



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

WEDJA KEYLLA ALVES DE MELO

**INTERVENÇÃO COM AMBIENTE ENRIQUECIDO PRECOCE: EFEITOS SOBRE
PARÂMETROS SOMÁTICOS EM RATAS *WISTAR* NA LACTAÇÃO.**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
ENFERMAGEM
NÚCLEO DE ENFERMAGEM

WEDJA KEYLLA ALVES DE MELO

**INTERVENÇÃO COM AMBIENTE ENRIQUECIDO PRECOCE: EFEITOS SOBRE
PARÂMETROS SOMÁTICOS EM RATAS *WISTAR* NA LACTAÇÃO.**

TCC apresentado ao Curso de Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharelado em Enfermagem.

Orientadora: Isabeli Lins Pinheiro

Coorientadora: Lívia Maria de Lima Leôncio

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2025

WEDJA KEYLLA ALVES DE MELO

**INTERVENÇÃO COM AMBIENTE ENRIQUECIDO PRECOCE: EFEITOS SOBRE
PARÂMETROS SOMÁTICOS EM RATAS *WISTAR* NA LACTAÇÃO.**

TCC apresentado ao Curso de
Enfermagem da Universidade Federal de
Pernambuco, Centro Acadêmico de
Vitória, como requisito para a obtenção do
título de Bacharelado em Enfermagem.

Aprovado em: 04/10/2024.

BANCA EXAMINADORA

Lívia Maria de Lima Leôncio (Coorientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Raquel da Silva Aragão (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Fernanda Carolina Ribeiro Dias (Examinador Externo)
Universidade Federal de Viçosa

RESUMO

Diversas mudanças durante fases iniciais da vida vêm sendo estudadas ao longo dos anos, baseadas na Hipótese da Origem Fetal de Doenças da Vida Adulta e/ou Plasticidade Fenotípica, que defendem a ideia de que a predisposição genética e o ambiente precoce podem influenciar as respostas do organismo em se adaptar ao ambiente e favorecer o aparecimento de patologias na vida adulta. Objetiva-se avaliar quais os efeitos sobre os parâmetros somáticos em ratas as quais foram inseridas em um ambiente enriquecido durante a lactação. Foram utilizados roedores da linhagem *Wistar*. Um dia após o nascimento, foi realizada randomização aleatória dos filhotes, sendo mantidos oito filhotes por nutriz. Apenas fêmeas foram analisadas. O ambiente enriquecido consistiu em uma gaiola grande contendo comedouros para ração, roda de corrida, escadas, abrigos e túneis. Já o ambiente controle consistiu em gaiolas-padrão de biotério. As análises ocorreram por meio do peso corporal; comprimento naso-anal; IMC; e o peso dos órgãos após desmame. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UFPE. Resultados apontam que a intervenção com AE no início da vida provocou redução no peso absoluto e relativo do rim, bem como, o peso absoluto do coração e do fígado. Os demais parâmetros não apresentaram diferenças estatísticas significativas. Com isso, o AE evidenciou seu possível efeito antioxidante como forma de auxiliar na prevenção e possíveis tratamentos de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas futuramente.

Palavras-chave: plasticidade fenotípica; ambiente enriquecido; crescimento somático.

ABSTRACT

Several changes during early life stages have been studied over the years, based on the Fetal Origins of Adult Disease Hypothesis and/or Phenotypic Plasticity, which support the idea that genetic predisposition and early environmental factors can influence the body's adaptive responses and contribute to the development of diseases in adulthood. This study aims to evaluate the effects on somatic parameters in female rats exposed to an enriched environment during the lactation period. Wistar lineage rodents were used. One day after birth, the pups were randomly distributed, with eight pups per nursing mother. Only females were analyzed. The enriched environment consisted of a large cage equipped with food dispensers, a running wheel, ladders, shelters, and tunnels. The control environment consisted of standard laboratory cages. Analyses included body weight, naso-anal length, BMI, and organ weights after weaning. All procedures were approved by the Animal Experimentation Ethics Committee (CEUA) of UFPE. Results showed that early-life exposure to an enriched environment led to a reduction in both absolute and relative kidney weights, as well as in the absolute weights of the heart and liver. The other parameters did not show statistically significant differences. Thus, the enriched environment demonstrated a potential antioxidant effect, which may contribute to the prevention and possible treatment of cardiovascular and neurodegenerative diseases in the future.

Keywords: phenotypic plasticity; enriched environment; somatic growth.

SUMÁRIO

ARTIGO	7
1 INTRODUÇÃO	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO	10
2.1 PLASTICIDADE DO DESENVOLVIMENTO.....	10
2.2 ORIGEM DESENVOLVIMENTISTA DA SAÚDE E DA DOENÇA (DOHAD).....	11
2.3 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL.....	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1 ANIMAIS.....	13
3.2 MANIPULAÇÃO AMBIENTAL.....	14
3.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	15
3.4 ANÁLISES EXPERIMENTAIS.....	15
3.5 ESTATÍSTICAS.....	15
4 RESULTADOS	16
4.1 PESO CORPORAL E IMC DAS NUTRIZES.....	16
4.2 PESO CORPORAL, COMPRIMENTO NASO ANAL E IMC DOS FILHOTES NA LACTAÇÃO.....	17
4.3 PESO ABSOLUTO E RELATIVO DOS TECIDOS.....	18
5 DISCUSSÃO	19
6 CONCLUSÃO	22
AGRADECIMENTOS	22
REFERÊNCIAS;	22
ANEXO A - NORMAS DA REVISTA;	26

ARTIGO

O PRESENTE TRABALHO ESTÁ APRESENTADO NO FORMATO DE ARTIGO REQUERIDO PELA REVISTA **BRAZILIAN JOURNAL OF ANIMAL AND ENVIRONMENTAL RESEARCH**.

Intervenção com ambiente enriquecido precoce: efeitos sobre parâmetros somáticos em ratas *wistar* na lactação.

Wedja Keylla Alves de Melo

Graduanda em Enfermagem

Universidade Federal de Pernambuco

Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil

wedja.keylla@ufpe.br

Lívia Maria de Lima Leôncio

Doutoranda em Nutrição

Universidade Federal de Pernambuco

Recife, Pernambuco, Brasil

livia.leoncio@ufpe.br

Isabeli Lins Pinheiro

Doutorado em Nutrição

Universidade Federal de Pernambuco

Recife, Pernambuco, Brasil

isabeli.pinheiro@ufpe.br

RESUMO

Diversas mudanças durante fases iniciais da vida vêm sendo estudadas ao longo dos anos, baseadas na Hipótese da Origem Fetal de Doenças da Vida Adulta e/ou Plasticidade Fenotípica, que defendem a ideia de que a predisposição genética e o ambiente precoce podem influenciar as respostas do organismo em se adaptar ao ambiente e favorecer o aparecimento de patologias na vida adulta. Objetiva-se avaliar quais os efeitos sobre os parâmetros somáticos em ratas as quais foram inseridas em um ambiente enriquecido durante a lactação. Foram utilizados roedores da linhagem Wistar. Um dia após o nascimento, foi realizada randomização aleatória dos filhotes, sendo mantidos oito filhotes por nutriz. Apenas fêmeas foram analisadas. O ambiente enriquecido consistiu em uma gaiola grande contendo comedouros para ração, roda de corrida, escadas, abrigos e túneis. Já o ambiente controle consistiu em gaiolas-padrão de biotério. As análises ocorreram por meio do peso corporal; comprimento naso-anal; IMC; e o peso dos órgãos após desmame. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UFPE. Resultados apontam que a intervenção com AE no início da vida provocou redução no peso absoluto e relativo do rim, bem como, o peso absoluto do coração e do fígado. Os demais parâmetros não apresentaram diferenças estatísticas significativas. Com isso, o AE evidenciou seu possível efeito antioxidante como forma de auxiliar na prevenção e possíveis tratamentos de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas futuramente.

Palavras-chave: plasticidade fenotípica; ambiente enriquecido; crescimento somático.

ABSTRACT

Several changes during early life stages have been studied over the years, based on the Fetal Origins of Adult Disease Hypothesis and/or Phenotypic Plasticity, which support the idea that genetic predisposition and early environmental factors can influence the body's adaptive responses and contribute to the development of diseases in adulthood. This study aims to evaluate the effects on somatic parameters in female rats exposed to an enriched environment during the lactation period. Wistar lineage rodents were used. One day after birth, the pups were randomly distributed, with eight pups per nursing mother. Only females were analyzed. The enriched environment consisted of a large cage equipped with food dispensers, a running wheel, ladders, shelters, and tunnels. The control environment consisted of standard

laboratory cages. Analyses included body weight, naso-anal length, BMI, and organ weights after weaning. All procedures were approved by the Animal Experimentation Ethics Committee (CEUA) of UFPE. Results showed that early-life exposure to an enriched environment led to a reduction in both absolute and relative kidney weights, as well as in the absolute weights of the heart and liver. The other parameters did not show statistically significant differences. Thus, the enriched environment demonstrated a potential antioxidant effect, which may contribute to the prevention and possible treatment of cardiovascular and neurodegenerative diseases in the future.

Keywords: phenotypic plasticity; enriched environment; somatic growth.

1 INTRODUÇÃO

A plasticidade do desenvolvimento é considerada um processo adaptativo que permite refinar os padrões e mecanismos de desenvolvimento do organismo de acordo com o meio ambiente em que o mesmo se encontra. Na perspectiva adaptativa, o indivíduo será beneficiado pela sua capacidade de estruturar suas estratégias de história de vida às condições do meio ambiente (Wells, 2014).

Além disso, a plasticidade é estabelecida para desempenhar o papel central na etiologia de doenças crônico-degenerativas, associada à hipótese da Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença. O risco do surgimento de doenças crônicas demonstra uma estreita relação com o ambiente ao qual o indivíduo se desenvolveu e o estilo de vida em que se encontra na vida adulta (Wells, 2014).

O período crítico equivale a uma janela de desenvolvimento e crescimento, onde o indivíduo e sua carga genética se tornam mais vulneráveis às injúrias promovidas pelo ambiente (Barker, 2007; Dobbing, 1970). É durante essa fase da vida que o organismo experimenta intensas reações de diferenciação e crescimento celulares, tornando-o apto a interagir com o ambiente e sobreviver (Morgane *et al.*, 1993).

Com isso, o desenvolvimento do sistema nervoso simboliza um evento importante relacionado ao período crítico, sendo indispensável à vida (Dobbing, 1970). Nos mamíferos, essa fase corresponde ao período perinatal. Em especial nos seres humanos, tal fase abrange a gestação, a lactação e a primeira infância (Dietz, 1997). Enquanto nos modelos experimentais,

como os roedores utilizados neste estudo, o período crítico corresponde à gestação, à lactação e pode se estender até a adolescência (Alfaradhi; Ozanne, 2011).

Como forma de intervir, foi utilizado um modelo de manipulação ambiental experimental: o ambiente enriquecido (AE). O AE caracteriza-se pelo aumento do espaço de habitação concomitante à introdução de objetos no alojamento, como escadas, casas, túneis e rodas giratórias (Modlinska *et al*, 2019). É considerada uma intervenção de prática de atividade física, onde intensifica o comportamento animal devido à exploração espontânea do ambiente, bem como promove estímulos a interações sociais (Mainardi *et al.*, 2010).

Sendo assim, por meio da análise referente aos parâmetros de desenvolvimento somático, buscou-se validar a hipótese de que o ambiente pode influenciar no surgimento de doenças crônicas a fim de promover embasamento científico para futuros estudos e intervenções visando uma melhor qualidade de vida e bem-estar coletivo. Visto isso, este trabalho tem como objetivo geral avaliar os efeitos da intervenção com ambiente enriquecido no início da vida sobre parâmetros somáticos em ratas wistar jovens; e objetivos específicos avaliar na nutriz e nos filhotes o peso corporal, comprimento naso anal e o índice de massa corporal, além de quantificar nos filhotes o peso absoluto e relativo dos tecidos corporais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PLASTICIDADE DO DESENVOLVIMENTO

O período inicial de crescimento e desenvolvimento celular é definido como período crítico. Em humanos, tal período corresponde à fase que vai desde o pré-natal ao pós-natal, já nos modelos experimentais utilizados em pesquisas científicas como os roedores, o período crítico perdura até a lactação. Como é um período de intensas reações de diferenciação, crescimento e desenvolvimento celulares, o indivíduo torna-se mais suscetível a alterações orgânicas (Silva, 2014).

Em relação ao desenvolvimento do sistema nervoso, o período crítico corresponde às fases da gestação, lactação e primeira infância, podendo se estender até a adolescência. Sendo assim, fatores ambientais externos podem estar associados a mudanças no desenvolvimento cerebral com impactos que podem afetar o indivíduo de maneira negativa por toda a vida (Ferraz, 2014). Com isso, um ambiente desfavorável durante estágios críticos de desenvolvimento pode predispor o indivíduo a doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão arterial, diabetes, obesidade, entre outras, o que irá afetar sua qualidade de vida.

Estas alterações durante o período de desenvolvimento são conhecidas como plasticidade fenotípica. De acordo com os estudos de Scott Gilbert, em seu livro “Developmental Biology”, a plasticidade fenotípica pode ser definida como a habilidade de um genótipo produzir mais de um fenótipo quando exposto a diferentes ambientes. O termo abrange todos os tipos de mudanças induzidas pelo ambiente, sejam morfológicas, fisiológicas, comportamentais ou fenológicas. Assim, o genótipo pode não determinar fenótipos específicos, pois os genes vão interagir com cadeias bioquímicas, celulares e teciduais, e vão depender de estímulos ambientais para que seus efeitos ocorram, exibindo ‘normas de reação’. Essas transformações podem ou não ser permanentes no ciclo de vida do indivíduo (Scott, 2000).

Além disso, segundo o artigo intitulado “Plasticidade Fenotípica”, publicado na Revista de Ciência Elementar (2017), a plasticidade ocorre em todos os seres vivos dependendo das características tanto do genótipo do indivíduo como também dos ambientes em que o mesmo nasceu, cresceu e/ou se reproduziu, podendo ser restrita ou ampla. Ressalta-se que o genótipo é o conjunto de genes e o fenótipo é a expressão de tais genes em um dado ambiente específico. Sendo assim, mudanças estruturais, comportamentais ou funcionais podem ocorrer no organismo a depender dos estímulos externos ambientais (Lima *et al*, 2017).

2.2 ORIGEM DESENVOLVIMENTISTA DA SAÚDE E DA DOENÇA (DOHAD)

A teoria da origem desenvolvimentista da saúde e doença (DOHAD), estudada por David Barker em meados de 1980, investiga como a exposição a fatores externos ambientais podem impactar no processo saúde-doença a curto e a longo prazo em indivíduos adultos. Estudos clínicos sugerem uma intensa associação entre estímulos ambientais desenvolvidos tanto na vida fetal quanto em fases iniciais extra uterinas e o surgimento de doenças crônicas durante a vida adulta, evidenciado pelo favorecimento metabólico de alguns órgãos em detrimento de outros e, conseqüentemente, alterações constantes na fisiologia corporal.

Hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2, obesidade, doenças crônicas respiratórias e renais, bem como distúrbios mentais são exemplos de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) que representam grandes desafios para a saúde pública, pois além de piora na qualidade de vida da população acometida, provocam aumento na demanda dos serviços de saúde (Szwarcwald *et al*, 2022). Segundo a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), realizada pelo Ministério da Saúde em parceria com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, entre 2013 e 2019 houve um aumento considerável na porcentagem de

diagnósticos médicos de pelo menos uma DCNT em todo o Brasil. Além disso, foi observado que a maior quantidade de pessoas com alguma DCNT são do sexo feminino, conforme a tabela 1. Por isso, neste projeto, realizamos as análises apenas em modelos experimentais de ratas fêmeas.

Tabela 1: Percentual de diagnóstico médico autorreferido de pelo menos uma DCNT por sexo, 2013 - 2019.

	Abrangência	Ano	Nome	Valor	Limite inferior	Limite superior
1	Sexo	2013	Masculino	39,0	38,0	40,0
2	Sexo	2013	Feminino	50,4	49,4	51,3
3	Sexo	2019	Masculino	45,6	44,8	46,5
4	Sexo	2019	Feminino	55,3	54,4	56,1

Fonte: Painel de Indicadores de Saúde - PNS.

Pode-se inferir que o risco para o desenvolvimento de doenças tem conexão com o ambiente em que o indivíduo se desenvolveu durante o período crítico - de alta plasticidade - e o ambiente em que o mesmo se encontra conforme os anos passam. Como forma de intervenção ambiental, estudos experimentais utilizam a prática de atividade física e o protocolo de ambiente enriquecido como meios de validar a hipótese da origem desenvolvimentista da saúde e doença (Silveira *et al.*, 2007).

2.3 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

Capaz de reforçar os envolvimento cognitivos, motores, sensoriais e sociais, o ambiente enriquecido (AE) proporciona um modelo de estilo de vida estimulante e controlado a fim de avaliar seus efeitos diversos no organismo, sejam por padrões moleculares, genéticos, celulares, sistêmicos ou comportamentais. Caracteriza-se pelo aumento do espaço de habitação concomitante à introdução de objetos no alojamento, como escadas, casas, túneis e rodas giratórias (Modlinska *et al.*, 2019).

Alguns aspectos positivos observados com a intervenção com o AE foram: níveis de interação social aumentados; regulação da temperatura corporal mais eficaz devido à maior disponibilidade de maravalha para o ninho; mais espaço de habitação e presença de objetos, o que possibilita a realização de exercícios e a exploração do ambiente, bem como estímulo da cognição devido às trocas frequentes nas posições e cores dos objetos inseridos no espaço (Welter, 2021).

Tais estímulos são muito importantes para o neurodesenvolvimento. Promovem alterações tanto neuroquímicas, evidenciadas pela melhora na sinaptogênese para neurogênese e aumento de neurotrofinas - proteínas essenciais para o desenvolvimento e função dos

neurônios; quanto neuroanatômicas, marcadas por alterações na anatomia neural, expressão genética e alterações no número de espinhas dendríticas, as quais ajudam na transmissão dos sinais elétricos para o corpo celular neuronal (Vedovelli, 2011).

Uma das estruturas mais influenciadas pelo enriquecimento ambiental é o hipocampo, região responsável pelo desenvolvimento do aprendizado e memória. Sendo assim, a avaliação do resultado de alguns estudos levou à conclusão de que animais inseridos em um ambiente enriquecido apresentaram manutenção da memória e melhora no aprendizado, o que sugere um efeito neuroprotetor ao surgimento de doenças neurodegenerativas em animais adultos (Vedovelli, 2011).

De forma precoce, o AE promoveu melhora da sensibilidade à insulina, maior tolerância a glicose, produção e ação da leptina, diminuição da adiposidade e aumento do gasto de energia, apresentando impacto considerável no fenótipo de modelos animais (Mainardi et al., 2010; Slater e Cao, 2011). Além das alterações fenotípicas, a exposição dos animais ao enriquecimento ambiental sugere benefícios ao bem estar dos mesmos devido ao ambiente mais naturalista em que irão se desenvolver proporcionadas pela inserção dos objetos estimulantes (Girbovan, C; Plamondon, H; 2013).

3 METODOLOGIA

3.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 6 ninhadas com todos os animais da ninhada para realização das análises. Os animais escolhidos foram roedores da linhagem Wistar provenientes da colônia do Departamento de Nutrição – UFPE/Recife, mantidos no Biotério do Anexo do Departamento de Anatomia da UFPE sob condições padrão de biotério com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, em ciclo claro-escuro invertido de 12/12 horas (escuro: 6:00h às 18:00h / claro: 18:00h às 6:00h) com livre acesso a água e alimentação (ração comercial Nuvilab®). Todos os procedimentos executados neste projeto foram realizados de acordo com as recomendações éticas da “Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos”, e as “Diretrizes para prática de eutanásia do CONCEA” (CONCEA, 2013). Este estudo foi aprovado no Comitê de Ética em pesquisa com animais (protocolo número 108/2022).

As fêmeas nulíparas com idades entre 90 e 120 dias de vida e peso corporal de aproximadamente 220g à 250g foram acasaladas na proporção de duas fêmeas para um macho. Para a confirmação da gestação foi realizado o acompanhamento do ganho de peso

corporal semanal. Um dia após o nascimento, considerando o 1º dia de vida dos neonatos, foi realizada randomização aleatória dos filhotes com peso corporal ideal (6g a 8g), sendo mantidos apenas oito por nutriz. Em casos em que a quantidade de filhotes excedeu o número proposto por nutriz ou foi menos que o padrão de oito, esses filhotes foram descartados por decapitação. Os filhotes machos possuem a finalidade de ajustar o número de animais na ninhada, sendo analisadas apenas as filhotes fêmeas.

Foram escolhidos os ratos da linhagem Wistar porque além de serem mamíferos, apresentam as mesmas etapas de desenvolvimento e crescimento que os humanos - porém em outra escala temporal. Foram comparadas as taxas de sobrevivência entre roedores e humanos para a definição da equivalência de idades, constatando-se que cerca de 13,7 dias de rato equivalem a 1 ano humano, bem como o desmame ocorre geralmente em 3 semanas para os ratos (Robert, 2005). Este fato torna este modelo animal de fundamental importância para os estudos de eventos incidentes durante os períodos fundamentais de desenvolvimento, como o proposto por este projeto. Além disso, possuem rápido ciclo reprodutivo, demandando menos tempo para a realização dos experimentos, e são mamíferos de pequeno porte, ocupando pouco espaço.

3.2 MANIPULAÇÃO AMBIENTAL

Referente à manipulação ambiental, o ambiente enriquecido consistiu em uma gaiola grande (60x50x42cm) contendo comedouros para ração, garrafa com água, uma roda de corrida, escadas, abrigos e túneis coloridos que foram reposicionados e completamente substituídos por outros uma vez por semana a fim de evitar o aumento dos níveis de estresse e ansiedade nos animais, conforme figura 1. O protocolo referente à manipulação ambiental foi adaptado do modelo proposto por Mainardi e colaboradores (2010).

Os grupos experimentais foram mantidos no ambiente enriquecido a partir do nascimento até o 21º dia de vida. Já o ambiente controle consistiu de gaiolas padrão de biotério (41x34x27cm), contendo apenas o comedouro e a garrafa com água em livre oferta. Em ambas as condições ambientais, cada gaiola abrigou uma nutriz em aleitamento com oito filhotes durante o período de lactação.

Figura 1: layouts do Ambiente Enriquecido.



Fonte: autor

3.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com o alojamento ambiental, em:

- Grupo controle: Oito filhotes + nutriz alojados em gaiolas padrão de biotério.
- Grupo ambiente enriquecido: Oito filhotes + nutriz alojados em gaiolas maiores enriquecidas com túneis, escadas, roda de corrida e abrigos.

3.4 ANÁLISES EXPERIMENTAIS

As medidas mulrinométricas foram avaliadas no mesmo horário e por um único pesquisador a fim de evitar erros na mensuração dos dados.

3.4.1 Peso corporal: Medido em gramas, foi obtido nos dias 1, 7, 14, 21, e no dia da eutanásia.

3.4.2 Comprimento naso anal: Nas nutrizes e filhotes, o comprimento naso-anal foi aferido pela distância entre o focinho e o ânus do animal, posicionando-o firme para que não houvesse divergências quanto à medição. Para mensurar o comprimento naso-anal foi utilizado um paquímetro (precisão de 0,1mm; KINGTOOLS®).

3.4.3 Índice de Massa Corporal: determinado a partir da razão entre massa corporal (g) e o comprimento naso-anal (cm²) (Novelli *et al.*, 2007; Nery, C. S. *et al.*, 2011).

3.4.4 Peso dos tecidos e gorduras: Os animais foram submetidos aos procedimentos de anestesia e analgesia com ketamina e xilasina calculados de acordo com a massa corporal, para posterior eutanásia por decaptação. Os órgãos e gorduras foram coletados e pesados em balança analítica, para uma pesagem mais precisa. Foram coletados: encéfalo, fígado, baço, rim, coração, gordura inguinal, gordura retroperitoneal, gordura mesentérica e gordura marrom.

3.5 ESTATÍSTICAS

Os dados coletados foram armazenados em planilhas no software Excel. A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk, para dados que apresentarem desvio da distribuição normal, foram utilizadas análises não paramétricas ou transformações logarítmicas. Para dados paramétricos com dois fatores foi utilizado o ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni, e com um fator foi utilizado o teste t de Student para comparação dos diferentes grupos. O nível de significância estatística foi estabelecido com o valor de $p \leq 0,05$, bem como as análises realizadas no programa GraphPad Prism® (Graphpad Software, Inc, 2019).

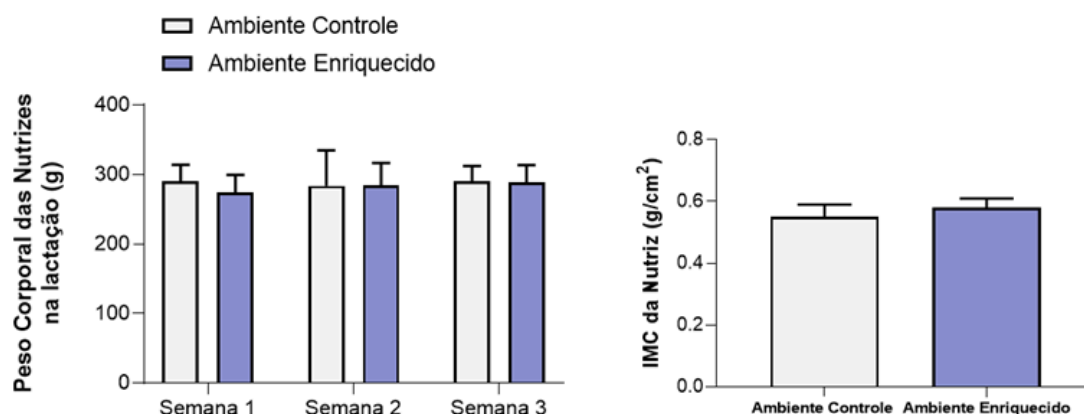
4 RESULTADOS

4.1 PESO CORPORAL E IMC DAS NUTRIZES

A partir do teste ANOVA two way observamos que não houve interação significativa entre os grupos experimentais em relação ao peso corporal semanal materno na lactação [$F(2, 26) = 0,2455$; $p = 0,7841$] e significância no fator ambiente [$F(1, 26) = 0,2512$; $p = 0,6204$] e em relação ao tempo [$F(2, 26) = 0,1857$; $p = 0,8316$]. O alojamento em ambiente enriquecido pelas três semanas de lactação não provocou diferença no peso corporal das nutrizas (Semana 1: AC: $290,01 \pm 23,87$; $n = 5$ vs AE: $273,76 \pm 25,59$; $n = 5$; $p = 0,99$; Semana 2: AC: $283,57 \pm 51,04$; $n = 5$ vs AE: $284,78 \pm 31,84$; $n = 5$; $p = 0,99$; Semana 3: AC: $290,50 \pm 21,80$; $n = 5$ vs AE: $289,01 \pm 24,59$; $n = 5$; $p = 0,99$).

Em relação ao Índice de massa corporal (IMC), não observamos diferenças entre as nutrizas alojadas em ambientes diferentes (AC: $0,55 \pm 0,04$; $n = 3$ vs AE: $0,58 \pm 0,03$; $n = 3$; $p = 0,3574$), como mostra a figura 2.

Figura 2: A. Peso corporal das nutrizas na lactação. B. Índice de massa corporal das nutrizas na lactação. Grupo Ambiente Controle (AC, $n = 5-3$ nutrizas), Grupo Ambiente Enriquecido (AE, $n = 5-3$ nutrizas). Figura 1A: Teste ANOVA two way seguido do pós-teste de Bonferroni. Figura 1B: Teste t de student. Nível de significância $p < 0,05$.



Fonte: autor

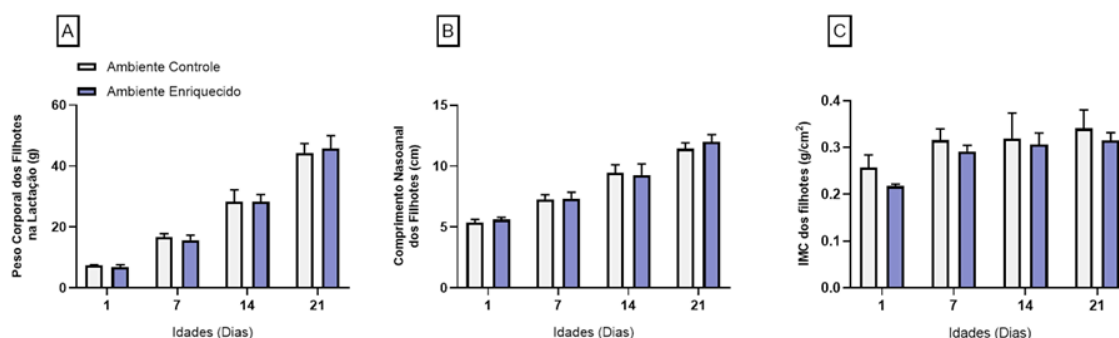
4.2 PESO CORPORAL, COMPRIMENTO NASO ANAL E IMC DOS FILHOTES NA LACTAÇÃO

Em relação ao peso corporal, o teste ANOVA two way observamos que não houve interação significativa entre os grupos experimentais em relação ao peso corporal semanal dos filhotes na lactação [$F(3, 40) = 0,5494$; $p=0,6514$] e significância no fator ambiente [$F(1, 40) = 0,007984$; $p=0,9292$]. No entanto, em relação ao tempo da lactação, observamos significância no fator idade [$F(3, 40) = 509,5$ $P<0,0001$]. O alojamento em ambiente enriquecido na lactação não provocou diferença no peso corporal das filhotes fêmeas no 1º dia (AC: $7,42 \pm 0,14$; $n=6$ vs AE: $7,22 \pm 0,24$; $n=4$; $p=0,99$), 7º dia (AC: $16,72 \pm 1,12$; $n=6$ vs AE: $16,60 \pm 0,66$; $n=4$; $p=0,99$), no 14º dia (AC: $28,38 \pm 3,81$; $n=6$ vs AE: $29,29 \pm 1,81$; $n=4$; $p=0,99$) e 21º dia (AC: $44,35 \pm 3,03$; $n=6$ vs AE: $48,18 \pm 1,84$; $n=4$; $p=0,99$).

Já sobre o comprimento nasoanal, o teste ANOVA two way não demonstrou interação significativa [$F(3, 40) = 1,025$; $p=0,3917$], bem como, não houve significância em relação ao ambiente de alojamento dos animais [$F(1, 40) = 1,113$; $p=0,2977$]. Apenas no que se refere ao tempo das semanas de lactação, foi possível observar diferença significativa [$F(3, 40) = 292,7$; $p<0,0001$], como esperado, com o passar das semanas houve o crescimento dos filhotes. Quando comparado os diferentes ambientes, não houve diferenças significativas no comprimento dos filhotes no 1º dia (AC: $5,38 \pm 0,24$; $n=6$ vs AE: $5,62 \pm 0,19$; $n=6$; $p=0,99$), 7º dia (AC: $7,28 \pm 0,36$; $n=6$ vs AE: $7,33 \pm 0,53$; $n=6$; $p=0,99$), no 14º dia (AC: $9,46 \pm 0,65$; $n=6$ vs AE: $9,27 \pm 0,91$; $n=6$; $p=0,99$) e 21º dia (AC: $11,43 \pm 0,47$; $n=6$ vs AE: $11,99 \pm 0,61$; $n=6$; $p=0,99$).

Na análise do IMC, o teste ANOVA two way não demonstrou interação significativa [F (3, 32) = 0,2951; $p=0,8286$] ou significância estatística em relação ao ambiente [F (1, 32) = 6,367; $p=0,0168$]. Como esperado, ao longo das semanas houve diferenças no mesmo grupo experimental [F(3, 32) = 15,23; $p<0,0001$]. Ao compararmos os diferentes ambientes, não houve diferenças significativas no IMC dos filhotes no 1º dia (AC: $0,258\pm0,026$; $n=6$ vs AE: $0,218\pm0,004$; $n=4$; $p=0,99$), 7º dia (AC: $0,316\pm0,024$; $n=6$ vs AE: $0,292\pm0,013$; $n=4$; $p=0,99$), no 14º dia (AC: $0,32\pm0,054$; $n=6$ vs AE: $0,307\pm0,024$; $n=4$; $p=0,99$) e 21º dia (AC: $0,341\pm0,04$; $n=6$ vs AE: $0,315\pm0,017$; $n=4$; $p=0,99$).

Figura 3: A. Peso corporal dos filhotes na lactação. B. Comprimento naso anal dos filhotes na lactação. C. Índice de massa corporal dos filhotes na lactação. Grupo Ambiente Controle (AC, $n=6$ ninhadas), Grupo Ambiente Enriquecido (AE, $n=4-6$ ninhadas). Teste ANOVA two way seguido do pós-teste de Bonferroni. Nível de significância $p<0,05$.



Fonte: autor

4.3 PESO ABSOLUTO E RELATIVO DOS TECIDOS

Tabela 2: Peso absoluto e relativo dos tecidos

Tecidos/ Grupos	AC (n=5)	AE (n=4)	Valor p
Encéfalo	$1,41\pm0,09$	$1,34\pm0,09$	0,2843
Encéfalo Relativo	$2,60\pm0,15$	$2,85\pm0,23$	0,0885
Fígado	$2,60\pm0,09$	$2,04\pm0,39^*$	0,0159
Fígado Relativo	$4,83\pm0,48$	$4,29\pm0,31$	0,0941

Baço	0,19±0,02	0,18±0,03	0,5665
Baço Relativo	0,35±0,06	0,38±0,01	0,3616
Rim Esquerdo	0,36±0,04	0,27±0,04*	0,0122
Rim Esquerdo Relativo	0,66±0,04	0,58±0,02*	0,0085
Coração	0,32±0,03	0,27±0,02*	0,0248
Coração Relativo	0,59±0,07	0,56±0,04	0,4735
Gordura Inguinal Esquerda	0,23±0,08	0,23±0,04	>0,9999
Gordura Inguinal Esquerda Relativa	0,42±0,11	0,49±0,13	0,4096
Gordura Retroperitoneal Esquerda	0,07±0,01	0,05±0,02	0,0892
Gordura Retroperitoneal Esquerda Relativa	0,12±0,02	0,11±0,05	0,6916
Gordura Mesentérica	0,3±0,16	0,29±0,13	0,9225
Gordura Mesentérica Relativa	0,54±0,28	0,6±0,21	0,7335
Gordura Marrom	0,17±0,03	0,15±0,02	0,2924
Gordura Marrom Relativa	0,31±0,08	0,32±0,08	0,8575

Dados expressos em média±desvio padrão. Teste t de Student. Nível de significância $p<0,05$.

Fonte: Autor

5 DISCUSSÃO

Este estudo analisou a intervenção com ambiente enriquecido com roda de atividade física e objetos em gaiola de maior área sobre o peso corporal, comprimento nasoanal, índice de massa corporal, peso absoluto e relativo do encéfalo, coração, fígado, baço e rim, e das gorduras mesentérica, marrom, inguinal e retroperitoneal. Os resultados apontam que a intervenção com ambiente enriquecido no início da vida, do nascimento aos 22 dias de vida, provocou redução no peso absoluto e relativo do rim, bem como, o peso absoluto do coração e

do fígado. Os demais parâmetros das ratas nutrizes e suas filhotes fêmeas que foram analisados não apresentaram diferenças estatísticas significativas.

Segundo o artigo “as origens do desenvolvimento de doenças crônicas em adultos”, publicado por Barker na *Acta pediátrica* em 2007, após avaliação de estudos em países distintos, foi observado que a elevação das taxas de doenças relacionadas ao sistema cardiovascular como exemplos a hipertensão e o acidente vascular encefálico (isquêmico ou hemorrágico) estão associadas ao baixo peso ao nascer. No presente estudo, não houve alterações significativas no peso das filhotes durante o período de lactação quando comparadas as inseridas no ambiente enriquecido com as do ambiente controle.

A exposição ao ambiente enriquecido contendo roda de corrida, tuneis, abrigos e escadas, durante o período de lactação, não mostrou influenciar o peso corporal, comprimento naso-anal, IMC, peso absoluto e relativo ao peso das gorduras brancas e marrons em filhotes fêmeas. Contudo, é importante salientar a importância desses resultados para a literatura, visto que em estudos experimentais com modelos animais, pesquisadores costumam manter os mesmos em alojamento padrão para que a possível melhora de condições físicas ambientais não altere os dados dos experimentos (Corredor *et al.*, 2022).

Porém, além de investigar os efeitos sobre possíveis condições patológicas, o aprimoramento ambiental nas pesquisas com roedores servem para promover comportamentos e condições mais naturalistas, além do bem estar (Kentner *et al.*, 2021). Outra prática comum em muitos laboratórios diz respeito ao uso predominante de machos. Várias razões que justificam essa prática incluem a rápida mudança hormonal e endócrina nas fêmeas, o que pode exigir um número maior de fêmeas para atingir grupos mais homogêneos, criando assim um dilema com o princípio da redução na pesquisa com animais (Corredor *et al.*, 2022). Portanto, estudos que avaliam os efeitos do enriquecimento ambiental em fêmeas são mais escassos.

Além disso, um estudo que avaliou os efeitos do AE pré e pós-natal, bem como sua combinação, em ratos machos e fêmeas submetidos à hipóxia-isquemia neonatal, mostrou que tanto a exposição ao AE pré-natal quanto o pós-natal precoce foram capazes de atenuar os déficits induzidos por hipóxia-isquemia. Porém, ratas fêmeas exibiram a maioria dos benefícios do AE quando expostas durante os primeiros períodos pós-natais (Durán-Carabali *et al.*, 2019). Estudos anteriores também mostraram que os efeitos do AE em geral pareciam ser maiores para os machos do que para as fêmeas, indicando que as fêmeas são menos responsivas aos efeitos positivos do AE (Li *et al.*, 2015). Esses resultados mostram a

importância de estudar os efeitos do AE tanto em machos como em fêmeas, visto que podem apresentar diferenças.

Apesar do presente estudo não ter avaliado a função cardíaca, renal e hepática, o AE mostrou influenciar na redução do peso de tais tecidos. Esses resultados estão condizentes com a literatura. Além do sistema nervoso central, o coração e os rins estão envolvidos no controle cardiovascular (Sousa *et al.*, 2019). Sabemos que o sedentarismo é um fator de risco para doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão arterial, a qual é progredida pela inatividade física (Booth *et al.*, 2012). O ambiente enriquecido mostrou reduzir a frequência cardíaca e aumentar a atividade, em comparação com a condição de alojamento padrão (Sharp, Azar e Lawson, 2014). Porém estudos apontam que o enriquecimento ambiental evidencia a redução significativa tanto da pressão arterial sistólica quanto da frequência cardíaca em ratos machos, mas não em ratas fêmeas (Azar, Sharp e Lawson, 2011; Sharp, Azar e Lawson, 2005).

O enriquecimento ambiental também pode contribuir para o controle da hipertensão através de uma redução do estresse oxidativo (Sousa *et al.*, 2019). Um estudo mostrou efeito benéfico da combinação do AE e abstinência sobre drogas de abuso em animais. A abstinência em conjunto com o AE por 4 semanas produziu efeito benéfico na melhora dos danos induzidos pela cetamina no coração e nos rins. A exposição ao AE reduz o estresse oxidativo, o que leva à atenuação de seus efeitos tóxicos no organismo (Li *et al.*, 2015). Além disso, foi visto que o AE parece exercer um efeito antioxidante no hipocampo e no córtex cerebral de ratos machos e fêmeas normotensos, porém as fêmeas são menos vulneráveis ao estresse oxidativo devido às alterações hormonais (Mármol *et al.*, 2015).

Outro estudo teve como objetivo avaliar o efeito do enriquecimento ambiental sobre o estresse oxidativo na medula ventrolateral, coração e rins de ratos machos hipertensos. Os resultados sugeriram que o enriquecimento ambiental induziu um efeito antioxidante na medula ventrolateral e nos rins que contribuiu para a redução do dano oxidativo em ratos hipertensos (Sousa *et al.*, 2019). Além de o AE reduzir os níveis de estresse oxidativo na medula ventrolateral, rins e coração, ainda exerce um efeito neuroprotetor, pois doenças neurológicas estão associadas ao estresse oxidativo (Sousa *et al.*, 2019).

Além disso, estudo recente buscou determinar se um protocolo de AE, que consistia em gaiolas grandes suplementadas com túneis de plástico, brinquedos de madeira e plástico, caixas de papelão e potes de vidro, poderia ter efeitos benéficos em camundongos machos obesos. Observou-se que a exposição ao AE melhorou o metabolismo da glicose, aumentou a sinalização da insulina no fígado e reduziu a esteatose e a inflamação hepática, e aumentou a

lipólise e o escurecimento no tecido adiposo branco de camundongos alimentados com dieta rica em gordura. Esses resultados indicam que o AE é capaz de restaurar o desequilíbrio metabólico causado pela alimentação rica em gordura (León-Guerrero *et al.*, 2022).

6 CONCLUSÃO

Após análise dos resultados, é possível inferir que o enriquecimento ambiental não causou alterações significativas nos parâmetros somáticos de ratas Wistar durante o período de lactação. Porém é importante considerar que as análises foram realizadas de forma muito precoce, então as ratas não se desenvolveram o suficiente para que pudessem ser observados os efeitos corporais. Nota-se também a limitação de estudos com ratas fêmeas, o que agrega ainda mais relevância ao presente estudo. Além disso, o AE contribuiu para a diminuição do peso de alguns órgãos (coração, rim e fígado), evidenciando seu possível efeito antioxidante como forma de auxiliar na prevenção e possíveis tratamentos de doenças tanto cardiovasculares quanto neurodegenerativas futuramente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à FACEPE e CNPQ pelas verbas para execução do projeto de financiamento da pesquisa, à coordenação do anexo de anatomia da Universidade Federal de Pernambuco pela infraestrutura necessária, aos colegas de iniciação científica que estavam presentes em todo o processo, bem como à Livia e Isabeli pelas colaborações e orientações.

REFERÊNCIAS

BARKER, D.J.P. **As origens do desenvolvimento de doenças crônicas em adultos.** Acta pediátrica, janeiro de 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2004.tb00236.x>

BOOTH, F. W., ROBERTS, C. K., & Laye, M. J. **Lack of exercise is a major cause of chronic diseases.** Comprehensive Physiology. 2(2), 1143-1211, 2012.

CADENA-BURBANO, E. V. et al. **A maternal high-fat/high-caloric diet delays reflex ontogeny during lactation but enhances locomotor performance during late adolescence in rats.** Nutritional Neuroscience, v. 8305, n. August, p. 1– 12, 2017.

CORREDOR, K. et al. **Behavioral effects of environmental enrichment on male and female wistar rats with early life stress experiences.** Frontiers in Physiology, v 13, 26 set. 2022.

DIETZ, W. H. **Periods of Risk in Childhood for the Development of Adult Obesity --- What Do We Need to Learn?** J. Nutr., v. 127, n. 9, p. 1884-S, 1997.

DOBBING, J. **Undernutrition and the Developing Brain The Relevance of Animal Models to the Human Problem.** Am J Dis Child., v. 120, n. 5, p. 411–415, 1970.

FERRAZ, MFI. **Efeitos do ambiente enriquecido sobre o comportamento alimentar de ratos adultos submetidos à desnutrição proteica perinatal.** Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

GIRBOVAN, C., PLAMONDON, H. **Environmental enrichment in female rodents: Considerations in the effects on behavior and biochemical markers.** Behavioural Brain Research, Volume 253, 15 September 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.07.018>

KENTNER, A.C.; SPENO, A.V.; et al. **The Contribution of Environmental Enrichment to Phenotypic Variation in Mice and Rats.** eNeuro. 2021. Doi: 10.1523/ENEURO.0539-20.2021.

KOKRAS, N. et al. **“Neuroplasticity-related correlates of environmental enrichment combined with physical activity differ between the sexes.”** European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology, v. 29,1, p.1-15, 2019.

LEON-GUERRERO, S.D., et al. **Um ambiente enriquecido restabelece a homeostase metabólica reduzindo a inflamação induzida pela obesidade.** Diseases Models Mechanisms. Jun, 2022.

LI, X.; LI, S.; et al. **Environmental enrichment and abstinence attenuate ketamine - induced cardiac and renal toxicity.** Scientific Reports, 2015.

LIMA, NRW; et al. **Plasticidade fenotípica**, Revista Ciência Elementar, V5 (02): 017. 2017. doi.org/10.24927/rce2017.017.

MAINARDI, M. et al. **A sensitive period for environmental regulation of eating behavior and leptin sensitivity.** Proceedings of the National Academy of Sciences USA, v. 21, n. 107, s. 38, p. 16673- 8, 2010.

MARMOL, F. et al. **Anti-oxidative effects produced by environmental enrichment in the hippocampus and cerebral córtex of male and female rats.** Brain research. V 1613, July 2015.

NERY, C. da S. et al. **Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 49-55, 2011.

ROBERT, D.V.M. **Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years?.** Nutrition, v 21, issue 6, june 2005.

SCOTT, F. G. **Developmental Biology.** 6th edition. 2000.

SILVA, ETL. **Desenvolvimento da atividade locomotora em ratos submetidos à dieta hipercalórica e hiperlipídica no período perinatal: um estudo à luz da plasticidade fenotípica.** Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

SILVEIRA, PP. et al. **Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD).** Jornal de Pediatria [online]. 2007, v. 83, n. 6, pp. 494-504. Disponível em: <<https://doi.org/10.2223/JPED.1728>>. Epub 28 Jan 2008. ISSN 1678-4782. <https://doi.org/10.2223/JPED.1728>.

SOUSA, L.E.; FAVERO, I.F.D.; BEZERRA, F.S.; et al. **Environmental Enrichment Promotes Antioxidant Effect in the Ventrolateral Medulla and Kidney of Renovascular Hypertensive Rats.** Arq Bras Cardiol. 2019. Doi: 10.5935/abc.20190166.

SZWARCWALD, C.L.; STOPA, S.R.; MALTA, D.C. **Situação das principais doenças crônicas não transmissíveis e dos estilos de vida da população brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde, 2013 e 2019.** Cadernos de Saúde Pública [online]. v. 38, n. Suppl 1, maio de 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0102-311XPT276021>

VEDOVELLI, Kelem. **Efeitos do ambiente enriquecido nos níveis centrais e periféricos de BDNF e sua relação com o desempenho na tarefa de reconhecimento de objetos em ratos.** 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

WELLS, J. **Understanding developmental plasticity as adaptation requires an inter-generational perspective.** Evolution, Medicine, and Public Health, v. 2017, n. 1, p. 185–187, 2017.

WELTER, P.G. **Efeitos do ambiente enriquecido nos déficits motores, comportamentais e nos níveis de monoaminas no modelo YAC128 da Doença de Huntington.** Programa de pós-graduação em neurociências. UFSC-Florianópolis, 2021.

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA

Título em português

English title

Título en español

Nome do Autor

Formação acadêmica mais alta com a área

Instituição de formação:

Endereço: (Cidade, Estado e País)

E-mail: xxxxxxxxxxx1@outlook.com

Nome do Autor

Formação acadêmica mais alta com a área

Instituição de formação:

Endereço: (Cidade, Estado e País)

E-mail: xxxxxxxxxxx1@outlook.com

RESUMO

O texto deve ter entre 100 a 250 palavras, descrevendo o resumo do trabalho a ser publicado. RECOMENDA-SE seguir a coerência relacional: considerando (Justificativa/Problema). Objetiva-se (Objetivos). Para tanto, procede-se à (metodologia). Desse modo, observa-se que (Resultados), o que permite concluir que (Conclusão). (Guimarães, 2005).

Palavras-chave: Entre 3 e 5 palavras-chave, separadas por vírgula. Por exemplo: direito, liberdade, patria, Brasil.

ABSTRACT

The text must be between 100 and 250 words, describing the summary of the work to be published. IT IS RECOMMENDED to follow relational coherence: considering (Justification/Problem). It aims (Objectives). To this end, we proceed to (methodology). In this way, it is observed that (Results), which allows us to conclude that (Conclusion). (Guimarães, 2005).

Keywords: Between 3 and 5 keywords, separated by commas. For example: law, freedom, homeland, Brazil.

1 INTRODUÇÃO

Descrever a contextualização, questão de pesquisa e justificativa da pesquisa fonte Times New Roman 12, espaçamento entre linhas 1,5. No máximo são **8 autores**, caso o artigo tenha mais do que isso, deve entrar em contato com a revista para perguntar sobre a taxa extra de adição de mais um autor.

Com relação a quantidade de páginas, no máximo 20 páginas, já considerando as referências. Os trabalhos podem ser redigidos em Português, Inglês e Espanhol.

No final da introdução, os objetivos do trabalho devem ser claramente delineados, de forma específica e mensurável. Caso deseje, é possível criar um subitem exclusivo para o objetivo. Além disso, é fundamental que sejam formulados de maneira alcançável, garantindo que o leitor compreenda completamente o escopo do estudo e o que será abordado e avaliado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O referencial teórico em um estudo compreende uma análise crítica e organizada da literatura pertinente ao tema, fornecendo uma contextualização teórica e definindo os conceitos-chave. Deve conter de maneira abrangente as teorias, modelos e pesquisas anteriores, identificando lacunas, contradições e consensos na literatura que são importantes para o foco do trabalho que está sendo desenvolvido.

2.1 TÍTULO DAS FIGURAS (QUADROS, TABELAS, ETC.)

O título da figura explica a o conteúdo da imagem de maneira concisa, mas discursiva. A fonte do título deve ser Times New Roman 10, com espaçamento 1,0, centralizado. Numerado com algarismos arábicos de forma sequencial dentro do texto como um todo, precedido pela palavra figura. Ex.: Figura 1, Figura 2, Figura 3, etc.

A fonte de citação deverá ser com espaçamento simples, abaixo da figura centralizada, fonte Times New Roman 10. Imagens tiradas de pessoas também devem ter a tarjas no rosto

considerado a proteção da identidade com o respeito à dignidade e à liberdade individual.

2.2 SUBTÍTULO DE SEÇÕES

Os títulos devem estar em caixa alta, em negrito, fonte Times New Roman, tamanho 12.

Os subtítulos devem estar em caixa alta, sem negrito, fonte Times New Roman, tamanho 12. As citações dentro do corpo do trabalho devem seguir as normas da ABNT.

2.3 CITAÇÃO NO TEXTO

O autor deve ser citado entre parênteses pelo sobrenome, separado por vírgula da data de publicação (Barbosa, 1980). Se o nome do autor estiver citado no texto, indica-se apenas a data entre parênteses: Moraes (1995) assinala... Quando se tratar de citação direta (transcrição literal do texto original) especificar página(s), essa(s) deverá(ão) seguir a data, separada(s) por vírgula e precedida(s) de p. (Mumford, 1949, p.513). As citações de diversas obras de um mesmo autor, publicadas no mesmo ano, devem ser discriminadas por letra minúscula após a data, sem espaçamento (Peside, 1927a) (Peside, 1927b). Quando a obra tiver dois ou três autores, separa-se por ponto e vírgula (Oliveira; Leonardo, 1943) e, quando tiver mais de três autores, indica-se o primeiro seguido da expressão et al. (Gille et al., 1960). Citações até 3 linhas devem vir entre aspas, seguidas do nome do autor, data e página. Com mais de três linhas, devem vir com recuo de 4 cm na margem esquerda, corpo menor (fonte 10), espaço simples e sem aspas, também seguidas do nome do autor, data e página. As citações em língua estrangeira devem ser apresentadas na mesma língua do texto e na chamada de citação apresentar a indicação tradução nossa. Em nota de rodapé apresentar a citação em sua língua original. As expressões latinas (*idem*, *ibidem*, *passim*, *loco citato*, e *sequentia*) assim como a expressão *confira* (Cf.) não podem ser utilizadas em chamadas de citação no corpo do texto. As expressões *apud* e *et al.* podem ser utilizadas no corpo do texto e em itálico. Seguem abaixo alguns exemplos de citações:

2.3.1 Citação direta, com mais de três linhas

Recuo de 4 cm

Tamanho da fonte 10

Espaçamento simples

Deve-se deixar um espaço de 1,5 entre o restante do texto e a citação.

O alinhamento deve ser justificado.

2.3.2 Citação direta, com menos de três linhas

Segundo Prunes (2000, v. 2, p. 647-648) “a inconformidade dos demandantes, sustentado laudo pericial técnico [...]”.

2.3.3 Citação indireta

Quando se faz uma citação indireta, é preciso indicar, inicialmente, **o sobrenome do autor e depois a data de publicação da obra**. Não é obrigatória a indicação da página do trecho citado. Veja exemplos de citação indireta com apenas um autor a seguir: Por exemplo:

Conforme Herculano (2021), para gerar tráfego orgânico é fundamental o uso de técnicas de otimização.

Conforme Herculano (2021, p. 409), o marketing de conteúdo consiste, entre outras coisas, em escrever textos com autoridade no assunto **(exemplo com indicação da página, que não é obrigatório)**.

A visibilidade na internet é, muitas vezes, gerada pelo investimento em marketing digital (Herculano, 2021).

Além disso, deve-se seguir a formatação da Associação Brasileira de Normas Técnicas. Em relação à ABNT, a citação indireta se diferencia bastante da direta, pois deve ser escrita “normalmente”, ou seja, conforme o restante do corpo do texto. Veja a lista de normas:

Fonte Times New Roman;

Tamanho 12;

Espaçamento entre linhas de 1,5;

Inserção do sobrenome do autor e ano de publicação da obra entre parênteses.

Como foi possível visualizar acima, **a citação indireta deve ser escrita conforme o restante do corpo do texto**. A única diferença é somente a “adição” do sobrenome do autor e do ano de publicação da obra entre parênteses.

2.3.4 Citação indireta dois autores

Quando a citação é de vários autores diferentes, é preciso inserir os seus sobrenomes separados por “ponto e vírgula” e seguidos dos anos de publicação da obra. A ordem dos sobrenomes deve ser cronológica e crescente. Veja como deve ser feito:

Por exemplo:

De acordo com diversos autores (Herculano, 1996; Holanda, 2010), o marketing digital é importante para o crescimento...

O marketing digital auxilia o crescimento das empresas (Herculano, 1996; Holanda, 2010).

2.3.5 Citação indireta de várias obras

Quando a citação é do mesmo autor, mas de várias obras diferentes, os anos devem ser separados por vírgulas, como é mostrado abaixo.

Por exemplo:

O marketing digital pode melhorar a comunicação entre marca e público (Herculano, 1996, 2016, 2018).

Conforme Herculano (1996, 2016, 2018), o marketing digital é uma boa estratégia para divulgação de um novo produto.

2.3.6 Citação indireta de mais de quatro autores na mesma obra

Quando uma obra possui **mais de quatro autores**, recomenda-se usar a expressão “et al.” ou “e col.”, seguida do ano de publicação. Isso serve para não precisar escrever os sobrenomes de todos os escritos do trabalho.

Por exemplo:

De acordo com Herculano et al. (2018) A publicação nas mídias sociais é uma nova forma de tornar uma empresa mais visível no mercado.

A publicação nas mídias sociais envolve a inserção de artes no feed e nos stories (Herculano et al, 2018).

2.3.7 Citação do autor com mais de uma obra publicada no mesmo ano

Esse tipo de citação deve ser feita quando são citadas **obras publicadas em anos diferentes do mesmo autor**.

Usam-se letras minúsculas, em ordem alfabética a partir da letra a, logo após a data.

Por exemplo:

As mídias sociais tornam as empresas mais visíveis (Herculano, 1998a).

De acordo com Herculano (1998a, 1998b), as mídias sociais tornam as empresas mais visíveis.

2.3.8 Método de citação numérica

Esse é um método de citação indicado por números, como o nome já diz. Veja o exemplo logo abaixo, conforme a ABNT:

Por exemplo:

Conforme Herculano, o marketing digital é uma estratégia capaz de construir um público-alvo qualificado para a marca (2);

Conforme Herculano, as estratégias SEO podem ajudar no crescimento de uma marca².

3 METODOLOGIA

A metodologia de um artigo delinea os procedimentos empregados para conduzir a pesquisa, incluindo o tipo de estudo, a seleção da amostra, os métodos de coleta e análise de dados, considerações éticas e limitações do estudo. Sua descrição detalhada e transparente é essencial para garantir a replicabilidade e a confiabilidade dos resultados, além de proporcionar uma base sólida para a interpretação e a generalização dos achados.

3.1 EQUAÇÃO E FORMULAS

Em meio a um texto, as fórmulas e equações devem ser representadas em linha. Deve-se usar um espaçamento maior, que comporte seus elementos (expoentes, índices e outros); Quando apresentadas fora do parágrafo, são alinhada a esquerda, se houver várias fórmulas ou equações deve-se identifica-las com algarismos arábicos sequenciais ao longo do texto e entre parênteses () na extremidade direita da linha, quando divididas em mais de uma linha por falta de espaço as equações ou formulas devem ser interrompidas antes do sinal de igual “=” ou depois dos sinais de adição, subtração.

3.2 MARCADORES

Os Marcadores são divisões enumerativas referentes a um período do parágrafo. Observa-se a seguinte configuração:

- a) o texto anterior ao primeiro marcador termina com dois pontos;
- b) iniciam-se no recuo de parágrafo e são escritas com o entrelinhamento normal;
- c) são enumeradas com letras minúsculas ordenadas alfabeticamente, seguidas de sinal de fechamento de parênteses. Se a quantidade de marcador exceder a quantidade de letras do alfabeto, use letras dobradas: aa), ab), ac), etc.;
- d) o texto do marcador inicia-se com letra minúscula, exceto no caso de começar com nomes próprios, são encerradas com ponto e vírgula, exceto a última que é encerrada com ponto.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados e discussões de um artigo devem ser apresentados de maneira clara e organizada, com base nos dados coletados e nas análises realizadas durante o estudo. Inicialmente, os resultados devem ser apresentados de forma objetiva e concisa, utilizando tabelas, gráficos e estatísticas, se aplicável, para destacar as principais descobertas. Em seguida, na seção de discussão, os resultados são interpretados à luz da literatura existente, destacando semelhanças, diferenças e implicações para a teoria e prática.

Além disso, são discutidas as limitações do estudo e possíveis direções para pesquisas futuras. É fundamental que tanto os resultados quanto à discussão sejam fundamentados em evidências sólidas e que contribuam significativamente para o avanço do conhecimento sobre o tema abordado.

5 CONCLUSÃO

A conclusão de um artigo deve sintetizar os principais achados do estudo de forma sucinta, destacando as contribuições significativas para o campo de pesquisa. Deve reiterar os objetivos do estudo e resumir as descobertas mais importantes, enfatizando sua relevância e implicação prática ou teórica.

AGRADECIMENTOS

Seção opcional, onde o autor pode agradecer às agências financiadoras, ou outro tipo de agradecimento aplicável.

REFERÊNCIAS

Aqui estão exemplos de referências, fonte e espaçamentos de acordo com as normas da ABNT. Lembre-se de que esses exemplos são simplificados, e você deve adaptá-los conforme as especificações da sua instituição e da norma ABNT mais recente. Com a formatação da fonte Times New Roman, Tamanho 12, Espaçamentos simples e alinhado à esquerda. As citações devem ser colocadas em ordem alfabética.

Livros com apenas um autor

SOBRENOME, Nome. **Título:** subtítulo (se houver). Edição (se houver). Local de publicação: Editora, ano de publicação da obra.

Exemplo:

KRENAK, A. **Ideias para adiar o fim do mundo**. São Paulo: Companhia das Letras, 2019.

Livro com até três autores

SOBRENOME, Nome; SOBRENOME, Nome; SOBRENOME, Nome. **Título:** subtítulo (se houver). Edição (se houver). Local: Editora, ano de publicação.

Exemplo:

ARUZZA, C.; BHATTACHARYA, T.; FRASER, N. **Feminismo para os 99%: um manifesto**. São Paulo: Boitempo, 2019.

Livro com mais de três autores

SOBRENOME, Nome et al. **Título:** subtítulo (se houver). Edição (se houver). Local: Editora, ano de publicação.

Exemplo:

DILGER, G. et al. **Descolonizar o imaginário: debates sobre pós-extrativismo e alternativas**

ao desenvolvimento. São Paulo: Fundação Roxa Luxemburgo, 2016.

Referência da Constituição Federal ou Estadual

LOCAL. Título (ano). **Descrição**. Local do órgão constituinte, ano de publicação.

Exemplo:

BRASIL. Constituição (1988). **Constituição da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF: Centro Gráfico, 1988.

Artigo de periódico ou revista

SOBRENOME, Nome abreviado. Título do artigo. **Título da Revista**, Local de publicação, número do volume, páginas inicial-final, mês e ano.

Exemplo:

KILOMBA, G. A máscara, **Revistas USP**, n. 16, p. 23-40, 2016.

Artigo em um evento

SOBRENOME, Nome. Título do trabalho apresentado. In: **TÍTULO DO EVENTO**, nº do evento, ano de realização, local (cidade de realização). Título do documento (anais, resumos, etc). Local: Editora, ano de publicação. Páginas inicial-final.

Exemplo:

SILVA, J. A contribuição de Paulo Freire na Pedagogia. In: **JORNADA DE PEDAGOGIA**, nº 3, 2019, Florianópolis. Resumos. Florianópolis: Editora X, 2020, p. 20-50.

Referência de monografia, dissertação ou tese

SOBRENOME, Nome. **Título**: subtítulo (se houver). Ano de apresentação. Número de folhas ou volumes. Categoria (área de concentração) – Instituição, Local, ano da defesa.

Exemplo: CARNEIRO, A. S. **A construção do outro como não-ser como fundamento do ser**. 2005. Tese (Doutorado em Educação) – Curso de Educação – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.