 38, p. 6098, 2006.
- 15 EL.GOLLI, N. et al. Comparison between electronic cigarette refill liquid and nicotine on
16 metabolic parameters in rats. **Life Sciences**, v. 146, p. 131–138, Feb. 2016.
- 17 ESLAMPARAST, T. et al. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a
18 randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. **The American Journal of Clinical**
19 **Nutrition**, v. 99, n. 3, p. 535–542, Mar. 2014.
- 20 FADROWSKI, J. J. et al. Blood lead level and kidney function in US adolescents: the third
21 National Health and Nutrition Examination Survey. **Archives of Internal Medicine**, v. 170,
22 n. 1, p. 75–82, 2010.
- 23 FELDMAN, C.; ANDERSON, R. Cigarette smoking and mechanisms of susceptibility to
24 infections of the respiratory tract and other organ systems. **Journal of Infection**, v. 67, n. 3,
25 p. 169–184, Sep. 2013.

- 1 FRICKER, M. et al. Chronic cigarette smoke exposure induces systemic hypoxia that drives
2 intestinal dysfunction. **JCI Insight**, v. 3, n. 3, p. 1–19, Feb. 2018.
- 3 GEORGE KERRY, R. et al. Benefaction of probiotics for human health: A review. **Journal**
4 **of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 3, p. 927–939, 1 Jul. 2018.
- 5 GIBSON, G. R. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association
6 for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of
7 prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 14
8 Aug. 2017.
- 9 GOLLI, N. E. et al. Impact of e-cigarette refill liquid exposure on rat kidney. **Regulatory**
10 **Toxicology and Pharmacology**, v. 77, p. 109–116, Jun. 2016.
- 11 GONZALEZ-QUINTELA, A. et al. Serum levels of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in a
12 general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and
13 common metabolic abnormalities. **Clinical and experimental immunology**, v. 151, n. 1, p.
14 42–50, Jan. 2008.
- 15 GORDON, T. Factors associated with serum alkaline phosphatase level. **Archives of**
16 **pathology & laboratory medicine**, v. 117, n. 2, p. 187–90, Feb. 1993.
- 17 GRATZ, S. W. Probiotics and gut health: A special focus on liver diseases. **World Journal**
18 **of Gastroenterology**, v. 16, n. 4, p. 403, 2010.
- 19 HAMED, H. et al. Fermented camel milk by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* attenuates
20 erythrocytes oxidative stress-induced hematological and immunological damage in CCl₄-
21 intoxicated mice. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1–11, Jul. 2018.
- 22 HARISA, G. I. et al. Oral Administration of *Lactobacillus Acidophilus* Restores Nitric Oxide
23 Level in Diabetic Rats. **Australian Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 3, n. 3, p. 2963–
24 2969, 2009.
- 25 HILL, C. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics

- 1 consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews**
2 **Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 10 Aug. 2014.
- 3 HUSAIN, K. et al. Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense
4 system. **Alcohol**, v. 25, n. 2, p. 89–97, Oct. 2001.
- 5 IRWIN, C. et al. Effect of 8-weeks prebiotics/probiotics supplementation on alcohol
6 metabolism and blood biomarkers of healthy adults: a pilot study. **European Journal of**
7 **Nutrition**, v. 57, n. 4, p. 1523–1534, Jun. 2018.
- 8 JAIMES, E. A. et al. Stable Compounds of Cigarette Smoke Induce Endothelial Superoxide
9 Anion Production via NADPH Oxidase Activation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and**
10 **Vascular Biology**, v. 24, n. 6, p. 1031–1036, Jun. 2004.
- 11 JANG, E. S. et al. Effects of coffee, smoking, and alcohol on liver function tests: a
12 comprehensive cross-sectional study. **BMC Gastroenterology**, v. 12, n. 1, p. 145, Dec. 2012.
- 13 JOSÊ, A. S. et al. Sensitivity of young rats to nicotine exposure: Physiological and
14 biochemical parameters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 1, p. 242–247,
15 Jan. 2009.
- 16 KERNER, A. Association Between Elevated Liver Enzymes and C-Reactive Protein. Possible
17 Hepatic Contribution to Systemic Inflammation in the Metabolic Syndrome. **Arteriosclerosis,**
18 **Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 25, n. 1, p. 193–197, 21 Oct. 2004.
- 19 KESHAVARZIAN, A. et al. The differing effects of acute and chronic alcohol on gastric and
20 intestinal permeability. **The American journal of gastroenterology**, v. 89, n. 12, p. 2205–11,
21 Dec. 1994.
- 22 KIRPICH, I. A.; MCCLAIN, C. J. Probiotics in the Treatment of the Liver Diseases. **Journal**
23 **of the American College of Nutrition**, v. 31, n. 1, p. 14–23, Feb. 2012.
- 24 KONTUREK, P. et al. Gut–Liver Axis: How Do Gut Bacteria Influence the Liver? **Medical**
25 **Sciences**, v. 6, n. 3, p. 79, 17 Sep. 2018.

- 1 KOPPE, L.; MAFRA, D.; FOUQUE, D. Probiotics and chronic kidney disease. **Kidney**
2 **International**, v. 88, n. 5, p. 958–966, Nov. 2015.
- 3 KOZMA, R. H. et al. A new experimental model of cigarette smoke-induced emphysema in
4 Wistar rats. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 40, n. 1, p. 46–54, Jan. 2014.
- 5 LEE, J. E.; COOKE, J. P. The role of nicotine in the pathogenesis of atherosclerosis. v. 215,
6 n. 2, p. 281–283, 2011.
- 7 LEE, J. S. et al. Triglyceride and HDL-C Dyslipidemia and Risks of Coronary Heart Disease
8 and Ischemic Stroke by Glycemic Dysregulation Status: The Strong Heart Study. **Diabetes**
9 **Care**, v. 40, n. 4, p. 529–537, Apr. 2017.
- 10 LEE, S. H. et al. Association between Cigarette Smoking Status and Composition of Gut
11 Microbiota: Population-Based Cross-Sectional Study. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n.
12 9, p. 282, 14 Sep. 2018.
- 13 LEE, S. S. et al. The Changes of Blood Glucose Control and Lipid Profiles after Short-Term
14 Smoking Cessation in Healthy Males. **Psychiatry Investigation**, v. 8, n. 2, p. 149, 2011.
- 15 LINDEN, S. K. et al. Mucins in the mucosal barrier to infection. **Mucosal Immunology**, v. 1,
16 n. 3, p. 183–197, May 2008.
- 17 LOGUERCIO, C. Gut-liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage? **The**
18 **American Journal of Gastroenterology**, v. 97, n. 8, p. 2144–2146, Aug. 2002.
- 19 LOLLO, P. C. B. et al. Probiotic cheese attenuates exercise-induced immune suppression in
20 Wistar rats. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 7, p. 3549–3558, Jul. 2012.
- 21 LÓPEZ ZUBIZARRETA, M. et al. Tabaco y diabetes: relevancia clínica y abordaje de la
22 deshabituación tabáquica en pacientes con diabetes. **Endocrinología, Diabetes y Nutrición**,
23 v. 64, n. 4, p. 221–231, Apr. 2017.
- 24 LYE, H. S.; RUSUL, G.; LIONG, M. T. Removal of cholesterol by lactobacilli via
25 incorporation and conversion to coprostanol. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1383–

- 1 1392, Apr. 2010.
- 2 MA, N. et al. Dimethyl fumarate reduces the risk of mycotoxins via improving intestinal
3 barrier and microbiota. **Oncotarget**, v. 8, n. 27, p. 44625–44638, Jul. 2017.
- 4 MALAGUARNERA, M. et al. Bifidobacterium longum with Fructo-Oligosaccharides in
5 Patients with Non Alcoholic Steatohepatitis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 57, n. 2, p.
6 545–553, 8 Feb. 2012.
- 7 MANGONI, A. A.; JACKSON, S. H. D. Age-related changes in pharmacokinetics and
8 pharmacodynamics: basic principles and practical applications. **British Journal of Clinical**
9 **Pharmacology**, v. 57, n. 1, p. 6–14, 14 Nov. 2003.
- 10 MARKOWIAK, P.; SLIZEWSKA, K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on
11 Human Health. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 1021, Sep. 2017.
- 12 MATT, G. E. et al. Households contaminated by environmental tobacco smoke: sources of
13 infant exposures. **Tobacco Control**, v. 13, n. 1, p. 29–37, 1 Mar. 2004.
- 14 MAZZONE, P. et al. Pathophysiological Impact of Cigarette Smoke Exposure on the
15 Cerebrovascular System with a Focus on the Blood-brain Barrier: Expanding the Awareness
16 of Smoking Toxicity in an Underappreciated Area. **International Journal of Environmental**
17 **Research and Public Health**, v. 7, n. 12, p. 4111–4126, 26 Nov. 2010.
- 18 MCLEAN, A. J.; LE COUTEUR, D. G. Aging Biology and Geriatric Clinical Pharmacology.
19 **Pharmacological Reviews**, v. 56, n. 2, p. 163–184, 1 Jun. 2004.
- 20 MCMURRAY, R. G.; HICKS, L. L.; THOMPSON, D. L. The effects of passive inhalation of
21 cigarette smoke on exercise performance. **European Journal of Applied Physiology and**
22 **Occupational Physiology**, v. 54, n. 2, p. 196–200, Aug. 1985.
- 23 MINEUR, Y. S. et al. Nicotine decreases food intake through activation of POMC neurons.
24 **Science**, v. 332, n. 6035, p. 1330–1332, 2011.
- 25 MINICUCCI, M. et al. Pentoxifylline Attenuates Cardiac Remodeling Induced by Tobacco

- 1 Smoke Exposure. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2016.
- 2 MIRI-MOGHADDAM, E. et al. The effects of water pipe smoking on hematological
3 parameters in rats. **International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell**
4 **Research**, v. 8, n. 3, p. 37–43, 2014.
- 5 MOLANDER, L.; HANSSON, A.; LUNELL, E. Pharmacokinetics of nicotine in healthy
6 elderly people. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 69, n. 1, p. 57–65, Jan. 2001.
- 7 MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação
8 e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 254, p. 109–122, 2006.
- 9 MUTLU, E. et al. Intestinal Dysbiosis: A Possible Mechanism of Alcohol-Induced
10 Endotoxemia and Alcoholic Steatohepatitis in Rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental**
11 **Research**, v. 33, n. 10, p. 1836–1846, Oct. 2009.
- 12 NAGAIE, M. et al. A Comprehensive Mixture of Tobacco Smoke Components Retards
13 Orthodontic Tooth Movement via the Inhibition of Osteoclastogenesis in a Rat Model.
14 **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 18610–18622, 15 Oct. 2014.
- 15 NAIR, A. et al. Cadmium-Induced Pathologies: Where Is the Oxidative Balance Lost (or
16 Not)? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 3, p. 6116–6143, 18 Mar.
17 2013.
- 18 NATIONAL RESEARCH COUNCIL, S. ON L. A. **Nutrient Requirements of Laboratory**
19 **Animals**. Washington, D.C.: National Academies Press, 1995.
- 20 NELSON, R. H. Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease. **Primary Care**,
21 v. 40, n. 1, p. 195–211, 2013.
- 22 NG, S. C. et al. Mechanisms of action of probiotics: Recent advances. **Inflammatory Bowel**
23 **Diseases**, v. 15, n. 2, p. 300–310, Feb. 2009.
- 24 NOCIANITRI, K. A. et al. The effect of two *Lactobacillus rhamnosus* strains on the blood
25 lipid profile of rats fed with high fat containing diet. **International Food Research Journal**,

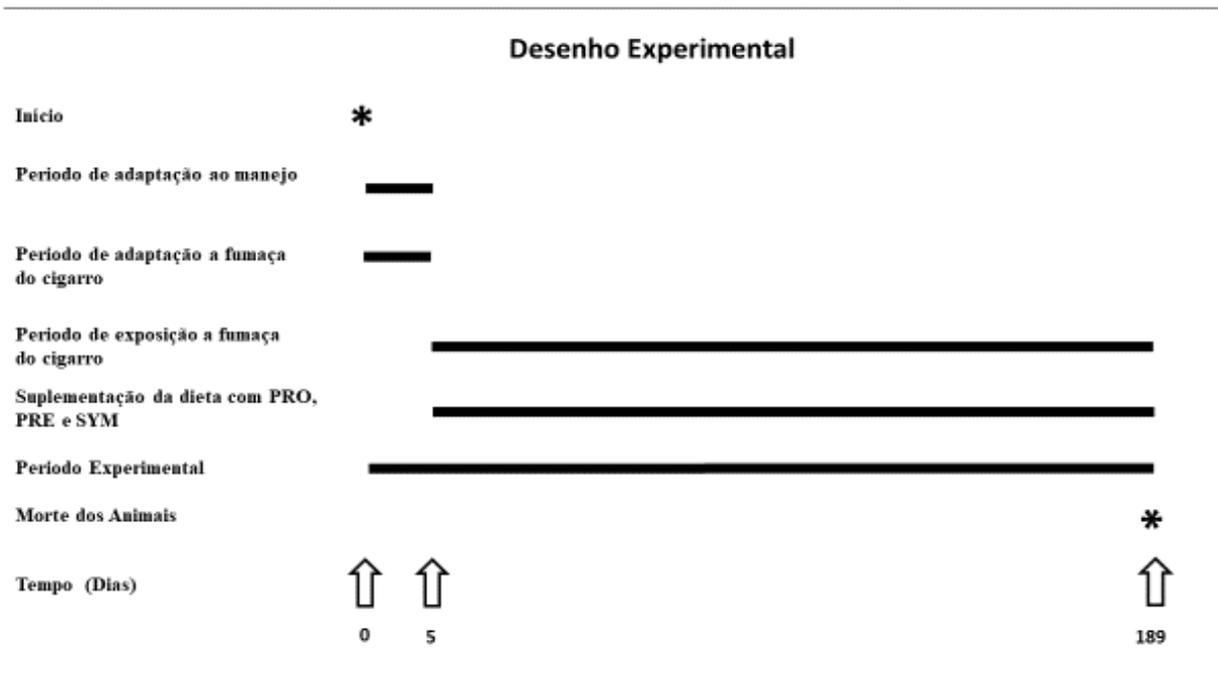
- 1 v. 24, n. 2, p. 795–802, 2017.
- 2 OATES, J. A.; WOOD, A. J. J.; BENOWITZ, N. L. Pharmacologic aspects of cigarette
3 smoking and nicotine addiction. **New England Journal of Medicine**, 1988.
- 4 ÖBERG, M. et al. Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a
5 retrospective analysis of data from 192 countries. **The Lancet**, v. 377, n. 9760, p. 139–146, 8
6 Jan. 2011.
- 7 OGENYI, S. et al. Histological and Biochemical Effects of Cigarette Smoke on the Liver of
8 Wistar Rats. **Annual Research & Review in Biology**, v. 7, n. 2, p. 119–125, 10 Jan. 2015.
- 9 OKAMOTO, M. et al. Cigarette smoking is a risk factor for the onset of fatty liver disease in
10 nondrinkers: A longitudinal cohort study. **PLOS ONE**, v. 13, n. 4, p. e0195147, 17 Apr.
11 2018.
- 12 OKONKWO, L. O. et al. Tobacco induced renal function alterations in Wistar rats: An 8
13 weeks study. **International Journal of Herbs and Pharmacological Research**, v. 3, n. 2, p.
14 29–35, 2013.
- 15 PAIVA, F. P.; MAFFILI, V.; SANTOS, A. C. S. **Curso de Manipulação de Animais de**
16 **Laboratório**. Salvador: [s.n.].
- 17 PESSIONE, F. et al. Cigarette smoking and hepatic lesions in patients with chronic hepatitis
18 C. **Hepatology**, v. 34, n. 1, p. 121–125, Jul. 2001.
- 19 PHILLIPS, B. et al. Toxicity of the main electronic cigarette components, propylene glycol,
20 glycerin, and nicotine, in Sprague-Dawley rats in a 90-day OECD inhalation study
21 complemented by molecular endpoints. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 315–332,
22 Nov. 2017.
- 23 PONZONI, L. et al. Different physiological and behavioural effects of e-cigarette vapour and
24 cigarette smoke in mice. **European Neuropsychopharmacology**, v. 25, n. 10, p. 1775–1786,
25 Oct. 2015.

- 1 R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R SoftwareR: A Language and Environment for**
2 **Statistical Computing**, 2016.
- 3 RENNE, R. A. et al. Effects of Flavoring and Casing Ingredients on the Toxicity of
4 Mainstream Cigarette Smoke in Rats. **Inhalation Toxicology**, v. 18, n. 9, p. 685–706, 6 Jan.
5 2006.
- 6 ROOHI, N.; ASHRAF, S. **Effects of cigarette smoking on serum proteins profile in male**
7 **active and passive smokersJ. Zool.** [s.l: s.n.].
- 8 RUPPRECHT, L. E. et al. Self-Administered Nicotine Suppresses Body Weight Gain
9 Independent of Food Intake in Male Rats. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 18, n. 9, p.
10 1869–1876, Sep. 2016.
- 11 SALAHSHOOR, M. et al. Curcumin improves liver damage in male mice exposed to
12 nicotine. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 6, n. 2, p. 176–183,
13 Apr. 2016.
- 14 SALAHUDDIN, M. et al. Effects of probiotics on haematology and biochemical parameters
15 in mice. **Bangladesh Veterinarian**, v. 30, n. 1, p. 20–24, 31 Aug. 2013.
- 16 SALAJ, R. et al. The Effects of Two Lactobacillus plantarum Strains on Rat Lipid
17 Metabolism Receiving a High Fat Diet. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1–7, 2013.
- 18 SALUNKE, R. et al. Smokeless tobacco extract impairs iron homeostasis in rats and human
19 hepatoma, HepG2 cells. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 93, n. 5, p. 1028–
20 1044, May 2011.
- 21 SAVIN, Z. et al. Smoking and the intestinal microbiome. **Archives of Microbiology**, v. 200,
22 n. 5, p. 677–684, 6 Jul. 2018.
- 23 SCHLEY, P. D.; FIELD C.J. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics.
24 **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 6, p. 221–230, May 2002.
- 25 SHERMAN, P. M.; OSSA, J. C.; JOHNSON-HENRY, K. Unraveling Mechanisms of Action

- 1 of Probiotics. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 24, n. 1, p. 10–14, Feb. 2009.
- 2 SHIELS, M. S. et al. Cigarette Smoking and Variations in Systemic Immune and
3 Inflammation Markers. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 106, n. 11, p. 1–
4 8, Nov. 2014.
- 5 SHIMAUCHI, H. et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with
6 *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study.
7 **Journal of Clinical Periodontology**, v. 35, n. 10, p. 897–905, Oct. 2008.
- 8 SIGAUD, C. H. S.; CASTANHEIRA, A. B. C.; COSTA, P. Association between secondhand
9 smoking in the home and respiratory morbidity in preschool children. **Revista da Escola de**
10 **Enfermagem da USP**, v. 50, n. 4, p. 562–568, 2016.
- 11 SMITH, C. J.; LIVINGSTON, S. D.; DOOLITTLE, D. J. An international literature survey of
12 “IARC group I carcinogens” reported in mainstream cigarette smoke. **Food and Chemical**
13 **Toxicology**, v. 35, n. 10–11, p. 1107–1130, Oct. 1997.
- 14 SONAGRA, A. D. et al. Study of Lipid Profile among Healthy Smokers and Non Smokers.
15 **International Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 13, n. 1, p. 87–94, 2017.
- 16 SPINELLI, M. O. et al. Estudo da variação sazonal dos parâmetros bioquímicos de roedores e
17 lagomorfos. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 36, n. 2, p. 219–225, 2014.
- 18 TALAYERO, B. G.; SACKS, F. M. The Role of Triglycerides in Atherosclerosis. **Current**
19 **Cardiology Reports**, v. 13, n. 6, p. 544–552, Dec. 2011.
- 20 THOMAS, D. W.; GREER, F. R. Probiotics and Prebiotics in Pediatrics. **Pediatrics**, v. 126,
21 n. 6, p. 1217–1231, 1 Dec. 2010.
- 22 THOMSON, G.; WILSON, N.; HOWDEN-CHAPMAN, P. Population level policy options
23 for increasing the prevalence of smokefree homes. **Journal of Epidemiology & Community**
24 **Health**, v. 60, n. 4, p. 298–304, 1 Apr. 2006.
- 25 TSUJI, H. et al. Comparison of Biological Responses in Rats Under Various Cigarette Smoke

- 1 Exposure Conditions. **Journal of Toxicologic Pathology**, v. 26, n. 2, p. 159–174, Jun. 2013.
- 2 VENKATESWARLU, K. et al. Preclinical evaluation of nephroprotective potential of a
3 probiotic formulation LOBUN on Cyclosporine-A induced renal dysfunction in Wistar rats.
4 **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 2, p. e16041, 2017.
- 5 VERHAEGEN, A.; VAN GAAL, L. Do E-cigarettes induce weight changes and increase
6 cardiometabolic risk? A signal for the future. **Obesity Reviews**, v. 18, n. 10, p. 1136–1146,
7 2017.
- 8 VGBOR, C. I. et al. the Effect of Tobacco Snuff Consumption on Liver Enzymes. **IJHPR**
9 **International Journal of Herbs and Pharmacological Research IJHPR**, v. 2, n. 22, p. 20–
10 27, 2013.
- 11 VOGTMANN, E. et al. Association between tobacco use and the upper gastrointestinal
12 microbiome among Chinese men. **Cancer Causes & Control**, v. 26, n. 4, p. 581–588, 21
13 Apr. 2015.
- 14 VU, C. U. et al. Nicotinic Acetylcholine Receptors in Glucose Homeostasis: The Acute
15 Hyperglycemic and Chronic Insulin-Sensitive Effects of Nicotine Suggest Dual Opposing
16 Roles of the Receptors in Male Mice. **Endocrinology**, v. 155, n. 10, p. 3793–3805, Oct. 2014.
- 17 WIECZFINSKA, J. et al. Analysis of Short-Term Smoking Effects in PBMC of Healthy
18 Subjects—Preliminary Study. **International Journal of Environmental Research and**
19 **Public Health**, v. 15, n. 5, p. 1021, 18 May 2018.
- 20 WIEST, R.; LAWSON, M.; GEUKING, M. Pathological bacterial translocation in liver
21 cirrhosis. **Journal of Hepatology**, v. 60, n. 1, p. 197–209, Jan. 2014.
- 22 WONG, V. W.-S. et al. Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with probiotics. A proof-of-
23 concept study. **Annals of Hepatology**, v. 12, n. 2, p. 256–262, 2013.
- 24 WU, Y. et al. Activation of AMPK α 2 in adipocytes is essential for nicotine-induced insulin
25 resistance in vivo. **Nature Medicine**, v. 21, n. 4, p. 373–382, 2015.

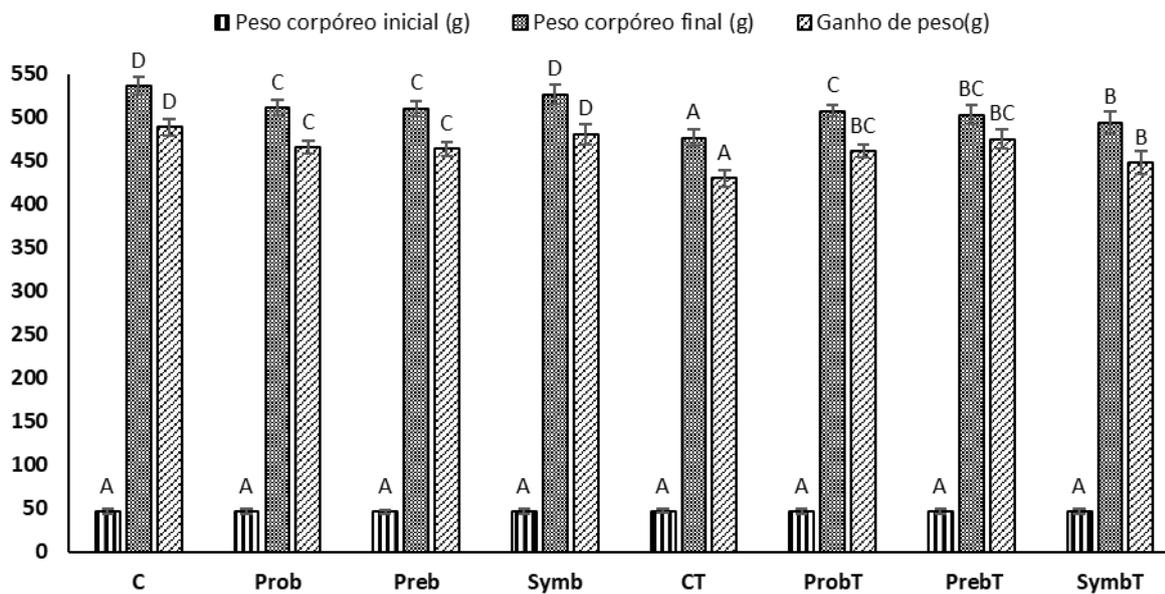
- 1 XU, R.-Y. et al. Supplementation with probiotics modifies gut flora and attenuates liver fat
2 accumulation in rat nonalcoholic fatty liver disease model. **Journal of Clinical Biochemistry**
3 **and Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 72–77, Jan. 2011.
- 4 YADAV, H. et al. Beneficial Metabolic Effects of a Probiotic via Butyrate-induced GLP-1
5 Hormone Secretion. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 35, p. 25088–25097, Aug.
6 2013.
- 7 YOUNAN, S. et al. Probiotic mitigates the toxic effects of potassium dichromate in
8 preclinical study: a randomized controlled trial. **Journal of the Science of Food and**
9 **Agriculture**, v. 36, 30 May 2018.
- 10 YUAN, Y.; MEEKER, J. D.; FERGUSON, K. K. Serum polybrominated diphenyl ether
11 (PBDE) concentrations in relation to biomarkers of oxidative stress and inflammation: The
12 National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2004. **Science of The Total**
13 **Environment**, v. 575, p. 400–405, Jan. 2017.
- 14 ZUO, L. et al. Cigarette smoking is associated with intestinal barrier dysfunction in the small
15 intestine but not in the large intestine of mice. **Journal of Crohn’s and Colitis**, v. 8, n. 12, p.
16 1710–1722, Dec. 2014.
- 17
18
19
20
21



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

Figura 1 - Gráfico representando a linha do tempo do experimento.

Parâmetros Fisiológicos



1

2

3 Figura 2 – Efeito dos alimentos funcionais: probiótico, prebiótico e simbiótico, nos
 4 parâmetros nutricionais: peso inicial, peso final e ganho de peso de grupos de ratos na fase de
 5 crescimento expostos cronicamente a fumaça de cigarro. As colunas e barras representam a
 6 média \pm desvio padrão de 12 ratos. Comparação entre médias ANOVA one-way, com
 7 contrastes pelo método de Tukey ($P > 0,05$).

8

1 Tabela 1 - Composição (%) das dietas, fornecidas aos ratos Wistar na fase de crescimento.

Ingredientes (g)	Dietas padrão e experimentais			
	Padrão	Prob	Preb	Symb
Farelo de milho	82.95	82.95	82.95	82.95
Óleo de Soja	7.00	7.00	7.00	7.00
L-Cisteína	0.30	0.30	0.30	0.30
Celulose	5.00	3.00	4.00	2.00
Cloreto de Sódio	0.25	0.25	0.25	0.25
Vitamina mix*	1.00	1.00	1.00	1.00
Mineral mix**	3.50	3.50	3.50	3.50
Probiótico***	0.00	2.00	0.00	2.00
Prebiótico****	0.00	0.000	1.00	1.00
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

2 * Vitamina mix/Kg: Ácido nicotínico, 30 mg; Pantotenato, 15 mg; Piridoxina, 6 mg; Tiamina, 5 mg;
3 Riboflavina, 6 mg; Ácido fólico, 2 mg; Biotina, 0,2 mg; Vitamina B12, 25 mg; Vitamina E, 75 UI; Vitamina A,
4 4000 UI; Vitamina D3, 1000 UI; Vitamina K, 900 mg; Colina, 1000 mg. ** Mineral mix mg/Kg: Cálcio, 5000;
5 Fósforo, 1,561; Potássio, 3600; Enxofre, 300; Sódio, 1019; Cloro, 1,574; Magnésio, 507; Ferro, 35; Zinco, 30;
6 Manganês, 10; Cobre, 6; Iodo, 0,2; Molibdênio, 0,15; Selênio, 0,15. *** *Lactobacillus acidophilus*,
7 *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum* and *Bifidobacterium longum* (2–5 10⁹ UFC cada). ****
8 Mananoligossacarídeo (MOS), composto da fração activa α -1,3 e α -1,6, apresentando 30% de α -mananos e
9 derivado de cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

- 1 Tabela 2 - Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar, na fase de crescimento, alimentos com dietas suplementadas com alimentos funcionais:
 2 probiótico, prebiótico e simbiótico e expostos cronicamente a fumaça de cigarro.

Parâmetros	Grupos/tratamentos							
	C	Prob	Preb	Symb	CT	ProbT	PrebT	SymbT
ALT (IU L ⁻¹)	41,40 ± 4,31 ^A	40,62 ± 3,54 ^A	40,50 ± 6,10 ^A	39,79 ± 2,07 ^A	65,70 ± 6,92 ^C	53,48 ± 4,20 ^B	54,26 ± 5,03 ^B	56,42 ± 4,62 ^B
AST (IU L ⁻¹)	130,72 ± 3,48 ^A	129,53 ± 6,78 ^A	126,35 ± 10,57 ^A	127,94 ± 9,75 ^A	206,62 ± 12,13 ^C	157,91 ± 6,19 ^B	169,94 ± 11,96 ^B	162,03 ± 12,43 ^B
FA (IU L ⁻¹)	89,31 ± 3,56 ^{AB}	88,38 ± 4,74 ^{AB}	87,29 ± 6,87 ^A	87,71 ± 5,46 ^A	105,75 ± 5,75 ^C	94,30 ± 3,74 ^{AB}	95,58 ± 7,36 ^B	93,30 ± 7,52 ^{AB}
GGT (IU L ⁻¹)	7,02 ± 0,28 ^{AB}	6,99 ± 0,26 ^A	6,91 ± 0,19 ^A	6,93 ± 0,27 ^A	8,01 ± 0,19 ^D	7,43 ± 0,15 ^C	7,33 ± 0,27 ^{BC}	7,49 ± 0,34 ^C
Proteínas totais	6,73 ± 0,26 ^C	6,89 ± 0,26 ^C	6,74 ± 0,19 ^C	6,67 ± 0,31 ^C	4,42 ± 0,17 ^A	5,94 ± 0,26 ^B	5,83 ± 0,15 ^B	5,91 ± 0,16 ^B
Albumina (g dL ⁻¹)	3,71 ± 0,10 ^C	4,08 ± 0,12 ^D	3,96 ± 0,11 ^D	3,94 ± 0,22 ^D	2,49 ± 0,15 ^A	3,41 ± 0,17 ^B	3,37 ± 0,16 ^B	3,46 ± 0,13 ^B
Globulinas (g dL ⁻¹)	3,02 ± 0,19 ^D	2,81 ± 0,19 ^{CD}	2,78 ± 0,12 ^C	2,74 ± 0,19 ^C	1,93 ± 0,16 ^A	2,53 ± 0,18 ^{BC}	2,46 ± 0,14 ^B	2,45 ± 0,18 ^B
Colesterol total (mg dL ⁻¹)	81,89 ± 5,32 ^B	79,21 ± 4,37 ^{AB}	74,07 ± 4,46 ^A	72,86 ± 6,01 ^A	95,56 ± 5,44 ^C	83,64 ± 3,74 ^B	81,64 ± 3,64 ^B	78,65 ± 6,43 ^A
HDL (mg dL ⁻¹)	50,42 ± 5,66 ^B	55,82 ± 8,05 ^B	57,18 ± 8,69 ^B	54,57 ± 5,47 ^B	37,03 ± 4,39 ^A	45,14 ± 6,19 ^{AB}	46,74 ± 6,67 ^B	47,05 ± 9,95 ^B
LDL (mg dL ⁻¹)	27,98 ± 5,44 ^{AB}	25,01 ± 5,84 ^A	24,67 ± 8,35 ^A	25,18 ± 8,18 ^A	41,58 ± 5,99 ^C	33,48 ± 7,29 ^{ABC}	35,57 ± 7,69 ^{BC}	34,36 ± 7,82 ^{BC}
Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	58,64 ± 7,08 ^{AB}	51,50 ± 6,28 ^A	54,98 ± 4,46 ^A	55,37 ± 5,12 ^A	73,33 ± 4,19 ^D	66,14 ± 5,90 ^{CD}	63,97 ± 5,68 ^{BC}	64,52 ± 6,17 ^{BC}
Ureia (mg dL ⁻¹)	30,55 ± 4,01 ^A	28,75 ± 3,24 ^A	28,26 ± 3,99 ^A	27,14 ± 2,89 ^A	38,38 ± 5,44 ^B	30,05 ± 3,05 ^A	30,24 ± 3,52 ^A	31,27 ± 4,78 ^A
Creatinina (mg dL ⁻¹)	0,75 ± 0,07 ^{AB}	0,71 ± 0,09 ^A	0,71 ± 0,10 ^A	0,68 ± 0,05 ^A	1,10 ± 0,08 ^C	0,83 ± 0,09 ^B	0,84 ± 0,10 ^B	0,85 ± 0,10 ^B
Glicose (mg dL ⁻¹)	108,26 ± 5,08 ^{AB}	102,39 ± 5,72 ^A	98,61 ± 8,65 ^{AB}	100,79 ± 7,52 ^A	113,22 ± 5,72 ^C	104,80 ± 8,42 ^{BC}	106,91 ± 8,54 ^{BC}	104,08 ± 11,53 ^{BC}

- 3 Valores da média ± DP (n=10). ^A Média com similar sobrescrito em linha não difere significativamente, pelo teste de Tukey (P>0,05). Grupos: (C), dieta basal; (Prob), dieta
 4 basal suplementada com 20 g Kg⁻¹ de uma associação de microrganismos probióticos [*Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum* e
 5 *Bifidobacterium longum* (2–5 10⁹ UFC cada)]; (Preb), dieta basal suplementada com 10 g Kg⁻¹ de prebiótico [mananoligossacarídeo (MOS), composto da fração activa α-1,3 e
 6 α-1,6, apresentando 30% de α-mananos e derivado de cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae*]; (Symb), dieta basal suplementada com 20 g Kg⁻¹ de uma associação de
 7 microrganismos probióticos e 10 g Kg⁻¹ de prebiótico; (CT), dieta basal; (ProbT), dieta basal suplementada com 20 g Kg⁻¹ de uma associação de microrganismos probióticos;

- 1 (PrebT), dieta suplementada com 10 g Kg⁻¹ de prebiótico; e (SymbT), dieta basal suplementada com 20 g Kg⁻¹ de uma associação de microrganismos probióticos e 10 g Kg⁻¹
- 2 de prebiótico.

ANEXO A

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

 PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

 PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação
 PEIC - Programa Especial de Iniciação Científica

Parecer Final

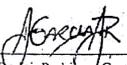
Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "ESTUDO SOBRE O EFEITO DE PREBIÓTICO, PROBIÓTICO E SIMBIÓTICOS EM PARÂMETROS HORMONAIIS E BIOQUÍMICOS DE RATOS FUMANTES PASSIVOS CRÔNICOS", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 3585 e tendo como participante(s) ANA VANUIRE ROMBI (titulante), VIVIANE APARECIDA DOS SANTOS (discente), JULIA BELONE LOPES (discente), HERMANN BREMER NETO (orientador responsável), foi avaliado e APR. COM RECOMENDAÇÃO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, 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 da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APR. COM RECOMENDAÇÃO em reunião realizada em 15/02/2017.

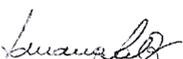
Vigência do projeto: 03/2017 a 02/2019.

Espécie/Linhagem	Nº de Animais	Peso	Idade	Sexo	Origem
Rato	80	45 gramas	23 dias	M	Biotério Central

Presidente Prudente, 18 de Setembro de 2017.



 Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
 Coordenador Científico da CPDI



 Prof. Ms. Adriana Falco de Brito
 Coordenadora da CEUA - UNOESTE

ANEXO B

Normas da Revista: Ciência Rural

Objetivo e política editorial

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

Preparação de originais

2. Os **artigos** científicos, **revisões** e **notas** devem ser encaminhados via eletrônica e editados **preferencialmente em idioma Inglês**. Os encaminhados em Português poderão ser traduzidos após a 1º rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso **não traduzidos** nesta etapa e se **aprovados** para publicação, terão que ser **obrigatoriamente traduzidos para o Inglês** por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação na CR.

Empresas credenciadas:

- American Journal Experts (<http://www.journalexperts.com/>)
- Bioedit Scientific Editing (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>)
- Editage (<http://www.editage.com.br/>) 10% discount for CR clients. Please inform Crural10 code.
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>) Please inform CIRURAL for special rates.
- GlobalEdico (<http://www.globaledico.com/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>)
- Paulo Boschcov (paulo@bridgetextos.com.br, bridge.textecn@gmail.com)

- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)

- Readytopub (<https://www.readytopub.com/home>)

O trabalho após tradução e o respectivo certificado devem ser enviados para:

rudiweiblen@gmail.com

As despesas de tradução serão por conta dos autores. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem. Tendo em vista o formato de publicação eletrônica estaremos considerando manuscritos com páginas adicionais além dos limites acima. No entanto, os trabalhos aprovados que possuírem páginas além do estipulado terão um custo adicional para a publicação (vide taxa).

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

4. A revisão bibliográfica (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

5. A nota (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. O preenchimento do campo "cover letter" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, exceto para artigos submetidos em português (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser submetidos em inglês).

- a) What is the major scientific accomplishment of your study?
- b) The question your research answers?
- c) Your major experimental results and overall findings?
- d) The most important conclusions that can be drawn from your research?
- e) Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte tutorial.

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. Nesse link é disponibilizado o arquivo de estilo para uso com o software EndNote (o EndNote é um software de gerenciamento de referências, usado para gerenciar bibliografias ao escrever ensaios e artigos). Também é disponibilizado nesse link o arquivo de estilo para uso com o software Mendeley.

11. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

11.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. The practice of large animal surgery. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros. Manaus : INPA, 1979. 95p.

11.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. The thyroid. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

11.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. Sampling techniques. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

11.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum*(Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Product Research, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Available from: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Accessed: Mar. 18, 2002. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Response of *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) to different concentrations of diatomaceous earth in bulk stored wheat. *Ciência Rural*, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2009. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

SENA, D. A. et al. Vigor tests to evaluate the physiological quality of corn seeds cv. 'Sertanejo'. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 47, n. 3, e20150705, 2017. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300151&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2017. Epub 15-Dez-2016. doi: 10.1590/0103-8478cr20150705 (Artigo publicado eletronicamente).

11.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. Anais... Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad). 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.7. Boletim:

ROGIK, F.A. Indústria da lactose. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20). (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes

das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

11.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. Proceedings... Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Online. Available from: <<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>>. Accessed: Mar. 18, 2005 (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

UFRGS. Transgênicos. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Online. Available from: <<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>>. Accessed: Mar. 18, 2001(OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. Maturitas, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Online. Available from: <<http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>>. Accessed: Mar. 18, 2007.

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. Anais... Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

12. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

13. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).
14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.
15. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).
16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.
17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.
18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.
19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a taxa de tramitação. Artigos reencaminhados (com decisão de Reject and Resubmit) deverão pagar a taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por decurso de prazo não terão a taxa de tramitação reembolsada.
20. Todos os artigos submetidos passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa “Cross Check”.

Critérios de avaliação

Todos os trabalhos submetidos são inicialmente examinados pela equipe CR, comitê editorial e de área e então enviados a dois avaliadores ad hoc no mínimo. As revisões são submetidas normalmente para três consultores ad hoc.