

**TOXICIDADE DO TABAGISMO PASSIVO: EFEITO MITIGADOR DE ALIMENTOS
FUNCIONAIS NOS PARÂMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS E
HISTOPATOLÓGICOS DUODENAIIS EM RATOS**

THIAGO TOMIO TAKABATAKE

**TOXICIDADE DO TABAGISMO PASSIVO: EFEITO MITIGADOR DE ALIMENTOS
FUNCIONAIS NOS PARÂMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS E
HISTOPATOLÓGICOS DUODENAIS EM RATOS**

THIAGO TOMIO TAKABATAKE

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Hermann Bremer Neto

636.089 986 5
T136t

Takabatake, Thiago Tomio.

Toxicidade do tabagismo passivo: efeito mitigador de alimentos funcionais nos parâmetros histomorfométricos e histopatológicos duodenais em ratos /Thiago Tomio Takabatake – Presidente Prudente, 2017.

35 f. :il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2017.

Bibliografia.

Orientador: Prof. Dr. Hermann Bremer Neto.

1. Probiótico. 2. Prebiótico. 3. Simbiótico. 4. Vilosidades Intestinais. 4. Mucosa. 5. Lesões Inflamatórias. 6. Alterações Degenerativas.

THIAGO TOMIO TAKABATAKE

**TOXICIDADE DO TABAGISMO PASSIVO: EFEITO MITIGADOR DE ALIMENTOS
FUNCIONAIS NOS PARÂMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS E
HISTOPATOLÓGICOS DUODENAIS EM RATOS**

Dissertação apresentada a Pró- Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.
Área de Concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Presidente Prudente, 13 de junho de 2017

BANCA EXAMINADORA

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

Dra. Andreia Luciane Moreira
Apta- Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Presidente Prudente- SP

Prof. Dr. Luís Souza Lima de Souza Reis
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente- SP

DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente a Deus, que iluminou meu caminho durante essa caminhada, que me deu sabedoria, forças e saúde para enfrentar todos os obstáculos e momentos difíceis.

Aos meus pais Roberto e Francisca, que nunca mediram esforços durante meus estudos, pelo apoio, incentivo e confiança, não sei o que seria de mim sem vocês, jamais poderia retribuir o que fizeram e fazem por mim, tenho orgulho de ter vocês como pais.

AGRADECIMENTOS

A meu orientador, Professor Doutor Hermann Bremer Neto, pelos ensinamentos, confiança, dedicação, paciência, e acima de tudo, pela amizade, sem o qual nada disso seria possível;

Aos meus pais, Roberto e Francisca, por me darem condições de finalizar mais essa etapa da minha vida, por nunca medirem esforços custeando e me ajudando em tudo, com certeza vocês fazem parte desse sonho que está se realizando, sem vocês isso não seria possível;

Ao docente, Professor Doutor Luís Souza Lima de Souza Reis pela amizade, ensinamentos e incentivo;

Todos os docentes do programa de Pós-Graduação, Mestrado em Ciência Animal, pela amizade, por todos os ensinamentos e incentivos.

Muito obrigado.

“Quem dorme sonha, quem trabalha conquista”

Wendel Luís

RESUMO

Toxicidade do Tabagismo Passivo: Efeito Mitigador de Alimentos Funcionais nos Parâmetros Histomorfométricos e Histopatológicas Duodenais de Ratos

O tabagismo passivo tornou-se um grande problema decorrente de danos causados ao organismo de pessoas expostas involuntariamente a fumaça de cigarro. A preocupação com esse grupo de pessoas levou a comunidade científica a pesquisar alternativas que possam vir a ser utilizadas para prevenir os danos causados pelo fumo passivo. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos deletérios do tabagismo passivo crônico sobre a histomorfometria e histopatologia do duodeno de ratos em crescimento suplementados ou não com os alimentos funcionais prebiótico, probiótico e simbiótico. Foram utilizados 96 ratos distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4. Os animais foram suplementados com os alimentos funcionais e expostos passivamente ou não a fumaça de cigarro durante 180 dias por uma hora diária cinco dias por semana. Ao final do período experimental, foram colhidas amostras da porção inicial do duodeno para avaliação histomorfométrica e análise histopatológica. Os animais expostos ao fumo passivo apresentaram menor desenvolvimento das vilosidades e criptas duodenais, aumento nos perfis inflamatórios e alterações degenerativas. Foi observado que a suplementação com os alimentos funcionais proporcionou um efeito mitigador dos efeitos tóxicos da exposição ao tabagismo passivo em todos os parâmetros analisados. Conclui-se que a utilização de prebiótico, probiótico e simbiótico na dieta de ratos expostos ao tabagismo passivo pode ser uma possível forma de atenuar os efeitos tóxicos induzidos pelo fumo passivo sobre a mucosa duodenal, podendo servir como prevenção de danos a mucosa e desenvolvimento de doenças futuras ocasionadas pela exposição passiva a fumaça de cigarro.

Palavras-chave: prebiótico, probiótico, simbiótico, mucosa intestinal, lesões inflamatórias, alterações degenerativas

ABSTRACT

Passive Smoking Toxicity: Functional Food Mitigating Effect on Duodenal Histomorphometric and Histopathological Parameters of Mice

Passive smoking has become a major problem stemming from damage to the body from people involuntarily exposed to cigarette smoke. Concern with this group of people has led the scientific community to research alternatives that might be used to prevent the harm caused by secondhand smoke. Thus, the objective of the present study was to evaluate the deleterious effects of chronic passive smoking on the histomorphometry and histopathology of the duodenum of growing rats supplemented or not with functional prebiotic, probiotic and symbiotic foods. A total of 96 rats were distributed in a completely randomized design in a 2 x 4 factorial scheme. Animals were supplemented with functional foods and passively or not exposed to cigarette smoke for 180 days for one hour daily five days a week. At the end of the experimental period, samples of the initial duodenum were collected for histomorphometric evaluation and histopathological analysis. Animals exposed to secondhand smoke showed less development of duodenal villi and crypts, increased inflammatory profiles and degenerative changes. It was observed that supplementation with functional foods provided a mitigating effect of the toxic effects of exposure to passive smoking in all analyzed parameters. It is concluded that the use of prebiotic, probiotic and symbiotic in the diet of rats exposed to passive smoking may be a possible way to attenuate the toxic effects induced by secondhand smoke on the duodenal mucosa, and may serve as prevention of mucosal damage and development of Diseases caused by passive exposure to cigarette smoke.

Key words: prebiotic, probiotic, symbiotic, intestinal mucosa, inflammatory lesions, degenerative changes.

SUMÁRIO

1 ARTIGO CIENTIFICO.....	9
ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO TRABALHO PELA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE DO OESTE PAULISTA (UNOESTE).....	25
ANEXO 2 - NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNTEFICA.....	26

Passive Smoking Toxicity: Functional Food Mitigating Effect on Duodenal Histomorphometric and Histopathological Parameters of Mice

Toxicidade do Tabagismo Passivo: Efeito Mitigador de Alimentos Funcionais nos Parâmetros Histomorfométricos e Histopatológicas Duodenais de Ratos

Thiago Tomio Takabatake^{1*}, Gabriel Zanuto Sakita¹, Heliard Rodrigues dos Santos Caetano¹, Viviane Aparecida dos Santos¹, Andréia Luciane Moreira², Lilian Francisco Arantes de Souza³ e Hermann Bremer-Neto^{1*}

¹ Departamento de Ciências Funcionais, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP Brasil. E-mail: hermann@unoeste.br.

² Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Polo Regional Alta Sorocabana, Presidente Prudente, SP, Brasil.

³ Universidade do Oeste Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias, 19067-175, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

* Thiago Tomio Takabatake. E-mail: thiagozootecnista.84@gmail.com

Abstract

Passive smoking has become a major problem stemming from damage to the body from people involuntarily exposed to cigarette smoke. Concern with this group of people has led the scientific community to research alternatives that might be used to prevent the harm caused by secondhand smoke. Thus, the objective of the present study was to evaluate the deleterious effects of chronic passive smoking on the histomorphometry and histopathology of the duodenum of growing rats supplemented or not with functional prebiotic, probiotic and symbiotic foods. A total of 96 rats were distributed in a completely randomized design in a 2 x 4 factorial scheme. Animals were supplemented with functional foods and passively or not exposed to cigarette smoke for 180 days for one hour daily five days a week. At the end of the experimental period, samples of the initial duodenum were collected for histomorphometric evaluation and histopathological analysis. Animals exposed to secondhand smoke showed less development of duodenal villi and crypts, increased inflammatory profiles and degenerative changes. It was observed that supplementation with functional foods provided a mitigating effect of the toxic effects of exposure to passive smoking in all analyzed parameters. It is concluded that the use of prebiotic, probiotic and symbiotic in the diet of rats exposed to passive smoking may be a possible way to attenuate the toxic effects induced by secondhand smoke on the duodenal mucosa, and may serve as prevention of mucosal damage and development of Diseases caused by passive exposure to cigarette smoke.

Key words: prebiotic, probiotic, symbiotic, intestinal mucosa, inflammatory lesions, degenerative changes.

Resumo

O tabagismo passivo tornou-se um grande problema decorrente de danos causados ao organismo de pessoas expostas involuntariamente a fumaça de cigarro. A preocupação com esse grupo de pessoas levou a comunidade científica a pesquisar alternativas que possam vir a ser utilizadas para prevenir os danos causados pelo fumo passivo. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos deletérios do tabagismo passivo crônico sobre a histomorfometria e histopatologia do duodeno de ratos em crescimento suplementados ou não com os alimentos funcionais prebiótico, probiótico e simbiótico. Foram utilizados 96 ratos distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4. Os animais foram suplementados com os alimentos funcionais e expostos passivamente ou não a fumaça de cigarro durante 180 dias por uma hora diária cinco dias por semana. Ao final do período experimental, foram colhidas amostras da porção inicial do duodeno para avaliação histomorfométrica e análise histopatológica. Os animais expostos ao fumo passivo apresentaram menor desenvolvimento das vilosidades e criptas duodenais, aumento nos perfis inflamatórios e alterações degenerativas. Foi observado que a suplementação com os alimentos funcionais proporcionou um efeito mitigador dos efeitos tóxicos da exposição ao tabagismo passivo em todos os parâmetros analisados. Conclui-se que a utilização de prebiótico, probiótico e simbiótico na dieta de ratos expostos ao tabagismo passivo pode ser uma possível forma de atenuar os efeitos tóxicos induzidos pelo fumo passivo sobre a mucosa duodenal, podendo servir como prevenção de danos a mucosa e desenvolvimento de doenças futuras ocasionadas pela exposição passiva a fumaça de cigarro.

Palavras-chave: prebiótico, probiótico, simbiótico, mucosa intestinal, lesões inflamatórias, alterações degenerativas

Introdução

O tabagismo é considerado a principal causa de morte no mundo (WHO, 2011) matando milhões de pessoas anualmente (WALODE, 2016). Além dos problemas causados pelo tabaco aos fumantes ativos, um grupo de pessoas que são expostas involuntariamente a fumaça do cigarro, conhecidas como fumantes passivos, também são consideradas de risco decorrente dos altos índices de mortalidade e morbidade em todo o mundo (OBERG et al., 2011). Um relatório publicado em 2009 pela Organização Mundial da Saúde demonstrou que mais de meio milhão de pessoas morrem devido a exposição ao tabagismo passivo (WHO, 2009). Mundialmente, cerca de um terço dos adultos não fumantes são expostos ao fumo passivo (OBERG et al., 2011), porém, o grupo mais afetado é o das crianças (HADJIPANAYIS et al., 2017).

Decorrente a esses problemas, pesquisas vem demonstrando que a exposição ao fumo passivo pode ocasionar danos a estrutura e função da barreira intestinal, aumentando a translocação bacteriana e levando a atrofia das vilosidades intestinais em camundongos (ZUO et al., 2014), mudanças na comunidade bacteriana, expressão de genes inflamatórios e alterando a produção epitelial de muco (ALLAIS et al., 2016), além de desenvolvimento futuro de doenças inflamatórias intestinais como a doença de Chron (BASSON et al., 2014; LEGAKI; GAZOULI, 2016; VERSCHUERE et al., 2012). Devido a isso, é de interesse da comunidade científica buscar alternativas viáveis que possam reduzir os impactos causados pelo tabagismo passivo sobre o organismo humano.

Alguns ingredientes alimentares, denominados de alimentos funcionais, possuem capacidade de promover benefícios a saúde do hospedeiro (CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005). Dentre esses alimentos são destacados os prebióticos, probióticos e simbióticos (CHAIYASUT et al., 2016; LONGORIA-GARCÍA et al., 2016; SALMINEN et al., 1998), sendo que nos últimos anos esses alimentos passaram a ser fortemente utilizados em pesquisas como moduladores da microbiota intestinal (VALDÉS-VARELA; RUAS-MADIEDO; GUEIMONDE, 2017) e estão sendo fortemente consumidos por pessoas de todo o mundo como promotores de saúde, bem estar e redução nos riscos de doenças (KONAR et al., 2016).

Os prebióticos são definidos como “ingredientes seletivamente fermentados que resultam em alterações na composição/atividade da microbiota gastrointestinal conferindo benefícios à saúde do hospedeiro” (GIBSON et al., 2010). Os probióticos são ingredientes alimentares microbianos com efeitos no trato intestinal afetando de forma benéfica a saúde do hospedeiro (ROBERFROID, 2000). Já o simbiótico nada mais é que a combinação de ingredientes prebióticos e probióticos proporcionando uma ação sinérgica (FORD et al., 2014).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos deletérios do tabagismo passivo crônico sobre a histomorfometria e histopatologia do duodeno de ratos em crescimento suplementados ou não com diferentes alimentos funcionais (prebióticos, probióticos e simbióticos). A hipótese desse estudo seria de que os alimentos funcionais, com suas propriedades benéficas sobre a microbiota e mucosa

intestinal e saúde do hospedeiro, pudessem agir atenuando os efeitos tóxicos da fumaça do cigarro sobre a mucosa intestinal. Dessa forma, a utilização diária desses ingredientes poderia ser uma forma de evitar danos inflamatórios ao trato gastrointestinal de fumantes passivos e diminuir os riscos de desenvolvimento de doenças futuras relacionadas ao tabagismo passivo.

Material e Métodos

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista. Foram utilizados 96 ratos Wistar, machos com 23 dias e $46.36 \pm 2,71$ g de peso corporal, mantidos em gaiolas individuais, sob condições de iluminação com 12 horas de ciclo claro/escuro, temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e as dietas sólidas e hídricas fornecidas *ad libitum* durante o período experimental de 180 dias.

Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4 com dois grupos (não fumante passivo e fumante passivo) e quatro tratamentos (controle, prebiótico, probiótico e simbiótico) totalizando oito grupos experimentais (n = 12 por grupo):

01 - Grupo Controle (GC) = dieta basal (ração comercial Supralab Especial, Alisul Ind. Alimentos Ltda, Brasil);

02 - Grupo Controle Tabagista (GCT) = dieta basal com exposição ao tabagismo por uma hora diária, dividido em dois períodos de meia hora;

03 - Grupo probiótico (PRO) = dieta basal incorporada com 2 g de probiótico (associação de microrganismos probióticos composto por: *Lactobacillus acidophilus*, 1.000.000.000 de Unidades Formadoras de Colônias (UFC); *Enterococcus faecium* 2.100.000.000 UFC; *Bifidobacterium subtilis* 2.900.000.000 UFC; e *Bifidobacterium bifidum* 2.900.000.000 UFC por kg de produto) por kg da dieta;

04 - Grupo probiótico tabagista (PROT) = dieta basal incorporada com 2 g de probiótico por kg da dieta com exposição ao tabagismo por uma hora diária, dividido em dois períodos de meia hora;

05 - Grupo prebiótico (MOS) = dieta basal incorporada com 1 g de mananoligossacarídeo (derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026, composto por 17% de α -mananos) por kg da dieta;

06 - Grupo prebiótico tabagista (MOST) = dieta basal incorporada com 1g do produto MOS por kg da dieta com exposição ao tabagismo por uma hora diária, dividido em dois períodos de meia hora;

07 - Grupo simbiótico (SIM) = dieta basal incorporada com 1 g de prebiótico MOS + 2 g de probiótico;

08 - Grupo simbiótico tabagista (SIMT) = dieta basal incorporada com 1 g de prebiótico MOS + 2 g de probiótico por kg da dieta e com exposição ao tabagismo por uma hora diária, dividido em dois

períodos de meia hora. As dosagens dos produtos utilizados seguiram as recomendações dos fabricantes.

Dois fases compuseram o protocolo de exposição dos animais à fumaça de cigarro: Primeira Fase – cinco dias de adaptação dos animais dos grupos tabagistas a fumaça do cigarro com utilização de uma câmara de fumo com temperatura controlada (22°C) durante 10 minutos, uma vez ao dia, com uma concentração média durante o período de exposição de 350 partes do milhão (ppm) de monóxido de carbono (CO), medido através de um detector de gás específico, modelo TxiPro® - da Biosystems. Segunda fase - 180 dias experimentais onde os animais foram expostos a fumaça de cigarro por 60 minutos diários, 30 minutos no período da manhã e 30 minutos no período da tarde, cinco dias por semana, com concentração média de CO de 350 mg/m³ (MELLO; THELMA; BOTELHO, 2006).

A câmara para a inalação de fumaça foi dividida em compartimentos, uma para a colocação de cigarros acesos, e outra destinada à exposição da gaiola com seis animais, sendo adaptada segundo o modelo de inalação descrito por Cendon Filha (CENDON FILHA, 1993). Para realização do protocolo foram utilizadas duas câmaras hermeticamente fechadas, ambas possuindo 100 cm de comprimento, 40 cm de largura e 40 cm de altura, uma para os grupos GCT, MOST, PROT e SIMT com inalação de fumaça de cigarro e a segunda para os animais dos grupos GC, MOS, PRO e SIM com inalação apenas de ar comprimido, onde a origem desse ar foi através de um compressor radial (modelo CRC – 2 210 15 SS, Asten & Cia Ltda., Brasil). Foram utilizados cigarros, adquiridos comercialmente, composto por mistura de fumo, açúcares, papel de cigarro, extrato vegetais e agentes de sabor, que produziram em cada queima 10 mg de alcatrão, 0,9 mg de nicotina e 10 mg de monóxido de carbono, conforme relatado na embalagem do produto.

No final do período experimental, os animais foram anestesiados com Tiopental 50 mg mL⁻¹ (Thiopentax, Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda – São Paulo – SP), com uma dosagem de 30 mg kg⁻¹ de peso vivo, por via intraperitoneal, e eutanasiados por exsanguinação (PAIVA; MAFFILI; SANTOS, 2005). Após constatada a morte clínica do animal, foi realizada a abertura ampla da parede abdominal para colheita de fragmentos de intestino delgado (duodeno), sendo estas fixadas em solução de Davidson por 24 horas, e posteriormente lavadas em água corrente e transferidas para solução de álcool 70%. As amostras foram processadas conforme a técnica de rotina histológica para microscopia óptica e inclusão em parafina, a preparação das amostras ocorreu em processador automático de tecidos Leica TP 1020, para cortes em parafina de 5 µm, em micrótomo semiautomático Leica RM 2145 e coradas pelo método hematoxilina- eosina (TOLOSA et al., 2003).

Foram confeccionadas três lâminas por animal de cada tratamento onde foram medidos dez comprimentos (GUILLAUMON; COUTO, 2013) e área dos vilos e a profundidade de dez criptas (CLARKE, 1977) que se apresentavam sem rupturas. Para captura das imagens e mensuração dos parâmetros analisados utilizou-se um microscópio Óptico Leica Leitz DM RXE com Câmara Leica DC – 100, associado ao software para análises de imagens Leica QWIN Pro v.23 serial 1623 (Leica

Microsystems Imaging Solution) com aumento de 40 vezes. Os parâmetros comprimento de vilo e profundidade de cripta foram expressos em μm e μm^2 , respectivamente.

Foram analisadas alterações histopatológicas como degeneração e atrofia das vilosidades, atrofia e hipertrofia da mucosa, mineralização da mucosa e metaplasia óssea, sendo classificadas através de escores, 1 (leve), 2 (moderada), 3 (acentuada). O perfil inflamatório foi avaliado quanto a distribuição no órgão e classificado em focal (observado em apenas um local), multifocal (observado em vários locais) e difuso (observado em todo campo analisado); e quanto ao tipo celular em agudo, crônica e granulomatosa (BERTRAM; MARKOVITS; JULIANA, 1996; DAVID; OWEN, 2003; NOLTE et al., 2016).

Os dados histológicos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Cramer-von Mises e a homocedasticidade por meio do teste de Levene. As lesões microscópicas foram analisadas por meio do teste do qui-quadrado, teste G ou teste exato de Fisher a 5% de significância. Foi avaliado os efeitos fixos tabagismo passivo, alimentos funcionais e tabagismo passivo x alimentos funcionais separadamente. Foi utilizado o software SAS[®] (Statistical Analysis System Inst., Cary, North Carolina) para os testes estatísticos ANOVA, qui-quadrado e exato de Fisher e o software BioEstat 5.3 para o teste G.

Resultados e Discussão

Foi observado diferenças ($P < 0,05$) nos parâmetros altura e área das vilosidades e profundidade de criptas entre os grupos expostos ou não a fumaça de cigarro e suplementados ou não com alimentos funcionais (Tabela 1). Os grupos de animais não expostos a fumaça de cigarro apresentaram maior ($P < 0,05$) desenvolvimento e integridade das estruturas analisadas quando comparado com os grupos expostos ao tabagismo passivo independente da utilização dos alimentos funcionais.

Tabela 1 – Valores médios e desvio padrão da altura vilos, profundidade de criptas e área dos vilos de ratos fumantes passivos alimentados ou não com dietas contendo prebiótico, probiótico e simbiótico.

Variáveis	Parâmetros		
	Altura	Profundidade	Área
Tabagismo passivo			
Não	578,94 ± 18,75	201,87 ± 11,61	109297,90 ± 5804,60
Sim	553,18 ± 14,53	184,68 ± 11,60	101081,10 ± 5163,19
Alimentos funcionais			
Controle	541,81 ± 11,47	180,66 ± 12,41	96067,24 ± 3782,45
Probiótico	569,53 ± 12,38	206,51 ± 12,40	106702,40 ± 4108,65
Prebiótico	575,72 ± 9,94	198,14 ± 8,55	108953,60 ± 4089,83
Simbiótico	577,18 ± 14,18	187,79 ± 8,38	109034,70 ± 4179,74
Probabilidades			
Tabagismo	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Alimentos funcionais	<0,0001	<0,0001	<0,0001
TP x AF	<0,0001	0,0053	<0,0001

TP x AF = interação entre tabagismo passivo e alimentos funcionais

Como pode ser observado na Tabela 2, ocorreu um efeito negativo evidente do tabagismo passivo sobre os parâmetros histomorfométricos duodenais analisados, podendo estar relacionado com o aumento do número de fatores inflamatórios intestinais e marcadores de resposta ao estresse (ZUO et al., 2014). O alcatrão e a nicotina podem ter efeito imunossupressor afetando a resposta imune (SOPORI; KOZAK, 1998), porém, a fumaça do cigarro gera mais de 6000 compostos (RENNARD, 2004), dos quais pelo menos 150 podem induzir atividades tóxicas e carcinogênicas no trato gastrointestinal (LUNDSTRÖM; MANJER; OHLSSON, 2016). Além disso, esses compostos são capazes de ativar uma variedade de tipos celulares que produzem mediadores que podem desempenhar papéis fisiopatológicos importantes (RENNARD, 2004).

Pesquisas demonstraram que a exposição de camundongos a fumaça passiva de cigarro durante dez semanas provocou lesões no epitélio intestinal danificando a estrutura e função da barreira intestinal com aumento da permeabilidade e translocação bacteriana além de atrofia das vilosidades (ZUO et al., 2014).

Os animais não expostos ao tabagismo passivo e suplementados com alimentos funcionais apresentaram desenvolvimento evidente das vilosidades intestinais, apresentando maior ($P < 0,05$) altura e área de vilos quando comparado com os animais controle. No caso da profundidade de cripta, os grupos prebiótico e probiótico diferiram ($P < 0,05$) do grupo controle, porém, o grupo simbiótico, apesar de apresentar uma diferença numérica, não diferiu ($P > 0,05$) dos animais controle nesse

parâmetro. É interessante destacar que dependendo do parâmetro analisado, houve diferenças ($P < 0,05$) entre os animais suplementados com os alimentos funcionais, onde que em cada parâmetro, ocorreu maior destaque de um dos alimentos analisados (Tabela 2).

Tabela 2 – Efeito da interação entre tabagismo passivo e alimentos funcionais sobre os parâmetros altura e área dos vilos e profundidade de cripta de ratos submetidos ou não ao tabagismo passivo e alimentados ou não com alimentos funcionais.

Tratamentos	Tabagismo passivo					
	Altura de vilos		Área de vilos		Profundidade de cripta	
	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim
Controle	551,49 cA	532,13 cB	99716,16 dA	92418,32 dB	191,41 cA	169,90 cB
Prebiótico	583,02 bA	568,42 aB	112888,90 bA	105018,30 aB	203,39 bA	192,89 aB
Probiótico	581,22 bA	557,84 bB	110506,90 cA	102843,90 cB	217,66 aA	195,37 aB
Simbiótico	600,04 aA	554,32 bB	114025,50 aA	104043,90 bB	195,03 cA	180,54 bB

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada parâmetro diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Pesquisas demonstraram os efeitos benéficos dos prebióticos, probióticos e simbióticos sobre a saúde intestinal (KRUMBECK et al., 2016; SUGIHARTO, 2016), assim como seus efeitos sobre a mucosa intestinal em animais em desafio imunológico (AL-BAADANI et al., 2016; ASHRAF et al., 2013; MURATE et al., 2015). Os benefícios dos alimentos funcionais sobre a mucosa intestinal podem ser explicados pelos efeitos antimicrobianos, modulação imunológica e aumento da integridade da barreira da mucosa proporcionado pelos probióticos (PATEL; DUPONT, 2015) com aumento do metabolismo de carboidratos e produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), sendo os principais o acetato, propionato e butirato, com destaque para o efeito estimulador na síntese de mucina ocasionado pela ação do butirato na mucosa intestinal, que desempenha um papel de manutenção da integridade do epitélio intestinal (BURGER-VAN PAASSEN et al., 2009) além de reduzir a translocação bacteriana (LEWIS et al., 2010). Nesse sentido, os ingredientes prebióticos podem proporcionar benefícios a mucosa intestinal pelo fato deles servirem como substratos para o crescimento de bactérias endógenas, principalmente os lactobacilos e as bifidobactérias, que fermentam os ingredientes prebióticos com produção dos AGCC e outros produtos fermentativos finais que reduzem o pH do meio, além de diminuírem a colonização de bactérias patogênicas pela redução do pH e por estas se aderirem a esses ingredientes passando direto pelo trato gastrointestinal (OLVEIRA; GONZÁLEZ-MOLERO, 2016; PREIDIS; VERSALOVIC, 2009), modulando a produção de citocinas dentro da mucosa intestinal através da alteração na composição da microbiota (PATEL; DUPONT, 2015; PREIDIS; VERSALOVIC, 2009), estimulando a produção de muco

(PREIDIS; VERSALOVIC, 2009; TORRECILLAS et al., 2011), prevenindo infecções e mantendo a integridade do epitélio intestinal.

Nos animais submetidos ao tabagismo passivo, houve uma redução significativa sobre a altura e área das vilosidades quando comparado aos animais não expostos a fumaça de cigarro, verificou-se que os alimentos funcionais desempenharam um efeito mitigador sobre os efeitos deletérios do tabagismo passivo nesses parâmetros. Os animais suplementados com alimentos funcionais apresentaram atrofia menos acentuada ($P < 0,05$) quando comparado com os animais controle, com destaque para os animais do grupo prebiótico, onde foi observado efeito mitigador proeminente e diferindo dos demais grupos suplementados (Tabela 2).

A redução de citocinas pró-inflamatórias que atuam sobre a barreira intestinal pode ser umas das explicações para os efeitos de atenuação dos danos a mucosa causados pelo tabagismo passivo. As bactérias probióticas podem afetar as células epiteliais intestinais modulando vias de sinalização e sobrevivência celular (THOMAS; VERSALOVIC, 2010), assim desempenhando atividade anti-inflamatória capazes de inibir a ação do NF- κ B por proteínas celulares (I- κ B α), atenuando os efeitos pró-inflamatórios resultantes desta via (TIEN et al., 2006; YANG et al., 2012). Ademais, algumas bactérias probióticas podem controlar a apoptose de células epiteliais intestinais (THOMAS; VERSALOVIC, 2010) através da ativação de uma proteína antiapoptótica (YAN; POLK, 2002), podendo ser uma possível forma de minimizar os efeitos deletérios causados por pela fumaça do cigarro. No caso dos prebióticos, pesquisas sugeriram que esses ingredientes funcionais podem promover a homeostase gastroenterológica e/ou corrigir danos causados por injúrias/doenças que estão ligadas a disbiose (WALKER; LAWLEY, 2013), acelerando processos de cicatrização e promovendo a proliferação de células da mucosa (TUOHY et al., 2003).

No caso das lesões inflamatórias, os animais suplementados com os alimentos funcionais e sem exposição ao fumo passivo não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) quanto a frequência de lesões observadas quando comparado com os animais controle, apesar de ser notório a redução da frequência de lesões inflamatórias proporcionado pelos alimentos funcionais em alguns dos parâmetros analisados (Tabela 3). A definição dos tipos de inflamações é determinada de acordo com os tipos celulares predominantes em cada processo inflamatório (NOLTE et al., 2016).

Quando os animais foram expostos ou não ao tabagismo passivo crônico, foi observado um aumento ($P < 0,05$) na frequência de lesões inflamatórias. Comparado com os animais não expostos a fumaça passiva de cigarro observou-se um aumento nas lesões difusa (37,50% vs 9,38%; $P < 0,0079$), aguda (62,50% vs 0,00%; $P < 0,0001$) e crônica (65,63% vs 34,38%; $P < 0,0124$) nos animais que foram expostos ao fumo passivo (Tabela 3). Esses resultados reforçam os efeitos deletérios causados pelo fumo passivo sobre o epitélio intestinal dos ratos confirmando os efeitos negativos observados sobre o desenvolvimento das vilosidades e criptas intestinais. É importante destacar que na inflamação aguda foi verificado acúmulo de neutrófilos, linfócitos e macrófagos, assim com a morte e/ou degeneração de células epiteliais. Na inflamação crônica observou-se o acúmulo de macrófagos, células plasmáticas e

linfócitos e o tecido da mucosa foi substituído por tecido fibroso. Além disso, verificou-se em alguns animais atrofia das criptas e glândulas e/ou atrofia do epitélio hiperplásico regenerativo.

Após análise da frequência de lesões inflamatórias nos grupos de animais expostos ao tabagismo passivo e suplementados com os alimentos funcionais, foi observado uma redução ($P < 0,05$) na frequência das lesões agudas nos animais suplementados com prebiótico (37,50% vs 100,00%) e simbiótico (50,00% vs 100,00%) quando comparados com os animais controle. Ademais, apesar de não significativo, ocorreu redução das lesões inflamatórias nos grupos expostos ao tabagismo passivo e suplementados com os alimentos funcionais quando comparado com os animais expostos e não suplementados nos demais parâmetros analisados (Tabela 3).

Tabela 3 – Frequência de lesões inflamatórias no duodeno de ratos fumantes passivos ou não e suplementados com dietas contendo ou não prebiótico, probiótico e simbiótico.

Variáveis	Lesões inflamatórias*				
	Multifocal	Difusa	Aguda	Crônica	Mista
Tabagismo passivo					
Não	25,00	9,38	0,00	34,38	21,88
Sim	37,50	37,50	62,50	65,63	31,25
Valor de P	0,2807	0,0079	<0,0001	0,0124	0,3958
Alimentos funcionais					
Controle	37,50	31,25	50,00	56,25	50,00
Prebiótico	18,75	18,75	18,75	56,25	18,75
Probiótico	43,75	12,50	31,25	37,50	12,50
Simbiótico	25,00	31,25	25,00	50,00	25,00
Valor de P	0,3976	0,4847	0,2608	0,6823	0,0929
TP x AF					
NT controle	25,00	12,50	0,00 c	25,00	25,00
NT prebiótico	12,50	12,50	0,00 c	50,00	25,00
NT probiótico	37,50	0,00	0,00 c	25,00	12,50
NT simbiótico	25,00	12,50	0,00c	37,50	25,00
TP controle	50,00	50,00	100,00 a	87,50	75,00
TP prebiótico	25,00	25,00	37,50 bc	62,50	12,50
TP probiótico	50,00	25,00	62,50 ab	50,00	12,50
TP simbiótico	25,00	50,00	50,00 b	62,50	25,00
Valor de P	0,6946	0,1207	<0,0001	0,1492	0,1377

NT = não tabagista; TP = tabagismo passivo; AF = alimentos funcionais; TP x AF = interação entre tabagismo passivo e alimentos funcionais. * Dados expressos em porcentagem. Letras diferentes na coluna diferem pelo Teste do qui-quadrado, teste G ou teste exato de Fisher ($P < 0,05$).

Na Tabela 4 são apresentados os dados observados quanto a frequência percentual de alterações degenerativas. Não foi observado diferenças significativas nos parâmetros degeneração das vilosidades, atrofia das vilosidades, hipertrofia das vilosidades, mineralização da mucosa e metaplasia da mucosa nos grupos de animais não expostos ao tabagismo passivo, independente da utilização dos alimentos funcionais. Porém, ocorreu redução em alguns dos parâmetros analisados nos animais suplementados com prebiótico, probiótico e simbiótico, apesar dessa redução ser considerada apenas numérica e não significativa.

Tabela 4 – Frequência percentual (%) de alterações degenerativas da mucosa duodenal de ratos fumantes passivos ou não alimentados com dietas controle ou com probiótico, prebiótico e simbiótico.

Variáveis	Alterações degenerativas*					
	DEG	ATRV	ATRM	HIPM	MINM	MET
Tabagismo passivo						
Não	21,88	18,75	31,25	40,63	15,63	0,00
Sim	68,75	46,88	59,38	34,38	28,13	6,25
Valor de P	0,0002	0,0166	0,0238	0,6056	0,2265	0,1320
Alimentos funcionais						
Controle	56,25	56,25	56,25	37,50	37,50	12,50
Prebiótico	43,75	25,00	50,00	37,500	18,75	0,00
Probiótico	43,75	25,00	37,50	43,75	18,75	0,00
Simbiótico	37,50	25,00	37,50	31,25	12,50	0,00
Valor de p	0,7535	0,1653	0,6364	0,9115	0,3721	0,1248
TP x AF						
NT controle	12,50 c	37,50	25,00	25,00	25,00	0,00
NT prebiótico	25,00 c	12,50	37,50	50,00	12,50	0,00
NT probiótico	25,00 c	12,50	25,00	50,00	12,50	0,00
NT simbiótico	25,00 c	12,50	37,50	37,50	12,50	0,00
TP controle	100,00 a	75,00	87,50	50,00	50,00	25,00
TP prebiótico	62,50 bc	37,50	62,50	25,00	25,00	0,00
TP probiótico	62,50 bc	37,50	50,00	37,50	25,00	0,00
TP simbiótico	50,00 b	37,50	37,50	25,00	12,50	0,00
Valor de p	0,0018	0,1152	0,1520	0,8613	0,6544	0,2672

NT = não tabagista; TP = tabagismo passivo; AF = alimentos funcionais; TP x AF = interação entre tabagismo passivo e alimentos funcionais; DEG= Degeneração da vilosidade; ATRV= Atrofia da Vilosidade; ATRM= Atrofia da mucosa; HIPM= Hipertrofia da mucosa; MINM= Mineralização da mucosa; MET= Metaplasia da mucosa.

* Dados expressos em porcentagem.

Letras diferentes na coluna diferem pelo Teste do qui-quadrado, teste G ou teste exato de Fisher (p<0,05).

Nos animais expostos ao tabagismo passivo ocorreu um aumento na frequência de degenerações das vilosidades (68,75% vs 21,88%; P<0,0002), atrofia das vilosidades (46,88% vs 18,75%; P<0,0166) e atrofia da mucosa (59,38% vs 31,25%; P<0,0238) quando comparado com os animais não submetidos ao fumo passivo. Os grupos de animais expostos ao tabagismo passivo e suplementados

com alimentos funcionais diferiram ($P < 0,05$) apenas do grupo controle tabagista passivo no parâmetro degeneração das vilosidades, onde que os animais controle apresentaram maior frequência de degenerações (100% vs 50,00%; $P < 0,0018$) quando comparado apenas com os animais do grupo simbiótico.

As lesões inflamatórias e degenerativas observadas nos animais expostos passivamente a fumaça de cigarro é um efeito adverso causado pelos compostos presentes na fumaça e que induzem a apoptose celular (LI et al., 2014; VERSCHUERE et al., 2011). Os mecanismos de ação do tabagismo para o acometimento desses problemas estão relacionados com o aumento de infecções ocasionadas por bactérias patogênicas e redução na atividade imunitária sobre a mucosa intestinal. Ademais, a exposição ao fumo passivo pode levar a uma inibição sobre a renovação da células epiteliais do trato gastrointestinal (LI et al., 2014), como pode ser observado pela redução na profundidade das criptas duodenais dos ratos expostos ao fumo passivo. A profundidade das criptas é correlacionada com a taxa de reposição celular e o aumento da profundidade indica a necessidade de substituição das células absorptivas (enterócitos) e maior volume de renovação tecidual (MARKOVIC et al., 2009). A redução na renovação celular e aumento na apoptose pode levar a uma diminuição do fluxo sanguíneo a região afetada, inibindo o fator de crescimento epidérmico da mucosa intestinal assim como a secreção do muco que protege o epitélio, facilitando o acometimento da mucosa por processos inflamatórios e lesões degenerativas (LI et al., 2014).

Estudos sugerem que a indução da apoptose pelo tabagismo pode ser mediado pelas espécies reativas do oxigênio (ERO), ocorrendo independentemente da via da proteína p53 (LI et al., 2014). Além disso, os danos e inflamações do epitélio intestinal estão associados com as ERO, assim, a fumaça de cigarro proporciona esses problemas no epitélio intestinal por contém uma grande concentração de ERO (VERSCHUERE et al., 2012). Pesquisas observaram concentrações altas de radicais livres na corrente sanguínea de fumantes, o que pode levar a maiores danos sobre a mucosa gastrointestinal (KALRA; CHAUDHARY; PRASAD, 1991).

Como pode ser observado, a suplementação dos animais expostos ao tabagismo passivo com os alimentos funcionais proporcionou uma minimização dos efeitos decorrentes da exposição crônica passiva a fumaça do cigarro, reduzindo a frequência de alterações inflamatórias e degenerativas da mucosa intestinal. Esses resultados benéficos dos alimentos funcionais podem ser explicados principalmente pelos efeitos protetores decorrentes de sua utilização, alterando a resposta imune da mucosa intestinal, resultando em menor resposta inflamatória, prevenindo a colonização de bactérias patogênicas, secreção de substâncias antibacteriana, estímulo a produção de citocinas anti-inflamatórias, proporcionando uma melhoria da barreira epitelial intestinal (LOOIJER-VAN LANGEN; DIELEMAN, 2009; SARTOR, 2004; VITETTA; HALL; LINNANE, 2014).

Conclusão

Pode-se concluir que os aditivos prebiótico, probiótico e simbiótico podem atenuar a toxicidade induzida pela exposição crônica a fumaça passiva de cigarro em ratos. Dessa forma, mais estudos deverão ser realizados para se elucidar os mecanismos de quimioproteção proporcionados por esses alimentos, e assim, evoluir para estudos controlados em humanos. A adição dos alimentos funcionais na dieta de ratos expostos ao tabagismo passivo resultou na mitigação dos efeitos deletérios causados pela fumaça do cigarro no intestino dos animais.

Referências

- AL-BAADANI, H. H. et al. **Effects of dietary inclusion of probiotics, prebiotics and synbiotics on intestinal histological changes in challenged broiler chickens**, 2016.
- ALLAIS, L. et al. Chronic cigarette smoke exposure induces microbial and inflammatory shifts and mucin changes in the murine gut. **Environmental Microbiology**, v. 18, n. 5, p. 1352–1363, maio 2016.
- ASHRAF, S. et al. Effect of dietary supplementation of prebiotics and probiotics on intestinal microarchitecture in broilers reared under cyclic heat stress. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, n. s1, p. 68–73, maio 2013.
- BASSON, A. et al. The Association between Childhood Environmental Exposures and the Subsequent Development of Crohn's Disease in the Western Cape, South Africa. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, p. e115492, dez. 2014.
- BERTRAM, T. A.; MARKOVITS, J. E.; JULIANA, M. M. Non-proliferative lesions of the alimentary canal in rats. **Society of Toxicologic Pathologists**, 1996.
- BURGER-VAN PAASSEN, N. et al. The regulation of intestinal mucin MUC2 expression by short-chain fatty acids: implications for epithelial protection. **Biochemical Journal**, v. 420, n. 2, p. 211–219, jun. 2009.
- CENDON FILHA, S. P. **Enfisema Pulmonar: Modelo experimental em ratos expostos a fumaça do cigarro**. [s.l.] Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), 1993.
- CHAIYASUT, C. et al. Synbiotic preparation with Lactic acid bacteria and inulin as a functional food: In vivo evaluation of microbial activities, and preneoplastic aberrant crypt foci. **Food Science and Technology (Campinas)**, n. ahead, p. 0–0, 2016.
- CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N. J.; ROY, D. Challenges in the Addition of Probiotic Cultures to Foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 1, p. 61–84, jan. 2005.
- CLARKE, R. M. The effects of age on mucosal morphology and epithelial cell production in rat small intestine. **Journal of anatomy**, v. 123, p. 805–811, jul. 1977.
- DAVID, A.; OWEN, D. A. Gastritis and Carditis. **Modern Pathology**, v. 16, n. 4, p. 325–341, abr. 2003.

- FORD, A. C. et al. Efficacy of Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics in Irritable Bowel Syndrome and Chronic Idiopathic Constipation: Systematic Review and Meta-analysis. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 109, n. 10, p. 1547–1561, out. 2014.
- GIBSON, G. R. et al. Dietary prebiotics: current status and new definition. **Food Science & Technology Bulletin**, v. 7, n. 1, p. 1–19, maio 2010.
- GUILLAUMON, A. T.; COUTO, M. A. Hystopathological study of the intestinal epithelium submitted to different times of programmed ischemia and twenty four hours reperfusion. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 288–298, abr. 2013.
- HADJIPANAYIS, A. et al. Europe needs to protect children and youths against secondhand smoke. **European Journal of Pediatrics**, v. 176, n. 1, p. 145–146, jan. 2017.
- HE, Z.-W. et al. HMGB1 Acts in Synergy with Lipopolysaccharide in Activating Rheumatoid Synovial Fibroblasts via p38 MAPK and NF- κ B Signaling Pathways. **Mediators of Inflammation**, v. 2013, p. 1–10, 2013.
- KALRA, J.; CHAUDHARY, A. K.; PRASAD, K. Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers. **International journal of experimental pathology**, v. 72, n. 1, p. 1–7, fev. 1991.
- KONAR, N. et al. Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or synbiotic characteristics. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 35–44, mar. 2016.
- KRUMBECK, J. A. et al. Prebiotics and synbiotics: dietary strategies for improving gut health. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 32, n. 2, p. 110–119, mar. 2016.
- LEGAKI, E.; GAZOULI, M. Influence of environmental factors in the development of inflammatory bowel diseases. **World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics**, v. 7, n. 1, p. 112–25, fev. 2016.
- LEWIS, K. et al. Enhanced translocation of bacteria across metabolically stressed epithelia is reduced by butyrate[†]. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 16, n. 7, p. 1138–1148, jul. 2010.
- LI, L. F. et al. Cigarette smoking and gastrointestinal diseases: the causal relationship and underlying molecular mechanisms (review). **International journal of molecular medicine**, v. 34, n. 2, p. 80–372, ago. 2014.
- LONGORIA-GARCÍA, S. et al. Prebiotics, Probiotics, Synbiotics and Functional Foods in Control and Treatment of Type II Diabetes Mellitus and Colorectal Cancer. In: RAO, A. V.; RAO, L. (Eds.). **Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health**. [s.l.] InTech, 2016.
- LOOIJER–VAN LANGEN, M. A. C.; DIELEMAN, L. A. Prebiotics in Chronic Intestinal Inflammation. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 15, n. 3, p. 454–462, mar. 2009.
- LUNDSTRÖM, O.; MANJER, J.; OHLSSON, B. Smoking is associated with several functional gastrointestinal symptoms. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 51, n. 8, p. 914–922, ago. 2016.
- MARKOVIC, R. et al. Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 41, p. 163–169, 2009.
- MELLO, P. R. B. O.; THELMA, S.; BOTELHO, C. Influência da exposição a fumaça lateral do cigarro sobre o ganho de peso e o consumo alimentar de ratas gestantes: análise do peso e do comprimento dos filhotes ao nascimento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 28, n. 3, p. 143–150, mar. 2006.
- MURATE, L. S. et al. Efficacy of Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics on Laying Hens and Broilers Challenged with Salmonella Enteritidis. **The Journal of Poultry Science**, v. 52, n. 1, p. 52–56, 2015.
- NOLTE, T. et al. Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Gastrointestinal Tract, Pancreas and Salivary Glands of the Rat and Mouse. **Journal of Toxicologic Pathology**, v. 29, n. 1_Suppl, p. 1S–125S, 2016.

- OBERG, M. et al. Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries. **Lancet (London, England)**, v. 377, n. 9760, p. 139–46, jan. 2011.
- OLVEIRA, G.; GONZÁLEZ-MOLERO, I. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. **Endocrinología y Nutrición**, v. 63, n. 9, p. 482–494, nov. 2016.
- PAIVA, F. P.; MAFFILI, V.; SANTOS, A. C. S. **Curso de manipulação de animais de laboratório**. Disponível em: <http://www.bioteriocentral.ufc.br/arquivos/apostilha_manipulacao.pdf>. Acesso em: 15 out. 2015.
- PATEL, R.; DUPONT, H. L. New Approaches for Bacteriotherapy: Prebiotics, New-Generation Probiotics, and Synbiotics. **Clinical Infectious Diseases**, v. 60, n. suppl 2, p. S108–S121, maio 2015.
- PREIDIS, G. A.; VERSALOVIC, J. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era. **Gastroenterology**, v. 136, n. 6, p. 2015–31, maio 2009.
- RENNARD, S. I. Cigarette Smoke in Research. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 31, n. 5, p. 479–480, nov. 2004.
- ROBERFROID, M. B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? **The American journal of clinical nutrition**, v. 71, n. 6 Suppl, p. 1682S–7S; discussion 1688S–90S, jun. 2000.
- SALMINEN, S. et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. **The British journal of nutrition**, v. 80 Suppl 1, p. S147–171, ago. 1998.
- SARTOR, R. B. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. **Gastroenterology**, v. 126, n. 6, p. 1620–1633, 2004.
- SOPORI, M. L.; KOZAK, W. Immunomodulatory effects of cigarette smoke. **Journal of neuroimmunology**, v. 83, n. 1–2, p. 148–56, mar. 1998.
- SUGIHARTO, S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 15, n. 2, p. 99–111, 2016.
- THOMAS, C. M.; VERSALOVIC, J. Probiotics-host communication: Modulation of signaling pathways in the intestine. **Gut microbes**, v. 1, n. 3, p. 148–63, 2010.
- TIEN, M.-T. et al. Anti-inflammatory effect of Lactobacillus casei on Shigella-infected human intestinal epithelial cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 176, n. 2, p. 1228–37, jan. 2006.
- TOLOSA, E. M. C. DE et al. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. [s.l.] Manole, 2003.
- TORRECILLAS, S. et al. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 2, p. 223–233, abr. 2011.
- TUOHY, K. M. et al. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 15, p. 692–700, 2003.
- VALDÉS-VARELA, L.; RUAS-MADIEDO, P.; GUEIMONDE, M. In vitro fermentation of different fructo-oligosaccharides by Bifidobacterium strains for the selection of synbiotic combinations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 242, p. 19–23, fev. 2017.
- VERSCHUERE, S. et al. Cigarette smoking alters epithelial apoptosis and immune composition in murine GALT. **Laboratory Investigation**, v. 91, n. 7, p. 1056–1067, jul. 2011.
- VERSCHUERE, S. et al. The effect of smoking on intestinal inflammation: What can be learned from animal models? **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 6, n. 1, 2012.
- VITETTA, L.; HALL, S.; LINNANE, A. W. Live probiotic cultures and the gastrointestinal tract: symbiotic preservation of tolerance whilst attenuating pathogenicity. **Frontiers in cellular and**

infection microbiology, v. 4, p. 143, 2014.

WALKER, A. W.; LAWLEY, T. D. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. **Pharmacological Research**, v. 69, n. 1, p. 75–86, 2013.

WALODE, S. Detection of nicotine from secondhand smoke as a marker compound. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 1, p. 91–92, fev. 2016.

WHO. **WHO report on the global tobacco epidemic 2009: Implementing smoke-free environments**. [s.l.] World Health Organization, 2009.

WHO. **WHO report on the global tobacco epidemic 2011: Warning about the dangers of tobacco**. Geneva: World Health Organization, 2011.

YAN, F.; POLK, D. B. Probiotic Bacterium Prevents Cytokine-induced Apoptosis in Intestinal Epithelial Cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 52, p. 50959–50965, dez. 2002.

YANG, Y.-J. et al. Lactobacillus acidophilus ameliorates H. pylori-induced gastric inflammation by inactivating the Smad7 and NF κ B pathways. **BMC microbiology**, v. 12, p. 38, mar. 2012.

ZUO, L. et al. Cigarette smoking is associated with intestinal barrier dysfunction in the small intestine but not in the large intestine of mice. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 8, n. 12, p. 1710–1722, dez. 2014.

ANEXO 1

Certificado

<http://www.unoeste.br/SGP/certificados/ver.asp?h=94b2027ca108...>

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 "O EFEITO DO PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO NOS PARÂMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS DO TRATO DIGESTÓRIO DE RATOS FUMANTES PASSIVOS", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 3195 e tendo como participante(s) HERMANN BREMER NETO (responsável), THIAGO TOMIO TAKABATAKE (discente), VIVIANE APARECIDA DOS SANTOS (discente), foi avaliado e APROVADO pelo COMITÊ ACESSOR 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 APROVADO em reunião realizada em 18/05/2016.

Vigência do projeto: 08/2016 a 08/2018.

Espécie/Linhagem	Nº de Animais	Peso	Idade	Sexo	Origem
Wistar	96	50 gramas	25 dias	M	Biotério Central

Presidente Prudente, 10 de Novembro de 2016.


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


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

valide este documento em www.unoeste.br/spp informando o código de segurança 94b2027ca108d7b55e12cb5d23e7e7f

ANEXO 2

Semina: Ciências Agrárias

USUÁRIO Você está **conectado** como ...

thiagozootecnista

Envios

- [Submissões on-line](#)
- [Diretrizes do autor](#)
- [Aviso de direitos autorais](#)
- [Declaração de privacidade](#)

Submissões on-line

Já tem um Nome de Usuário / Senha para Semina: Ciências Agrárias?

[IR PARA O INÍCIO DE SESSÃO](#)

Precisa de um Username / Password?

[IR PARA REGISTO](#)

Registro e login são obrigados a enviar itens on-line e para verificar o status das atuais submissões.

Diretrizes do autor

Diretrizes para Autores

ATENÇÃO AUTORES:

RECOMENDAMOS QUE OS AUTORES CONSIDERAM CONSIDERAMENTE AS DIRETRIZES, DESDE QUE OS ARTIGOS QUE NÃO SEJAM PREPARADOS RIGOROSAMENTE DE ACORDO COM AS NORMAS NÃO SERÃO ACEITOS.

Após 20/02/2015, a taxa de inscrição para novos artigos será de R \$ 100,00 . Se o artigo for rejeitado, esta taxa não será devolvida.

Os artigos submetidos após **19/02/2015** que sejam aceitos e aprovados para publicação serão sujeitos a uma taxa de publicação, ajustada de acordo com o número de páginas no manuscrito.

Até 10 páginas: **R \$ 300,00**

De 11 a 15 páginas: **R \$ 400,00**

De 16 a 20 páginas: **R \$ 500,00**

De 21 a 25 páginas: **R \$ 600,00**

Se o **artigo for aceito para publicação** , o valor de **R \$ 100,00** pago pela taxa de inscrição **não será deduzido da taxa de publicação** .

A **prova de depósito** deve ser digitalizada e anexada como um arquivo suplementar no sistema eletrônico.

O depósito deverá ser efetuado em nome do Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717 / 0001-65, em uma das três contas bancárias abaixo:

Banco do Brasil (001)

Ramo: 1212-2

Conta corrente: 43509-0 - Brasil

Caixa Econômica Federal (104)

Sucursal: 3076

Conta Corrente: 0033-4

Transação: 003 - Brasil

Itaú (341)

Sucursal: 3893

Conta corrente: 29567-9 - Brasil

Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias , Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Os artigos podem ser enviados em português ou inglês, mas só serão publicados em inglês . Os artigos submetidos em português, se aceitos para publicação, deverão ser **traduzidos para o inglês.**

Os artigos enviados à revista até 31 de março de 2014 e aqueles que ainda estão sendo processados poderão ser publicados em português; No entanto, a prioridade de publicação será dada aos artigos que são traduzidos para o inglês.

Todos os artigos, depois de aceitos para publicação, devem ser acompanhados de um comprovante de tradução ou correção (como arquivo complementar) de um dos seguintes serviços de tradução:

[American Journal Experts](#)

[Editage](#)

[Elsevier](#)

[Http://www.proof-reading-service.com](http://www.proof-reading-service.com)

[Http://www.academic-editing-services.com/](http://www.academic-editing-services.com/)

[Http://www.publicase.com.br/formulario.asp](http://www.publicase.com.br/formulario.asp)

[Http://www.stta.com.br/](http://www.stta.com.br/)

O autor principal deve anexar o documento **que fornece** evidência desta tradução ou correção no sistema eletrônico na página de envio em "**Docs. Sup** . "

COMENTÁRIOS:

1) Os manuscritos originais submetidos à revisão são avaliados inicialmente pela Comissão Editorial da **Semina: Ciências Agrárias** . Nesta avaliação, serão avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, tais como o escopo do artigo, adequação aos padrões da revista, qualidade da escrita e fundamentação teórica. Adicionalmente, considera-se atualização da revisão da literatura, consistência e precisão da metodologia, contribuição dos resultados, discussão dos dados observados no estudo, representação da tabela e da figura, e originalidade e consistência das conclusões.

Se o número de manuscritos submetidos exceder a capacidade de avaliação e publicação da **Semina: Ciências Agrárias** , será feita uma comparação entre as propostas e as obras consideradas de maior potencial de contribuição para o conhecimento científico serão dirigidas a consultores ad hoc. Os manuscritos que não são aprovados por estes critérios são arquivados, enquanto que os restantes manuscritos são submetidos à avaliação de pelo menos dois conselheiros científicos que são especialistas na área do assunto do manuscrito, sem identificar os autores. A taxa de submissão não será devolvida aos autores que tiverem seus manuscritos arquivados.

2) Se for caso disso,

MANUSCRITOS NÃO SERÃO ACEITES QUANDO:

A) O artigo principal anexado tem os nomes dos autores e respectivas afiliações.

B) O **registro completo** de todos os autores foi adicionado aos metadados durante a submissão; **Exemplo:** Nome completo; Instituição / Afiliação; País; Resumo de Biografia / Título / Papel.

C) Texto explicativo da relevância do trabalho (importância e distinção de obras previamente publicadas), com um comprimento máximo de 10 linhas, está incluído no campo COMENTÁRIOS AO EDITOR.

D) A apresentação é acompanhada de um documento comprovando o pagamento da taxa de apresentação como um arquivo suplementar no "**Docs. Sup.**".

E) O artigo principal é acompanhado de arquivos suplementares, incluindo gráficos, figuras, fotos e outros documentos, EM SUA VERSÃO ORIGINAL (formatos JPEG, TIFF ou EXCEL).

F) As seguintes informações estão incluídas no manuscrito original: título, resumo, palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

RESTRICÇÕES POR ÁREA DE ASSUNTO:

PARA O CAMPO DA AGRONOMIA , OS MANUSCRITOS NÃO SERÃO ACEITOS EM CASO DOS SEGUINTE:

A) Os experimentos conduzidos com cultura **in vitro** se limitam ao aperfeiçoamento de protocolos já padronizados ou não fornecem novas informações sobre o tema;

B) Os experimentos de campo não incluem dados correspondentes a pelo menos dois anos ou a diversos locais dentro do mesmo ano;

C) As experiências referem-se apenas a ensaios sobre a eficiência de produtos comerciais contra agentes bióticos e abióticos ou stress fisiológico;

D) Os experimentos envolvem apenas bioensaios (rastreamento) sobre a eficácia de métodos de controle de insetos, ácaros ou doenças em plantas, a menos que contenham uma contribuição importante sobre os mecanismos de ação sob a perspectiva de uma fronteira de conhecimento; ou

E) O objetivo é limitar o registro da ocorrência de uma espécie de peste ou patógeno ou associações com hospedeiros em novos locais dentro de regiões geográficas onde a espécie já é conhecida. A documentação de espécies ou associações já conhecidas só será considerada se forem descritas em novas áreas ecológicas. Os registros de distribuição devem ser baseados em ecossistemas e não em limites políticos.

PARA O CAMPO VETERINÁRIO , OS MANUSCRITOS NÃO SERÃO ACEITOS EM CASO DO SEGUINTE:

A) A publicação de relatos de casos é restrita; Somente artigos com grande relevância e originalidade que façam uma contribuição real para o avanço do conhecimento no campo serão selecionados para processamento.

Categorias de trabalho

A) Artigos científicos: máximo de 20 páginas, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas

B) Comunicações científicas: máximo de 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e um máximo de duas tabelas, duas figuras, ou uma combinação de uma tabela e uma figura

C) Relatos de casos: máximo de 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e um máximo de duas tabelas, duas figuras ou uma tabela e uma figura

D) Artigos de revisão: máximo de 25 páginas, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas

Apresentação do trabalho

Os artigos originais completos, comunicações, relatos de casos e revisões devem ser escritos em português ou inglês usando o Microsoft Word para Windows, em papel A4, com linhas numeradas por página, espaçamento 1.5 entre linhas, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, Margens de 2 cm em todos os lados, com as páginas numeradas no canto superior direito e seguindo as orientações para o número máximo de páginas de acordo com a categoria da obra.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e tabelas devem ser **numeradas com algarismos** arábicos, devem ser incluídas no final do trabalho imediatamente após as referências bibliográficas, e devem ser citadas no texto. Além disso, os números devem ser de boa qualidade e devem ser anexados no formato original (JPEG, TIFF, etc.) no Docs Sup na página de submissão. As figuras e os quadros não serão aceites se não cumprirem as seguintes especificações: largura de 8 cm ou 16 cm com altura máxima de 22 cm. Se a figura tiver dimensões maiores, será reduzida durante o processo editorial às dimensões acima mencionadas.

Nota : Figuras (Ex. **Figura 1**. Título) e tabelas (**Tabela 1**. Título) devem ter uma largura de 8 cm ou 16 cm com altura máxima de 22 cm. Aqueles com maiores dimensões serão reduzidos durante o processo editorial às dimensões acima mencionadas. Para quaisquer tabelas e figuras que não sejam a obra original do autor, é obrigatória a menção à fonte consultada. Coloque esta citação abaixo da tabela ou figura e indique usando uma fonte menor (Times New Roman 10).

Ex: " **Fonte**": IBGE (2014), ou **Fonte** : IBGE (2014).

Preparação de manuscritos

Artigo científico:

Os artigos científicos devem relatar os resultados da pesquisa original sobre as áreas relacionadas, com as seções organizadas da seguinte maneira: Título em inglês; Título em português; Resumo em inglês com palavras-chave (máximo de seis palavras, em ordem alfabética); Resumo em português com palavras-chave (máximo de seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Materiais e métodos; Resultados e Discussão, com Conclusões no final da Discussão ou Resultados (Debate e Conclusões devem ser escritos separadamente); Agradecimentos; Fornecedores, se aplicável; E referências bibliográficas. Os cabeçalhos devem estar em negrito sem numeração. Se houver a necessidade de incluir um subtítulo dentro de uma seção, ele deve ser colocado em itálico, e se houver outros subtópicos para incluir em um subtítulo, estes devem ser numerados com algarismos arábicos.

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outro lugar com o mesmo conteúdo, exceto na forma de um Resumo em Eventos Científicos, Notas Introdutórias ou Formato Reduzido.

Os trabalhos devem ser apresentados na seguinte ordem:

1. **Título da obra** , acompanhado da sua tradução em português, se for caso disso.
2. **Resumo e palavras-chave**: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 palavras e um máximo de 400 palavras, na mesma língua utilizada no texto do artigo, acompanhado de uma tradução em inglês (**Abstract and Keywords**) se o texto Não foi escrita em inglês.
3. **Introdução**: A introdução deve ser concisa e conter apenas a revisão que é estritamente necessário para introduzir o tópico e apoiar a metodologia e discussão.
4. **Materiais e Métodos**: Esta seção pode ser apresentada de forma descritiva, contínua ou com subtítulos, para que o leitor possa compreender e ser capaz de repetir a metodologia citada com ou sem o apoio de citações bibliográficas.
5. **RESULTADOS E DISCUSSÃO** : **Esta seção** deve ser apresentada de forma clara, com a ajuda de tabelas, gráficos e figuras, de forma que não levante questões para o leitor quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vista Discutido.
6. **Conclusões**: **Estas** devem ser claras e apresentadas de acordo com os objectivos propostos no trabalho.
7. **Agradecimentos**: Pessoas, instituições e empresas que contribuíram para o trabalho devem ser mencionadas no final do texto, antes da seção referências bibliográficas.

Nota:

Notas: Cada nota sobre o corpo do texto deve ser indicada com um símbolo superdimensionado imediatamente após a frase que diz respeito e deve ser incluída como uma nota de rodapé no final da página.

Figuras: Os números considerados essenciais serão aceitos e deverão ser citados no texto pela sua ordem numérica, em algarismos arábicos. Se alguma das ilustrações apresentadas já tiverem sido publicadas, a fonte e a permissão para publicação devem ser indicadas.

Tabelas: Tabelas devem ser acompanhadas por um cabeçalho que permitirá a compreensão dos dados coletados sem a necessidade de usar o corpo do texto para referência.

Quantidades, unidades e símbolos:

A) Os manuscritos devem estar de acordo com os critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais para cada área disciplinar.

B) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo o texto.

C) Utilizar o formato de potência negativa para anotar e apresentar unidades relacionadas: por exemplo, kg ha^{-1} . Não use o símbolo de barra inclinada para relacionar unidades: por exemplo, kg / ha .

D) Use um espaço simples entre as unidades: g L^{-1} , não gL^{-1} ou gL^{-1} .

E) Usar a representação do tempo de 24 horas com quatro dígitos para as horas e minutos: 09h00, 18h30.

8. Citações de autores em texto

As citações devem ser seguidas pelo ano de publicação, e múltiplas citações devem seguir o sistema de ordem alfabética, de acordo com os seguintes exemplos:

A) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que

B) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio

C) Beloti et al. (1999b) avaliou a qualidade microbiológica

D) [...] e inibir o teste para a formação de sincícios (BRUCK et al., 1992).

E) [...] comprometer a qualidade dos seus derivados (AFONSO, VIANNI, 1995).

Citações com dois autores

Nas citações de fontes que têm dois autores, os nomes dos autores são separados por um ponto-e-vírgula ao citá-los entre parênteses.

Ex: (PINHEIRO, CAVALCANTI, 2000).

Use e quando os autores são incluídos na sentença em vez de citado entre parênteses.

Ex : Pinheiro e Cavalcanti (2000).

Citando mais de dois autores

Indique o primeiro autor seguido da expressão et al.

Entre parênteses, separe referências com ponto-e-vírgula quando forem citadas mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000). (RUSSO et al., 2000, FELIX et al., 2008).

Citando vários documentos do mesmo autor , publicados no mesmo ano

Adicione letras minúsculas, em ordem alfabética, após a data e sem espaço.

Ex : (SILVA, 1999a, 1999b).

Citando vários documentos do mesmo autor, publicados em anos diferentes

Separe as datas com uma vírgula.

Ex : (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

Citando vários documentos de vários autores , mencionados simultaneamente

Coloque as citações em ordem alfabética, separadas por ponto e vírgula.

Ex : (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. Referências: As referências, de acordo com a norma NBR 6023, de agosto de 2000, ea reformulação número 14.724 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), 2011, devem ser listadas em ordem alfabética no final do manuscrito. **Todos os autores participantes de um estudo referenciado devem ser mencionados, independentemente do número de participantes** . A exatidão e adequação das referências para as obras consultadas e mencionadas no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e declarações, são de inteira responsabilidade dos autores.

Nota : Consulte as publicações recentemente publicadas da Semina: Ciências Agrárias para mais detalhes sobre como formatar referências no artigo.

As demais categorias de trabalhos (Comunicação Científica, Relato de Caso e Revisão) devem seguir as normas acima mencionadas, mas com as seguintes diretrizes adicionais para cada categoria:

Comunicação científica

As comunicações científicas devem ser apresentadas de forma concisa, mas com uma descrição completa do termo pesquisa ou pesquisa em andamento (Nota introdutória), com documentação bibliográfica completa e metodologias, semelhante a um artigo científico regular. As comunicações científicas devem conter as seguintes seções: Título (em português e inglês); Resumo com palavras-chave em português; Resumo com palavras-chave em inglês; E Corpo do texto. O corpo do texto não deve ser dividido em seções, mas deve seguir esta seqüência: introdução, metodologia, resultados e discussão (tabelas e figuras podem ser incluídas), conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Um relato de caso deve ser uma breve descrição de casos clínicos e patológicos, resultados sem precedentes, notificação de novas espécies ou estudos sobre a ocorrência ou incidência de pragas, microorganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. O relato de caso deve conter as seguintes seções: Título (português e inglês); Resumo com palavras-chave em português; Resumo com palavras-chave em inglês; Introdução com revisão de literatura; Relato (s) de caso, incluindo resultados, discussão e conclusão; E referências bibliográficas.

Artigos de revisão bibliográfica

Artigos de revisão devem envolver tópicos relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por edição é limitado, e os autores só podem escrever artigos de revisão de interesse para a revista, após um convite dos membros do conselho editorial da revista. Se um artigo de revisão for submetido por um autor, é necessária a inclusão de resultados relevantes do autor ou do grupo envolvido no estudo, juntamente com referências bibliográficas que demonstrem experiência e conhecimento sobre o tema.

Um artigo de revisão deve conter as seguintes seções: Título (português e inglês); Resumo com palavras-chave em português; Resumo com palavras-chave em inglês; Desenvolvimento do tópico proposto (o texto pode ser dividido em seções, mas isso não é necessário); Conclusões ou considerações finais; Agradecimentos (se aplicável); E referências bibliográficas.

Outras informações importantes

1. A publicação dos artigos depende do parecer favorável dos conselheiros ad hoc e da aprovação do Conselho Editorial da **Semina: Ciências Agrárias UEL**.

2. As reimpressões não serão dadas aos autores, uma vez que as questões estarão disponíveis on-line no site da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

3. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do manuscrito para a revista. A reprodução dos artigos só é permitida quando a fonte é citada. O uso comercial da informação é proibido.

4. Questões imprevistas ou problemas nas presentes normas serão abordadas pelo Conselho Editorial da área em que o artigo foi submetido para publicação.

5. **Número de autores:** Não há limite para o número de autores, mas as pessoas incluídas como co-autores devem ter participado efetivamente no estudo. As pessoas com pouca participação no estudo ou na preparação do artigo devem ser citadas na seção Agradecimentos, assim como as instituições que concederam bolsas e outros recursos financeiros.

Condições de envio

Como parte do nosso processo de submissão, os autores devem verificar se o envio está em conformidade com todos os itens listados abaixo. Submissões que não estão em conformidade com as normas serão rejeitadas e os autores informados sobre a decisão.

1. Os autores devem declarar que a contribuição é original e nova e que não está sendo avaliada para publicação em outro lugar; Qualquer (s) exceção (s) deve (m) ser justificada (s) nos "Comentários ao Editor".
2. Os autores devem também declarar que o material está formatado corretamente e que os Documentos Suplementares estão anexados, **CONSCIENTES** de que o **formato incorreto resultará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MERIT**.
3. **Os dados de autoria de todos os autores devem ser inseridos no campo Metadados durante o processo de submissão**.

Use o botão " **incluir autor** ".

1. **Na etapa seguinte, preencha os metadados em inglês.**

Para incluir os dados, depois de salvar os dados de submissão em português, clique em " **editar metadados** " na parte superior da página. Altere o idioma para inglês e insira o título em inglês, o resumo e as palavras-chave. Salve e continue para a próxima etapa.

1. A **identificação da autoria** do trabalho deve ser removida do arquivo e da Palavra usando a opção "Propriedades" para garantir o critério de anonimato da revista, caso o artigo seja submetido a revisão por pares, de acordo com as instruções disponíveis na [Garantir um Blind peer review](#).
2. Os arquivos para envio devem estar no formato Word, OpenOffice ou RTF (contanto que não excedam 2 MB).

O texto deve ser digitado em papel A4, com linhas numeradas, espaçamento de 1,5 e Times New Roman tamanho 11.

1. Confirme que todos os padrões éticos foram seguidos se a pesquisa foi realizada com seres vivos. Incluir documentos comprovativos de aprovação por um comitê de ética institucional envolvendo seres humanos e / ou um comitê de ética envolvendo animais, se estes documentos forem solicitados.
2. **Inclua o [pagamento da Taxa de Envio](#) e anexe a prova de pagamento como documento complementar em " Documentos " . Sup . "**

Declaração de Direitos Autorais

A **Declaração de Direitos Autorais** de artigos publicados nesta revista é de direito do autor. Uma vez que os artigos publicados nesta revista são de acesso aberto, os artigos podem ser usados livremente, com suas próprias atribuições, para fins educacionais e não comerciais.

A revista tem o direito de fazer alterações normativas, ortográficas e gramaticais nos artigos originais, com o objetivo de manter um uso padrão adequado da linguagem e da credibilidade da revista. No entanto, o estilo de escrita dos autores será respeitado.

Alterações, correções ou sugestões em nível conceitual, quando necessário, serão direcionadas aos autores.

As opiniões expressas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e afiliações relatados nesta revista são utilizados exclusivamente para os serviços prestados e não são disponibilizados para qualquer outro fim ou para terceiros.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

semina.agrarias@uel.br

Condições de envio

Como parte de nosso processo de submissão, os autores são obrigados a garantir que a submissão está em conformidade com todos os itens listados abaixo. As submissões que não estejam em conformidade com as normas serão devolvidas aos autores.

1. Os autores afirmam que a contribuição é original e nova e que não está sendo avaliada para publicação em outra revista; Qualquer (s) exceção (s) deve (m) ser justificada (s) nos "Comentários ao Editor".
2. Os autores afirmam que o material está corretamente formatado e que os Arquivos Suplementares foram carregados, SENDO CONSCIENTES de que o **formato incorreto resultará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MERIT**.
3. **Na próxima etapa, preencha os metadados em inglês.**

Para incluir metadados, depois de salvar os dados de submissão em português, clique em " **editar** metadados " na parte superior da página. Altere o idioma para inglês e insira o título em inglês, o resumo e as palavras-chave. Salve e vá para a próxima etapa.

1. **Os dados de autoria de todos os autores devem ser preenchidos durante o processo de submissão.**

Use o botão " **incluir autor.** "

1. **Verifique** se a **identificação de autoria** do trabalho foi removida do arquivo e do Word usando a opção Propriedades para garantir os critérios de anonimato da revista, se o artigo for submetido a revisão por pares de acordo com as instruções disponíveis em [Garantir um par cego Revisão](#).
2. Os arquivos para envio estão em formatos Word, OpenOffice ou RTF (contanto que eles não excedam 2 MB).

O texto é escrito com 1,5 espaçamento entre linhas e Times New Roman tamanho 11 fonte. Use itálico em vez de sublinhado (exceto para endereços URL).

O texto segue os padrões de estilo e os requisitos bibliográficos descritos nas [Diretrizes para Autores](#) sob o título "Sobre o Diário".

1. Confirme que todos os padrões éticos foram seguidos se a pesquisa foi realizada com seres vivos. Fornecer documentação da aprovação de um comitê de ética institucional e comprovação de consentimento informado se estes documentos forem solicitados. O cumprimento dos preceitos éticos aplicáveis deve ser citado no corpo do texto.
2. Um texto que indique a relevância do trabalho (importância e distinção com relação a outros trabalhos já publicados), com um comprimento máximo de 10 linhas, deve ser incluído no campo **COMENTÁRIOS AO EDITOR**.

Declaração de Direitos Autorais

A **Declaração de Direitos Autorais** de artigos publicados nesta revista é de direito do autor. Uma vez que os artigos que são publicados nesta revista são de acesso aberto, os artigos podem ser usados livremente, com suas próprias atribuições, para fins educacionais e não comerciais.

A revista tem o direito de fazer alterações normativas, ortográficas e gramaticais nos artigos originais, com o objetivo de manter um uso padrão adequado da linguagem e da credibilidade da revista. No entanto, o estilo de escrita dos autores será respeitado.

Alterações, correções ou sugestões no nível conceitual, quando necessário, serão direcionadas aos autores. Nestes casos, após serem alterados, os artigos serão submetidos a uma nova avaliação.

As opiniões expressas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e afiliações relatados nesta revista são utilizados exclusivamente para os serviços prestados e não são disponibilizados para qualquer outro fim ou para terceiros.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR
ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

Semina.agrarias@uel.br

Deveriam ser ambos destacados e em negrito? Ou deveria apenas ler "Os títulos devem estar em negrito"?

Parece que esta frase e a seguinte frase (depois de "1.") devem talvez ser trocadas por clareza, da seguinte forma:

Utilizando as etapas a seguir, preencha os metadados em inglês.

1. Use o botão "incluir autor".

Revise os títulos e a ordem / numeração dos passos desta seção cuidadosamente para garantir que as etapas sejam numeradas claramente na ordem em que os autores devem segui-las.

Uma vez que a frase indica "no caso de o artigo é submetido a revisão por pares", parece desnecessário incluir (ex.: artigos) aqui. Por favor, considere excluir isso.

Deve haver um item separado numerado com uma explicação da taxa de submissão? Em caso afirmativo, forneça as informações adequadas. Se não, por favor, considere excluir isso.

Lista de Verificação para Preparação de Submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da sua submissão com todos os itens a seguir, e as submissões podem ser devolvidas aos autores que não aderem a essas diretrizes.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo considerada para publicação em outra revista; Caso contrário, deve ser justificada em "Comentários ao Editor".
2. Informe que o texto está corretamente formatado e que o Material Suplementar será carregado, SENDO CONSCIENTE de que a formatação incorreta implicará resultar em uma SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM VALOR DO MÉRITO
3. Os arquivos de submissão estão no formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (contanto que não exceda 2MB).

O espaçamento entre linhas deve ser definido como 1,5; A fonte é Time New Roman, tamanho 11; Usa itálico em vez de sublinhado (exceto para endereços URL);

O texto segue os requisitos de estilo e referência descritos em "Diretrizes de Autores" na seção "Sobre o Diário".

4. **Na etapa subsequente, os metadados deverão ser fornecidos em Português.**

- **Para** incluí-los, depois de salvar os dados de submissão em inglês, clique em "editar metadados" no topo da página - mude o idioma para o português e insira: título em Português, resumo e palavras-chave. Salve e prossiga com a próxima etapa.

- 5. As informações de autoria de todos os autores devem ser fornecidas após a submissão.

Use a opção "**incluir autor.**"

- 6. A identidade do autor foi removida do arquivo e da opção "Propriedades" do Word, garantindo assim que os critérios de confidencialidade da revista sejam atendidos, caso seja enviado para revisão por pares (por exemplo, manuscritos), de acordo com as instruções listadas em "Peer Review".
- 7. Declaro que todas as normas éticas foram seguidas, em caso de pesquisa com organismos vivos, e estou em posse dos documentos que mostram aprovação pelo Comitê de Ética e os Formulários de Consentimento Livre e Esclarecido, caso sejam solicitados. O cumprimento dos princípios éticos aplicáveis deve ser citado no texto.
- 8. Texto, até 10 linhas, indicando a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação às obras previamente publicadas) devem ser incluídos e escritos no campo "COMENTÁRIOS AO EDITOR".
- 9. Taxa de envio de artigos

Aviso de direitos autorais

O Copyright dos manuscritos publicados pertence à revista. Uma vez que são publicadas numa revista de acesso livre, estas são livremente disponíveis, para uso privado ou para fins educativos e não comerciais.

A revista tem o direito de fazer, no documento original, alterações em relação às normas lingüísticas, ortográficas e gramáticas, com o objetivo de assegurar as normas normativas da língua e a credibilidade da revista. No entanto, respeitará o estilo de escrita dos autores.

Quando necessário, mudanças conceituais, correções ou sugestões serão encaminhadas aos autores. Nesses casos, o manuscrito deve ser submetido a uma nova avaliação após revisão.

A responsabilidade pelas opiniões expressas nos manuscritos pertence inteiramente aos autores.

Declaração de privacidade

Os nomes e endereços de e-mail inseridos neste site da revista serão usados exclusivamente para os fins declarados desta revista e não serão disponibilizados para qualquer outro propósito ou para qualquer outra parte.

Semin: Ciênc. Agrár.

Londrina - PR

E-ISSN 1679-0359

DOI: 10.5433 / 1679-0359

E-mail: semina.agrarias@uel.br



Esta obra está licenciada com uma Licença [Creative Commons Atribuição-NãoComercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).