



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

NILDO REDIVO JÚNIOR

ALIMENTOS FUNCIONAIS: REVISÕES SISTEMÁTICAS DE ESTUDOS *IN VITRO*

Presidente Prudente - SP
2024



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL

NILDO REDIVO JÚNIOR

ALIMENTOS FUNCIONAIS: REVISÕES SISTEMÁTICAS DE ESTUDOS *IN VITRO*

Tese apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção de título de Doutor em Ciência Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Hermann Bremer Neto

Presidente Prudente - SP
2024

636.089
R317e

Redivo Júnior, Nildo

Alimentos funcionais: revisões sistemáticas de estudo *in vitro* / Nildo Redivo Júnior - Presidente Prudente, 2024.

55 f.: il.

Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde Animal) Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2024.

Bibliografia.

Orientador: Hermann Bremer Neto

1. Alimentos funcionais. 2. Reprodução. 3. Saúde óssea. 4. Leiomioma. I. Título.

Catlogação na fonte: Michele Mogni – CRB 8/6204

NILDO REDIVO JÚNIOR

ALIMENTOS FUNCIONAIS: REVISÕES SISTEMÁTICAS DE ESTUDOS *IN VITRO*

Tese apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 09 de Outubro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

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

Profa. Dra. Liliana Martos Nicoletti Tóffoli
Centro Universitário de Adamantina - UNIFAI
Adamantina - SP

Profa. Dra. Márcia Zilioli Bellini
Centro Universitário de Adamantina - UNIFAI
Adamantina - SP

Profa. Dra. Profa. Ines Cristina Giometti Ceda
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Prof. Heliard Rodrigues dos Santos Caetano
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, que me incentivou muito para chegar até aqui e meus amigos verdadeiros.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, MARIA, e todos os meus familiares, em especial minha esposa e minha filha que com amor e sabedoria souberam dar todo suporte para que conseguisse realizar este projeto.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Hermann Bremer Neto, pela competência, inteligência, compreensão, paciência, orientação, excepcional bom humor que soube sempre usar nas horas tensas, à resiliência e principalmente por acreditar nos meus sonhos e objetivos, já me faz respeita-lo e ser grato por participar deste momento importante em minha vida profissional;

À Coordenação e Professores do Programa de Pós-Graduação;

Ao colega imprescindível para a elaboração deste trabalho meu parceiro Adriano Messias de Souza, pelo companheirismo nesta batalha;

Aos meus amigos e colegas que me incentivaram e que sempre estiveram na torcida por este momento; e

A amiga, competente e eficaz Keid, que muito bem executa suas funções nesta instituição e que em determinado momento suas palavras foram determinantes para eu não desistir.

*“Cuide de seu corpo como se fosse viver para sempre e da
sua alma como se fosse morrer amanhã.”*

Santo Agostinho

“Os obstáculos são ensinamentos para teu espírito.”

Santa Rita de Cássia

RESUMO

Alimentos funcionais: revisões sistemáticas de estudos *in vitro*

Alimentos funcionais, resveratrol e ômega-3, têm demonstrado efeitos benéficos em estudos *in vitro* em células de doença articular, osteoartrite, e ginecológica, leiomioma. A presente tese de doutorado teve como objetivo realizar revisões sistemáticas de ensaios *in vitro*, visando elevar o nível de evidência acerca dos efeitos do resveratrol em marcadores de degradação da cartilagem em osteoartrite marcadores indicadores de osteoartrite e efeitos de frações do ômega-3, EPA e DHA, no perfil lipídico, membrana, arquitetura e padrões de expressão gênica de componentes da matriz extracelular, sinalização mecânica, moléculas reguladoras de esterol e enzima mitocondrial em células de leiomioma. As buscas foram realizadas nas bases eletrônicas de dados científicos PubMed, Embase, ScienceDirect, Scopus, Web of Science e Scielo em dezembro de 2023, disponíveis na Internet. Na revisão sistemática sobre osteoartrite, foram utilizadas as palavras-chave resveratrol e osteoartrite que são aceitos como Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e Medical Subject Headings (MeSH), sem restrição de datas, idioma de publicação ou categoria, incluindo artigos completos, resumos e capítulos de livros. Os dados foram organizados na base de dados e codificados para as análises. O software RevMan 5.4 foi utilizado para a realização dos cálculos da meta-análise onde a heterogeneidade foi calculada usando o teste do Q2 e I2, a significância foi definida em $p < 0,10$ ou $I^2 > 50\%$; o valor de $P < 0,05$ foi adotado como estatisticamente significativo. Os resultados demonstraram que a administração de resveratrol reduziu os níveis de expressão CASPE3, MMP13 e expressão de mRNA MMP13, sugerindo e esse polifenólico pode ser utilizado na prevenção ou tratamento de osteoartrite. No artigo sobre o uso do alimento funcional, frações do ômega-3, EPA e DHA, no perfil lipídico, membrana, arquitetura e padrões de expressão gênica de componentes da matriz extracelular, sinalização mecânica, moléculas reguladoras de esterol e enzima mitocondrial em células de leiomioma. As buscas foram realizadas nas bases eletrônicas de dados científicos em agosto de 2024, disponíveis na Internet. Para as buscas, serão utilizadas as palavras-chave “Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3”, “ácido eicosapentaenoico (EPA)”, “ácido docosaexaenoico (DHA)” e “leiomioma uterino” que são aceitos como descritores, incluindo artigos completos, resumos e capítulos de livros. As etapas de elegibilidade, extração de dados e avaliação de qualidade dos estudos e risco de viés serão realizadas de forma independente por dois pesquisadores e um terceiro

será chamado no caso de dúvidas utilizando a plataforma de seleção Rayyan. Os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 eicosapentaenoico (EPA) e docosaenoico (DHA) exerceram efeitos benéficos no perfil lipídico, membrana, arquitetura e padrões de expressão gênica de componentes da matriz extracelular, sinalização mecânica, moléculas reguladoras de esteroide e enzima mitocondrial em células de leiomioma. Conclui-se que a intervenção com EPA e DHA parece ser benéfica e um promissor tratamento no leiomioma, porém faz-se necessário mais estudos de modo a aumentar o nível de evidências dessa intervenção.

Palavras-chave: Alimentos Funcionais, Ômega-3, Resveratrol, Osteoartrite; Leiomioma.

ABSTRACT

Functional foods: systematic reviews of *in vitro* studies

Functional foods, resveratrol and omega-3, have shown beneficial effects in *in vitro* studies on cells of joint disease, osteoarthritis, and gynecological disease, leiomyoma. This doctoral thesis aimed to carry out systematic reviews of *in vitro* assays, aiming to increase the level of evidence about the effects of resveratrol on markers of cartilage degradation in osteoarthritis, markers indicating osteoarthritis and effects of omega-3 fractions, EPA and DHA, on the lipid profile, membrane, architecture and gene expression patterns of extracellular matrix components, mechanical signaling, sterol regulatory molecules and mitochondrial enzyme in leiomyoma cells. The searches were carried out in the electronic scientific databases PubMed, Embase, ScienceDirect, Scopus, Web of Science and Scielo in December 2023, available on the Internet. In the systematic review on osteoarthritis, the keywords resveratrol and osteoarthritis were used, which are accepted as Health Sciences Descriptors (DeCS) and Medical Subject Headings (MeSH), without restriction on dates, language of publication or category, including full articles, abstracts and book chapters. The data were organized in the database and coded for the analyses. RevMan 5.4 software was used to perform the meta-analysis calculations where heterogeneity was calculated using the Q2 and I2 test, significance was defined as $p < 0.10$ or $I^2 > 50\%$; the value of $P < 0.05$ was adopted as statistically significant. The results demonstrated that resveratrol administration reduced the levels of CASPE3, MMP13 expression and MMP13 mRNA expression, suggesting that this polyphenolic can be used in the prevention or treatment of osteoarthritis. In the article on the use of functional food, omega-3 fractions, EPA and DHA, in the lipid profile, membrane, architecture and gene expression patterns of extracellular matrix components, mechanical signaling, sterol regulatory molecules and mitochondrial enzyme in leiomyoma cells. The searches were carried out in the electronic scientific databases in August 2024, available on the Internet. For the searches, the keywords "Omega-3 polyunsaturated fatty acids", "eicosapentaenoic acid (EPA)", "docosahexaenoic acid (DHA)" and "uterine leiomyoma" will be used, which are accepted as descriptors, including full articles, abstracts and book chapters. The eligibility, data extraction and quality assessment of the studies and risk of bias steps will be carried out independently by two researchers and a third will be called in case of doubts using the Rayyan selection platform. The effects of eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) omega-3 fatty acids exerted beneficial effects on the lipid profile, membrane,

architecture and gene expression patterns of extracellular matrix components, mechanical signaling, sterol regulatory molecules and mitochondrial enzyme in leiomyoma cells. It is concluded that intervention with EPA and DHA appears to be beneficial and a promising treatment in leiomyoma, but further studies are needed in order to increase the level of evidence for this intervention.

Keywords: Functional Foods, Omega-3, Resveratrol, Osteoarthritis; Leiomyoma.

SUMÁRIO

ARTIGO 1 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE FRAÇÕES DE ÔMEGA-3 SOBRE MARCADORES DE LEIOMIOMA UTERINO: REVISÃO SISTEMÁTICA.....	12
ARTIGO 2 - EFEITO DO RESVERATROL SOB MARCADORES DE DEGRADAÇÃO DA CARTILAGEM IN VITRO EM OSTEOARTRITE: REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE.....	31
ANEXO A - PARECER DO COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) - UNOESTE.....	46
ANEXO B - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA: ARTIGO 1 E 2...	47

Artigo 1: Será submetido a Revista em Agronegócio e Meio Ambiente – RAMA – Qualis Capes A4

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS
ÔMEGA-3 SOBRE MARCADORES DE LEIOMIOMA UTERINO: REVISÃO
SISTEMÁTICA**

Nildo Redivo Júnior^a, Maria Lorena Ribeiro Redivo^a, Adriano Messias de Souza^a, Hermann Bremer Neto^a

^a Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

Contato: Hermann Bremer Neto (hermann@unoeste.br)

RESUMO

Leiomiomas e doenças ginecológicas afetam mulheres em idade fértil e na perimenopausa, gerando impactos sociais e econômicos e aos efeitos colaterais dos tratamentos hormonais e quimioterápicos são problemas frequentes e suplementos alimentares demonstraram efeitos benéficos em estudos em células de leiomioma. O objetivo deste estudo foi revisar sistematicamente os efeitos de frações do ômega-3, EPA e DHA, no perfil lipídico, membrana, arquitetura e padrões de expressão gênica de componentes da matriz extracelular, sinalização mecânica, moléculas reguladoras de esterol e enzima mitocondrial em células de leiomioma. As buscas foram realizadas nas bases eletrônicas de dados científicos em agosto de 2024, disponíveis na Internet. Para as buscas foram utilizadas as palavras-chave “Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3”, “Ácido eicosapentaenoico (EPA)”, “Ácido docosaenoico (DHA)” e “Leiomioma uterino” que são aceitos como descritores, incluindo artigos completos, resumos e capítulos de livros. As etapas de elegibilidade, extração de dados e avaliação de qualidade dos estudos e risco de viés serão realizadas de forma independente por dois pesquisadores e um terceiro foi chamado no caso de dúvidas utilizando a plataforma de seleção Rayyan. Os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 eicosapentaenoico (EPA) e docosaenoico (DHA) exerceram efeitos benéficos no perfil lipídico, membrana, arquitetura e padrões de expressão gênica de componentes da matriz extracelular, sinalização mecânica, moléculas reguladoras de esterol e enzima mitocondrial em células de leiomioma. Conclui-se que a intervenção com EPA e DHA parece ser benéfico e um promissor tratamento no leiomioma, porém faz-se necessário mais estudos de modo a aumentar o nível de evidências dessa intervenção.

Palavras Chave: Leiomioma; hiperplasia benigna; ácido eicosapentaenoico; ácido docosaenoico; EPA; DHA.

ABSTRACT

EFFECTS OF OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACID SUPPLEMENTATION ON UTERINE LEIOMYOMA MARKERS: SYSTEMATIC REVIEW

Leiomyomas and gynecological diseases affect women of childbearing age and perimenopause, generating social and economic impacts. The side effects of hormonal and chemotherapy treatments are frequent problems, and dietary supplements have shown beneficial effects in studies on leiomyoma cells. The aim of this study was to systematically review the effects of omega-3 fractions, EPA and DHA, on the lipid profile, membrane, architecture and gene expression patterns of extracellular matrix components, mechanical signaling, sterol regulatory molecules and mitochondrial enzyme in leiomyoma cells. The searches were carried out in the electronic scientific databases in August 2024, available on the Internet. The keywords “Omega-3 polyunsaturated fatty acids”, “Eicosapentaenoic acid (EPA)”, “Docosahexaenoic acid (DHA)” and “Uterine leiomyoma” were used for the searches, which are accepted as descriptors, including full articles, abstracts and book chapters. The eligibility steps, data extraction and assessment of study quality and risk of bias will be performed independently by two researchers and a third was called in case of doubts using the Rayyan selection platform. The effects of eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) omega-3 fatty acids exerted beneficial effects on the lipid profile, membrane, architecture and gene expression patterns of extracellular matrix components, mechanical signaling, sterol regulatory molecules and mitochondrial enzyme in leiomyoma cells. It is concluded that intervention with EPA and DHA appears to be beneficial and a promising treatment for leiomyoma, but further studies are needed to increase the level of evidence for this intervention.

Keywords: Leiomyoma; benign hyperplasia; eicosapentaenoic acid; docosahexaenoic acid.

1. INTRODUÇÃO

Tumor ginecológico, também conhecido como mioma, é o tipo mais prevalente de tumor benigno nas células musculares lisas do útero ou no órgão reprodutor feminino, no qual há necessidade de amplos cuidados de saúde agregado a elevados custos em todo o mundo. Entretanto, na prática clínica de ginecologia, o diagnóstico de leiomioma uterino é pouco estudado em mulheres (DATIR; BHAKE, 2022; MATHEW et al., 2021; MLODAWSKA et al., 2022).

Estima-se que 20% a 50% das mulheres em idade reprodutiva atualmente tenham miomas, e até 77% das mulheres desenvolverão miomas em algum momento durante seus anos férteis (DATIR; BHAKE, 2022). Os miomas uterinos, também chamados de leiomiomas ou miomas, são os tumores ginecológicos benignos mais comuns; evidências de ultrassom mostram que mais de 80% das mulheres afro-americanas e aproximadamente 70% das mulheres brancas terão miomas uterinos aos 50 anos (MATHEW et al., 2021; STEWART et al., 2017).

A patogênese do leiomioma uterino é caracterizada pela proliferação e transformação de tecido miometrial e que se assemelha a uma resposta à lesão, produzindo um tipo de matriz extracelular rígida. Além disso, a desregulação das vias de sinalização celular, a expressão de miRNA, anormalidades citogenéticas também são consideradas na etiologia e elevação das concentrações específicas de fatores de desenvolvimento (como o fator de crescimento transformador β - TGF- β) dentro do tumor (DATIR; BHAKE, 2022; MCWILLIAMS; CHENNATHUKUZH, 2017)

Os fatores de risco associado ao leiomioma uterino incluem idade, etnia, fatores hormonais endógenos e exógenos, obesidade, infecção uterina e estilo de vida (dieta, consumo de cafeína e álcool, atividade física, estresse e tabagismo), estado de pré-menopausa, hipertensão, histórico familiar, tempo desde o último nascimento, consumo de aditivos alimentares e leite de soja e uso de contraceptivos orais ou do contraceptivo injetável (DATIR; BHAKE, 2022; PAVONE et al., 2018; STEWART et al., 2017).

A escolha do tratamento torna-se individualizado e deve considerar os sintomas, idade, número e posição de seus miomas e desejo de engravidar no futuro (DATIR; BHAKE, 2022). Os tratamentos existentes são pautados principalmente em intervenções cirúrgicas e deve considerar a idade e a preservação da fertilidade. Essas abordagens cirúrgicas e não cirúrgicas devem priorizar miomectomia por histeroscopia, miomectomia por laparotomia ou laparoscopia, evitar histerectomia, embolização da artéria uterina e intervenções realizadas sob orientação radiológica ou ultrassonográfica para induzir a ablação térmica dos miomas uterinos (DONNEZ; DOLMANS, 2016).

Terapias farmacológicas têm sido investigadas e tendem a ser eficazes em situações onde os miomas estão envolvidos na infertilidade. A princípio, o que tem sido aplicado convencionalmente é o uso pré-operatório de agonistas do hormônio liberador de gonadotrofinas em anemias, para limitar a hemorragia e apoiar o desenvolvimento dos níveis de hemoglobina (DATIR; BHAKE, 2022).

Alimentos funcionais têm sido propostos como prevenção e ou tratamento para essa enfermidade, pois podem produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos, através da atuação de um nutriente no crescimento, desenvolvimento, manutenção e em outras funções normais do organismo humano. Além disso, surgem para melhorar a qualidade de vida, reduzindo riscos de doenças crônico-degenerativas. Frações do ácido graxo poliinsaturado de cadeia longa (ÔMEGA-3), eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosaenoico (DHA), têm demonstrado efeitos benéficos, controlando processos inflamatórios, modulação de sinalização lipídica e outras doenças que afetam as mulheres (BELLONI et al., 2024; SAVATINOVA; IVANOVA, 2024). Além disso, o EPA e o DHA podem reduzir o estresse oxidativo e inflamação em mulheres ao longo do ciclo menstrual, agir sobre doenças autoimunes, inflamatórias, cardiovasculares e doenças neurológicas e lesões tumorais (BELLONI et al., 2024). Este estudo tem como objetivo revisar sistematicamente os efeitos de frações do ômega-3, EPA e DHA, no perfil lipídico, na arquitetura da membrana, nos padrões de expressão gênica de componentes da matriz extracelular, na sinalização mecânica, nas moléculas reguladoras de esterol e enzima mitocondrial em linhagens celulares de leiomioma uterino.

2. METODOLOGIA

Esta revisão sistemática foi conduzida de acordo com as recomendações Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (MOHER et al., 2015), para responder à questão de pesquisa: “Marcadores em células de leiomioma uterino, linhagens celulares, são influenciados pelo tratamento de frações de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3, ácido eicosapentaenoico ou ácido docosaenoico?” O protocolo foi registro na plataforma OSF (Open Science Framework) (<https://osf.io/yhu9z>).

2.1. Estratégia de pesquisa

Trata-se de uma revisão sistemática cuja pesquisa foi realizada com a combinação dos descritores “Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3”, “ácido eicosapentaenoico (EPA)”, “ácido docosaenoico (DHA)” e “leiomioma uterino” como estratégia de busca na base de dados

PubMed, Embase, ScienceDirect, Scopus, Web of Science e Scielo disponíveis na internet em janeiro de 2024. A literatura cinza pelo Opengrey foi consultada sem restrições de idiomas até o mês de maio de 2024. Estes termos foram utilizados em conjunto nos idiomas inglês e português. Para tornar as pesquisas mais abrangentes, nesta fase, todos os resultados obtidos foram analisados sem restrição de datas, idioma de publicação ou categoria, incluindo artigos completos, resumos e capítulos de livros.

2.2. Critérios de inclusão e exclusão para seleção de estudos

Foram incluídos estudos *in vitro* utilizando linhagens de células de leiomioma uterino e que foram tratadas com EPA ou DHA. Os critérios de exclusão utilizados foram para estudos que avaliaram *in vivo* os efeitos dos ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosaenoico (DHA) em células do tecido leiomioma uterino. A seleção dos estudos foi realizada de maneira independente por dois revisores, por meio da plataforma de seleção Rayyan (OUZZANI et al., 2016) e os registros duplicados e trabalhos que não estavam relacionados aos objetivos propostos foram excluídos após análise dos títulos e/ou resumos e em caso de discordância, um terceiro autor foi consultado. Foram selecionados trabalhos completos que responderam à pergunta do acrônimo P.E.C.O.: (1) Problema: Leiomioma uterino; (2) Exposição: Linhagem de células do tecido leiomioma uterino tratadas com as frações dos ácidos graxos poliinsaturados ômega-3: EPA ou DHA; (3) Controle: Linhagem de células do tecido leiomioma uterino que não foram tratadas com EPA ou DHA; e (4) Desfechos: Parâmetros dos efeitos do tratamento do EPA ou DHA sobre linhagens de células do tecido leiomioma uterino. Ensaios clínicos em outras espécies, estudos-piloto, artigos de revisão e trabalhos que não abordaram o objetivo desta meta-análise foram excluídos.

2.3. Extração de dados

Os dados foram extraídos de forma independente por dois pesquisadores e em caso de discordância um terceiro foi consultado em cada um dos artigos incluídos: autor/ano de publicação/país, origem das células, tipo de célula, composição do ômega-3, dose, tempo exposição, parâmetros analisados e resultados do tratamento.

2.4. Avaliação de qualidade

Para atender os objetivos desta revisão sistemática com meta análise foi utilizada a ferramenta QUIN (ferramenta de avaliação de qualidade para estudos *in vitro*), classificando cada critério sob os títulos de especificado adequadamente (Escore 2), especificado inadequadamente (Escore 1), não especificado (Escore 0) ou não aplicável=excluir critérios do cálculo. As pontuações foram então somadas para obter uma pontuação total para um estudo *in vitro* específico. As pontuações assim obtidas foram utilizadas para classificar o estudo *in vitro* como de alto, médio ou baixo risco (>70%=baixo risco de viés, 50% a 70%=médio risco de viés e <50%=alto risco de viés) usando a seguinte fórmula: Pontuação final = (Pontuação total × 100) / (2×número de critérios aplicáveis)

Os critérios analisados se restringem a: (1) Metas/objetivos claramente definidos; (2) Explicação detalhada do cálculo do tamanho da amostra; (3) Explicação detalhada da técnica de amostragem; (4) Detalhes do grupo de comparação; (5) Explicação detalhada da metodologia; (6) Detalhes do operador; (7) Randomização; (8) Método de medição do resultado; (9) Detalhes do avaliador de resultados; (10) Cegagem; (11) Análise estatística; e (12) Apresentação dos resultados (SHETH et al., 2022).

3. RESULTADOS

Foram identificados um total de 42 artigos, resumos, artigos de revisão ou capítulos de livros que continham as palavras-chave utilizadas na busca bibliográfica e após a remoção das duplicatas (n=oitos) um total de 34 foram incluídos para triagem para o título e resumo. Vinte e oito estudos foram excluídos durante a triagem dos títulos e resumo e um total de seis estudos foram considerados elegíveis e após a avaliação completa dos estudos, 3 estudos *in vitro* foram selecionados (BELLONI et al., 2022, 2024; ISLAM et al., 2018), pois preencheram os critérios de inclusão. O processo de seleção de literatura, seleção dos estudos e motivos de exclusão são mostrados no diagrama de fluxo do PRISMA (Figura 1).

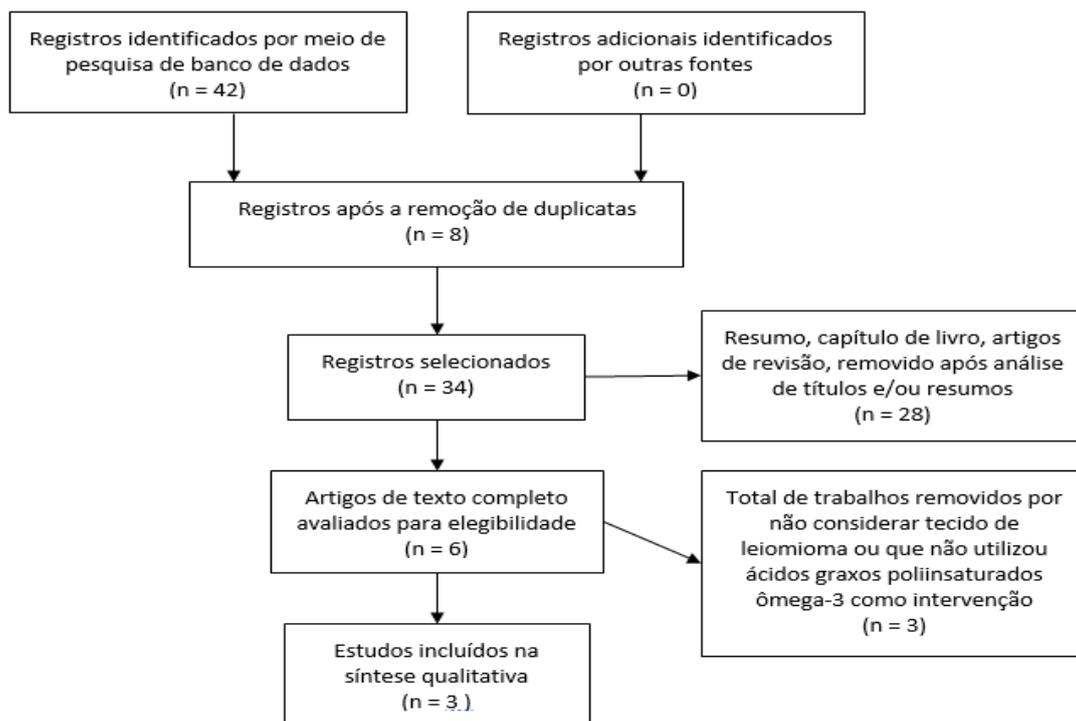


Fig. 1 Diagrama de fluxo PRISMA mostrando o processo de seleção de literatura, seleção de estudos e motivos de exclusão.

3.1 Características dos estudos incluídos

Dos estudos incluídos (BELLONI et al., 2022, 2024; ISLAM et al., 2018), os dados foram extraídos independentemente por dois autores e um terceiro autor foi chamado no caso de conflito. Foi elaborada e utilizada uma planilha de extração de dados, que incluiu os seguintes elementos: nome dos autores, ano de publicação, tipo ou origem da linhagem de células do tecido leiomioma uterino, tratamento testado e composição. Todos os estudos foram realizados na Itália e publicados de 2018 a 2024 (Tabela 1) e os resultados dos efeitos dos tratamentos por EPA (Tabela 2) e DHA (Tabela 3) em células primárias do leiomioma.

3.2 Composição total de ácidos graxos de tecido do leiomioma

Os resultados relativos à análise da composição de ácidos graxos nas células primárias isoladas do leiomioma demonstraram que nas células tratadas com EPA ou DHA, o ácido palmítico foi o mais abundante, seguido pelos ácidos esteárico e oleico. Os níveis de ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) não tiveram diferença significativa nas células tratadas com EPA e DHA em relação às células controle (ISLAM et al., 2018).

Os SCFAs foram os principais ácidos graxos determinados nas células do leiomioma e o tratamento com EPA e DHA resultou em alteração da composição da fração ácida saturada e a diminuição do nível de ácido lignocérico não foi significativa ($P > 0,05$). Em relação aos ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), os tratamentos com DHA e EPA reduziram significativamente ($P < 0,05$) o teor relativo dos ácidos oleico, palmitoleico e nervônico. O tratamento com DHA não causou uma diminuição significativa no nível de ácido vacênico. O tratamento com EPA ou DHA aumentou a concentração total de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), porém, apenas nas células tratadas com EPA esse aumento foi significativo ($P < 0,05$). Também nas células do leiomioma a adição de EPA diminuiu significativamente os níveis de ácido araquidônico e de C18:4 ω 3 e aumentou o teor de ácido linoleico as das concentrações das frações de ômega-3 EPA e DPA. O tratamento com DHA aumentou os níveis de DHA nas células e não ocorreu aumento dos níveis de EPA. O conteúdo total de PUFA das células de leiomioma aumentou quando tratadas com as frações de ômega-3, DHA e EPA (ISLAM et al., 2018).

3.3 Efeito do EPA e DHA na arquitetura da membrana das células do leiomioma

O tratamento com EPA e DHA resultou em valores de Laurdan Ex GP superiores ($P < 0,05$) em relação às células controle (ISLAM et al., 2018).

3.4 Efeito do EPA e DHA na abundância de RNAm de componentes da matriz extracelular e activina, moléculas de sinalização mecânica, moléculas reguladoras de esterol e da enzima mitocondrial CYP11A1A em células primárias de leiomioma.

O tratamento com EPA ou DHA (50 μ M por 48 horas) em células do leiomioma não resultou em efeito significativo ($P > 0,05$) na abundância de RNAm de colágeno1A1, fibronectina, versican ou activina A, quando comparados com os resultados do grupo controle (ISLAM et al., 2018). O tratamento com EPA e DHA resultou na diminuição significativa ($P < 0,05$) na abundância de moléculas de sinalização mecânica somente do parâmetro AKAP13 nas células primárias de leiomioma (ISLAM et al., 2018). Os resultados do PCR em tempo real em células de leiomioma tratadas com EPA ou DHA a 50 μ M por 48 horas, demonstraram que a abundância de RNAm da moléculas reguladoras ABCG1 e ABCA1 foram reduzidas ($P < 0,05$) (ISLAM et al., 2018). O tratamento com EPA e DHA não resultou em alteração na abundância do RNAm do CYP11A1 nas células de leiomioma (ISLAM et al., 2018).

3.5 Composição histológica

A análise histológica de amostras, biópsia, do tecido leiomioma coradas com H&E e tricômico de Masson, para avaliar os diferentes componentes do tecido, revelaram que o tratamento com EPA acarretou uma distribuição celular não homogênea no interior do tecido e uma menor quantidade de colágeno em comparação ao tecido do grupo controle. Além disso, no tecido tratado com DHA foi encontrada uma degradação maciça do colágeno por uma diminuição na celularidade do tecido (BELLONI et al., 2022).

3.6 Análise de microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

Os resultados evidenciaram uma distribuição diferente e quantidade relativa de feixes de colágeno nas amostras de leiomioma tratadas com EPA e DHA (BELLONI et al., 2022).

3.7 Análise de tomografia microcomputadorizada com contraste de fase (PhC-microCT)

A biópsia de tecido analisada por tomografia microcomputadorizada com contraste de fase destacou que o tratamento EPA apresentou comportamento morfológico intermediário às biópsias do grupo controle e que o tratamento com DHA pareceu causar danos estruturais nas amostras. Além disso, nos tratamentos com EPA e DHA verificaram uma diminuição estatisticamente significativa na quantidade de colágeno e elevados desvios padrão. Ainda, o EPA demonstrou uma redução significativa no volume específico (CollV/TV), aumento significativo tanto na distância média entre os feixes de colágeno (CollSp), quanto no grau de anisotropia (DA), em relação ao grupo não tratado (BELLONI et al., 2022).

3.8 Análise de imagem infravermelha por transformada de Fourier (FTIRI)

Na análise de imagem FTIRI foi detectado uma diminuição considerável nos níveis de colágeno nas amostras tratadas com EPA. Já o DHA pareceu ter um efeito mais pronunciado na organização tecidual do leiomioma (BELLONI et al., 2022).

3.9 Microscopia Eletrônica - Técnica de contraste de fase associada à tomografia (PhC-microCT)

Os níveis de colágeno sofreram diminuição significativa com o tratamento com EPA ou DHA (razão A1662/AI, $P < 0,05$). Também, após o tratamento resultou uma tendência decrescente

semelhante entre os tratamentos da quantidade de hélice tripla (A1639/AL, $P < 0,05$). Na análise da banda Amida III (razão A1340/TOT2) foi observada uma diminuição induzida pelo EPA e, em maior medida, pelo tratamento com DHA. Uma tendência semelhante foi mostrada nas razões da área das bandas A1284/TOT2 e A1240/TOT2 e confirmando o resultado da razão da área da banda A1639/AI da Amida I (BELLONI et al., 2022).

Tabela 2. Caracterização dos estudos.

Autor/Ano de Publicação/ País	Origem das células	Tipo de Célula	Composição do ômega-3	Dose / Tempo de exposição
ISLAM et al. (2018); Itália	Mulheres caucasianas na pré-menopausa de idade entre 41 e 49 anos com miomas	Tecidos fibroides de região submucosa e intramural	EPA (ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenóico) e DHA (ácido cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)	50 μ M / 48 horas
BELLONI et al. (2022); Itália	Mulheres de idade entre 40 e 46 anos submetida à histerectomia	Células de leiomioma uterino humano, localizado na região intramural	EPA (ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenóico) e DHA (ácido cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)	50 μ M / 48 horas
BELLONI et al. (2024); Itália	Linhagem celular de leiomioma A00-10	Linhagem de células de leiomioma, A00-10 (Departamento de Obstetrícia e Ginecologia, Uniformed Services University as Ciências da Saúde, Bethesda, Maryland)	EPA (ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenóico) e DHA (ácido cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)	50 μ M / 48 horas

3.10 Caracterização FTIRM de linhagens celulares de leiomioma

As células tratadas com EPA foram claramente segregadas em relação as não tratadas e que se devia principalmente a variações em relação a frações lipídicas insaturadas e saturadas, ou seja, alterações nos comprimentos das cadeias alifáticas. Além disso, todas as linhagens testadas (A00-9 e A00-10) apresentaram aumento nos níveis de insaturação lipídica. Na fração lipídica saturada o tratamento com EPA ou DHA resultou num aumento menos evidente. Os resultados revelaram também o aumento da quantidade relativa de ácidos graxos. A relação A1172/1156, nível de fosforilação dos grupos C-O registraram valores mais elevados nas células tratadas com EPA, em relação ao DHA e não tratadas. Níveis mais elevados de carboidratos (relação A1058/ATOT) foram encontrados em células tratadas com DHA, quando comparadas com células saudáveis. No que diz

respeito aos ácidos nucleicos, as células do leiomioma tratadas com EPA e DHA apresentaram valores mais baixos em relação às células não tratadas (BELLONI et al., 2024).

Tabela 2. Caracterização dos efeitos dos tratamentos por EPA¹ em células primárias do leiomioma.

Autor/Ano	Parâmetros analisados	Resultados do tratamento
ISLAM et al. (2018)	Composição total de ácidos graxos	Ácidos graxos saturados (SFAs) mais abundantes: palmítico, esteárico e oleico NS – Níveis de SFA ↓ - Nível de ácido araquidônico e 18:4 ω3 ↑ - Nível de concentração total de PUFA ω3 NS - Nível de concentração total de PUFA ω6
	Arquitetura da membrana	↑ - Valores superiores de Laurdan Ex GP
	Abundância de RNAm de componentes da matriz extracelular	NS - Abundância de RNAm de colágeno 1A1, fibronectina, versican, activina A e AKAP13 ↓ - Abundância de RNAm de integrina β1, ABCG1 e ABCA1 NS – Abundância de RNAm de FAK e CYP11A1
BELLONI et al. (2022)	Análise histológica – Microscopia Ótica	Distribuição celular não homogênea ↓ - Quantidade de colágeno Distribuição celular não homogênea ↓ - Quantidade de colágeno ↑ - Comportamento morfológico (mais feixes de colágeno)
	Microscopia eletrônica - Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	↓ - Comportamento morfológico (menos isotópico) ↓ - Quantidade de colágeno ↓ - Volume específico (CollV/TV) ↑ - Distância média entre os feixes de colágeno (CollSp) e grau de anisotropia (DA) ↑ - Falta de homogeneidade estrutural
	Microscopia eletrônica - Infravermelha transformada de Fourier (FTIRI)	↓ - Considerável nos níveis de colágeno
	Microscopia Eletrônica - Técnica de contraste de fase associada à tomografia (PhC-microCT)	↓ - Colágeno (relação COLL/TOT, COLL/PRT, A1662/AI e A1639/AI) ↓ - Razão de área da banda A1340/TOT2 ↓ - Razão de área da banda A1320/TOT2 ↓ - Razão de área da banda A1639/AI da Amida I NS - Razão de área da banda A1264/TOT2
BELLONI et al. (2024)	Microespectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIRM)	↑ - Níveis de ácidos graxos (razão A1740/ATOT) ↑ - Nível de fosforilação (razão A1172/A1156) ↓ - Níveis de carboidratos (razão A1058/ATOT) ↓ - Quantidade relativa RNA (razão A992/A1080)

¹ EPA (Ácido elcosapetaenóico); ² MUFA (Conteúdo total de ácidos graxos monoinsaturados); ³PUFA (Ácidos graxos poliinsaturados); ⁴ NS (Não significativo); MTT [brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) – 2,5-difeniltetrazólio].

Tabela 3. Caracterização dos efeitos dos tratamentos por DHA¹ em células primárias do miométrio e leiomioma.

Autor/Ano	Parâmetros analisados	Resultados do tratamento
ISLAM et al. (2018)	Composição total de ácidos graxos	Ácidos graxos saturados (SFA) mais abundantes: palmítico, esteárico e oleico NS – Níveis de SFA ↓ - Conteúdo celular total de MUFA NS - Conteúdo celular total de PUFA NS - Conteúdo celular de ácido vacênico NS – Concentração total de PUFA ↑ - Níveis celulares de DHA NS – Níveis de DPA e EPA ↑ - Níveis celulares de PUFA ω6
	Arquitetura da membrana	↑ - Valores de Laurdan Ex GP
	Abundância de RNAm de componentes da matriz extracelular	NS - Expressão de mRNA de Colágeno 1A1, Fibronectina, Versican e Activina A ↓ - Abundância de RNAm de AKAP13 NS - Abundância de RNAm de Integrina β1, FAK e CYP11A1 ↓ - Abundância de RNAm de ABCG1 e ABCA1
BELLONI et al. (2022)	Análise histológica – Microscopia Ótica	↑ - Degradação maciça do colágeno ↓ - Celularidade do tecido
	Microscopia eletrônica - Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	Distribuição celular não homogênea ↓ - Quantidade de colágeno
	Microscopia Eletrônica – Tomografia microcomputadorizada com contraste de fase	↓ - Quantidade de colágeno ↑ - Desvios padrão dos resultados
	Microscopia Eletrônica - técnica de contraste de fase associada à tomografia (PhC-microCT)	↓ - Colágeno (relação COLL/TOT; COLL/PRT; A1662/AI; e A1639/AI) ↓ - Razão de área da banda A1340/TOT2 ↓ - Razão de área da banda A1320/TOT2 ↓ - Razão da área da banda A1639/AI da Amida I NS - Razão de área da banda A1264/TOT2
BELLONI et al. (2024)	Microespectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIRM)	↑ - Segregação nas linhagens celulares ↑ - Níveis de insaturação (razão A3014/A2959) ↑ - Níveis de ácidos graxos (razão A1740/ATOT) ↓ - Abundância relativa de RNA (razão A992/A1080)

¹ DHA (docosa-hexaenóico); ² MUFA (Conteúdo total de ácidos graxos monoinsaturados); ³ NS (Não significativo); ⁴PUFA (Ácidos graxos poliinsaturados); ⁵MTT [brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) – 2,5-difeniltetrazólio].

3.11 Qualidade dos estudos e risco de viés

Três estudos (BELLONI et al., 2022, 2024; ISLAM et al., 2018) foram submetidos à análise com a ferramenta de avaliação QUIN. Todos os estudos *in vitro* descreveram claramente o objetivo. Nenhum dos

estudos realizou cálculo adequado do tamanho da amostra. Todos os estudos descreveram a técnica de amostragem claramente, detalhes do grupo de comparação e metodologia. Nenhum dos estudos descreveu adequadamente o operador. Os estudos incluídos (BELLONI et al., 2022, 2024; ISLAM et al., 2018) descreveram os detalhes do avaliador de dados de acordo com os padrões QUIN. Nenhum dos estudos *in vitro* realizou randomização e todos não realizaram o cegamento adequado. Todos os estudos incluídos realizaram análises estatísticas adequadas e apresentaram os resultados detalhadamente (BELLONI et al., 2022, 2024; ISLAM et al., 2018) (Tabela 3). Após os escores de cada um dos estudos serem somados, a pontuação total (66,66%) permitiu classificar cada um dos estudos incluídos nessa revisão sistemática como de médio risco de viés, levando em consideração a maioria dos critérios metodológicos e que alcançaram a qualidade desejada.

Tabela 3. Avaliação metodológica dos estudos *in vitro* com a ferramenta QUIN (*Quality Assessment Tool For In Vitro Studies*)¹.

Critérios ²	Estudos, ano, país		
	ISLAM et al. (2018); Itália	BELLONI et al. (2022); Itália	BELLONI et al. (2024); Itália
1	2	2	2
2	0	0	0
3	2	2	2
4	2	2	2
5	2	2	2
6	0	0	0
7	0	0	0
8	2	2	2
9	2	2	2
10	0	0	0
11	2	2	2
12	2	2	2
Pontuação final	16	16	16
Pontuação total	66,66%	66,66%	66,66%
Risco de Viés	Médio	Médio	Médio

¹Perguntas de avaliação do risco de viés: (1) Metas/objetivos claramente definidos; (2) Explicação detalhada do cálculo do tamanho da amostra; (3) Explicação detalhada da técnica de amostragem; (4) Detalhes do grupo de comparação; (5) Explicação detalhada da metodologia; (6) Detalhes do operador; (7) Randomização; (8) Método de medição do resultado; (9) Detalhes do avaliador de resultados; (10) Cegagem; (11) Análise estatística; e (12) Apresentação dos resultados.

²Classificação para cada critério sob os títulos de especificado: adequadamente (Escore 2); especificado inadequadamente (Escore 1); e não especificado (Escore 0) ou não aplicável=excluir critérios do cálculo.

4. DISCUSSÃO

Os leiomiomas são tumores do músculo liso originados do miométrio; eles são caracterizados por características inflamatórias e fibróticas (BELLONI et al., 2022), que estão associadas à morbidade reprodutiva grave e indicação de histerectomia, as mulheres em idade reprodutiva, a prevalência do diagnóstico clínico é de aproximadamente 20% a 50%, e quando falamos em mulheres negras uma incidência 2 a 3 vezes maior do diagnóstico comparado às mulheres brancas, além de apresentarem maior gravidade dos sintomas (BRASKY et al., 2020). Os leiomiomas uterinos também são responsáveis por despesas médicas significativas e há de se considerar as disparidades raciais no acesso e custos de cuidados de saúde, que afetam desproporcionalmente as mulheres negras, além dos fatores raciais e reprodutivos (BRASKY et al., 2020).

O perfil de ácidos graxos influencia em diferenças consideráveis nos perfis de ácidos graxos de membrana em pacientes com várias doenças, além disso, a composição de ácidos graxos da célula reflete a ingestão alimentar ao longo de meses, em contraste com o soro/plasma, que pode refletir apenas a ingestão alimentar ao longo de dias ou semanas, assim há de se considerar o estudo de biomarcadores que forneça informações adicionais sobre a etiologia dos leiomiomas (KODBA et al., 2010).

Os ácidos graxos ômega-3 poliinsaturados são suplementos bem avaliados, utilizados na prevenção de diversas doenças cardiovasculares, neurológicas e inflamatórias e, apenas recentemente, também no combate ao câncer. Entre eles, os ácidos eicosapentaenóico e docosaexaenoicos, mais conhecidos respectivamente como EPA e DHA, foram recentemente relatados por terem efeitos positivos no tratamento do leiomioma uterino ou em vários outros tipos de câncer (BELLONI et al., 2024).

Em células de leiomioma EPA e DHA reduziram o conteúdo celular de MUFA, onde o ácido oleico substrato para a mitocôndria e para a oxidação peroxissomal e palmitoleico envolvidos no aumento da secreção e acumulação celular de colesterol livre e colesterol esterificado, além de reduzir os níveis de triacilglicerois e fosfolípidios, envolvidos no processo de leiomioma (COSTA; BRESSAN; SABARENSE, 2006), o que confere aos tratamento um efeito anti-inflamatório (ISLAM et al., 2018). Assim, os resultados do Laurdan Ex GP mostraram que o DHA e EPA revelaram o desfecho do impacto sobre as MUFA evidenciando uma remodelação da arquitetura de membrana com possíveis efeitos em diversas propriedades celulares, incluindo sinalização celular a serem esclarecidos (ISLAM et al., 2018).

Os moduladores e sua expressão nas alterações da estrutura da membrana plasmática junto à Matriz Extracelular (MEC) do leiomioma, uma vez que a expressão aumentada de integrinas $\beta 1$, AKAP13 e FAK fosforilada no leiomioma indica alterações na expressão de moléculas envolvidas na transmissão de sinal mecânico, como integrinas $\beta 1$, FAK e AKAP13. Esses sinais mecânicos são transmitidos da MEC através de integrinas, que são receptores transmembranares heterodiméricos. A maioria das integrinas recruta

quinase de adesão focal citoplasmática (FAK) e ativa vias a jusante, incluindo sinalização dependente de Rho (ISLAM et al., 2018).

A proteína âncora quinase 13 (AKAP13) é um fator de troca de guanina específico da RhoA GTPase (Rho-GEF) que converte RhoA de sua forma inativa ligada ao Guanosina difosfato em sua forma ativa ligada ao Guanosina trifosfato, proteína chave na regulação da organização do citoesqueleto e da sinalização celular. ativada, é responsável pela reorganização do citoesqueleto, a regulação a expressão gênica e a regulação da adesão celular (ISLAM et al., 2018). EPA e DHA também regulou de maneira negativa da expressão de genes envolvidos com o acúmulo de lipídios, ABCG1 e ABCA, acúmulo de ésteres de colesterol no miométrio de camundongos ocorreu através da regulação positiva de ABCA1 e ABCG1 (ISLAM et al., 2018).

Mesmo que o resultado não tenha sido estatisticamente significativo, EPA e DHA reduziram os níveis de CYP11A1, enzima mitocondrial que catalisa a conversão de colesterol em pregnenolona, precursor de hormônios (destacando-se estrogênios e progesterona) e que são envolvidos em processos fisiológicos e de agressão tecidual no útero. Consequentemente, no desenvolvimento de leiomioma e conferindo uma capacidade de modulação da expressão genética (ISLAM et al., 2018).

O colágeno é o principal componente da MEC e representa uma molécula alvo cultivo para diversas patologias, incluindo leiomiomas uterinos, que são caracterizadas pela síntese e deposição anormais desta proteína, e a formação de uma MEC significativamente mais rígida. Em particular, o sensibilidade e resolução espacial de todas essas técnicas forneceram informações úteis tanto sobre a organização tridimensional quanto sobre estrutura do colágeno, evidenciando até mesmo pequenas diferenças entre saudáveis e tecidos patológicos, também em relação a tratamentos com moléculas como EPA e DHA (BELLONI et al., 2022).

Grande quantidade de colágeno em condições patológicas é observado em tecido de leiomioma em relação ao miométrio saudável, devido à agregação de feixes de colágeno após se espalharem em número e grau de isotropia, assim o tratamento com EPA e DHA não apenas de modular o perfil lipídico, a arquitetura da membrana e padrões de expressão gênica dos componentes da MEC, mas também para prejudicar sinalização e reorganização do colágeno. A diminuição no número médio de feixes de colágeno após o tratamento com EPA, provavelmente correlacionado com um aumento significativo do espaçamento entre os feixes; em tecidos patológicos, a presença de feixes maiores e mais próximos, pode ser considerado como um feixe de colágeno único e mais espesso, sugerindo uma recuperação de a orientação funcional dos feixes de colágeno e tecido (BELLONI et al., 2022).

A diminuição da relação COLL/TOT; COLL/PRT; A1662/AI; A1639/AI; área da banda A1340/TOT2; A1320/TOT2 destaca alterações no padrão proteico e são úteis como biomarcadores em diversas doenças, assim como indicadores de alteração da organização estrutural no leiomioma não tratado (BELLONI et al., 2022). O DHA provocou um aumento nos níveis de insaturação, A3014/A2959 e o

tratamento com EPA e DHA aumentou a razão A1740/ATOT na linhagem celulares de leiomioma. Entretanto, os resultados destacaram um efeito mais benéfico DHA, sobretudo em células malignas (BELLONI et al., 2024). A administração do EPA resultou no aumento na relação A1172/A1156, refletindo o aumento de compostos fosforilados. Em relação à razão A992/A1080, o tratamento com EPA demonstrou diminuir o nível de metilação das células do leiomioma. Resultado oposto foi observado após o tratamento com DHA. Os resultados dos tratamentos com EPA e DHA demonstram que esses compostos afetam de forma diferente a abundância de RNAm em lesões uterinas (BELLONI et al., 2024).

5. Limitações e recomendações do estudo

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo *in vitro* que compara o tratamento com ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (ÔMEGA-3), frações eicosapentaenóico (EPA) e os ácidos docosaenoico (DHA) sob condições experimentais padronizadas de linhagens celulares de leiomioma, demonstrando os efeitos benéficos que podem ser atingidos sobre a estrutura muscular uterina. Consideramos um ponto forte do nosso estudo os padrões de experimentação tais como: técnica laboratorial; componentes do tratamento; e tempo de experimentação. Poucos estudos foram realizados o que limita o aprofundamento do potencial uso das frações de ácidos graxos ômega-3, EPA e DHA, como possíveis tratamentos ou terapias adjuvantes. Além disso, por serem os estudos realizados em modelos *in vitro*, podem não reproduzir necessariamente uma situação *in vivo*. Entretanto, cremos que esses fomentam que novos estudos sejam realizados *in vitro* e *in vivo* para aumentar o nível de evidência.

6. CONCLUSÃO

Esta revisão sistemática revelou uma pesquisa preliminar limitada, porém promissora quanto aos efeitos de frações de ômega 3, EPA e DHA, em células de leiomioma. Igualmente expôs lacunas e inconsistências nos estudos publicados até o momento. Algumas limitações observadas nos ensaios analisados no presente estudo impediram que fosse alcançado um consenso sobre quais são os efeitos benéficos das frações EPA e DHA para cada um dos parâmetros analisados. Para superar os principais limitantes, mais ensaios *in vitro* serão necessários para aumentar o nível de evidência, bem como posteriormente estudos randomizados em modelos pré-clínicos para determinar a eficácia no tratamento, bem como a duração ideal, dosagem e fração isolada ou combinada para alcançar efeitos positivos nessa doença. Ainda assim, conclui-se que as evidências apresentadas nesta revisão demonstram atividade benéfica na composição total de ácidos graxos, na organização estrutural, na abundância de RNAm de componentes da matriz celular e na modulação do colágeno e celularidade do tecido. Adicionalmente, quando analisados em conjunto, todos os estudos comprovaram algum benefício da administração de EPA

ou DHA em termos de leiomioma. Embora tenha sido demonstrado o promissor uso de EPA e DHA em células de leiomioma, enfatizamos a necessidade de mais evidências com amostras maiores e ensaios pré-clínicos randomizados rigorosos para aumentar o nível de evidência visando à utilização desses compostos como possíveis tratamentos ou como terapias adjuvantes para leiomioma.

AGRADECIMENTOS

Ao grupo de pesquisa: Alimentos, Nutrição e Saúde em Ciência Básica, Experimental e Clínica, do Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina, Universidade do Oeste Paulista (FAMEPP/UNOESTE), Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse.

FINANCIAMENTO

Não houve financiamento direto para este estudo. Todos os autores não relatam interesses financeiros ou potenciais conflitos de interesse.

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Do Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina da Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

Endereço para correspondência Hermann Bremer Neto, Ph.D., Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina da Universidade do Oeste Paulista, Rua José Bongiovani, 700, Cidade Universitária, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil, CEP 19050-920; E-mail: hermann@unoeste.br

7. REFERENCIAS

BELLONI, A. et al. FTIR Microspectroscopy as a new probe to study human uterine lesions: Characterization of tumor cell lines from uterine smooth muscle cells and evaluation of EPA and DHA in vitro treatments. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1870, n. 1, p. 166873, jan. 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925443923002399>>.

_____. Uterine leiomyoma as useful model to unveil morphometric and macromolecular collagen state and

- impairment in fibrotic diseases: An ex-vivo human study. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1868, n. 12, p. 166494, dez. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092544392200165X>>.
- BRASKY, T. M. et al. Dietary Fat Intake and Risk of Uterine Leiomyomata: A Prospective Ultrasound Study. **American Journal of Epidemiology**, v. 189, n. 12, p. 1538–1546, 1 dez. 2020. Disponível em: <<https://academic.oup.com/aje/article/189/12/1538/5858261>>.
- COSTA, A. G. V.; BRESSAN, J.; SABARENSE, C. M. [Trans fatty acids: foods and effects on health]. **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v. 56, n. 1, p. 12–21, mar. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16786729>>.
- DATIR, S. G.; BHAKE, A. Management of Uterine Fibroids and Its Complications During Pregnancy: A Review of Literature. **Cureus**, v. 14, n. 11, 4 nov. 2022. Disponível em: <<https://www.cureus.com/articles/116827-management-of-uterine-fibroids-and-its-complications-during-pregnancy-a-review-of-literature>>.
- DONNEZ, J.; DOLMANS, M.-M. Uterine fibroid management: from the present to the future. **Human Reproduction Update**, v. 22, n. 6, p. 665–686, nov. 2016. Disponível em: <<https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/dmw023>>.
- ISLAM, M. S. et al. Omega-3 fatty acids modulate the lipid profile, membrane architecture, and gene expression of leiomyoma cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 233, n. 9, p. 7143–7156, 25 set. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.26537>>.
- KODBA, Z. C. et al. Multivariate data analysis of erythrocyte membrane phospholipid Fatty Acid profiles in the discrimination between normal blood tissue and various disease States. **Acta chimica Slovenica**, v. 57, n. 3, p. 571–80, set. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24061802>>.
- MATHEW, R. P. et al. Uterine leiomyomas revisited with review of literature. **Abdominal Radiology**, v. 46, n. 10, p. 4908–4926, 31 out. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s00261-021-03126-4>>.
- MCWILLIAMS, M.; CHENNATHUKUZH, V. Recent Advances in Uterine Fibroid Etiology. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 35, n. 02, p. 181–189, 9 mar. 2017. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0037-1599090>>.
- MLODAWSKA, O. W. et al. Epigenomic and enhancer dysregulation in uterine leiomyomas. **Human Reproduction Update**, v. 28, n. 4, p. 518–547, 30 jun. 2022. Disponível em: <<https://academic.oup.com/humupd/article/28/4/518/6535335>>.
- MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews**, v. 4, n. 1, p. 1, 1 dez. 2015. Disponível em: <<https://systematicreviewsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2046-4053-4-1>>. Acesso em: 5 mar. 2019.
- OUZZANI, M. et al. Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. **Systematic Reviews**, v. 5, n. 1, p. 210, 5 dez. 2016. Disponível em: <<https://systematicreviewsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13643-016-0384-4>>. Acesso em: 5 ago. 2023.
- PAVONE, D. et al. Epidemiology and Risk Factors of Uterine Fibroids. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 46, n. January, p. 3–11, jan. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521693417301372>>.
- SAVATINOVA, M.; IVANOVA, M. Functional dairy products enriched with omega-3 fatty acids. **Food Science and Applied Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 1, 19 mar. 2024. Disponível em: <<https://www.ijfsab.com/index.php/fsab/article/view/301>>. Acesso em: 12 abr. 2024.
- SHETH, V. H. et al. Development and validation of a risk-of-bias tool for assessing in vitro studies conducted in dentistry: The QUIN. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, 23 jun. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022391322003456>>. Acesso em: 10 abr. 2024.

STEWART, E. et al. Epidemiology of uterine fibroids: a systematic review. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 124, n. 10, p. 1501–1512, 13 set. 2017. Disponível em: <<https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1471-0528.14640>>.

Artigo 2: Será submetido a Revista em Agronegócio e Meio Ambiente – RAMA – Qualis Capes A4

EFEITO DO RESVERATROL SOB MARCADORES DE DEGRADAÇÃO DA CARTILAGEM IN VITRO EM OSTEOARTRITE: REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE

Nildo Redivo Júnior^a, Maria Lorena Ribeiro Redivo^a, Adriano Messias de Souza^a, Hermann Bremer Neto^a

^a Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

Contato: Hermann Bremer Neto (hermann@unoeste.br)

RESUMO

A osteoartrite (OA) é considerada a forma mais comum de doença articular e que gera incapacidade e perda de qualidade de vida, principalmente na população idosa. O presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão sistemática com meta-análise de ensaios *in vitro*, visando elevar o nível de evidência acerca dos efeitos do resveratrol em marcadores de degradação da cartilagem em osteoartrite marcadores indicadores de OA. As buscas foram realizadas nas bases eletrônicas de dados científicos PubMed, Embase, ScienceDirect, Scopus, Web of Science e Scielo em dezembro de 2023, disponíveis na Internet. Para as buscas, foram utilizadas as palavras-chave resveratrol e osteoartrite que são aceitos como Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e Medical Subject Headings (MeSH), sem restrição de datas, idioma de publicação ou categoria, incluindo artigos completos, resumos e capítulos de livros. Os dados foram organizados na base de dados e codificados para as análises. O software RevMan 5.4 foi utilizado para a realização dos cálculos da meta-análise onde a heterogeneidade foi calculada usando o teste do Q2 e I2, a significância foi definida em $p < 0,10$ ou $I^2 > 50\%$; o valor de $P < 0,05$ foi adotado como estatisticamente significativo. Os resultados demonstraram que a administração de resveratrol reduziu os níveis de abundância de CASPE3 e MMP13, sugestionando que esse polifenólico pode ser utilizado na prevenção ou tratamento de osteoartrite.

Palavras-chave: Metaloproteinases; Caspase 3, Citocinas, Apoptose, Mediadores Catabólicos.

ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) is considered the most common form of joint disease and causes disability and loss of quality of life, especially in the elderly population. This study aimed to conduct a systematic review with meta-analysis of *in vitro* trials, aiming to increase the level of evidence regarding the effects of resveratrol on markers of cartilage degradation in osteoarthritis, which are indicators of OA. Searches were performed in the electronic scientific databases PubMed, Embase, ScienceDirect, Scopus, Web of Science, and Scielo in December 2023, available on the Internet. For searches, the keywords resveratrol and osteoarthritis were used, which are accepted as Health Sciences Descriptors (DeCS) and Medical Subject Headings (MeSH), without restrictions on dates, language of publication, or category, including full articles, abstracts, and book chapters. Data were organized in the database and coded for analysis. RevMan 5.4 software was used to perform the meta-analysis calculations where heterogeneity was calculated using the Q2 and I2 test, significance was defined as $p < 0.10$ or $I^2 > 50\%$; the value of $P < 0.05$ was adopted as statistically significant. The results demonstrated that resveratrol administration reduced the abundance levels of CASPE3 and MMP13, suggesting that this polyphenolic can be used in the prevention or treatment of osteoarthritis.

Keywords: Metalloproteinases; Caspase 3, Cytokines, Apoptosis, Catabolic Mediators.

1. INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é considerada a forma mais comum de doença articular, e as regiões do corpo mais afetadas são os quadris, joelhos, mãos e pés, gerando incapacidade e perda de qualidade de vida, principalmente na população idosa, dessa forma existe uma crescente necessidade de buscar intervenções que diminuam os danos deletérios desta doença que vem crescendo a cada ano, na medida em que se observa uma tendência de envelhecimento da população brasileira, com grande aumento da população idosa em relação a mais jovem (REZENDE; CAMPOS, 2013).

Estudos *in vitro* avaliam os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da OA e investigam inflamação e apoptose aumentados em condrócitos da cartilagem articular, a ativação do processo inflamatório e apoptóticos em estudos *in vitro* revelaram que a interleucina-1 β (IL-1 β) é responsável pelo fator patogênico da doença (ZHANG *et al.*, 2020), IL-1 β em célula de condrócitos cultivadas *in vitro* demonstrou ter relação com a inibição da expressão de metaloproteinases de matriz 13 um dos principais genes envolvidos na expressão de genes de síntese de matriz extracelular da cartilagem, bem como e promoveu a expressão de genes relacionados a apoptose, caspase-3 (LIANG *et al.*, 2022)

Considerando o perfil biológico multifuncional do resveratrol na viabilidade, proliferação e regeneração celular, além de atuar como anti-inflamatório e antioxidante (LI *et al.*, 2021), o resveratrol tem sido bastante estudado em experimentos *in vitro* a fim avaliar a regulação do equilíbrio entre os níveis de autofagia e apoptose em condrócitos e elucidar o quanto e em quais mecanismos o polifenol pode contribuir na AO (LIANG *et al.*, 2022).

Estudos *in vitro* com resveratrol demonstraram que o polifenol regulou a expressão de várias proteínas de sinalização intracelular, por exemplo, inibindo a indução da ação pró-inflamatória citocina interleucina (IL) -1 β , responsável pela inibição/proliferação de células (ZHANG *et al.*, 2020).

Assim, o presente estudo tem como objetivo aumentar o nível de evidências quanto aos efeitos de resveratrol, em ambiente controlado, *in vitro*, sobre os níveis de expressão de Caspase 3 e MMP-13 e a abundância de RNAm de MMP-13 (LI *et al.*, 2021; LIANG *et al.*, 2022).

2. METODOLOGIA

Esta revisão sistemática com meta-análise foi conduzida de acordo com as recomendações Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (MOHER *et al.*, 2010, 2015), para responder à questão de pesquisa: “Parâmetros indicativos de osteoartrite, em modelo *in vitro*, são influenciados pela administração de resveratrol?” O protocolo foi registrado na plataforma OSF (Open Science Framework) (<https://osf.io/rx29n>).

2.1. Estratégia de Pesquisa

Os dados e artigos utilizados na revisão sistemática foram obtidos durante o mês de dezembro de 2023. As buscas foram realizadas em bases eletrônicas de dados científicos “Embase”, “PubMed”, “Scielo”, “ScienceDirect”, “Scopus” e “Web of Science” disponíveis na Internet. Para as buscas, foram utilizadas as palavras-chave “resveratrol” e “osteoartrite” que são aceitos como Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e Medical Subject Headings (MeSH). Estes termos foram utilizados em conjunto nos idiomas inglês e português. Para tornar as pesquisas mais abrangentes, nesta fase, todos os resultados obtidos foram analisados sem restrição de datas, idioma de publicação ou categoria, incluindo artigos completos, resumos e capítulos de livros.

2.2. Critérios de inclusão e exclusão para seleção de estudos

Registros duplicados e trabalhos que não estavam relacionados aos objetivos propostos foram manualmente excluídos após análise dos títulos e/ou resumos. Os estudos obtidos da busca que com as

palavras-chave foram selecionados e analisados de maneira independente por dois pesquisadores do grupo, e em caso de discordância, um terceiro autor foi consultado. Foram selecionados trabalhos completos que responderam à pergunta do acrônimo P.E.C.O.: (1) **Problema:** Osteoartrite; (2) **Exposição:** Células do tecido cartilaginoso, condrócitos e condilar, expostas ao resveratrol (3) **Controle:** Células do tecido cartilaginoso, condrócitos e condilar, sem exposição resveratrol (4) **Desfechos:** Níveis de expressão de Caspase 3 e MMP-13 e concentração relativa de mRNA de MMP-13 em células do tecido cartilaginoso, condrócitos e condilar. Estudos que não abordaram o objetivo desta meta-análise foram excluídos.

2.3. Extração de dados

Foi elaborada e utilizada uma planilha de extração de dados, que incluiu os seguintes elementos: nome dos autores, ano de publicação, indutor de osteoartrite, suplemento testado e composição. Esses dados foram extraídos independentemente por dois revisores. Um terceiro revisor. Os conflitos de opinião foram resolvidos por consenso por consultar um revisor adicional (Tabela 1).

2.4. Parâmetros de interesse

Definimos os níveis de expressão de Caspase 3 e MMP-13, e expressão gênica de concentração relativa de mRNA de MMP-13 como parâmetros de relevância primária.

2.5. Avaliação de qualidade

Para atender os objetivos desta revisão sistemática com meta análise foi utilizada a ferramenta QUIN (ferramenta de avaliação de qualidade para estudos in vitro), classificando cada critério sob os títulos de especificado adequadamente (Escore 2), especificado inadequadamente (Escore 1), não especificado (Escore 0) ou não aplicável=excluir critérios do cálculo. As pontuações foram então somadas para obter uma pontuação total para um estudo in vitro específico. As pontuações assim obtidas foram utilizadas para classificar o estudo in vitro como de alto, médio ou baixo risco (>70%=baixo risco de viés, 50% a 70%=médio risco de viés e <50%=alto risco de viés) usando a seguinte fórmula: Pontuação final = $(\text{Pontuação total} \times 100) / (2 \times \text{número de critérios aplicáveis})$

Os critérios analisados se restringem a: (1) Metas/objetivos claramente definidos; (2) Explicação detalhada do cálculo do tamanho da amostra; (3) Explicação detalhada da técnica de amostragem; (4) Detalhes do grupo de comparação; (5) Explicação detalhada da metodologia; (6) Detalhes do operador; (7) Randomização; (8) Método de medição do resultado; (9) Detalhes do avaliador de resultados; (10) Cegagem; (11) Análise estatística; e (12) Apresentação dos resultados (SHETH *et al.*, 2022).

2.6. Análise Estatística

Os valores dos níveis de expressão de Caspase 3 e MMP-13, e concentração relativa de mRNA de MMP-13 foram padronizados usando o método de ajuste de Hedges (LIN; ALOE, 2021) e foi implementado pelo software RevMan 5.3. O valor de $P < 0,05$ foi adotado como estatisticamente significativo. Os dados dos estudos incluídos foram combinados quantitativamente e a heterogeneidade foi calculada pelo teste do Q^2 e I^2 , em que valores $p < 0,10$ foram considerados significativos e pelo índice de inconsistência I^2 , onde valores de $I^2 \geq 50\%$ foram considerados representativos de heterogeneidade entre os estudos.

3. RESULTADOS

Ao todo foram encontrados 2435 artigos completos, resumos, artigos de revisão ou capítulos de livros que continham as palavras-chave utilizadas na busca bibliográfica. Destes, após a triagem de maneira independente por dois pesquisadores de títulos e resumos, 634 foram excluídas por se tratar de trabalhos duplicados, resultando em 1801, destes, foram obtidos 10 trabalhos potencialmente para avaliação posterior e, após avaliação completa, quatro estudos *in vitro* foram selecionados e preencheram os critérios de inclusão (LI *et al.*, 2021; LIANG *et al.*, 2022, 2023; ZHANG *et al.*, 2020). O processo de seleção de literatura, seleção dos estudos e motivos de exclusão são mostrados no diagrama de fluxo do PRISMA (Figura 1).

3.1 Características dos Estudos Incluídos

Os trabalhos selecionados estudaram os efeitos do resveratrol sobre indicadores de AO, níveis de expressão de Caspase 3 e MMP-13, e concentração relativa de mRNA de MMP-13, presentes em cultura de células do tecido cartilaginoso, condrócitos e condilar. A composição do resveratrol, tipo de célula e doses utilizadas nos estudos estão descritas na Tabela 1. A duração dos estudos incluídos nas meta-análises foi de 12 a 48 horas de exposição ao resveratrol em cultura de células do tecido cartilaginoso, condrócitos e condilar, divididas entre grupos controle e tratamento e todos os estudos foram realizados na China e publicados de 2020 a 2023.

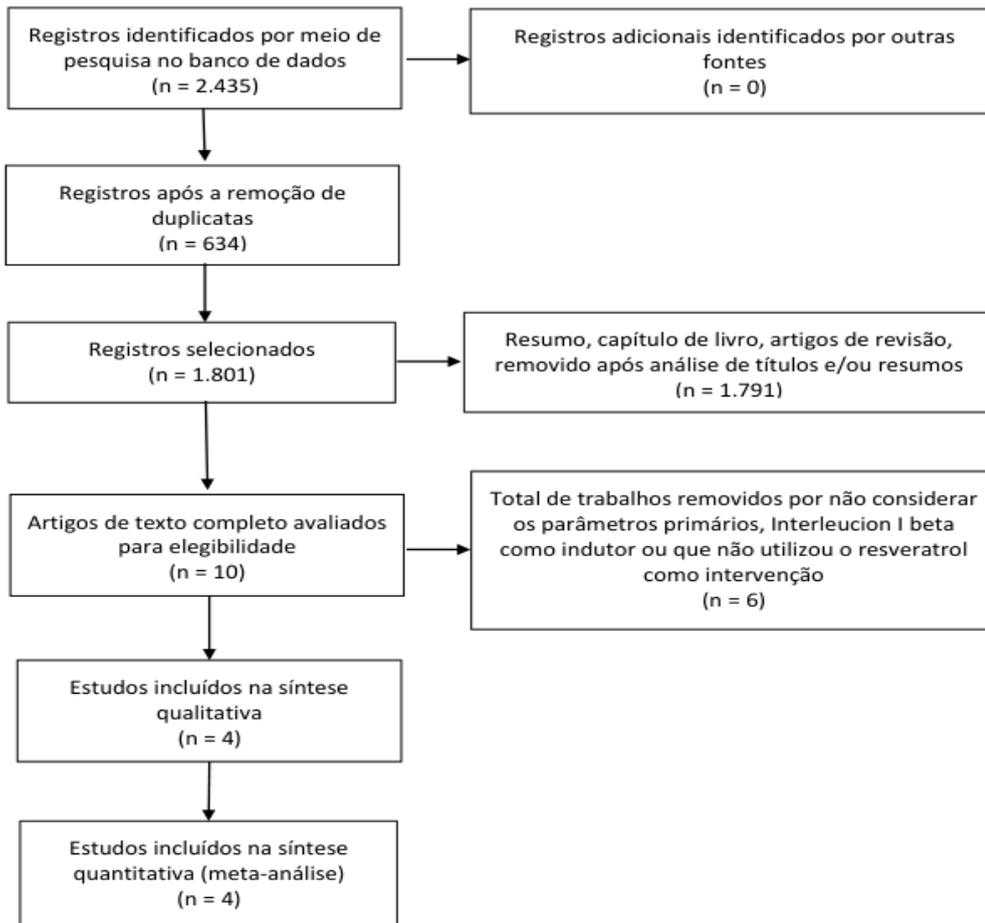


Fig. 1 Diagrama de fluxo PRISMA mostrando o processo de seleção de literatura, seleção de estudos e motivos de exclusão.

Os parâmetros considerados primários e eleitos nesta meta-análise avaliaram níveis de expressão de Caspase 3 e MMP-13 e concentração relativa de mRNA de MMP-13. Os trabalhos e resumo das características dos estudos incluídos nessa revisão sistemática estão apresentados na Tabela 2. Os resultados dos parâmetros primários eleitos para serem analisados nesta meta-análise foram expressos com clareza, de tal forma que permitiram extrair com segurança os valores para serem meta-analisados.

Tabela 1. Composição do *Resveratrol*, tipo de célula e doses utilizadas.

Autor/Ano/ País	Tipo de Célula	Composição do Resveratrol	Dose
ZHANG <i>et al.</i> (2020); China	<i>Cultura de células do tecido cartilaginoso, condrócitos de ratos (ATCC® CRL-12424™)</i>	<i>Resveratrol (Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Germany)</i>	15 µM 30 µM
LI <i>et al.</i> (2021); China	<i>Cultura de células do tecido cartilaginoso, condilar de camundongos C57BL/6J</i>	<i>Resveratrol (Sigma)</i>	10 µM
LIANG <i>et al.</i> (2022); China	<i>Cultura de células do tecido cartilaginoso, condrócitos das articulações dos joelhos de ratos Wistar</i>	<i>Resveratrol (RES, nº R107315, CAS: 501-36-0, pureza 99%, Maclean Biotech (Xangai, China))</i>	50 µM
LIANG <i>et al.</i> (2023); China	<i>Cultura de células do tecido cartilaginoso, condrócitos das articulações dos joelhos de ratos Wistar</i>	<i>Resveratrol (RES, nº R107315, CAS: 501-36-0, pureza 99%, Maclean Biotech (Xangai, China))</i>	50 µM

Tabela 2. Características dos estudos incluídos na meta-análise.

Autor (s)/ ano de publicação	Tratamento	Técnica	Duração experimento	Nº de ratos por grupo	Parâmetros Primários ¹
ZHANG <i>et al.</i> (2020)	<i>Resveratrol (Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Germany)</i>	Western blot	48 horas	Controle = 3 15 µM = 3 30 µM = 3	CASP3, MMP-13[#]
LI <i>et al.</i> (2021)	<i>Resveratrol (Sigma)</i>	Citometria de fluxo utilizando o Kit de Detecção de Apoptose Anexo I (BD Bioscience)	12 horas	Controle = 3 10 µM = 3	MMP13
LIANG <i>et al.</i> (2022)	<i>Resveratrol (RES, nº R107315, CAS: 501-36-0, pureza 99%, Maclean Biotech (Xangai, China))</i>	Western blot / PCR quantitativo em tempo real	24 horas	Controle = 3 50 µM = 3	CASP3, MMP-13, MMP13
LIANG <i>et al.</i> (2023)	<i>Resveratrol (RES, nº R107315, CAS: 501-36-0, pureza 99%, Maclean Biotech (Xangai, China))</i>	Western blot / PCR quantitativo em tempo real	24 horas	Controle = 3 50 µM = 3	MMP-13, MMP13

¹Nível de expressão de proteínas Caspase 3 (CASP3); Matrix metalloproteinase-13 (MMP-13); Expressão de mRNA de matrix metalloproteinase-13 (MMP-13)

A meta-análise demonstrou que os níveis de expressão gênica de CASPE3 foram significativamente reduzidos ($P < 0,00001$) com o tratamento com resveratrol, quando comparado aos grupos controle (Figura 2).

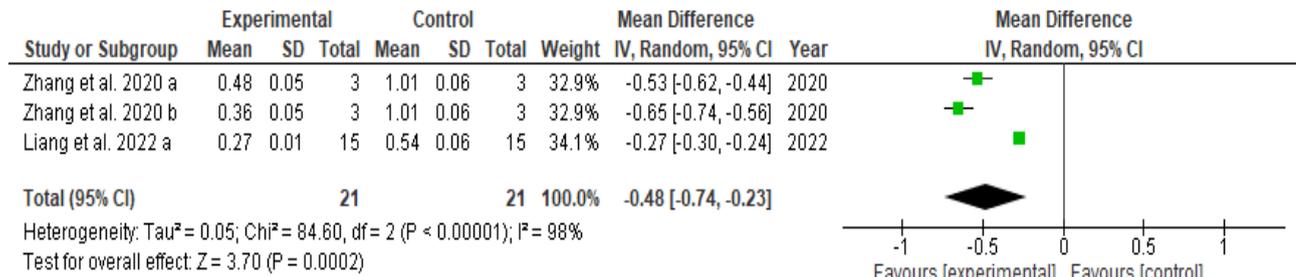


Fig. 2 Níveis de expressão gênica de CASPE3.

A meta-análise demonstrou que os níveis de expressão MMP13 foram significativamente reduzidos ($P < 0,00001$) com o tratamento com resveratrol quando comparado aos grupos controle (Figura 3).

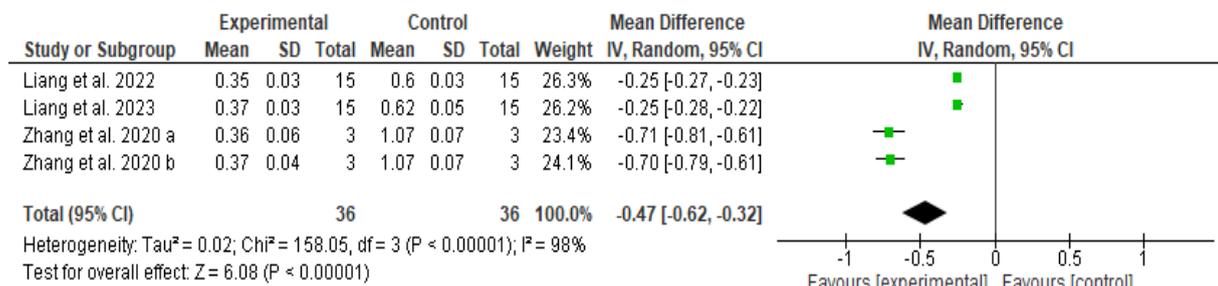


Fig. 3 Níveis de expressão gênica de MMP13.

A meta-análise demonstrou que os níveis de expressão de mRNA MMP13 foram significativamente reduzidos ($P < 0,02$) com o tratamento com resveratrol quando comparado aos grupos controle (Figura 4).

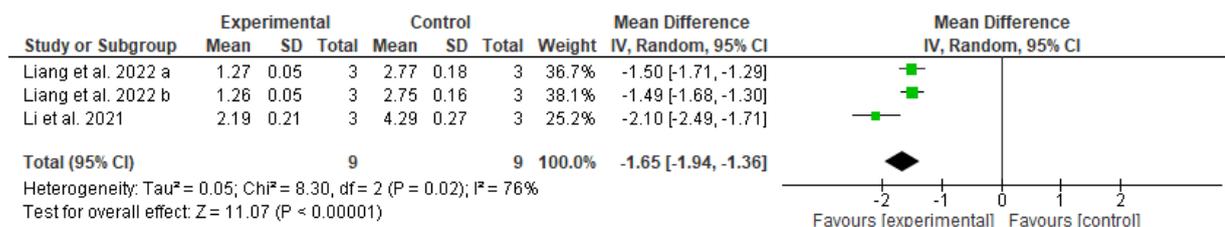


Fig. 4 Expressão gênica de RNAm de MMP13.

3.2 Qualidade dos Estudos e Risco de Viés

Quatro estudos (LI *et al.*, 2021; LIANG *et al.*, 2022, 2023; ZHANG *et al.*, 2020) foram submetidos à análise com a ferramenta de avaliação QUIN. Todos os estudos *in vitro* descreveram claramente o objetivo. Nenhum dos estudos realizou cálculo adequado do tamanho da amostra. Todos os estudos descreveram a técnica de amostragem claramente, detalhes do grupo de comparação e metodologia. Nenhum dos estudos descreveu adequadamente o operador. Dois estudos detalhadamente (LIANG *et al.*, 2022, 2023) incluídos descreveram os detalhes do avaliador de dados de acordo com os padrões QUIN. Dois estudos *in vitro* realizaram randomização e todos não realizaram o cegamento adequado. Todos os estudos incluídos realizaram análises estatísticas adequadas e apresentaram os resultados detalhadamente (LI *et al.*, 2021; LIANG *et al.*, 2022, 2023; ZHANG *et al.*, 2020) (Tabela 3). Após os escores de cada um dos estudos serem somados, a pontuação total (70,83%) permitiu classificar os estudos incluídos nessa revisão sistemática com meta-análise de baixo risco de viés, levando em consideração a maioria dos critérios metodológicos e que alcançaram a qualidade desejada.

Tabela 3. Avaliação metodológica dos estudos *in vitro* com a ferramenta QUIN (*Quality Assessment Tool For In Vitro Studies*)¹.

Critérios ²	Estudos, ano, país			
	ZHANG <i>et al.</i> (2020)	LI <i>et al.</i> (2021)	LIANG <i>et al.</i> (2022)	LIANG <i>et al.</i> (2023)
1	2	2	2	2
2	0	0	0	0
3	2	2	2	2
4	2	2	2	2
5	2	2	2	2
6	0	0	0	0
7	0	0	2	2
8	2	2	2	2
9	2	2	2	2
10	0	0	0	0
11	2	2	2	2
12	2	2	2	2
Pontuação final	16	16	18	18
Pontuação total	66,66%	66,66%	75%	75%
Risco de Viés	Médio	Médio	Baixo	Baixo

¹Perguntas de avaliação do risco de viés: (1) Metas/objetivos claramente definidos; (2) Explicação detalhada do cálculo do tamanho da amostra; (3) Explicação detalhada da técnica de amostragem; (4) Detalhes do grupo de comparação; (5) Explicação detalhada da metodologia; (6) Detalhes do operador; (7) Randomização; (8) Método de medição do resultado; (9) Detalhes do avaliador de resultados; (10) Cegagem; (11) Análise estatística; e (12) Apresentação dos resultados.

²Classificação para cada critério sob os títulos de especificado: adequadamente (Escore 2); especificado inadequadamente (Escore 1); e não especificado (Escore 0) ou não aplicável=excluir critérios do cálculo.

4. DISCUSSÃO

A OA na população com mais de 65 anos é diagnosticada em 1 em cada 3 indivíduos, prevalentemente em mulheres e que acarreta distúrbios funcionais, tais como sono, fadiga, humor deprimido e perda de independência locomotora associado ao desgaste financeiro, uma vez que os custos sociais e financeiros associados a doença tem sido elevados e crescentes (HAWKER, 2019). Além disso, essa enfermidade, de caráter complexo e de gênese multifatorial, pode ter etiologia diferente, mas com efeitos biológicos, morfológicos e clínicos semelhantes e que geram a destruição gradual da cartilagem, que inicialmente fibrila e posteriormente é afetada por fissuras e ulcerações e consequente pela perda irregular de toda a cartilagem com desnudamento do osso subjacente (BLIDDAL, 2020).

Considerando o fator multifatorial da gênese da OA muitos estudos em modelos pré-clínicos têm sido realizados buscando uma melhor compreensão da fisiopatologia da OA, permitindo análises dos principais mecanismos desencadeadores, sistemas celulares e biomarcadores e possíveis alternativas medicamentosas ou não que podem contribuir como a melhora do quadro clínico e na qualidade de vida dos portadores dessa patologia (LUO *et al.*, 2023).

Em estudos *in vitro*, os resultados demonstraram que cultura primária de condrócitos de placas de crescimento de ratos é modelo razoável de histótipo de placa de crescimento, mostrando proliferação, maturação, hipertrofia, biogênese de vesículas matriciais calcificáveis, morte celular programada e calcificação progressiva. Além disso, os sistemas de cultivo de células cartilaginosas em função do nível da sua complexidade estrutural visam recriar os fatores mais importantes que contribuem para o desenvolvimento da OA, ou seja, as cargas mecânicas. Portanto, os sistemas *in vitro* utilizados na engenharia de tecidos para investigar os fenômenos associados à OA são especificados dependendo da complexidade e da finalidade da condução de culturas celulares (BEDNARCZYK, 2022; GARIMELLA *et al.*, 2004). Portanto, a engenharia de tecidos, um campo da ciência que investiga culturas de células, tecidos e órgãos e sugere soluções alternativas que mudam a abordagem do tratamento, tem experimentado um desenvolvimento dinâmico nos últimos anos (CHEN *et al.*, 2024).

Atualmente, o tratamento disponível da OA é classificado em cirúrgico e não cirúrgico, porém os benefícios ainda são controversos. Quando se trata de intervenção cirúrgica o custo e complicações pós-cirurgia tornam-se uma importante barreira de adesão, já o tratamento não cirúrgico consiste em fisioterapia, prática de exercício físico e controle de peso, além de medicamentos, tais como, anti-inflamatórios não esteroides orais (AINEs) e opióides que não afetam a progressão da doença (TAN *et al.*, 2022). O uso crônico de medicamentos elencados como estratégias terapêuticas no manejo da doença tem demonstrado um serie de preocupações em virtude do surgimento de efeitos colaterais não desejados, entre eles: problemas estomacais; cardiovasculares; renais; e hepáticos e ocasionalmente reações adversas como

erupção cutânea local, sensação de queimação e coceira (HAMEED; IHM, 2012). Além disso, a administração constante de medicamentos injetáveis tais como os corticosteroides, ácido hialurônico e toxina botulínica por irrigação intra-articular e terapia injetável, podem acarretar danos ao tendão e ligamento da cartilagem articular (TAN *et al.*, 2022).

Apesar do reduzido número de estudos clínicos, pré-clínicos e *in vitro*, para avaliar a eficácia de alimentos funcionais no metabolismo da cartilagem e o seu envolvimento na OA, os resultados evidenciam efeitos benéficos dos polifenóis, em especial o resveratrol, nos sintomas da dor e capacidade funcional (MESSINA; VIDAL WILMAN; VIDAL NEIRA, 2019; SIRŠE, 2022).

Os efeitos benéficos se devem a capacidade do resveratrol de modular as principais vias de sinalização do estresse oxidativo, mediadores pró-inflamatórios e de apoptose celular, em tecidos cartilagosos envolvidos no processo de OA e sua capacidade propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (SIRŠE, 2022). Portanto, torna-se imprescindível aumentar o nível de evidências em relação a essa nova abordagem terapêutica para o tratamento da AO e fomentar novos estudos.

4.1 Parâmetros Analisados

Os resultados das meta-análises demonstraram que a administração de resveratrol reduziu os níveis de expressão CASPE3, MMP13 e expressão de mRNA MMP13. A degradação de componentes da matriz extracelular da cartilagem e progressão da doença no modelo *in vitro* foi por meio da ativação de NF- κ B por IL-1 β (CSAKI; MOBASHERI; SHAKIBAEI, 2009) e a o efeito benéfico da administração do polifenol se deve ao potente efeito inibidor e seletivo da ativação do NF- κ B (ZHANG *et al.*, 2020) e capacidade supressora de biomarcadores que também são mediados pelo fator de transcrição específico da cartilagem Sox-9 (CSAKI; MOBASHERI; SHAKIBAEI, 2009). Além disso, o resveratrol possui a capacidade de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e TNF- α (CSAKI; MOBASHERI; SHAKIBAEI, 2009).

Em condições de estresse catabólico em tecidos articulares de pacientes com osteoartrite, os resultados evidenciaram aumento significativo nos níveis de expressão de Caspase 3 e que está associado à apoptose de condroblastos e condrócitos, contribuindo para a degradação da cartilagem (TAKAYAMA *et al.*, 2009). Além disso, interações entre miR-9 e NF- κ B foram hipotetizadas para suprimir a apoptose durante a condrogênese. A baixa expressão de miR-9 nos tecidos do joelho de pacientes com AO foi relacionado ao aumento do nível de apoptose nos condrócitos, possivelmente pelo fato de que o miR-9 pode regular negativamente a expressão de NF- κ B1, sugerindo assim que uma redução na expressão de miR-9 pode aumentar a expressão de NF- κ B e, portanto, inibir a proliferação celular (ZHANG *et al.*, 2020). A apoptose dos condrócitos causa deficiência da matriz da cartilagem, o que resulta na destruição da matriz (AIGNER; KIM, 2002).

Em ratos ACLT plus MMx, o resveratrol inibiu a apoptose da cartilagem articular, regulando positivamente a expressão de miR-18a e aumentando a proporção de condrócitos na fase S do ciclo celular (WANG; BAI, 2019). A expressão do miR-18a desempenha um papel importante na redução da sinalização de reparo de danos no DNA (LEES-MILLER, 2003). A administração de resveratrol resultou que a expressão de miR-18a nos condrócitos da cartilagem articular nas articulações dos joelhos de ratos ACLT plus MMx foi marcadamente menor e após 45 dias causou um aumento significativo no acúmulo de condrócitos da cartilagem articular na fase S em comparação com os ratos ACLT mais MMx não tratados (WANG; BAI, 2019).

Os efeitos benéficos da administração do resveratrol podem também ser decorrentes da característica fitoestrogênica do polifenólico, pois ativa a expressão de sirtuína 1 (SIRT1) e que se encontra inibida na AO (ZHANG *et al.*, 2020). Em humanos, a inibição da SIRT1 aumentou a apoptose, induzida por óxido nítrico (NO), de condrócitos e o resveratrol inibiu a apoptose. As observações sugerem que o aumento da apoptose pela inibição da SIRT1 foi mediado pela ativação das caspases 3 e 9. A inibição da SIRT1 induzida por óxido nítrico (NO) aumentou a quantidade de Bax e reduziu a quantidade de Bcl-2 na fração mitocondrial e a administração do resveratrol reduziu a quantidade de Bax e aumentou a quantidade de Bcl-2 na fração mitocondrial, sugerindo que a SIRT1 modula a translocação de Bax e Bcl-2 (TAKAYAMA *et al.*, 2009).

O receptor Toll-like 4 (TLR4), um membro da família dos receptores imunes inatos, foi estudado em humanos e demonstrou estar intimamente relacionado ao desenvolvimento da OA. A expressão de TLR4 está elevada na cartilagem e na área de lesão sinovial da OA. Além disso, a via de sinalização mediada por TLR4 está envolvida na destruição da cartilagem articular (SCANZELLO; PLAAS; CROW, 2008). As expressões do gene e da proteína TLR4 em condrócitos OA induzidos por IL-1 β demonstraram estar significativamente aumentadas, acarretando o aumento do processo inflamatório (LIU *et al.*, 2014). A IL-1 β demonstrou poder regular de maneira positiva de TLR4 e alvos a jusante de ambas as vias de sinalização dependentes e independentes de TLR4/MyD88, envolvidos na síntese de MMP-13 (é a principal metaloproteinase envolvida na degradação da cartilagem, através de sua capacidade particular de clivar o colágeno tipo II). Além disso, é responsável pela resposta catabólica e inflamatória induzidas por IL-1 β (KANG *et al.*, 2018). Nessa situação, a administração do resveratrol demonstrou inibir ambas as vias de sinalização dependentes e independentes de TLR4 / MyD88, conferindo efeito protetor contra a degradação da matriz e inflamação em condrócitos afetados pela AO (GU *et al.*, 2017). Assim, o efeito protetor de condrócitos conferido ao resveratrol está envolvido na sua capacidade regulatória na expressão gênica de múltiplas proteases envolvidas na degradação da cartilagem articular e restauração da expressão do colágeno tipo II a nível transcricional (KANG *et al.*, 2018).

4.2 Avaliação de Risco de Viés

Os estudos *in vitro* demonstraram atender aos requisitos de qualidade de evidência previstos na escala e os resultados neles contidos devem ser considerados como prováveis de ocorrer durante o tratamento com resveratrol. Nesta revisão sistemática com meta-análise, após rigoroso processo de seleção, os estudos foram incluídos por apresentarem metodologia rigorosa e bem descrita e foi possível a inclusão de resultados conflitantes, que em nossa consideração eleva o nível de evidência do resultado.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados deste estudo demonstraram que a administração de resveratrol reduziu os níveis de expressão CASPE3, MMP13 e expressão gênica de RNAm de MMP13, sugerindo que esse polifenólico pode ser utilizado na prevenção ou tratamento de osteoartrite. Dada à evidência encontrada, esta meta-análise sugere novos estudos usando resveratrol devem ser aplicados para modelo animal e subsequente em humanos.

AGRADECIMENTOS

Ao grupo de pesquisa: Alimentos, Nutrição e Saúde em Ciência Básica, Experimental e Clínica, do Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina, Universidade do Oeste Paulista (FAMEPP/UNOESTE), Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse.

FINANCIAMENTO

Não houve financiamento direto para este estudo. Todos os autores não relatam interesses financeiros ou potenciais conflitos de interesse.

INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

Do Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina da Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

Endereço para correspondência Hermann Bremer Neto, Ph.D., Departamento de Ciências Funcionais, Faculdade de Medicina da Universidade do Oeste Paulista, Rua José Bongiovani, 700, Cidade Universitária, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil, CEP 19050-920; E-mail: hermann@unoeste.br

6. REFERENCIAS

AIGNER, T.; KIM, H. A. Apoptosis and cellular vitality: Issues in osteoarthritic cartilage degeneration. **Arthritis & Rheumatism**, [s. l.], v. 46, n. 8, p. 1986–1996, 2002. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/art.10554>. Acesso em: 11 abr. 2024.

BEDNARCZYK, E. Chondrocytes In Vitro Systems Allowing Study of OA. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 18, p. 10308, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/18/10308/htm>. Acesso em: 11 abr. 2024.

BLIDDAL, H. Definition, pathology and pathogenesis of osteoarthritis. **Ugeskrift for Laeger**, [s. l.], v. 181, n. 20, 2020.

CHEN, M. *et al.* Advancements in tissue engineering for articular cartilage regeneration. **Heliyon**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. e25400, 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844024014312>. Acesso em: 11 abr. 2024.

CSAKI, C.; MOBASHERI, A.; SHAKIBAEI, M. Synergistic chondroprotective effects of curcumin and resveratrol in human articular chondrocytes: inhibition of IL-1 β -induced NF- κ B-mediated inflammation and apoptosis. **Arthritis Research & Therapy**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. R165, 2009. Disponível em: <http://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar2850>.

GARIMELLA, R. *et al.* Primary culture of rat growth plate chondrocytes: an in vitro model of growth plate histotype, matrix vesicle biogenesis and mineralization. **Bone**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 961–970, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15193542/>. Acesso em: 11 abr. 2024.

GU, H. *et al.* Resveratrol inhibits the IL-1 β -induced expression of MMP-13 and IL-6 in human articular chondrocytes via TLR4/MyD88-dependent and-independent signaling cascades. **International Journal of Molecular Medicine**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 734–740, 2017.

HAMEED, F.; IHM, J. Injectable Medications for Osteoarthritis. **PM&R**, [s. l.], v. 4, n. 5S, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/j.pmrj.2012.02.010>.

HAWKER, G. A. Osteoarthritis is a serious disease. **Clinical and experimental rheumatology**, [s. l.], v. 37 Suppl 1, n. 5, p. 3–6, 2019. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31621562>.

KANG, D.-G. *et al.* Inhibition of the Expression of Matrix Metalloproteinases in Articular Chondrocytes by Resveratrol through Affecting Nuclear Factor-Kappa B Signaling Pathway. **Biomolecules & Therapeutics**, [s. l.], v. 26, n. 6, p. 560–567, 2018. Disponível em: <http://www.biomolther.org/journal/DOIx.php?id=10.4062/biomolther.2018.132>.

LEES-MILLER, S. Repair of DNA double strand breaks by non-homologous end joining. **Biochimie**, [s. l.], v. 85, n. 11, p. 1161–1173, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14726021/>. Acesso em: 11 abr. 2024.

LI, W. *et al.* The Antioxidant Resveratrol Protects against Chondrocyte Apoptosis by Regulating the COX-2/NF- κ B Pathway in Created Temporomandibular Osteoarthritis. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2021, p. 1–7, 2021. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2021/9978651/>.

LIANG, C. *et al.* Resveratrol Improves the Progression of Osteoarthritis by Regulating the SIRT1-FoxO1 Pathway-Mediated Cholesterol Metabolism. **Mediators of Inflammation**, [s. l.], v. 2023, p. 1–13, 2023. Disponível em:

<https://www.hindawi.com/journals/mi/2023/2936236/>.

LIANG, C. *et al.* Resveratrol protection against IL-1 β -induced chondrocyte damage via the SIRT1/FOXO1 signaling pathway. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 406, 2022. Disponível em: <https://josr-online.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13018-022-03306-y>.

LIN, L.; ALOE, A. M. Evaluation of various estimators for standardized mean difference in meta-analysis. **Statistics in Medicine**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 403–426, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/sim.8781>. Acesso em: 25 jan. 2022.

LIU, L. *et al.* Protective Effect of Resveratrol against IL-1 β -Induced Inflammatory Response on Human Osteoarthritic Chondrocytes Partly via the TLR4/MyD88/NF- κ B Signaling Pathway: An “in Vitro Study”. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 6925–6940, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24758933/>. Acesso em: 11 abr. 2024.

LUO, P. *et al.* Effects of Immune Cells and Cytokines on Different Cells in OA. **Journal of Inflammation Research**, [s. l.], v. Volume 16, n. March, p. 2329–2343, 2023. Disponível em: <https://www.dovepress.com/effects-of-immune-cells-and-cytokines-on-different-cells-in-oa-peer-reviewed-fulltext-article-JIR>.

MESSINA, O. D.; VIDAL WILMAN, M.; VIDAL NEIRA, L. F. Nutrition, osteoarthritis and cartilage metabolism. **Aging Clinical and Experimental Research**, [s. l.], v. 31, n. 6, p. 807–813, 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s40520-019-01191-w>.

MOHER, D. *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 1, 2015. Disponível em: <https://systematicreviewsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2046-4053-4-1>. Acesso em: 5 mar. 2019.

MOHER, D. *et al.* Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. **International Journal of Surgery**, [s. l.], v. 8, n. 5, p. 336–341, 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1743919110000403>.

REZENDE, M. U. de; CAMPOS, G. C. de. A osteoartrite é uma doença mecânica ou inflamatória?. **Revista Brasileira de Ortopedia**, [s. l.], v. 48, n. 6, p. 471–474, 2013.

REZENDE, M. U. de; CAMPOS, G. C. de; PAILO, A. F. Conceitos atuais em osteoartrite. **Acta Ortopédica Brasileira**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 120–122, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-78522013000200010&lng=pt&tlng=pt.

SCANZELLO, C. R.; PLAAS, A.; CROW, M. K. Innate immune system activation in osteoarthritis: is osteoarthritis a chronic wound?. **Current opinion in rheumatology**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 565–572, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18698179/>. Acesso em: 11 abr. 2024.

SHETH, V. H. *et al.* Development and validation of a risk-of-bias tool for assessing in vitro

**ANEXO A - PARECER DO COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) –
UNOESTE**

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 "CORRELAÇÃO ENTRE A ALTERAÇÃO GENÉTICA, SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS E O PROGNÓSTICO DA SÍNDROME DE JACOBSEN: UMA REVISÃO INTEGRATIVA", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 6442 e tendo como participante(s) NILDO REDIVO JUNIOR (discente), GIOVANA ROGANI BARROZO (discente), EDUARDA LINARES ALVES PEREIRA (discente), MILENA MIYOSHI KISHIBE (discente), MARCOS NATAL RUFINO (docente), HERMANN BREMER NETO (orientador responsável), foi avaliado e **APR. COM RECOMENDAÇÃO** pelo **COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI)** da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Presidente Prudente, 16 de Novembro de 2020.



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

ANEXO B - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA: ARTIGO 1 E 2

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- 1) A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista simultaneamente.
- 2) Todos os endereços de páginas na Internet (URLs), incluídas no texto (Ex.: <http://www.ibict.br>) estão ativos e prontos para clicar.
- 3) Os artigos submetidos devem estar de acordo com o **Foco e Escopo** definidos pela revista quanto as seções: Agronegócio, Meio Ambiente e Tecnologias Limpas e demais áreas correlatas descritas no link [Abrir](#);
- 4) Para submissão de manuscritos no **idioma Inglês**, obrigatoriamente deverá passar por revisores e/ou tradutores certificados na língua estrangeira, indicados pela revista RAMA e acompanhar declaração/certificação tradução. Transferir a declaração/certificação em documentos suplementares
- 5) Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB). Em tamanho A-4, fonte Times New Roman 12, espaçamento entrelinhas 1,5 (com exceção das citações acima de 3 linhas o espaçamento é simples) incluindo figuras, tabelas e referências. Margem esquerda/superior 3 cm e direita/inferior 2 cm .
- 6) Será permitido por artigo o conjunto de 7 (sete) elemento gráficos, entre: figuras, tabelas, gráficos e quadros. Solicitamos que estas ilustrações não ultrapassem uma página e, sejam inseridas no texto, logo após citadas;
- 7) Autoria 1: Conter no máximo seis (06) autores na elaboração do artigo, e se enquadrar em uma das diferentes seções da revista descritas no item "2 Tipos de artigos aceitos". Lembramos que partir de 01/09/2016 a revista não aceita submissões com apenas um (01) autor.
- 8) Autoria 2: É **obrigatório** a inserção de todos os autores no momento da submissão em Metadados (Passo 3). Preencher: nome completo, o número identificador (ID) do ORCID e Lattes, e-mail, filiação institucional, e em Biografia indicar: última titulação acadêmica, curso/departamento/instituição ao qual pertence(m), cidade, estado e país. Submissões incompletas serão motivos para rejeitar na pré-avaliação. Abra o [Tutorial de apoio para cadastro de artigo](#) ;
- 9) A partir de 2016 o Conselho Editorial definiu que **não serão aceitos** trabalhos apresentados e/ou publicados em Eventos tais como: Congressos, Encontros, Jornadas, Conferências, Simpósios e eventos similares.

Diretrizes para Autores

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

Orientações Gerais:

A Revista em Agronegócio e Meio Ambiente - RAMA publica somente artigos inéditos e originais, e que não estejam em avaliação simultânea em outro periódico.

AUTORIA - A quantidade de autores aceitos na elaboração do artigo é, no máximo, de seis (06) autores;

IDIOMA - Serão aceitas contribuições em: Português, Inglês ou Espanhol desde que estejam no formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (não ultrapassar 2MB);

PROCESSO EDITORIAL - Todos os processos são executados eletronicamente. Acesse as "Instruções para submissão eletrônica" [Aqui](#). Os manuscritos só iniciarão o processo de tramitação se estiverem de acordo com as "Condições para submissão e Normas gráficas" e estiverem no Template disponível na aba "Normas de submissões".

1 - POLÍTICA DE ACESSO ABERTO

1.1 - A RAMA, editada pela Universidade Cesumar - UniCesumar, possui acesso em formato de Acesso Aberto permitindo a leitura e download, bem como a cópia e disseminação de seu conteúdo de acordo com as políticas de *copyright Creative Commons Attribution 4.0*.

1.2 - TAXAS DE PROCESSAMENTO DE ARTIGO (ARTICLE PROCESSING CHARGE - APC) E SUBMISSÃO

1.2.1 - A RAMA cobra dos autores a taxa de processamento de artigos e/ou taxa de publicação (APC).

1.2.2 - Valor cobrado é de R\$ 250,00 para artigos no formato: artigo original, artigo de revisão, relatos de caso ou técnicas.

1.2.2 - A taxa será cobrada dos artigos **aprovados** pelo Conselho Editorial, após as revisões por pares, conforme o item 2.1.2 - O procedimento adotado para aceitação definitiva ver "Segunda etapa".

1.2.3 - A RAMA fornecerá aos autores, mediante a solicitação via e-mail, documentos necessários para confirmar o pagamento da taxa, perante a programas de pós-graduação, instituições empregadoras ou órgãos de fomento à pesquisa.

1.2.4 - Após a **aprovação do artigo**, os autores receberão instruções via e-mail de como proceder quanto às formas de efetuar o pagamento da taxa.

1.2.4.1 - Os artigos aprovados nos idiomas inglês e espanhol obrigatoriamente deverão passar por revisores certificados na língua estrangeira, indicados pela revista RAMA no item 2.2.2, e este serviço deverá ser custeado pelos autores. Após a revisão do artigo, os autores deverão enviar o arquivo final

aprovado via sistema. Os autores receberão instruções via e-mail de como proceder com a transferência.

1.2.5 - **Taxas de submissão** - A RAMA não cobra taxas de submissão.

1.3 - POLÍTICA CONTRA PLÁGIO E MÁS CONDUTAS EM PESQUISA

1.3.1 - A RAMA em respeito a política de proteção e propriedade intelectual enfatiza aos futuros autores que desejam enviar suas pesquisas ao periódico que visitem o website da COPE (*Committee on Publication Ethics*) (<https://publicationethics.org/>) e leiam mais sobre as informações para autores quanto à ética em pesquisa, bem como plágio, más práticas, fraudes, possíveis violações de ética etc.

1.3.2 – Todas as novas submissões enviadas para a RAMA são verificadas quanto a: submissões duplicadas e/ou manuscritos já publicados. Caso identificado, os autores serão comunicados e a submissão retirada de fila para designação da avaliação.

1.3.3 - A RAMA informa que os artigos serão avaliados pelo sistema *Cross Check* logo após o recebimento da carta de aprovação, para verificação de plágio. Os artigos que atingirem um alto nível de similaridade de plágio serão encaminhados aos editores e ao conselho para emissão do deferimento de rejeição do artigo.

2 - TIPOS DE ARTIGOS ACEITOS

- **Artigos Originais:** divulgam os resultados de pesquisas inéditas e permitem a reprodução destes resultados dentro das condições citadas no trabalho. Para os artigos originais recomenda-se seguir a estrutura convencional, conforme as seguintes seções: Resumo; Abstract; Introdução; Metodologia; Resultados; Discussão; e Conclusão. A seção Agradecimentos é opcional. Desejável utilizar referências dos últimos 5 anos (pelo menos 50%);

- **Artigos de Revisão:** analisam e discutem trabalhos de outros autores, revisões bibliográficas etc. (ESTA "SEÇÃO" ESTÁ TEMPORARIAMENTE SUSPensa, DEVIDO À GRANDE QUANTIDADE DE SUBMISSÕES EM AVALIAÇÃO - 2021;

- **Relatos de Caso ou Técnicas:** apresentação da experiência profissional, baseada em estudo de casos peculiares e/ou de novas técnicas. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.

Observação: O Conselho Editorial informa que a partir de 2016 "Não serão aceitos trabalhos apresentados e/ou publicados em sua totalidade ou parciais em Eventos Científicos, Congressos, Encontros, Jornadas, Conferências, Simpósios e eventos similares".

2.1 - Somente serão aceitos para publicação na RAMA 02 (dois) trabalhos de cada autor por ano.

2.2.1 - A revista enfatiza ao(s) autor(es) que busque(m) assessoria linguística profissional (revisores certificados no idioma português, inglês e espanhol) antes de submeter(em) originais que possam conter incorreções e/ou inadequações morfológicas, sintáticas, idiomáticas ou de estilo.

2.3 - PROCEDIMENTOS PARA ACEITAÇÃO DOS ARTIGOS:

2.3.1 - O artigo deve ser original, isto é, não ter sido publicado em qualquer outro periódico no país;

2.3.2 - O procedimento adotado para aceitação definitiva será:

- **Primeira Etapa:** A Equipe Editorial e o Conselho Editorial analisam se o manuscrito encontra-se dentro das áreas definidas no link **Foco e Escopo** da revista, bem como se o artigo está dentro das normas de publicação.

- **Segunda Etapa:** Os artigos serão avaliados por no mínimo dois consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis.

2.4 - Em sendo aprovado nessas duas etapas, o artigo será publicado no primeiro número da revista com espaço disponível.

2.5 - O periódico não tem como critério exclusivo de publicação a ordem cronológica na qual recebe os textos, e sim sua aceitação nas etapas descritas acima.

2.6 - O Conselho Editorial não se compromete a devolver os originais enviados.

2.7 - Os direitos autorais pertencem exclusivamente aos autores. Os direitos de licenciamento utilizados pelo periódico é a licença *Creative Commons Attribution 4.0 (CC BY 4.0)*.

3 - INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS

3.1 – A RAMA, E-ISSN 2176-9168 (on-line), é uma publicação trimestral da Universidade Cesumar - UniCesumar.

3.1.1 - Publica artigos originais que estejam vinculados às áreas: Meio ambiente, Agronegócio e Tecnologias Limpas e seus subtemas correlacionados descritos em Foco e Espoco, acesse aqui [Abrir](#).

3.1.2 - Artigos com temas fora dos informados no Foco e Escopo serão convidados a submeterem em outro periódico em que seu tema se enquadre melhor.

3.2 - Os autores serão convidados a declarar que o manuscrito é uma pesquisa original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro periódico científico, bem como se possui Conflito de Interesses.

3.2.1 - Os conflitos de interesses podem surgir quando autores, revisores ou editores possuem interesses que, aparentes ou não, podem influenciar a elaboração ou avaliação de manuscritos. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. A confiabilidade pública no processo de revisão por pares e a credibilidade de artigos publicados dependem em parte de como os conflitos de interesses são administrados durante a redação, revisão por pares e tomada de decisões pelos editores.

Observação: É obrigatório que a autoria do manuscrito declare a existência ou não de conflitos de interesse. Mesmo julgando não haver conflitos de interesse, o(s) autor(es) deve(m) declarar essa informação no ato de submissão do artigo, no **Passo 2: Transferência do manuscrito**, e transferir o Modelo de declaração de conflito de interesse, assinada por todos os autores, para legitimar a idoneidade dos resultados do estudo submetido em formato de arquivo "**PDF**" como Documentos suplementares. Faça o *download* do MODELO - Declaração de Conflito de Interesse [AQUI](#).

3.2.2 - Os dados, ideias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do Conselho Editorial da revista.

3.3 - Para as submissões de artigos no idioma Inglês ou Espanhol, após a carta de aceite do arquivo final, deverão encaminhar o artigo para revisão do idioma, aos revisores credenciados pela revista (ver item 3.3.1), é de responsabilidade dos autores o custo das revisões. Os autores receberão instruções via e-mail de como proceder com a transferência no sistema do arquivo revisado.

3.3.1 - Revisores e/ou Tradutores Indicados

LD TRADUÇÕES - www.ldtraducoes.com.br; e-mail: contato@ldtraducoes.com.br

American Journal Experts (AJE) São Paulo (SP) www.aje.com/pt/services

Benchmark Software e Traduções - ERICA M. TAKAHASHI DE ALENCAR
E-mail: erica.tradutora@gmail.com e/ou Whatsapp: (41) 99679-4654

THOMAS BONNICI
e-mail: bonnici@wnet.com.br
e Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2253237526673836>

Observação: Os pesquisadores deverão assumir os custos da tradução, bem como solicitar uma declaração/certificado da tradução e encaminhar quando solicitado pela revista.

3.4 - NORMAS GRÁFICAS PARA ELABORAR O ARTIGO:

3.4.1 - São adotadas, neste periódico, as normas de documentação da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Recomenda-se a consulta às normas:

- NBR 10.520/2023 - Citações em documentos - Apresentação;
- NBR 6024/2012 - Numeração progressiva das seções de um documento;
- NBR 6023/2018 - Referências - Elaboração;
- NBR 6028/2003 - Resumos;
- NBR 6022/2018 - Artigo em publicação periódica científica impressa - Apresentação;
- Normas de Apresentação Tabular IBGE, 1993 para tabelas e quadros;

3.4.2 - Formatação do artigo: O artigo científico deverá conter entre o mínimo de 10 e o máximo de 20 páginas, incluindo referências bibliográficas;

3.4.3 - Layout

- **Papel:** A4 (tamanho 21 cm X 29,70 cm);
- **Margem:** Margem Superior e Esquerda de 3 cm;
- **Margem:** Margem Inferior e Direita de 2 cm;
- **Parágrafo:** Justificado com recuo de 1,25 cm na primeira linha;
- **Espaçamento para o texto:** Entre linhas 1,5 cm em todo o artigo, com exceção do resumo, referências, citações diretas, depoimentos, tabelas e quadros que deverão ter espaçamento simples;
- **Fonte:** *Times New Roman*, tamanho 12 no texto, com exceção das citações diretas acima de 3 linhas que a fonte deverá ser 10;
- **Formato do arquivo:** *Word* (.doc ou .docx), *OpenOffice* ou RTF (não ultrapassar 2MB);
- Serão desclassificados sumariamente os artigos apresentados em formato PDF

3.4.4 Estrutura do artigo deve ser a seguinte:

TEXTO PRINCIPAL:

Deve ser subdividido, em: INTRODUÇÃO, 2 MATERIAL E MÉTODOS, 3 RESULTADO E DISCUSSÃO, 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS, 5 AGRADECIMENTO (opcional) e REFERÊNCIAS.

- O texto deve ser escrito usando fonte tamanho 12;
- O espaçamento entre as linhas deve ser 1,5;
- O alinhamento do texto deve ser justificado e a primeira linha do parágrafo deve ter recuo de 1,25 cm;
- Se, porventura, o trabalho utilizar termos em língua estrangeira, estes deverão ser escritos usando o modo itálico, exceto a palavra *apud* e *et al*;

Exemplos: *workaholic*, *gestalt*, *copenhagenerzimtzöts*.

TÍTULOS DAS SEÇÕES:

Devem ter numeração progressiva, conforme NBR6024/2012, e alinhamento à margem esquerda, sem utilizar ponto, hífen, travessão ou qualquer outro sinal após o indicativo da seção ou de seu título.

Exemplo de formatação das seções/títulos:

- SEÇÃO PRIMÁRIA: **LETRA MAIÚSCULA e negrito**;
- SEÇÃO SECUNDÁRIA: LETRA MAIÚSCULA e sem negrito;
- Seção Terciária: Em **Negrito** e Somente o Início das Palavras em maiúsculo.

TÍTULO E SUBTÍTULO:

- Deve conter título em português e em idioma estrangeiro (Inglês);
- Deve estar figurado no topo da página e centralizado, em letras maiúsculas em negrito, fonte *Times New Roman*, tamanho 14;
- Deverá conter **obrigatoriamente 100 caracteres ou 14 palavras**, ser claro, conciso e refletir a essência do artigo.

AUTORIA DO ARTIGO:

Para assegurar a integridade do anonimato dos autores e garantir o processo de avaliação por pares às cegas, todas as informações sobre autoria NÃO devem constar no arquivo do artigo ou qualquer outra informação oculta que possa identificar os mesmos. Clique para saber como retirar essas informações pelo [Exemplo](#)

- As informações relativas aos **AUTORES** deverão ser preenchidas no momento da submissão do artigo no **3º passo - Dados da submissão - Lista de coautores**. Clique [AQUI](#) para fazer o *download* do tutorial

de apoio para cadastro de artigo;

- Preencher: nome completo, o número identificador **(ID) do ORCID e ID Lattes**, e-mail, filiação institucional e informar no campo "Biografia": última titulação acadêmica, curso/departamento/instituição ao qual pertence(m), cidade, estado e país;
- Não será aceita posteriormente à submissão a inclusão de nomes de autores que não foram preenchidos no passo Metadados, por isso sugerimos a máxima atenção para esse passo descrito no item acima.

RESUMO:

- Após o título deve-se escrever a palavra Resumo em fonte tamanho 12, negrito, alinhado à esquerda, seguido de dois pontos. Deve-se ainda iniciar seu conteúdo logo em seguida da palavra RESUMO: que deve estar em um único parágrafo de, no máximo, 15 linhas ou 250 palavras, sem recuo na primeira linha. Deve ser usado espaçamento simples entre linhas, justificado, em fonte tamanho 12, sem citação de autoria.

PALAVRAS-CHAVE:

- Estas **NÃO** devem estar presentes no título. Deve-se pular uma linha de 1,5 de espaçamento após o texto do resumo. Conter no mínimo 3 (três) e no máximo 5 (cinco) palavras-chave que identificam a área do artigo e sintetizam sua temática para indexação, com alinhamento justificado, separadas entre si por ponto e vírgula, seguido de inicial maiúscula.

ABSTRACT:

- Em Inglês, com formatação igual à do Resumo.

KEYWORDS:

- Em Inglês, com formatação igual à das Palavras-chave.

CITAÇÕES:

- As citações deverão seguir o sistema de chamada **AUTOR/DATA (NBR 10520/2023)**. Observe que as regras quanto a citação mudaram em 2023 e a Revista Rama solicita que façam as adequações conforme a norma. Quando a obra possuir até três (3) autores, indicam-se todos, na mesma ordem em que aparecem na obra, emprega-se (;) entre os autores. Quando a obra possuir mais de três (3) autores, menciona-se o primeiro, seguido da expressão et al.;
- **As citações longas** (que ultrapassam a três linhas) devem ser digitadas sem aspas, em tamanho 10, com recuo de 4 cm da margem esquerda, sem recursos tipográficos itálico ou negrito e com espaçamento entre linhas simples (1 cm);
- **As citações curtas** (com até três linhas) devem estar inseridas normalmente no texto, com uso de aspas duplas, sem recurso tipográfico itálico ou negrito e sem alteração do tamanho da letra. Em ambos os casos, não esquecer de citar o autor, ano e página de onde o texto foi retirado (NBR 10520/2002);
- Todas as citações devem aparecer na lista de referências e vice-versa.

ILUSTRAÇÕES:

- As ilustrações desempenham o papel de auxiliar, ou seja, complementam ou apoiam a expressão de ideias do texto e pode-se utilizar como recursos ilustrativos: figura, fotos, quadros, fluxograma ou tabela etc;
- **Será permitido por artigo o conjunto de 7 (sete) elemento gráficos, entre:** figuras, tabelas, gráficos e quadros. Solicitamos que estas não ultrapassem uma página e, sejam inseridas no texto, logo após citadas;
- **As Tabelas e Quadros** devem ser elaborados no Word, caso necessite de correções;
- **Para figuras e gráficos** estas devem ser digitalizadas, deverão ter 300 dpi de resolução e

preferencialmente gravadas no formato jpg ou png. Ilustrações em cores serão aceitas para publicação.

AGRADECIMENTOS: (opcional)

- Podem ser mencionadas colaborações de pessoas, instituições ou agradecimento por apoio financeiro, auxílios técnicos, que mereçam reconhecimento, mas não justificam a sua inclusão entre os autores.

REFERÊNCIAS:

- As referências bibliográficas devem ser redigidas segundo a norma NBR 6023/2018 da ABNT e deverão ser listadas em ordem alfabética no final do artigo somente aquelas citadas no texto. Devem ser atualizadas contendo, preferencialmente, os trabalhos mais relevantes publicados nos últimos 5 (cinco) anos, sobre o tema.

4 - INSTRUÇÕES SOBRE AS REFERÊNCIAS

Deve-se seguir a Norma ABNT NBR 6023/2018. Nas referências deverão constar apenas autores e obras mencionados no texto. Devem ser elaboradas em espaço simples, alinhadas à margem esquerda do texto e separadas entre si por uma linha em branco de espaço simples.

4.1 - ORIENTAÇÕES GERAIS

4.1.1. Indicação de Responsabilidade

- Sobrenome e prenomes: O sobrenome deve estar em caixa alta, e os prenomes abreviados conforme exemplo: SANTOS, A. L.;
- De um a três autores (deve-se indicar todos os autores separados por ponto e vírgula);
- De quatro ou mais autores, quando houver, convém indicar todos. A revista RAMA orienta que todos sejam informados, porém, permite-se que identifique apenas o primeiro, seguido da expressão et al.;
- Os títulos dos periódicos deverão ser abreviados conforme o Catálogo Coletivo Nacional do IBICT, em negrito, com o local de publicação;
- Nas novas diretrizes da revista as referências **deverão conter o DOI**, mesmo que na norma NBR 6023/2018, informe ser item complementar.

4.1.2 Exemplos

ARTIGO EM PERIÓDICOS E/OU MATÉRIA DE JORNAL

SIMONS, R. Qual é o nível de risco de sua empresa? **HSM Management**, São Paulo, v. 3, n. 16, p. 122-130, set./out. 1999.

DANTAS, José Alves et al. Regulação da auditoria em sistemas bancários: análise do cenário internacional e fatores determinantes. **Rev. contab. finanç.**, São Paulo, v. 25, n. 64, p. 7-18, jan./abr. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-70772014000100002>.

OTTA, L. A. Parcela do tesouro nos empréstimos do BNDES cresce 566% em oito anos. **O Estado de S. Paulo**, São Paulo, ano 131, n. 42656, 1 ago. 2010. Economia & Negócios, p. B1.

VERÍSSIMO, L. F. Um gosto pela ironia. **Zero Hora**, Porto Alegre, ano 47, n. 16.414, p. 2, 12 ago. 2010. Disponível em: <http://www.clicrbs.com.br/zerohora/jsp/default.jsp?uf=1&action=flip>. Acesso em: 12 ago. 2010.

LIVRO

SEVERINO, A. J. **Metodologia do trabalho científico**. 22. ed. rev. e ampl. São Paulo: Cortez, 2002. .

CAPÍTULO DE LIVRO

FRIGOTTO, G. Os delírios da razão: crise do capital e metamorfose conceitual no campo educacional. In: GENTILI, A. H. **Pedagogia da exclusão**: crítica ao neoliberalismo em educação. Petrópolis: Vozes, 1995. p. 77-108.

CONGRESSO

SOUZA, L. S.; BORGES, A. L.; REZENDE, J. Influência da correção e do preparo do solo sobre algumas propriedades químicas do solo cultivado com bananeiras. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 21., 1994, Petrolina. **Anais** [...] Petrolina: Embrapa, CPATSA, 1994. p. 3-4.

CONGRESSO INTERNACIONAL DO INES, 8.; SEMINÁRIO NACIONAL DO INES, 14., 2009, Rio de Janeiro. **Anais** [...]. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Educação de Surdos, 2009. 160 p. Tema: Múltiplos atores e saberes na educação de surdos.

LEGISLAÇÃO

BRASIL. **Lei nº 10.406, de 10 de janeiro de 2002**. Institui o Código Civil. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, ano 139, n. 8, p. 1-74, 11 jan. 2002. PL 634/1975.

JURISPRUDÊNCIA

BRASIL. Supremo Tribunal Federal (2. Turma). **Recurso Extraordinário 313060/SP**. Leis 10.927/91 e 11.262 do município de São Paulo. Seguro obrigatório contra furto e roubo de automóveis. Shopping centers, lojas de departamento, supermercados e empresas com estacionamento para mais de cinquenta veículos. Inconstitucionalidade. Recorrente: Banco do Estado de São Paulo S/A - BANESPA. Recorrido: Município de São Paulo. Relatora: Min. Ellen Gracie, 29 de novembro de 2005. Lex: jurisprudência do Supremo Tribunal Federal, São Paulo, v. 28, n. 327, p. 226-230, 2006.

Para mais exemplos consulte a NBR 6023/2018.

Seções aceitas para submissão na revista:

Agronegócio

Na seção **Agronegócio**

serão avaliados artigos que se enquadrem nas áreas: Economia Agrária e dos Recursos Naturais; Economia Internacional (relacionado ao Agronegócio); Política Internacional (relacionada ao Agronegócio); Políticas Públicas (relacionadas ao Agronegócio); Agroecologia e Produção Familiar.

Meio Ambiente

Na seção **Meio Ambiente**

serão avaliados artigos que se enquadrem nas áreas: Química Ambiental; Qualidade do Ar, das Águas e do Solo; Conservação de Solo e Água; Conservação de Bacias Hidrográficas; Arborização de Vias Públicas; Adequação Ambiental; Planejamento Integrado dos Recursos Hídricos; Aspectos Físico-Ambientais do Planejamento Urbano e Regional.

Tecnologias Limpas

Na seção **Tecnologias Limpas**

serão avaliados artigos que se enquadrem nas áreas: Resíduos Sólidos, Domésticos e Industriais; Controle da Poluição; Estudos e Caracterização de Efluentes Industriais; Aproveitamento de Energia; Energia de Biomassa; Recuperação de Áreas Degradadas.

Declaração de Direito Autoral

A Revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com o intuito de manter o padrão culto da língua, respeitando, porém, o estilo dos autores. As opiniões emitidas pelos autores são de sua exclusiva responsabilidade.

Os direitos autorais pertencem exclusivamente aos autores. Os direitos de licenciamento utilizado pelo

periódico é a licença Creative Commons Attribution



[Creative Commons Atribuição 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

[Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). São permitidos o compartilhamento (cópia e distribuição do material em qualquer meio ou formato) e adaptação (remixar, transformar, e criar a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais), desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta Revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.