



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

DENISE VASCONCELOS DE JESUS FERRARI

**PERFIL DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NO COLOSTRO EM NUTRIZES NOS
EXTREMOS DAS IDADE REPRODUTIVA**

Presidente Prudente – SP
2019



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

DENISE VASCONCELOS DE JESUS FERRARI

**PERFIL DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NO COLOSTRO EM NUTRIZES NOS
EXTREMOS DA IDADE REPRODUTIVA**

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde. - Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador: Profa. Dra. Glilciane Morceli

Presidente Prudente - SP
2019

613.269
F375p

Ferrari, Denise Vasconcelos de Jesus.

Perfil de citocinas inflamatórias no colostro em nutrizes nos extremos da idade reprodutiva / Denise Vasconcelos de Jesus Ferrari.-- Presidente Prudente, 2019.

41 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2019.

Bibliografia.

Orientadora: Glilciane Morceli

1. Citocinas. 2. Colostro. 3. Idade materna.4. Amamentação.I. Título.

DENISE VASCONCELOS DE JESUS FERRARI

**PERFIL DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NO COLOSTRO EM NUTRIZES NOS
EXTREMOS DA IDADE REPRODUTIVA**

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde. - Área de concentração: Ciências da Saúde.

Presidente Prudente, 28 de janeiro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Glilciane Morceli
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. Eliana Peresi Lordelo
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. Jusciele Brogin Moreli
Universidade Federal de São Paulo – Unifesp
Ribeirão Preto - SP

DEDICATÓRIA

*Ao meu esposo **Luiz** e minha filha **Maria Alice**, por terem acreditado no meu crescimento profissional e pessoal, permitindo que todos os meus sonhos se tornassem realidade, pelo apoio constante, e por todo o amor.*

*Aos meus pais **Divanir e Benvindo**, pelo incentivo e apoio incondicional.*

*A minha irmã **Luciana**, pelo carinho e parceria.*

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, acima de tudo...e pela fé que me faz caminhar. Por sempre ter iluminado e abençoado meus passos, nos caminhos que escolhi e pela eterna misericórdia e sabedoria.

Agradeço a minha orientadora, **Dra. Gilciane Morceli**, por toda dedicação, paciência, compreensão, amizade, determinação, confiança e respeito em todo este tempo que caminhamos juntos. O seu comprometimento, competência, postura ética e um perfil de pesquisadora exemplar, foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Agradeço ao futuro enfermeiro **Lucas Lima** e a Biomédica **Letícia Campos**, que desde o início colaboraram com as coletas, pesquisas, levantamento de dados, com muita disponibilidade e atenção.

Meu reconhecimento e gratidão a minha co-orientadora, **Dra. Jossimara Poletini**, pela sua contribuição e apoio no desenvolvimento do trabalho.

Agradeço a todos os **professores, funcionários e colegas do Mestrado em Ciências da Saúde da UNOESTE**, por todo o conhecimento compartilhado.

O sentimento de gratidão se estende a todos que direta e indiretamente participaram desta vitória.

Muito Obrigada!!!

“Posso, tudo posso naquele que me fortalece”.

RESUMO

Perfil de citocinas inflamatórias no colostro em nutrizes nos extremos da idade reprodutiva

Histórico: A gestação nos extremos das idades reprodutivas é caracterizada como de Alto Risco. O colostro é a primeira secreção láctea produzida e contém os nutrientes necessários para o desenvolvimento do neonato. Os objetivos foram comparar a concentração de citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, e TNF- α do colostro de nutrizes adolescentes e idade materna avançada e descrever as características sócio demográficas, gestacionais e perinatais. **Métodos e resultados:** Estudo transversal, que incluiu 117 nutrizes adolescentes (até 24 anos), 158 nutrizes do grupo controle (25 até 34 anos) e 39 nutrizes com idade materna avançada (maior que 35 anos) atendidas na Maternidade do Hospital Regional de Presidente Prudente. As amostras de colostro foram obtidas por meio da ordenha manual entre 48 a 72h após o parto. A determinação de citocinas foi realizada por ensaio imunoenzimático (ELISA). As variáveis sócio demográficas e gestacionais foram analisadas pelo teste de X² e as citocinas pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn, e o nível de significância foi de 5%. A mediana de idade em nutrizes com idade materna avançada foi de 37 anos, estatisticamente superior às das nutrizes adolescentes com 20 anos. A união estável predominou entre os grupos e 81,2% das nutrizes adolescentes não exerciam atividade remunerada. Em 69,2% das nutrizes com idade materna avançada a via de parto foi a cesárea e neste grupo o índice de massa corporal (IMC) gestacional foi superior. A concentração de IL-1 β e IL-6 foi elevada no colostro de mães com idade avançada em comparação às mães adolescentes, porém não diferiu do grupo controle. **Conclusões:** A idade materna influenciou as características sócio demográficas, gestacionais e perinatais das nutrizes, assim como a composição de citocinas do colostro.

Palavras-chave: Citocinas inflamatórias; Colostro humano; Extremos idade.

ABSTRACT

Profile of inflammatory cytokines in colostrum in nursing mothers at the extremes of reproductive age

History: The gestation at the extremes of reproductive ages is characterized as High Risk. The colostrum is the first milk secretion produced and contains the necessary nutrients for the development of the newborn. The objectives were to compare the concentration of IL-1 β , IL-6, IL-8, and TNF- α cytokines of adolescent and advanced maternal age mothers colostrum, and to describe demographic, gestational and perinatal socioeconomic characteristics. **Methods and results:** A cross-sectional study, which included 117 adolescent nursing mothers (up to 24 years of age), 158 nursing mothers of the control group (25 to 34 years), and 39 nursing mothers with advanced maternal age (over 35 years of age) attending the Maternity Hospital of Presidente Prudente. The colostrum samples were obtained by manual milking between 48 and 72 hours post childbirth. The cytokine determination was performed by immunoenzymatic assay (ELISA). The socio-demographic and gestational variables were analyzed by the X² test and the cytokines by the Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn test, and the significance level was 5%. The median age in nursing mothers with advanced maternal age was 37 years, statistically superior to the 20-year-old female adolescents. The stable union prevailed among the groups and 81.2% of the adolescent nursing mothers did not exercise gainful activity. In 69.2% of the nursing mothers with advanced maternal age the route of birth was cesarean section and in this group the gestational body mass index (BMI) was higher. The concentration of IL-1 β and IL-6 was high in colostrum of mothers with advanced age compared to adolescent mothers, but did not differ from the control group. **Conclusions:** The maternal age influenced the socio demographic, gestational and perinatal characteristics of the nursing mothers, as well as the composition of colostrum cytokines.

Keywords: Inflammatory cytokines; Human colostrum; Extremes age.

LISTA DE ABREVIATURAS

AIG	– Adequado para idade gestacional
BPN	– Baixo peso ao nascimento
ELIZA	– Ensaio imunoenzimático
GIG	– Grande para idade gestacional
HIV	– Vírus da imunodeficiência humana
IFN	– Interferon
IL	– Interleucina
IMC	– Índice de massa corporal
MCP	– Monocyte chemoattractant protein
MIP	– Macrophage inflammatory protein
OMS	– Organização Mundial da Saúde
PIG	– Pequeno para idade gestacional
RCIU	– Restrição do crescimento intrauterino
TGF	– Transforming growth factor
TNF	– Fator de Necrose Tumoral

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características sócio demográficas de nutrizes adolescentes, controles e de idade materna avançada incluídas no estudo.....	28
Tabela 2 -	Características gestacionais e obstétricas de nutrizes adolescentes, controles e de idade materna avançada incluídas no estudo.....	29
Tabela 3 -	Resultados perinatais dos recém-nascidos de mães adolescentes, controles e de idade materna avançada incluídas no estudo.....	30
Tabela 4 -	Concentração, em pg/mL, das citocinas avaliadas no colostro de mães adolescentes, controles e de idade materna avançada (IMA).....	31

SUMÁRIO

ARTIGO CIENTÍFICO - Perfil de citocinas inflamatórias no colostro em nutrívez nos extremos da idade reprodutiva.....	12
Introdução	14
Materiais e Métodos	16
Resultados	19
Discussão.....	20
Referências	25
APÊNDICE A - Ficha para coleta de dados individuais	32
ANEXO A - Normas de submissão revista - Jornal de Pediatria	36

ARTIGO CIENTÍFICO

Perfil de citocinas inflamatórias no colostro em nutrízes nos extremos da idade reprodutiva

Citocinas no colostro e extremos de idade reprodutiva

Denise V. de J. Ferrari (denisevj@hotmail.com) (<https://orcid.org/0000-0003-1365-4823>), Lucas L. de Moraes (lucaslima16@outlook.com) (<https://orcid.org/0000-0003-1613-5068>), Letícia de A. Campos (le_aguiar@hotmail.com) (<https://orcid.org/0000-0003-4011-3520>), Erika K. Saeki (erikaksaeki@gmail.com) (<https://orcid.org/0000-0002-8604-0374>), Jossimara Polettini (jossimarap@gmail.com) (<https://orcid.org/0000-0002-6719-8715>), Glilciane Morceli (glilciane@gmail.com) (<https://orcid.org/0000-0001-8216-9931>)

Contribuição dos autores

Contextualização: Denise Vasconcelos de Jesus Ferrari, Jossimara Polettini, Glilciane Morceli

Análise: Jossimara Polettini, Glilciane Morceli

Investigação ou coleta dos dados: Denise Vasconcelos de Jesus Ferrari, Lucas Lima de Moraes, Letícia de Aguiar Campos

Metodologia: Denise Vasconcelos de Jesus Ferrari, Lucas Lima de Moraes, Letícia de Aguiar Campos, Erika Kushikawa Saeki, Jossimara Polettini, Glilciane Morceli

Escrita-original: Denise Vasconcelos de Jesus Ferrari, Jossimara Polettini, Glilciane Morceli

Escrita-revisão: Jossimara Polettini, Glilciane Morceli

Declaração de conflito de interesse: Nada a declarar.

Instituição: Universidade do Oeste Paulista - Unoeste

Autor correspondência: Denise V. de J. Ferrari

Rua Argentina, n. 99 Jardim Raio do Sol. – Alvares Machado, SP

Contagem total das palavras do texto: 2.934

Contagem total das palavras do resumo: 248

Número de tabelas: 4

O trabalho está apresentado sob a forma de artigo, segundo as normas do periódico o qual será submetido: *Jornal de Pediatria*, ISSN 1678-4782, Qualis B2 na área de Medicina II da Capes.

Resumo

Objetivos: comparar a concentração de citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, e TNF- α do colostro de nutrizes adolescentes e idade materna avançada e descrever as características sócio demográficas, gestacionais e perinatais.

Métodos e resultados: Estudo transversal, que incluiu 117 nutrizes adolescentes, 158 nutrizes do grupo controle e 39 nutrizes com idade materna avançada atendidas na Maternidade de um Hospital de nível quaternário. As amostras de colostro foram obtidas por meio da ordenha manual entre 48 a 72 horas após o parto. A determinação de citocinas foi realizada por ensaio imunoenzimático (ELISA). As variáveis sócio demográficas e gestacionais foram analisadas pelo teste de X² e as citocinas pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn, e o nível de significância foi de 5%. A mediana de idade em nutrizes com idade materna avançada foi de 37 anos, estatisticamente superior às das nutrizes adolescentes com 20 anos. A união estável predominou entre os grupos e 81,2% das nutrizes adolescentes não exerciam atividade remunerada. Em 69,2% das nutrizes com idade materna avançada a via de parto foi a cesárea e neste grupo o índice de massa corporal (IMC) gestacional foi superior. A concentração de IL-1 β e IL-6 foi elevada no colostro de mães com idade avançada em comparação às mães adolescentes, porém não diferiu do grupo controle. A concentração de IL-8 e TNF- α não apresentou diferenças entre os três grupos.

Conclusões: A idade materna influenciou as características sócio demográficas, gestacionais e perinatais das nutrizes, assim como a composição de citocinas do colostro.

Palavras chave: Citocinas; Colostro; Idade materna.

Introdução

A gestação nos extremos das idades reprodutivas é caracterizada como de Alto Risco, definida como “aquelas nas quais a vida ou a saúde da mãe e/ou do feto e/ou do recém-nascido tem maiores chances de serem atingidas que as da média da população considerada” [1].

Nos dias atuais, a incidência de gravidez nos extremos da vida reprodutiva, antes dos 20 anos e após os 35 anos de idade, é uma realidade. Nesse contexto, a gravidez na adolescência é considerada, em alguns países em desenvolvimento, um problema de saúde pública, com repercussões sociais e biológicas, tais como, o abandono escolar, isolamento social, interrupção dos estudos em caráter temporário ou ainda definitivo, instabilidade emocional, união estável com o parceiro de forma precoce e maiores taxas de complicações durante o período [2, 3,4].

Ainda devido à imaturidade biológica que envolve crescimento e desenvolvimento das adolescentes, os resultados perinatais do conceito podem ser adversos, tais como maior número de recém-nascido com baixo peso ao nascimento (BPN, <2500g), riscos de restrição do crescimento intrauterino (RCIU), Ápgar menor que sete no quinto minuto e, em destaque, alto índice de partos pré-termo (<37^a semana gestacional) [3].

A gravidez após os 35 anos de idade é considerada como tardia e tornou-se cada vez mais frequente devido ao melhor controle de natalidade, aos avanços na tecnologia da reprodução assistida, ao casamento tardio, às taxas aumentadas de divórcios seguidos de novas uniões, mulheres com maior nível de educação e avanços na atenção à saúde [5,6]. Nas gestações em mães com idade materna avançada são observadas aumento de complicações obstétricas como hemorragia anteparto, hipertensão induzida pela gestação, diabetes, RCIU, apresentações anômalas, macrossomia,

distócias, gestação prolongada, oligoidramnia, polidramnia, ruptura prematura de membranas e conseqüentemente trabalho de parto pré-termo [7].

A principal estratégia da Organização Mundial da Saúde (OMS), para reduzir a mortalidade infantil é a promoção do aleitamento materno em todo o mundo [8]. A amamentação pode ser considerada uma prática milenar com inúmeros benefícios nutricionais, imunológicos, cognitivos, econômicos e sociais reconhecidos [9].

O colostro é a primeira secreção láctea produzida, secretado entre o segundo e terceiro dia após o parto e os principais componentes do colostro são as citocinas, gorduras, imunoglobulinas, proteínas, carboidratos, vitaminas, leucócitos, lactoperoxidase, lactoferrina e lisozima, além de hormônios e peptídeos promotores de crescimento [10-12].

As citocinas são glicoproteínas solúveis, sinalizadoras da comunicação intercelular, e compartilham diversas funções entre si. Sua atuação em rede resulta em uma cascata de efeitos envolvidos na regulação da resposta inflamatória, no desenvolvimento e funcionamento do sistema imunológico [13].

As citocinas mais estudadas no leite materno incluem as interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12) e o fator de necrose tumoral (TNF)- α por serem encontradas na secreção láctea em maior concentração [13].

A IL-1 β é um mediador inflamatório, envolvido na proliferação, diferenciação e apoptose celular. A concentração de IL-1 β no colostro é bastante variável e sua ação não está bem elucidada, parecendo estar envolvida nos mecanismos de defesa da glândula mamária, incluindo a produção de Imunoglobulina A e outras citocinas, como a IL-6, IL-8, TNF- α e IL-12 [14].

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória e anti-inflamatória importante produzida por queratinócitos, fibroblastos, macrófagos, células endoteliais e células T. É secretada

pelos macrófagos e células T em resposta a traumas, como queimaduras ou inflamação tecidual, com ação pirogênica potente. Ela estimula a resposta de fase aguda, a diferenciação das células B e produção de anticorpos pelas mesmas no colostro [12,15].

IL-8 é uma quimiocina, ou seja, atua como mediador pró-inflamatório, tendo a capacidade de recrutar neutrófilos, sendo produzida por fagócitos e células epiteliais. Ela é um importante componente da imunidade inata e da resposta inflamatória, tem função fisiológica no desenvolvimento e maturação do intestino, e pode estar envolvida nos mecanismos de proteção anti-infecciosa do leite materno. É encontrada em tecidos com homeostase prejudicada causada por infecção, trauma ou outras condições. Outro papel da IL-8 no leite materno está relacionado à proteção do recém-nascido, devido à sua forte atividade quimiotática e ativação das células envolvidas em doenças alérgicas [13,15].

O TNF- α é secretado pelo epitélio mamário e pelos macrófagos do leite materno, apresenta maior concentração no colostro do que no leite maduro e participa do mecanismo de defesa contra infecções e trauma [12,15,16].

Considerando que o aleitamento materno é o padrão ouro na alimentação de todos os recém-nascidos e que o efeito da idade materna na composição do leite materno ainda é pouco conhecido, os objetivos deste estudo foram comparar a concentração de citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, e TNF- α do colostro de nutrizas adolescentes e idade materna avançada e descrever as características sócio demográficas, gestacionais e perinatais.

Materiais e métodos

Estudo transversal, com nutrizas adolescentes e idade materna avançada, e seus recém-nascidos na Maternidade de um Hospital de nível quaternário, no período de

março de 2017 a julho de 2018. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa CAAE 67772617.8.0000.5515 e as participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Sujeitos

Foram estudadas as nutrizes e seus recém-nascidos da Maternidade do serviço que preencheram os seguintes critérios de inclusão: ser classificada nos grupos definidos no delineamento do estudo; idade gestacional no parto entre 37 a 41^{6/7} semanas; reações sorológicas negativas para hepatite, Vírus da imunodeficiência humana (HIV) e sífilis; realizar assistência ao parto no Serviço. Gravidez gemelar e malformações fetais foram critérios de exclusão e malformação fetal diagnosticada no momento do parto e perda de dados relativos ao parto e ao período neonatal foram considerados critérios de descontinuidade.

O tamanho amostral foi constituído de 158 no grupo controle; 117 no grupo de adolescentes e 39 no grupo de nutrizes com idade materna avançada, sendo esse número reduzido do último grupo justificado por uma menor quantidade de puérperas com idade materna avançada no período do estudo e também pela dificuldade da obtenção suficiente de amostra de colostro destas. O tamanho amostral utilizado para a dosagem de citocinas foi de 40 no grupo de controle e de adolescentes, e 39 no grupo de nutrizes com idade materna avançada.

As variáveis de controle do estudo incluíram: presença (sim) ou ausência (não) de tabagismo e de doenças; e idade gestacional, em semanas completas, na entrada do protocolo de tratamento do Serviço.

As variáveis independentes do estudo incluíram: grupos de nutrizes adolescentes (idade entre 10 e 24 anos) (MS, 1996); de idade materna avançada (≥ 35 anos); e controle (puérperas com idade entre 25 anos até 34 anos).

As variáveis dependentes do estudo incluíram: determinação da concentração de IL-1 β , IL-6, IL-8, e TNF- α no sobrenadante de colostro das puérperas incluídas nos grupos de pesquisa.

A classificação do peso do recém-nascido foi em pequeno (PIG), adequado (AIG) e grande (GIG) para a idade gestacional (relação peso / idade gestacional) conforme protocolo do serviço.

Coefficiente de variação intra-ensaio e limites de detecção

Aproximadamente 10% das amostras apresentaram níveis abaixo do limite de detecção.

Coleta do colostro

O colostro foi coletado manualmente, com técnica adequada, sempre no período da manhã e no intervalo entre duas mamadas, no período correspondente entre 48 a 72 horas após o parto. A quantidade máxima de colostro coletada foi de 10 ml. As amostras foram imediatamente congeladas e estocadas a -80°C até o momento das dosagens.

Determinação de IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α no colostro por ensaio ELISA

Uma alíquota de 2mL do colostro coletado foi centrifugada a 160g por 10 minutos a 4°C, o que propiciou a separação da amostra em três fases: pellet de células, uma fase aquosa intermediária e o sobrenadante contendo as gorduras, a qual foi descartada e o sobrenadante aquoso foi armazenado a -80°C e utilizado para a dosagem das citocinas de interesse [20].

As avaliações foram realizadas em leitor automático de ELISA (Epoch-BioTek, Winooski, VT, EUA), em comprimento de onda de 492 nm. As concentrações das citocinas no colostro foram calculadas sobre a curva padrão, obtida com diferentes concentrações das citocinas recombinantes humanas de interesse.

Análise Estatística

Os dados referentes às variáveis sócio demográficas e gestacionais foram submetidos ao teste de X^2 ou Exato de Fisher, ou ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre os três grupos de estudo, após análise da normalidade dos dados pelo Kolmogorov – Smirnov test. A concentração das citocinas no colostro foi analisada pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn para comparação entre todos os grupos. A análise estatística foi realizada utilizando-se software GraphPad Prism, versão 6.0 e o nível de significância adotado para todos os testes empregados foi de 5%.

Resultados

Características sócio demográficas das nutrizes

Na Tabela 1 apresentamos as características sócio demográficas das nutrizes incluídas no estudo. Como esperado, a mediana da idade materna foi estatisticamente inferior nas adolescentes ($p < 0,0001$). O estado civil predominante foi a união estável nos grupos de interesse ($p < 0,0001$). A profissão não remunerada destacou-se no grupo de nutrizes adolescentes e remunerada no grupo de idade materna avançada ($p = 0,0002$). As variáveis etnia, hábito tabagista e etilista (até 7 doses semanais), convívio com pessoas fumantes e prática de atividade física (3 ou mais vezes na semana) não diferiram entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 1

Características gestacionais e obstétricas das nutrizes

Na Tabela 2 apresentamos as características gestacionais e obstétricas das nutrizes incluídas no estudo. O IMC, no início e fim da gestação foi estatisticamente maior no grupo idade materna avançada e controle ($p < 0,0001$) em comparação ao grupo de adolescentes. O ganho de peso foi maior no grupo de adolescentes ($p = 0,0004$). A

variável paridade apresenta um maior índice de múltiparas no grupo idade materna avançada e primíparas no grupo de nutrizes adolescentes ($p < 0,0001$). Referente ao tipo de parto nota-se uma oposição entre os grupos, pois no grupo idade materna avançada predomina o parto cesárea e no adolescente parto vaginal ($p = 0,0001$). A variável número de consultas no pré-natal não diferiu entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 2

Resultados perinatais dos recém-nascidos das nutrizes

Na Tabela 3 apresentamos os resultados perinatais dos recém-nascidos das nutrizes incluídas no estudo. Foram analisadas as características perinatais New Ballard, peso ao nascer, classificação do peso, Ápgar do 1º e 5º minutos de vida e dias de internação. Os desfechos perinatais das nutrizes nos extremos das idades reprodutivas não foram estatisticamente significativos.

Tabela 3

Concentração de citocinas no colostro

Os níveis de IL-1 β e IL-6 apresentaram-se significativamente aumentados nas amostras de colostro de nutrizes com idade avançada em comparação às mães adolescentes ($p < 0,05$), porém não diferiu em relação às mães consideradas controles (Tabela 4). A concentração de IL-8 e TNF- α não apresentaram diferenças entre os três grupos estudados (Tabela 4).

Tabela 4

Discussão

O presente estudo comparou a concentração de citocinas do colostro em nutrizes nos extremos da idade reprodutiva com gestação no termo e descreveu as características sócio demográficas, gestacionais e perinatais.

Atualmente muitas mudanças ocorreram na estrutura familiar resultando em um crescimento das famílias uniparentais, principalmente em mulheres solteiras, tendo como consequência maior responsabilidade materna [17], assim nossos achados foram diferentes pois evidenciaram o predomínio de união estável em ambos os grupos. Os achados do nosso estudo sugerem que esses resultados podem estar relacionados aos hábitos locais quanto à preferência dos casais em formarem uma união estável, dividindo as responsabilidades em relação aos gastos financeiros e ao cuidado com a criança.

Ao analisarmos a variável profissão das nutrizes observa-se que no grupo adolescente prevalece atividade não remunerada e no grupo de idade materna avançada prevalece a atividade remunerada ($p=0,0002$), resultados semelhantes foram reportados por Santos et al. [7], que demonstram que as mulheres de idade avançada apresentaram maior percentual de renda, superior a dois salários mínimos (41,1%) em relação as adolescentes (12,9%). Sugerimos que os resultados do nosso estudo podem ser referentes às exigências do mercado de trabalho, com preferência por profissionais com experiência e/ou pelo desinteresse das adolescentes em conseguir um emprego.

Diversos fatores podem influenciar na composição do leite materno, como dados sócios demográficos, idade, etnia, características gestacionais, assim como IMC, paridade, período gestacional, dentre outros. Sinanoglou et al. [18] avaliaram o possível impacto de fatores, dentre eles os sócio demográficos na composição do colostro em nutrizes gregas e revelou que o perfil de ácidos graxos e gorduras do colostro dependeu principalmente da nacionalidade e da idade e não da via de parto e do IMC gestacional materno. Em nosso estudo, encontramos diferenças entre o IMC de nutrizes adolescentes e idade materna avançada e ainda na concentração de citocinas do colostro dessas mães ($p<0,0001$). Os dados apresentados por Sinanoglou et al. não

avaliaram os extremos das idades reprodutivas e as repercussões da idade materna na concentração de citocinas do colostro dessas nutrizes.

Santos et al.[7], observaram em seu estudo que a frequência de parto normal vai decrescendo conforme a idade materna aumenta, verificando a maior taxa de parto cesárea nas mulheres de idade avançada em comparação com as adolescentes, concluindo que algumas condições maternas associadas ao possível comprometimento fetal costumam ser mais frequentes e mais graves nesta faixa etária e, portanto, elevam o número de cesáreas por indicação fetal. Além disso, as distócias do trabalho de parto também tendem a ocorrer mais vezes entre as gestantes com idade avançada, e são parcialmente responsáveis por maior número de partos por via alta. Esses dados corroboram com os encontrados no nosso estudo que evidenciaram que as nutrizes com idade materna avançada apresentaram maiores taxas de parto cesárea (69,2%) e em nutrizes adolescente o parto vaginal apresentou taxas de 69,2%. Em situações de prematuridade, Trend et al. [19], demonstraram que o leite materno de nutrizes de recém-nascidos prematuros contém concentrações significativamente mais altas de alguns fatores do sistema imunológico (TGF- β 2 e antimicrobianos, como defensina 1) do que o leite materno de recém-nascidos a termo. Resultados obtidos por Santiago [13] demonstraram níveis mais elevados de IL-1 β e TNF- α e menor concentração de IL-6 no colostro de mães de recém-nascidos de termo e pequenos para a idade gestacional. No entanto, esses estudos compararam a idade gestacional no parto categorizada como pré-termo e termo e não consideraram as faixas de idade adolescentes e idade materna avançada.

Já está bem documentado na literatura que variáveis maternas e gestacionais, como idade materna, infecção materna, distúrbios hipertensivos, prematuridade, ruptura prematura de membranas, entre outros, são fatores que podem influenciar tanto a

composição do colostro quanto o perfil de citocinas [20]. Em concordância, nosso estudo mostrou diferenças significativas da composição de IL-1 β e IL-6 nos extremos da idade reprodutiva, que foram maiores em nutrizes com idade materna avançada em comparação com as adolescentes.

O leite materno tem função protetora contra a sepse neonatal, provavelmente mediada por componentes antimicrobianos e modulação do sistema imunológico do neonato. Quimiocinas como IL-8, MCP-1 e MIP-1 β do colostro podem ativar o sistema imunológico inato contra patógenos invasores e fortalecer a barreira intestinal. Experimentos realizados *in vitro* sugerem que a IL-8 nas concentrações contidas no colostro facilita a maturação das células epiteliais intestinais [20]. Em nosso estudo ao comparar a concentração de IL-8 no colostro nos extremos da idade materna observamos que não houve diferença significativa entre as nutrizes.

Algumas condições obstétricas podem também influenciar os níveis de citocinas, e, embora não tenham sido abordados nesse estudo, são importantes para o entendimento da dinâmica desses mediadores encontrados nos fluidos biológicos. Ao se considerar a presença de adversidades, como a pré-eclâmpsia, Freitas et al. [21], mostraram que essa condição altera os níveis de citocinas pró-inflamatórias no leite materno e observaram que no colostro de mães com pré-eclâmpsia há aumento dos níveis de IL-1 β e IL-6. Em nosso estudo evidenciamos maiores concentrações de IL-1 β e IL-6 no colostro das nutrizes de idade materna avançada em comparação as adolescentes, porém o estudo acima considerou a patologia e não a idade reprodutiva. Lubetzky et al.[22], identificou em seu estudo que a idade materna maior que 35 anos influencia na composição do colostro humano referente as concentrações de gordura, e ainda para Costa e Sabarense, 2010[23], a idade materna é um modulador positivo da fração lipídica do leite humano, porém em ambos os estudos não foram dosadas

citocinas, reforçando assim a necessidade de pesquisas que considerem a relação entre os extremos da idade reprodutiva e a concentração de citocinas para o entendimento de possíveis alterações na composição do colostro dessas mães.

Os níveis de IL1- β e IL-6 aumentados no colostro das nutrizes com idade materna avançada evidenciados neste estudo podem ser benéficos ao recém-nascido. Flutuações dos níveis de citocinas, como as observadas, podem comprometer a integridade da barreira da mucosa epitelial e a capacidade das células imunitárias de conter a translocação bacteriana, aumentando assim o risco de infecção. Portanto nossos achados trouxeram conhecimento sobre a composição de citocinas do colostro nos extremos das idades reprodutivas mesmo frente à escassez de dados na literatura que abordam o tema. A idade materna influenciou a composição do colostro e este fato pode ter ocorrido devido a imaturidade biológica das nutrizes adolescentes. Porém mais estudos devem ser realizados a fim de uma melhor compreensão sobre o tema, para que cada vez mais ocorra o incentivo para o aleitamento materno nessas mães visando evitar o desmame precoce e favorecer a qualidade de vida, tanto para as mães e os seus filhos e ainda estimular o vínculo mãe/recém-nascido.

Limitações do estudo

Em nosso estudo existem algumas limitações que podem ter influenciado nos resultados ou na compreensão e análise dos mesmos, como a ausência das concentrações de citocinas do leite nos diferentes períodos da lactação; não avaliação da presença ou ausência de infecção e doenças alérgicas nas nutrizes; e nossa análise abrangeu apenas algumas citocinas, por isso, pode não ser generalizável para todos os fatores imunológicos.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a Universidade do Oeste Paulista, juntamente ao Hospital Regional de Presidente – SP que forneceram estruturas para que este trabalho fosse executado. Assim como o Instituto Adolf Lutz e o Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno-fetal – UNESP Botucatu-SP, onde as análises foram realizadas.

Referências:

1. Ministério da Saúde. *Gestação de alto risco manual técnico*. 5a. ed. Brasília, DF: MS; 2012, 301 p.
2. Santos N, Martins MG, Sousa MS, Batalha C. Impacto da idade materna sobre os resultados perinatais e via de parto. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2009;31(7):326-34.
3. Yazlle DHEM. Gravidez na adolescência. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2006;28(8):443-5.
4. Menegatti L, Oliveira RB, Gama IL. Complicações da gravidez na adolescência. *Facider - Revista Científica* 2014; 6:17-31.
5. Cleary-GJ, Malone FD, Vidaver J, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH et al. Impact of maternal age on obstetric outcome. *Obstet Gynecol*. 2005;105(5 Pt 1):983-90.
6. Bezerra ACL, Mesquita JS, Brito MCC, Santos RB, Teixeira FV. Desafios enfrentados por mulheres primigestas em idade avançada. *R bras ci Saúde* 2015;19(2):163-8. doi: 10.4034/RBCS.2015.19.02.12
7. Santos GHN, Martins MG, Sousa MS, Batalha SJC. Impacto da idade materna sobre os resultados perinatais e via de parto. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2009;31(7): 326-34.
8. World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation, World Health Organization Technical Report Series*. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2000.

9. Santana LF, Gabriel KOF, Bischof T. A atuação do profissional enfermeiro na saúde coletiva frente ao aleitamento materno exclusivo nos seis primeiros meses de vida. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2017; 20(30):152-7.
10. Morceli G, França EL, Magalhães VB, Damasceno DC, Calderon IM, Honorio-França AC. Diabetes induced immunological and biochemical changes in human colostrum. *Acta Paediatr.* 2011;100(4):550-6. doi: 10.1111/j.1651-2227.2010.02070.x.
11. Silva RC, Escobedo JP, Gioielli LA. Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura. *Quim Nova* 2007; 30(7):1535-8.
12. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition. nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am.* 2013; 60(1):49-4. doi: 10.1016 / j.pcl.2012.10.002.
13. Santiago LTC. Perfil de citocinas no colostro em função da idade gestacional e do crescimento fetal. [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2016. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/138858z>
14. Rautava S, Nanthakumar NN, Dubert-Ferrandon A, Lu L, Rautava J, Walker WA. Breast milk-transforming growth factor- β_2 specifically attenuates IL-1 β -induced inflammatory responses in the immature human intestine via an SMAD6- and ERK-dependent mechanism. *Neonatology.* 2011; 99(3): 192-201. doi: 10.1159 / 000314109.
15. Agarwal S, Karmaus W, Davis S, Gangur V. Immune markers in breast milk and fetal and maternal body fluids: a systematic review of perinatal concentrations. *J Hum Lact.* 2011; 27: 171–86. doi: 10.1177/0890334410395761.
16. Garofalo R. Cytokines in human milk. *J Pediatr.* 2010;156 (2): 36–40. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.11.019.

17. Leguizamón Junior T, Steffani JA, Bonamigo EL. Escolha da via de parto: expectativa de gestantes e obstetras. *Rev. Bioét.* 2013;21(3):509-17. doi: 10.1590/S1983-80422013000300015.
18. Sinanoglou VJ, Cavouras D, Boutsikou T, Briana DD, Lantzouraki DZ, Paliatsiou S, et al. Factors affecting human colostrum fatty acid profile: A case study. *P. PLoS One.* 2017;12(4):e0175817. doi: 10.1371/journal.pone.0175817.
19. Trend S, Strunk T, Lloyd ML, Kok CH, Metcalfe J, Geddes DT, et al. Levels of innate immune factors in preterm and term mothers' breast milk during the 1st month postpartum. *Br J Nutr.* 2016;115(7):1178-93. doi: 10.1017/S0007114516000234.
20. Zambruni M, Villalobos A, Somasundera A, Westergaard S, Nigalye M, Turim CG, et al. Maternal and pregnancy-related factors affecting human milk cytokines among Peruvian mothers bearing low-birth-weight neonates. *J Reprod Immunol.* 2017; 120: 20–6. doi:10.1016/j.jri.2017.04.001.
21. Freitas NA, Santiago LTC, Kurokawa CS, Meira Júnior JD, Corrente JE, Rugolo LMSS. Effect of preeclampsia on human milk cytokine levels. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;25:1-5. doi: 10.1080/14767058.2018.1429395.
22. Lubetzky R, Sever O, Mimouni FB, Mandel D. Human Milk Macronutrients Content: Effect of Advanced Maternal Age. *Breastfeeding Med.* 2015;10(9):433-436. doi: 10.1089/bfm.2015.0072.
23. Costa, AGV, Sabarense CM. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. *Rev. Nutr.* 2010;23(3):445-457. doi: 10.1590/s1415-52732010000300012.

Tabela 1. Características sócio demográficas de nutrizes adolescentes, controles e de idade materna avançada incluídas no estudo.

Características	Adolescentes (n=117)	Controles (n=158)	IMA (n=39)	p
Características maternas				
Idade (anos)[#]	20 (12-23) ^{a0}	29 (24-35) ^{b0}	37 (36-46) ^{c0}	<0,0001*
Etnia^Y				
Branca	50 (42,7)	76 (48,1)	12 (30,8)	0,14
Não Branca	67 (57,3)	82 (51,9)	27 (69,2)	
Estado civil^Y				
Solteira	41 (35,0)	17 (10,7)	6 (15,4)	<0,0001*
União estável	76 (65,0)	141 (89,3)	33 (84,6)	
Profissão^Y				
Remunerada	22 (18,8)	62 (39,3)	21 (53,8)	0,0002*
Não remunerada	95 (81,2)	96 (60,7)	18 (46,2)	
Hábito tabagista^Y				
Sim	6 (5,1)	16 (10,1)	7 (17,9)	0,13
ex-tabagista	18 (15,4)	17 (10,7)	4 (10,2)	
Mãe em Convívio com Fumantes^Y				
Sim	45 (38,4)	48 (30,4)	14 (35,9)	0,36
Etilista^Y				
Sim	3 (2,6)	1 (0,6)	1 (2,6)	0,49
Prática de atividade física^Y				
Sim	11 (9,4)	8 (5,1)	2 (5,1)	0,64

[#] Teste Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn para comparação entre grupos: mediana (mínimo – máximo); ^Y Teste X² ou Teste exato de Fisher, n (%);

* estatisticamente significativo (p < 0,05); Valores seguidos de letras iguais e mesmo índice não diferem estatisticamente.

Tabela 2. Características gestacionais e obstétricas de nutrizes adolescentes, controles e de idade materna avançada incluídas no estudo.

Características	Adolescentes (n=117)	Controles (n=158)	IMA (n=39)	p
Características Gestacionais e Obstétricas				
Índice massa corpórea (IMC)[#]				
Início gestação	21,8 (14,3-38,2) ^{a1}	25,8 (16,4-49,9) ^{b1}	28,7 (19,5-43,0) ^{b1}	< 0.0001*
Final gestação	26,6(19,2-40,50) ^{a2}	30,0 (20,4-63,9) ^{b2}	31,4 (23,3-51,4) ^{b2}	< 0.0001*
Ganho de Peso (kg)[#]	11,9 (-4,3-23,3) ^{a3}	9,5 (-6,3-70,0) ^{b3}	7,0 (-2,0 – 32,0) ^{b3}	0.0004*
Paridade^γ				
Primigesta	80 (68,4)	32 (20,3)	2 (5,1)	
Secundigesta	26 (22,2)	50 (31,6)	6 (15,4)	< 0.0001*
Multigesta	11 (9,4)	76 (48,1)	31 (79,5)	
Número consultas Pré-Natal^γ				
≤7 consultas	30 (25,6)	47 (29,7)	12 (30,8)	
> 7 consultas	87 (74,4)	111 (70,3)	27 (69,2)	0,70
Tipo de parto^γ				
Vaginal	81 (69,2)	97 (61,4)	12 (30,8)	
Cesárea	36 (30,8)	61 (38,6)	27 (69,2)	0.0001*

^γ Teste X² ou Teste exato de Fisher, n (%); [#] Teste Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn para comparação entre grupos: mediana (mínimo – máximo);

* estatisticamente significativo (p < 0,05); Valores seguidos de letras iguais e mesmo índice não diferem estatisticamente.

Tabela 3. Resultados perinatais dos recém-nascidos de mães adolescentes, controles e de idade materna avançada incluídas no estudo.

Características	Adolescentes (n=117)	Controles (n=158)	IMA (n=39)	p
New Ballard (semanas, dias)[#]	39s (35s1d – 41s)	38s3d (34s2d – 41s)	38s3d (37s – 40s3d)	0,18
Peso ao nascer (Kg)[*]	3,252 ± 0,431	3,284 ± 0,483	3,297 ± 0,443	0,80
Classificação do Peso[‡]				
PIG	7 (6,0)	11 (7,0)	2 (5,1)	
AIG	104 (88,9)	136 (86,0)	32 (82,1)	0,58
GIG	6 (5,1)	11 (7,0)	5 (12,8)	
Ápgar de 1º minuto[‡]				
≥7	110 (94,0)	154 (97,5)	35 (89,7)	
<7	7 (6,0)	4 (2,5)	4 (10,3)	0,09
Ápgar de 5º minuto[‡]				
≥7	115 (98,3)	158 (100,0)	39 (100,0)	
<7	2 (1,7)	0	0	0,18
Dias de Internação[#]	2 (2 – 6)	2 (2 – 8)	2 (2 – 3)	0,09

[#] Teste Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn para comparação entre grupos: mediana (mínimo – máximo); [‡] Teste ANOVA, seguido de teste comparativo, media ± DP; [‡] Teste X² ou Teste exato de Fisher, n (%); * estatisticamente significativo (p < 0,05).

Tabela 4. Concentração, em pg/mL, das citocinas avaliadas no colostro de mães adolescentes, controles e de idade materna avançada.

Citocina (pg/mL)	Adolescentes (n=40)	Controle (n=40)	IMA (n=39)	p
IL-1 β	18,99 (2,37 – 96,55) ^{a4}	26,28 (0,99 – 261,0) ^{a4,b4}	31,32 (7,15 – 250,0) ^{b4}	0,019
IL-6	20,73 (2,68 – 90,87) ^{a5}	24,94 (1,62 – 97,99) ^{a5,b5}	42,82 (0,17 – 195,5) ^{b5}	0,04
IL-8	1276,0 (51,71 – 1921,0)	1621,0 (70,6 – 1927,0)	1602,0 (484,4 – 2080,0)	0,14
TNF- α	79,97 (14,79 – 2600,0)	84,76 (3,66 – 3369,0)	109,8 (22,79 – 5113,0)	0,22

* Teste Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn para comparação entre grupos: mediana (mínimo – máximo); Valores seguidos de letras iguais e mesmo índice não diferem estatisticamente.

APÊNDICE A

FICHA PARA COLETA DE DADOS INDIVIDUAIS

Projeto: “Perfil de citocinas inflamatórias no colostro em nutrízes nos extremos da idade reprodutiva”

Responsável: Prof^a. Dra. Gilciane Morceli/Denise Vasconcelos de Jesus Ferrari

DADOS DA PACIENTE

Nome:.....**Paciente nº**.....

Data:...../...../..... **Registro HR**.....

Data de nascimento:...../...../..... **RG:**.....

Endereço (rua, nº, cidade, CEP):

.....

Telefone: **Nacionalidade:**

Cor: Branca () Parda () Negra () Amarela ()

Estado civil: (1) casada, (2) divorciada, (3) solteira, (4) amasiada, (5) viúva

Escolaridade: Escolaridade (anos de aprovação escolar)

Exerce atividade remunerada: () Sim () Não

Profissão:..... Há exigência de esforço físico? Sim () Não ()

Hábito de fumar: Nunca fumou () Parou de fumar () Há quanto tempo?.....

Por quanto tempo fumou?..... Fuma () nº de cigarros/dia

Tipo: () cachimbo () charuto () palha () papel com filtro () outros

Convive com fumante: Sim () Não () Local: () casa () trabalho () outros

nº de pessoas?.....Quantas horas/dias?.....

Consumo bebida alcoólica: Sim () Não ()

Até 7 doses/sem. () Mais de 7 doses/sem ()

Usa drogas: Sim () Não ()

Tipo: () maconha () cocaína () craque () outros

Vias de administração: () inalatória () endovenosa () outras

Durante quanto tempo?

Já usou? Sim () Não () Quanto tempo?

Parou há quanto tempo?

Contato com substâncias tóxicas? Sim () Não () Quais?

Por quanto tempo (meses)?

Período sem contato com a(s) substância(s) (meses):

Possui algum tipo de doença? Sim () Não ()

Qual(is)?

Diabetes mellitus: () Já teve infarto: Sim () Não () Há quanto tempo:

É hipertensa: Sim () Não () É obeso? Sim () Não ()

Peso (Kg) **Altura (cm)** **IMC:**

Toma medicamento? Sim () Não ()

Qual(is)? Em que dosagem?

.....

Profissão:..... Há exigência de esforço físico? Sim () Não ()

Pratica exercício físico? Sim () Não () Com que frequência?.....

HISTÓRICO FAMILIAR

Parente com: Diabetes Mellitus: () Obesidade: () Hipertensão ()

Doença cardiovascular () Hipercolesterolemia () Outros () Quem?

Não tem () Não sabe ()

HISTÓRIA GESTACIONAL

G: P: A: C: DUM:

Pré-natal: Sim () Não () nº de consultas?.....

Intercorrências durante a gravidez: () náuseas () vômitos () dor abdominal

() dor para urinar () corrimentos () sangramento () outros

Doenças durante a gestação: Sim () Não () Tipo?.....

Tratamento: Sim () Não () Qual?.....

Fatores de risco para HIV? Sim () Não ()

AVALIAÇÕES

	Inicial	Final
Peso (kg)		
Pressão Arterial (mmHg)		

DADOS DO RECÉM-NASCIDO (RN)

Idade gestacional no dia do parto

Data do nascimento RN

Tipo de parto: () normal () cesária () fórceps () outros

Sinais de sofrimento fetal? Sim () Não ()

Qual?

Mecônio: Sim () Não ()

Tipo: () fluido () moderado () espesso

Apgar: 1'..... 5'..... 10'.....

New Ballard (NB):..... Sexo:..... Peso:..... Estatura:

PC:.....PT:.....PA:.....

Classificação do RN: () PIG () AIG () GIG

Fototerapia: Sim () Não ()

Necessidade de reanimação: () máscara () ventilação sob pressão () intubação ()

drogas Quais drogas?.....

Internação em UTI: Sim () Não () nº de dias:.....

Óbito RN: Sim () Não ()

Vasos do cordão: () 2 artérias e 1 veia () 1 artéria e 1 veia () outros

Anomalias ou malformações: Sim () Não () Quais?.....

Tipos de placenta: () normal () calcificada () outra

Data da alta.....

Total de dias de internação.....

ANEXO A – Normas de Submissão “Jornal de Pediatria”



ISSN 0021-7557 versão
impressa
ISSN 1678-4782 versão online

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Submissão de Arquivos](#)
- [Diretrizes para a preparação do original](#)
- [Instruções para envio de material para publicação](#)

Submissão de Arquivos

O Jornal de Pediatria é a publicação científica da Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP), com circulação regular desde 1934. Todo o conteúdo do Jornal de Pediatria está disponível em português e inglês no site <http://www.jped.com.br>, que é de livre acesso. O Jornal de Pediatria é indexado pelo Index Medicus/MEDLINE (<http://www.pubmed.gov>), SciELO (<http://www.scielo.org>), LILACS (<http://www.bireme.br/abd/P/lilacs.htm>), EMBASE/Excerpta Medica (<http://www.embase.com>), Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC) Data Bases (<http://www.siicsalud.com>), Medical Research Index (<http://www.purplehealth.com/medical-research-index.htm>) e University Microfilms International.

O Jornal de Pediatria publica resultados de investigação clínica em pediatria e, excepcionalmente, de investigação científica básica. Aceita-se a submissão de artigos em português e inglês. Todos os artigos são publicados em português e inglês, tanto em HTML quanto em PDF. A grafia adotada é a do inglês americano. Por isso, recomenda-se que os autores utilizem a língua com a qual se sintam mais confortáveis e confiantes de que se comunicam com mais clareza. Se um determinado artigo foi escrito originalmente em português, não deve ser submetido em inglês, a não ser que se trate de uma tradução com qualidade profissional.

Observação importante: A língua oficial de publicação do Jornal de Pediatria é o inglês e todo o site de submissão é apresentado exclusivamente em inglês.

Diretrizes para a preparação do original

Processo de revisão (*Peer review*)

Todo o conteúdo publicado pelo Jornal de Pediatria passa por processo de revisão por especialistas (*peer review*). Cada artigo submetido para apreciação é encaminhado aos editores, que fazem uma revisão inicial quanto aos padrões mínimos de exigência do Jornal de Pediatria e ao atendimento de todas as normas requeridas para envio dos originais. A seguir, remetem o artigo a dois revisores especialistas na área pertinente, selecionados de um cadastro de revisores. Os revisores são sempre de instituições diferentes da instituição de origem do artigo e são cegos quanto à identidade dos autores e ao local de origem do trabalho. Após receber ambos os pareceres, o Conselho Editorial os avalia e decide pela aceitação do artigo sem modificações, pela recusa ou pela devolução aos autores com as sugestões de modificações. Conforme a necessidade, um determinado artigo pode retornar várias vezes aos autores para esclarecimentos e, a qualquer momento, pode ter sua recusa determinada. Cada versão é sempre analisada pelo Conselho Editorial, que detém o poder da decisão final.

Tipos de artigos publicados

O Jornal de Pediatria aceita a submissão espontânea de artigos originais, artigos especiais e cartas ao editor.

Artigos originais incluem estudos controlados e randomizados, estudos de testes

diagnósticos e de triagem e outros estudos descritivos e de intervenção, bem como pesquisa básica com animais de laboratório. O texto deve ter no máximo 3.000 palavras, excluindo tabelas e referências; o número de referências não deve exceder 30. O número total de tabelas e figuras não pode ser maior do que quatro.

Artigos que relatam ensaios clínicos com intervenção terapêutica (clinical trials) devem ser registrados em um dos Registros de Ensaios Clínicos listados pela Organização Mundial da Saúde e pelo International Committee of Medical Journal Editors. Na ausência de um registro latino-americano, o Jornal de Pediatria sugere que os autores utilizem o registro www.clinicaltrials.gov, dos National Institutes of Health (NIH). O número de identificação deve ser apresentado ao final do resumo.

Acesse <http://www.equator-network.org/> para informações sobre as diretrizes a serem seguidas na pesquisa em saúde para esse tipo de artigo.

Artigos especiais são textos não classificáveis nas demais categorias, que o Conselho Editorial julgue de especial relevância. Sua revisão admite critérios próprios, não havendo limite de tamanho ou exigências prévias quanto à bibliografia.

Cartas ao editor devem comentar, discutir ou criticar artigos publicados no Jornal de Pediatria. O tamanho máximo é de 1.000 palavras, incluindo no máximo seis referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto com a carta.

São publicados, mediante convite, editoriais, comentários e artigos de revisão. Autores não convidados podem também submeter ao Conselho Editorial uma proposta para publicação de artigos dessas classificações.

Editoriais e comentários, que geralmente se referem a artigos selecionados, são encomendados a autoridades em áreas específicas. O Conselho Editorial também analisa propostas de comentários submetidas espontaneamente.

Artigos de revisão são avaliações críticas e ordenadas da literatura em relação a temas de importância clínica, com ênfase em fatores como causas e prevenção de doenças, seu diagnóstico, tratamento e prognóstico - em geral são escritos, mediante convite, por profissionais de reconhecida experiência. Metanálises são incluídas nesta categoria. Autores não convidados podem também submeter ao Conselho Editorial uma proposta de artigo de revisão, com um roteiro. Se aprovado, o autor pode desenvolver o roteiro e submetê-lo para publicação. Artigos de revisão devem limitar-se a 6.000 palavras, excluindo referências e tabelas. As referências bibliográficas devem ser atuais e em número mínimo de 30.

Orientações gerais

O arquivo original - incluindo tabelas, ilustrações e referências bibliográficas - deve estar em conformidade com os "Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas", publicado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>). Cada seção deve ser iniciada em nova página, na seguinte ordem: página de rosto, resumo em português, resumo em inglês, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e notas de rodapé, em página separada), figuras (cada figura completa, com título e notas de rodapé, em página separada) e legendas das figuras.

A seguir, as principais orientações sobre cada seção:

Página de rosto

A página de rosto deve conter todas as seguintes informações:

1. título do artigo, conciso e informativo, evitando termos supérfluos e abreviaturas; evitar também a indicação do local e da cidade onde o estudo foi realizado;
2. título abreviado (para constar no topo das páginas), com máximo de 50 caracteres, contando os espaços;
3. nome de cada um dos autores (primeiro nome e o último sobrenome; todos os demais nomes aparecem como iniciais);
4. endereço eletrônico de cada autor;
5. informar se cada um dos autores possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPq;
6. a contribuição específica de cada autor para o estudo;
7. declaração de conflito de interesse (escrever "nada a declarar" ou a revelação clara

de quaisquer interesses econômicos ou de outra natureza que poderiam causar constrangimento se conhecidos depois da publicação do artigo);

8. definição de instituição ou serviço oficial ao qual o trabalho está vinculado para fins de registro no banco de dados do Index Medicus/MEDLINE;
9. nome, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico do autor responsável pela correspondência;
10. nome, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico do autor responsável pelos contatos pré-publicação;
11. fonte financiadora ou fornecedora de equipamento e materiais, quando for o caso;
12. contagem total das palavras do texto, excluindo resumo, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas e legendas das figuras;
13. contagem total das palavras do resumo; número de tabelas e figuras.

Resumo

O resumo deve ter no máximo 250 palavras ou 1.400 caracteres, evitando o uso de abreviaturas. Não se devem colocar no resumo palavras que identifiquem a instituição ou cidade onde foi feito o artigo, para facilitar a revisão cega. Todas as informações que aparecem no resumo devem aparecer também no artigo. O resumo deve ser estruturado conforme descrito a seguir:

Resumo de artigo original

Objetivo: informar por que o estudo foi iniciado e quais foram as hipóteses iniciais, se houve alguma. Definir precisamente qual foi o objetivo principal e informar somente os objetivos secundários mais relevantes.

Métodos: informar sobre o delineamento do estudo (definir, se pertinente, se o estudo é randomizado, cego, prospectivo, etc.), o contexto ou local (definir, se pertinente, o nível de atendimento, se primário, secundário ou terciário, clínica privada, institucional, etc.), os pacientes ou participantes (definir critérios de seleção, número de casos no início e fim do estudo, etc.), as intervenções (descrever as características essenciais, incluindo métodos e duração) e os critérios de mensuração do desfecho.

Resultados: informar os principais dados, intervalos de confiança e significância estatística dos achados.

Conclusões: apresentar apenas aquelas apoiadas pelos dados do estudo e que contemplem os objetivos, bem como sua aplicação prática, dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares.

Resumo de artigo de revisão

Objetivo: informar por que a revisão da literatura foi feita, indicando se enfatiza algum fator em especial, como causa, prevenção, diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

Fontes dos dados: descrever as fontes da pesquisa, definindo as bases de dados e os anos pesquisados. Informar sucintamente os critérios de seleção de artigos e os métodos de extração e avaliação da qualidade das informações.

Síntese dos dados: informar os principais resultados da pesquisa, sejam quantitativos ou qualitativos.

Conclusões: apresentar as conclusões e suas aplicações clínicas, limitando generalizações ao escopo do assunto em revisão.

Após o resumo, inclua de três a seis palavras-chave que serão usadas para indexação. Utilize termos do Medical Subject Headings (MeSH), disponíveis em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>. Quando não estiverem disponíveis descritores adequados, é possível utilizar termos novos.

Abreviaturas

Devem ser evitadas, pois prejudicam a leitura confortável do texto. Quando usadas, devem ser definidas ao serem mencionadas pela primeira vez. Jamais devem aparecer no título e nos resumos.

Texto

O texto dos artigos originais deve conter as seguintes seções, cada uma com seu respectivo subtítulo:

1. **Introdução:** sucinta, citando apenas referências estritamente pertinentes para mostrar a importância do tema e justificar o trabalho. Ao final da introdução, os objetivos do estudo devem ser claramente descritos.

2. **Métodos:** descrever a população estudada, a amostra e os critérios de seleção; definir claramente as variáveis e detalhar a análise estatística; incluir referências padronizadas sobre os métodos estatísticos e informação de eventuais programas de computação. Procedimentos, produtos e equipamentos utilizados devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a reprodução do estudo. É obrigatória a inclusão de declaração de que todos os procedimentos tenham sido aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da instituição a que se vinculam os autores ou, na falta deste, por outro comitê de ética em pesquisa indicado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde.
3. **Resultados:** devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica. As informações contidas em tabelas ou figuras não devem ser repetidas no texto. Usar gráficos em vez de tabelas com um número muito grande de dados.
4. **Discussão:** deve interpretar os resultados e compará-los com os dados já descritos na literatura, enfatizando os aspectos novos e importantes do estudo. Discutir as implicações dos achados e suas limitações, bem como a necessidade de pesquisas adicionais. As conclusões devem ser apresentadas no final da discussão, levando em consideração os objetivos do trabalho. Relacionar as conclusões aos objetivos iniciais do estudo, evitando assertivas não apoiadas pelos achados e dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares. Incluir recomendações, quando pertinentes.

O texto de **artigos de revisão** não obedece a um esquema rígido de seções. Sugere-se uma introdução breve, em que os autores explicam qual a importância da revisão para a prática pediátrica, à luz da literatura médica. Não é necessário descrever os métodos de seleção e extração dos dados, passando logo para a sua síntese, que, entretanto, deve apresentar todas as informações pertinentes em detalhe. A seção de conclusões deve correlacionar as ideias principais da revisão com as possíveis aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

Agradecimentos

Devem ser breves e objetivos, somente a pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria. Integrantes da lista de agradecimento devem dar sua autorização por escrito para a divulgação de seus nomes, uma vez que os leitores podem supor seu endosso às conclusões do estudo.

Referências bibliográficas

As referências devem ser formatadas no estilo Vancouver, também conhecido como o estilo Uniform Requirements, que é baseado em um dos estilos do American National Standards Institute, adaptado pela U.S. National Library of Medicine (NLM) para suas bases de dados. Os autores devem consultar Citing Medicine, The NLM Style Guide for Authors, Editors, and Publishers (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed>) para informações sobre os formatos recomendados para uma variedade de tipos de referências. Podem também consultar o site "sample references" (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html), que contém uma lista de exemplos extraídos ou baseados em Citing Medicine, para uso geral facilitado; essas amostras de referências são mantidas pela NLM.

As referências bibliográficas devem ser numeradas e ordenadas segundo a ordem de aparecimento no texto, no qual devem ser identificadas pelos algarismos arábicos respectivos sobrescritos. Para listar as referências, não utilize o recurso de notas de fim ou notas de rodapé do Word.

Artigos aceitos para publicação, mas ainda não publicados, podem ser citados desde que indicando a revista e que estão "no prelo". Observações não publicadas e comunicações pessoais não podem ser citadas como referências; se for imprescindível a inclusão de informações dessa natureza no artigo, elas devem ser seguidas pela observação "observação não publicada" ou "comunicação pessoal" entre parênteses no corpo do artigo. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme recomenda o Index Medicus; uma lista com suas respectivas abreviaturas pode ser obtida através da publicação da NLM "List of Serials Indexed for Online Users", disponível no endereço <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lisiu.html>. Para informações mais detalhadas,

consulte os "Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas". Este documento está disponível em <http://www.icmje.org/>.

Abaixo, apresentamos alguns exemplos do modelo adotado pelo Jornal de Pediatria:

Artigos em periódicos:

1. Até seis autores:

Araújo LA, Silva LR, Mendes FA. Digestive tract neural control and gastrointestinal disorders in cerebral palsy. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;88:455-64.

2. Mais de seis autores:

Ribeiro MA, Silva MT, Ribeiro JD, Moreira MM, Almeida CC, Almeida- Junior AA, et al. Volumetric capnography as a tool to detect early peripheral lung obstruction in cystic fibrosis patients. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;88:509-17.

3. Organização como autor:

Mercier CE, Dunn MS, Ferrelli KR, Howard DB, Soll RF; Vermont Oxford Network ELBW Infant Follow-Up Study Group. Neurodevelopmental outcome of extremely low birth weight infants from the Vermont Oxford network: 1998-2003. *Neonatology*. 2010;97:329-38.

4. Sem autor:

Informed consent, parental permission, and assent in pediatric practice. Committee on Bioethics, American Academy of Pediatrics. *Pediatrics*. 1995;95:314-7.

5. Artigos com publicação eletrônica ainda sem publicação impressa:

Carvalho CG, Ribeiro MR, Bonilha MM, Fernandes Jr M, Procianoy RS, Silveira RC. Use of off-label and unlicensed drugs in the neonatal intensive care unit and its association with severity scores. *J Pediatr (Rio J)*. 2012 Oct 30. [Epub ahead of print]

Livros:

Blumer JL, Reed MD. Principles of neonatal pharmacology. In: Yaffe SJ, Aranda JV, eds. *Neonatal and Pediatric Pharmacology*. 3rd ed. Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins; 2005. p. 146-58.

Trabalhos acadêmicos:

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant, MI: Central Michigan University; 2002.

CD-ROM:

Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

Homepage/website:

R Development Core Team [Internet]. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2003 [cited 2011 Oct 21]. Available from: <http://www.R-project.org>

Documentos do Ministério da Saúde:

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. Atenção à saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde: cuidados gerais. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. v. 1. 192p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

Apresentação de trabalho:

Bugni VM, Okamoto KY, Ozaki LS, Teles FM, Molina J, Bueno VC, et al. Development of a questionnaire for early detection of factors associated to the adherence to treatment of children and adolescents with chronic rheumatic diseases - "the Pediatric Rheumatology Adherence Questionnaire (PRAQ)". Paper presented at the ACR/ARHP Annual Meeting; November 5-9, 2011; Chicago, IL.

Tabelas

Cada tabela deve ser apresentada em folha separada, numerada na ordem de aparecimento no texto, e conter um título sucinto, porém explicativo. Todas as explicações devem ser apresentadas em notas de rodapé e não no título, identificadas com letras sobrescritas em ordem alfabética. Não sublinhar ou desenhar linhas dentro das tabelas e não usar espaços para separar colunas. Não usar espaço em qualquer lado do símbolo ±.

Figuras (fotografias, desenhos, gráficos etc.)

Todas as figuras devem ser numeradas na ordem de aparecimento no texto. Todas as explicações devem ser apresentadas nas legendas, inclusive acerca das abreviaturas utilizadas. Figuras reproduzidas de outras fontes já publicadas devem indicar esta condição

na legenda, assim como devem ser acompanhadas por uma carta de permissão do detentor dos direitos. Fotos não devem permitir a identificação do paciente; tarjas cobrindo os olhos podem não constituir proteção adequada. Caso exista a possibilidade de identificação, é obrigatória a inclusão de documento escrito fornecendo consentimento livre e esclarecido para a publicação. Microfotografias devem apresentar escalas internas e setas que contrastem com o fundo. As ilustrações são aceitas em cores para publicação no site. Contudo, todas as figuras serão vertidas para o preto e branco na versão impressa. Caso os autores julguem essencial que uma determinada imagem seja colorida mesmo na versão impressa, solicita-se um contato especial com os editores. Imagens geradas em computador, como gráficos, devem ser anexadas sob a forma de arquivos nos formatos .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi, para possibilitar uma impressão nítida; na versão eletrônica, a resolução será ajustada para 72 dpi. Gráficos devem ser apresentados somente em duas dimensões, em qualquer circunstância. Desenhos, fotografias ou quaisquer ilustrações que tenham sido digitalizadas por escaneamento podem não apresentar grau de resolução adequado para a versão impressa da revista; assim, é preferível que sejam enviadas em versão impressa original (qualidade profissional, a nanquim ou impressora com resolução gráfica superior a 300 dpi). Nesses casos, no verso de cada figura deve ser colada uma etiqueta com o seu número, o nome do primeiro autor e uma seta indicando o lado para cima.

Legendas das figuras

Devem ser apresentadas em página própria, devidamente identificadas com os respectivos números.

Lista de verificação

Como parte do processo de submissão, os autores são solicitados a indicar sua concordância com todos os itens abaixo; a submissão pode ser devolvida aos autores que não aderirem a estas diretrizes.

1. Todos os autores concordam plenamente com a Nota de Copyright.
2. O arquivo de submissão foi salvo como um documento do Microsoft Word.
3. A página de rosto contém todas as informações requeridas, conforme especificado nas diretrizes aos autores.
4. O resumo e as palavras-chave estão na língua de submissão (inglês ou português), seguindo a página de rosto.
5. O texto é todo apresentado em espaço duplo, utiliza fonte tamanho 12 e itálico em vez de sublinhado para indicar ênfase (exceto em endereços da internet). Todas as tabelas, figuras e legendas estão numeradas na ordem em que aparecem no texto e foram colocadas cada uma em página separada, seguindo as referências, no fim do arquivo.
6. O texto segue as exigências de estilo e bibliografia descritas nas normas de publicação.
7. As referências estão apresentadas no chamado estilo de Vancouver e numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto.
8. Informações acerca da aprovação do estudo por um conselho de ética em pesquisa são claramente apresentadas no texto, na seção de métodos.
9. Todos os endereços da internet apresentados no texto (p.ex., <http://www.sbp.com.br>) estão ativos e prontos para serem clicados.

Instruções para envio de material para publicação

Para submeter novos manuscritos ou verificar o status de seus manuscritos submetidos: <https://www.evise.com/profile/#/JPED/login>.



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#)