

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Tatiane Madeira Reis

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL EM  
MODIFICAÇÕES DO COMPRIMENTO TELOMÉRICO**

Porto Alegre

2019

Tatiane Madeira Reis

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL EM  
MODIFICAÇÕES DO COMPRIMENTO TELOMÉRICO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Zubaran Goldani

Porto Alegre

2019

### CIP - Catalogação na Publicação

Madeira Reis, Tatiane  
AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL EM  
MODIFICAÇÕES DO COMPRIMENTO TELOMÉRICO / Tatiane  
Madeira Reis. -- 2019.  
71 f.  
Orientador: Marcelo Zubarani Goldani.

Coorientadora: Mariana Bohns Michalowski.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto  
de Ciências Básicas da Saúde, Curso de Biomedicina,  
Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Telômero. 2. Obesidade Infantil . 3. Tamanho  
Telomérico . 4. Obesidade e Tamanho Telomérico. 5.  
Obesidade e Telômero. I. Zubarani Goldani, Marcelo,  
orient. II. Bohns Michalowski, Mariana, coorient.  
III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Tatiane Madeira Reis

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL EM  
MODIFICAÇÕES DO COMPRIMENTO TELOMÉRICO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Biomedicina.

Aprovado em: 04 de dezembro de 2019.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Ma. Livia Fratini Dutra - UFRGS

---

Profa. Dra. Roberta Dalle Molle - Faculdade Inedi - Cesuca

---

Prof. Dr. Marcelo Zubaran Goldani - UFRGS (orientador)

---

Profa. Dra. Mariana Bohns Michalowski - UFRGS (coorientadora)

Dedico este trabalho aos que me ensinaram a seguir em frente, lutar pelos meus objetivos e vencer os obstáculos da vida, que estiveram ao meu lado desde sempre e que com muito sacrifício tornaram o meu sonho de cursar a faculdade possível: à minha mãe Zilamar e ao meu pai Olmiro (in memoriam).

## AGRADECIMENTOS

Enfim, após 8 anos de muito estudo, sofrimento, noites sem dormir, dúvidas, choros e alegrias, chegou a hora de eu escrever os agradecimentos do TCC.

Acima de tudo, agradeço a Deus. Nos dias em que eu me desesperei, que achei que não existia mais nenhuma solução, mas que vinha uma força que eu não sabia de onde e no final tudo acabava ficando bem. Isso era Deus me guiando e me mostrando que eu era capaz.

Aos meus pais e minha irmã. O parágrafo mais difícil desse TCC, onde não encontro palavras para agradecer tudo que vocês fizeram e fazem por mim. Mãe obrigada pela vida, por ser a minha base, meu alicerce, por me incentivar a lutar pelos meus sonhos, pelo teu amor incondicional, pela pessoa que me serve de exemplo, pelo teu caráter que me passou, pela a educação que me deu, por eu poder estufar o peito e sentir orgulho quando penso em ti, por todas vezes que me acalmou dizendo que tudo daria certo, por me colocar no caminho certo, pelas noites que não te deixei dormir para me ajudar a estudar, pela comida feita na hora nos dias que eu estava cheia de provas, pela casa arrumada, por me mostrar que eu era capaz, por dividir essa conquista comigo, por ser essa mulher guerreira que lutou para uma filha de zeladora e de um carpinteiro chegar na universidade federal, sem ti eu não seria nada, eu não teria conseguido chegar até aqui. Mãe eu não consigo colocar em palavras o quanto eu tenho a agradecer a ti, um muito obrigada, gratidão, tudo isso é pouco perto do que eu sinto quando penso em tudo que fez por mim. Em memória do meu pai, que infelizmente não pode estar aqui hoje comigo, num momento tão importante e feliz da minha vida, mas que tenho a certeza de que de algum lugar ele estará olhando por mim e sorrindo. Um homem guerreiro, batalhador, de poucas palavras, mas que me mostrou como devemos lutar pela vida, pelos nossos objetivos e me mostrou que o amor de um pai pela sua filha não necessariamente é demonstrado através de palavra, mas sim por gestos e dedicação. Meu pai como queria que estivesse aqui hoje para agradecer pelos finais de semana trabalhados que fazia hora extra, que sei que tu não gostava de trabalhar no sábado, mas que fez isso para poder pagar meu cursinho. Agradecer por toda a tua dedicação para eu ter um estudo de qualidade, nunca vou esquecer do dia em com lágrimas nos olhos e uma voz embargada, me contou como tu ia para escola quando era pequeno e que por inúmeros motivos não conseguiu terminar a 3ª série do ensino fundamental e logo após aquela história, tentando me conter você no final fala para mim, por isso eu fiz de tudo para ti sempre ter um ensino de qualidade mesmo que em escolas públicas e pagar teu cursinho para realizar teu sonho de fazer faculdade na Federal. É pai tua menininha chegou ao tão sonhado dia de escrever o TCC e logo virá a formatura, e tudo isso não teria acontecido sem o teu esforço, não tenho palavras para te agradecer, gratidão, obrigada é muito pouco perto de tudo

que tu fez por mim. Sei que tu nunca vai ler, mas quis deixar registrado para todos saberem que eu tive o melhor pai do mundo, te amo muito meu pai. Bruna, muito obrigada, pelo “teu quarto”, por entender todas as vezes que te xinguei quando eu estava cansada de mais por causa da UFRGS, pela ajuda com os docinhos para poder continuar a faculdade, por estar sempre do meu lado me lembrando que eu tenho a melhor irmã do mundo, te amo! Mãe, Pai e mana saibam que tudo isso só foi possível com a ajuda de vocês. Amo muito vocês!!

Ao Luis Gustavo Velho Fayh, um parágrafo somente para ti é pouco perto de tudo que tu me ajudou, sempre. Desde que a UFRGS passou a ser parte da minha vida, tu sempre estive do meu lado, me apoiando e falando que tudo ia dar certo. Foi compreensivo nos dias em que eu xingava todo mundo, principalmente tu, por conta das provas e finais de semestre. Estive ao meu lado em dois momentos muito delicados da minha vida e que coincidiram com a faculdade, esse período foi o pior para mim, mas ele só não foi mais ainda por tu estar lá comigo me dando força e me ajudando com esse teu coração maior do mundo. Tu foi essencial na minha formação, compreendendo minhas ausências em confraternizações que tu acabava indo sozinho, compreendendo que eu precisava estudar e que naquele dia eu não iria poder sair, compreendendo que as noites que eu não dormi eram necessária, que as brigas não eram para ti e sim pelo estresse que eu estava, que meus finais de semana muitas vezes eram inviáveis e que tu teria que viajar sem mim. Tu fez parte da minha vida em todos os sentidos, te admiro por ter conseguido sempre estar presente na minha vida me dando todo o apoio. Obrigada por toda tua dedicação, pela tua amizade, pelo apoio financeiro, pela parceria, pelos abraços, pelos xingões para eu melhorar, pelo amor, pelas risadas, por dividir comigo cada aprovação e por me abraçar em cada reprovação sempre me dizendo que ia dar certo no final. Sou eternamente grata por tudo. Obrigada por ser quem tu é.

À minha família que desde antes da divulgação do listão já diziam que eu ia estar nele. Vocês são a minha base, agradeço por sempre respeitarem minhas ausências nas confraternizações, churrascos, jantas, almoços, aniversários, por terem acreditado e me apoiarem na minha formação.

Aos meus amigos obrigada, por muitas vezes dividirem comigo choros, frustrações e conquistas. Débora, Luana e Roberta, obrigada por toda a compreensão, amizade, amor, pelas conversas, pelas risadas, pelas comemorações, por serem minhas irmãs desde sempre e para sempre e pelas pessoas maravilhosas que vocês são. Vocês estarão sempre comigo, sempre, não importa como e nem onde, mas estarão lá. Marília, Barbara, Rodrigo, Daniel e Giovanna amigos que a faculdade me deu, e que presente, vocês fazem parte da minha conquista, sem o apoio de vocês eu não teria chego até aqui, passamos por tantas semanas intermináveis, por provas cansativas, trabalhos que nos deixavam exaustos. Obrigada, por dividirem comigo as risadas, conquistas, frustrações, choros, provas, matérias, por me ajudarem nos dias em que eu já tinha estudado tanto que eu não conseguia mais entender nada, pelas aulas e provas em pleno janeiro, pelas noites sem

dormir estudando e tendo a companhia de vocês, por compartilharem as filas incansáveis do RU, pelas nossas conversas no Cebion antes das provas. Muito obrigada por compartilharem os momentos bons e outros nem tanto dessa jornada comigo.

Vivian Müller Hachler obrigada por conseguir deixar os meus piores dias mais leves, nos dias em que eu falava que ia desistir e ela me dizia “isso, tranca a faculdade, que tu sempre vai poder fazer pão de casa para vender”, obrigada pelas vezes em que eu cheguei e a única coisa que eu queria era chorar e você estava lá sempre me ajudando e me falando que isso era normal, pois eu estava quase entregando o TCC e ainda tinha o estágio obrigatório para surtar. Se eu consegui chegar no meu sonhado final de curso e escrevi meu TCC foi em grande parte por sua ajuda, um obrigada seria pouco por tudo que tu me ensinaste e me ajudaste, serei grata para sempre.

Aos meus professores, obrigada pelos ensinamentos, tanto em sala de aula quanto para a vida. Meu sonho não seria possível sem a ajuda de vocês. Agradeço toda paciência, dedicação e atenção que tiveram comigo, por compreenderem minhas dificuldades e não mediram esforços para tentar tornar os momentos mais temidos por mim, as provas, um pouco mais confortáveis e sem tantos traumas.

Dr<sup>a</sup>. Juliana Rombaldi Bernardi que me ajudou quando eu estava em um momento desesperador sem ter o que fazer, foi atrás para achar um laboratório para eu poder fazer meu TCC, muito obrigada. Ao meu orientador, Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Marcelo Zubaran Goldani por me aceitar como sua aluna de iniciação científica e me orientar no TCC, deu-me a oportunidade de trabalhar em um projeto. À minha coorientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mariana Bohns Michalowski que me aceitou nessa loucura de fazer meu TCC em tão pouco tempo, obrigada pelas reuniões, pelos e-mails trocados, pelas amostras, por todo o teu conhecimento passado a mim e ao apoio prestado. Ciliana, Monique e Bianca muito obrigada, por todo auxílio com experimentos e ensinamentos no laboratório, por toda ajuda com o TCC, tanto com a escrita quanto com todos os tramites.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), minha segunda casa, se não a primeira, onde aprendi muito e que tenho orgulho em dizer que estudo/estudei nela, obrigada seria pouco para tudo que eu aprendi e cresci lá dentro, por me proporcionar auxílios, tanto em recursos financeiros quanto de apoio, para eu permanecer na universidade, pois sem eles nada disso seria possível. Às agências de fomento à pesquisa: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre por permitir a execução do projeto e aos laboratórios do Centro de Pesquisa Experimental, pela ajuda dos colegas pesquisadores.



## RESUMO

**Introdução:** O comprimento telomérico tem sido descrito como um marcador do envelhecimento biológico e do risco de desenvolver doenças crônicas relacionadas à idade através de mecanismos comuns de inflamação e oxidação. Uma grande variedade de fatores leva ao encurtamento telomérico. Alguns deles são explicados através da herança genética e outros por variáveis associadas ao estilo de vida. A obesidade em adultos, por exemplo, está associada a menor comprimento dos telômeros. No entanto, estudos sobre obesidade infantil e tamanho telomérico mostraram-se inconclusivos. Esse estudo visa entender a associação existente entre o estado nutricional e a variação de tamanho de telômeros em uma coorte de crianças. **Objetivo:** avaliar o impacto da situação nutricional de crianças e o tamanho telomérico nos grupos: obesos e eutróficos. **Métodos:** O comprimento dos telômeros foi avaliado por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Para realização do cálculo foi utilizado a quantidade de DNA telomérico dividido pela quantidade de DNA de controle de cadeia simples (Razão T/S), de células da mucosa oral de crianças entre 3-6 anos. **Resultados:** Não foi encontrada diferença estatística significativa entre o comprimento dos telômeros de crianças obesas e eutróficas. **Conclusão:** Os achados deste estudo sugerem que no tempo observado, a presença de obesidade não foi o suficiente para causar alterações no tamanho telomérico. Se tal característica gerará alterações a longo prazo resta a ser esclarecido através do seguimento da coorte.

**Palavras-chave:** Comprimento telomérico; telômero; obesidade infantil; telômero infantil; obesidade e telômero;

## ABSTRACT

**Introduction:** Telomeric length has been described as a marker of biological aging and risk of developing age-related chronic diseases through common mechanisms of inflammation and oxidation. A wide variety of factors lead to telomeric shortening. Some of them are explained through genetic inheritance and others by lifestyle-related variables. Obesity in adults, for example, is associated with shorter telomere length. However, studies on childhood obesity and telomeric size have been inconclusive. This study aims to understand the association between nutritional status and telomere size variation in a cohort of children. **Objective:** To evaluate the impact of children's nutritional status and telomeric size in the groups: obese and eutrophic. **Methods:** Telomere length was evaluated by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). For the calculation, the amount of telomeric DNA divided by the amount of single-stranded control DNA (T / S Ratio) of oral mucosa cells of children aged 3-6 years was used. **Results:** No statistically significant difference was found between telomere length of obese and eutrophic children. **Conclusion:** Our findings suggest that there is no significant difference between the telomeric size of obese and eutrophic female and male children.

**Keywords:** Telomeric length; telomere; child obesity; children's telomere; obesity and telomer;

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 - Tabelas de referência por indicador:.....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 2- Estrutura do complexo telômero/shelterin.....</b>	<b>19</b>
<b>Figura 3 - Localização dos telômeros e o encurtamento na divisão celular. ....</b>	<b>20</b>
<b>Figura 4 - Mapa conceitual relacionando comprimento telomérico e morte celular. ....</b>	<b>21</b>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
1.1	OBESIDADE .....	14
1.1.1	<b>Obesidade e inflamação</b> .....	14
1.1.2	<b>Tecido adiposo e obesidade</b> .....	15
1.1.3	<b>Obesidade na Infância</b> .....	15
1.2	EVENTOS RELACIONADOS COM A GENÉTICA .....	17
1.2.1	<b>Genômica nutricional</b> .....	17
1.3	TELÔMERO E TELOMERASE .....	18
1.4	RELAÇÃO DA DIETA E O COMPRIMENTO TELOMÉRICO.....	22
1.5	QUANTIFICAÇÃO TELOMÉRICA .....	22
1.5.1	<b>Análise de PCR em tempo real</b> .....	22
1.6	JUSTIFICATIVA.....	24
1.7	OBJETIVOS .....	25
1.7.1	<b>Objetivo geral</b> .....	25
1.7.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	25
<b>2</b>	<b>ARTIGO CIENTIFÍCO</b> .....	<b>26</b>
	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>30</b>
	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>31</b>
	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
	Universo e Amostragem .....	31
	Logística .....	32
	Instrumentos e medidas .....	33
	Processamento de dados, análises estatísticas .....	35
	Análises estatística.....	35
	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>35</b>
	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>37</b>
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>3</b>	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b> .....	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>44</b>
	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>53</b>
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....	53

APÊNDICE B – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS .....	54
<b>ANEXOS .....</b>	<b>56</b>
ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA BRASILEIRA DE PEDIATRIA .....	56

## 1 INTRODUÇÃO

Telômeros são complexos de ácido desoxirribonucleico (DNA) e proteína que estão localizados nas extremidades dos cromossomos eucarióticos, eles consistem de uma série de repetições em tandem de DNA (TTAGGG). Os telômeros se encurtam em cada divisão celular em consequência de uma falha na replicação final (GREIDER CW *et al.*, 1985), esse encurtamento é um processo natural, mas que pode ser acelerado por fatores como a inflamação e o estresse oxidativo, fatores que estão ligados também à obesidade. Existe um ponto crítico onde os telômeros atingem o seu máximo encurtamento, após esse ponto, há interrupção e um mau funcionamento no ciclo celular, causando então senescência e levando à morte celular (SHIN, 2019).

Nos últimos anos, mudanças no estilo de vida têm afetado diretamente a saúde das pessoas. Dietas com um alto consumo de calorias, baixa ingestão de frutas e legumes, sedentarismo, alta ingestão de bebidas açucaradas e sódio em grandes quantidades (SBD, 2017-2018) são hábitos que passaram a ser adquiridos mais recentemente na vida moderna.

A nutrição é um fator de extrema importância na programação metabólica. Diante da preocupação atual da população em relação à sua alimentação, tem-se relatado um aumento de utilização de dietas e regimes para manter-se a forma física, por esta razão, é fundamental compreender como os nutrientes interagem com o genoma humano (FERGUSON *et al.*, 2007).

Nas últimas décadas o Brasil está passando por uma transição nutricional onde nota-se um declínio da desnutrição e um aumento do sobrepeso e obesidade infantil (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003). A obesidade é descrita por excesso de gordura corporal em relação à massa magra, já o sobrepeso é a proporção que se refere a peso maior que o desejável para a altura (OLIVEIRA *et al.*, 2003). A mudança no perfil nutricional é resultado do aumento da ingestão calórica e diminuição da atividade física, com consequente acúmulo de gordura. Para completar esse cenário, há o desmame seguido da introdução alimentar precoce de alimentos processados e de alto teor calórico.

A obesidade é atualmente considerada um problema de saúde pública: dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) afirmam que cerca de 300 milhões de pessoas possuem obesidade clínica e/ou severa em todo o mundo. A obesidade é uma patologia associada à expansão do tecido adiposo e a uma inflamação crônica, exercendo uma variedade de efeitos negativos em diversos tecidos (GONZALEZ-MUNIESA *et al.*, 2017). Essa patologia é considerada multifatorial, podendo ser modulada tanto por fatores genéticos como por fatores ambientais (PERES *et al.*, 2012).

Ao considerar a obesidade e seus aspectos genéticos e inflamatórios, há proliferação de células decorrente da infecção, consequente aumento da divisão celular e, por isso, perda de repetições teloméricas. A inflamação também levará a um estresse oxidativo que pode causar modificações oxidativas e quebra de cadeias simples de DNA (HENLE *et al.*, 1999). O dano pode se acumular nos telômeros, visto que a sequência telomérica (rica em guanina) é mais sensível a danos por oxidação (VON ZGLINICKI; PILGER; SITTE, 2000).

Através do presente projeto buscaremos avaliar se há uma relação entre o estado nutricional (eutrofia, sobrepeso ou obesidade) e o tamanho telomérico da criança, que será mensurado aos 3-6 anos de idade. O presente estudo é parte do projeto maior – IVAPSA, Impacto das Variações do Ambiente Perinatal sobre a Saúde do Recém-Nascido nos Primeiros Seis Meses de Vida e da Corte de seguimento.

## 1.1 OBESIDADE

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a obesidade é caracterizada pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura no tecido adiposo que apresenta risco para a saúde. Em adultos é empregado um cálculo, onde a medida bruta da obesidade na população é o peso de uma pessoa em quilogramas dividido pelo quadrado da sua altura em metros, resultando no índice de massa corporal (IMC). A obesidade é definida em indivíduos com uma pontuação  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ , para ser considerada obesidade grave o IMC é  $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ .

A obesidade é considerada uma doença nutricional de maior ascensão entre a população observado nos últimos anos (MARIATH *et al.*, 2007). Esse aumento acentuado está sendo atribuído ao estilo de vida sedentário, hábitos nutricionais pouco saudáveis, diminuição da atividade física e o padrão de vida corrido da população (WU, CHOU *et al.* 2014).

### 1.1.1 Obesidade e inflamação

A obesidade trata-se de uma patologia que está associada à expansão do tecido adiposo e a uma inflamação crônica de baixo grau com consequências negativas diversas em múltiplos tecidos, como tecido adiposo, hepático, muscular, entre outros. (GONZALEZ-MUNIESA *et al.*, 2017). A inflamação é um processo fisiológico e caracteriza-se por uma resposta de defesa frente a um agente agressor celular. A inflamação é considerada um processo altamente benéfico e necessário para o organismo, pois é responsável pela regeneração e reparo das estruturas danificadas (ZALDIVAR *et al.*, 2006). Normalmente, após o reparo, esta inflamação desaparece. Em caso de obesidade o fator que desencadeia esse processo é o excesso de nutrientes (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011) resultando em um aumento do tamanho do

adipócito (hipertrofia) e também do seu número (hiperplasia) (CODOÑER-FRANCH *et al.*, 2011). Esse processo inflamatório e suas consequências, irão interferir no funcionamento do tecido adiposo e seus mecanismos, levando, então, a um tecido disfuncional. O aumento na quantidade de células inflamatórias está dentre as mudanças na composição celular da massa adiposa disfuncional (SUGANAMI; OGAWA, 2010).

### **1.1.2 Tecido adiposo e obesidade**

O tecido adiposo é considerado um órgão dinâmico metabolicamente, é o local de principal armazenamento de excesso de energia, contendo funções endócrinas, sintetizando uma série de compostos biologicamente ativos que são responsáveis por regular a homeostase metabólica. É constituído por adipócitos e células chamadas fração de estroma vascular, que compreendem as células sanguíneas, células endoteliais, pericitos, células precursoras adiposas, células do sistema imunológico, entre outras (SAELY; GEIGER; DREXEL, 2012).

As mais importantes secreções do tecido adiposo são substâncias as quais são denominadas adipocinas, leptina, adiponectina, resistina e algumas citocinas, como interleucina- 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), e a proteína quimio atraiante de monócito (MCP-1), dentre outras (FERRANTE, 2013). Por isso é capaz de regular o apetite, o gasto energético, a sensibilidade periférica à insulina, a capacidade oxidativa, a absorção de lipídeos em tecidos não adiposos, como coração, fígado, células beta pancreáticas e músculo esquelético. O aumento de lipídeos na circulação é um estímulo para os adipócitos maduros presentes no tecido se expandirem. Essa maior necessidade de armazenamento, pode estimular pré-adipócitos presentes no tecido a se diferenciar em adipócitos maduros, que serão capazes de armazenar gordura. (GRAY; VIDAL-PUIG, 2007). Spalding *et al.* observaram que o número de adipócitos, tanto para indivíduos magros quanto para obesos, é definido durante a infância e adolescência com uma pequena variação durante a vida adulta, sugerindo que a hipertrofia dos adipócitos é o principal mecanismo para a expansão do tecido adiposo durante o desenvolvimento da obesidade.

### **1.1.3 Obesidade na Infância**

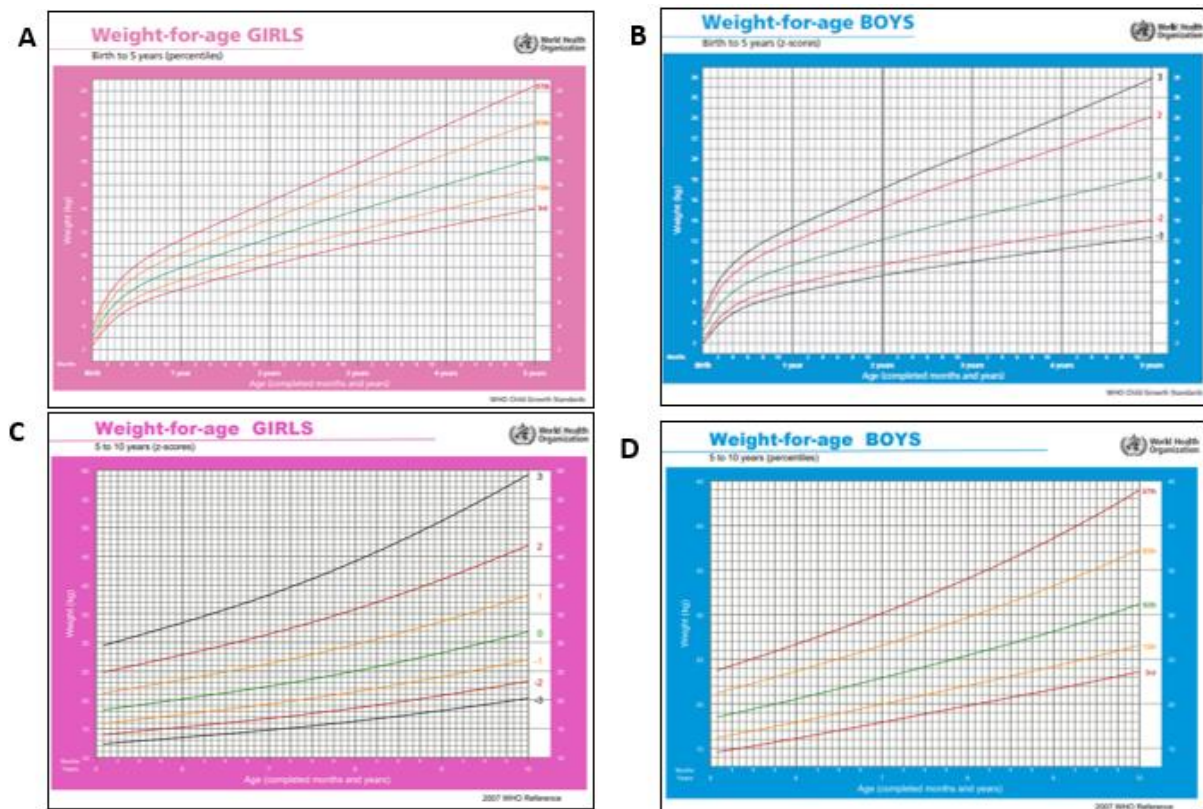
A obesidade infantil é ainda mais preocupante que a obesidade adulta, devido ao maior risco que essas crianças têm em se tornarem adultos obesos e, as inúmeras consequências que essa doença pode causar (BALABAN G E SILVA GAP, 2004). A obesidade infantil pode trazer diversas consequências, sejam elas a curto e a longo prazo. Desordens ortopédicas, os distúrbios respiratórios, a diabetes, a hipertensão arterial e as dislipidemias, além dos distúrbios



psicossociais são alguns exemplos de consequências de curto prazo. Já a mortalidade aumentada por todas as causas e por doenças coronarianas em pessoas que tiveram histórico de obesidade na infância e adolescência são consequências a longo prazo (SERDULA *et al.*, 1993).

Como já mencionado, a obesidade em adultos é medida através do IMC (IMC) (kg/m<sup>2</sup>) > 25 (sobrepeso) ou >30 (obesidade). Contudo, inúmeros métodos atualmente são aplicados para medir a obesidade em crianças; onde um dos maiores desafios é selecionar o melhor e segui-lo coerentemente para avaliar e monitorar a obesidade infantil (TOMKINS, 2006). Segundo diretrizes da OMS de 2007, a avaliação envolve a comparação de medidas com valores de referência que estão expressos em tabelas e curvas. A combinação de duas ou mais informações antropométricas básicas (peso, sexo, idade, altura) irão formar o índice antropométrico. Em crianças pode ser usado: peso/idade; altura/idade; peso/altura; IMC/idade; e comparado separadamente dependendo do sexo e da faixa etária. Os resultados são expressos por uma tabela de escore Z ou percentis como demonstrado na figura 1 disponibilizada pela OMS.

**Figura 1 - Tabelas de referência por indicador:**



(A): Gráfico de escore Z do IMC para meninas entre 5 e 19 anos de idade. (B): Gráfico de escore Z do IMC para meninos entre 5 e 19 anos de idade. (C): Gráfico de escore Z do IMC para meninas até 5 anos de idade. (D): Gráfico de escore Z do IMC para meninos até 5 anos de idade. Fonte: adaptado de OMS.

A influência genética é um dos maiores fatores ligados à obesidade. Alguns estudos mostram que o IMC é de 25 a 40% herdável. No entanto, a vulnerabilidade genética geralmente é associada a fatores ambientais que também afetam o peso. Sendo assim, mesmo que a genética desempenhe uma parte no desenvolvimento da obesidade, ela não é a única responsável (BHADORIA *et al.*, 2015).

## 1.2 EVENTOS RELACIONADOS COM A GENÉTICA

A genética vem cada vez mais fazendo parte de pesquisas. Estudos mostram que a herdabilidade pode explicar a predisposição e muitas patologias que estão presentes na vida dos indivíduos. O Projeto do Genoma Humano tem facilitado a compreensão cada vez maior de mecanismos e ajudando pesquisadores em seus projetos. No entanto, existe extensa variabilidade e muitos mecanismos ainda não bem elucidados. Dessa forma, identificar os diversos meios e mecanismos pelos quais os fatores ambientais interferem, tanto para a inativação quanto para a superativação genética pode ser uma potencial forma de descobrir focos para intervenções futuras.

A relação gene-nutriente, através de estudos, vem demonstrando constante atividade desde a concepção até a vida adulta (ORDOVAS, 2008). O ambiente externo tem a capacidade de atuar sobre o DNA, RNA e proteínas. Portanto, esses eventos podem modificar a cromatina e levar a um remodelamento ou reprogramação da expressão gênica. (TRUJILLO DAVIS, & MILNER, 2006).

### 1.2.1 Genômica nutricional

A genômica nutricional inclui termos como: a nutrigenômica e nutrigênica, a nutrigenômica que é a área de estudo científico do impacto de nutrientes na expressão gênica, estudando a interação desses nutrientes sobre genes específicos, a alteração do padrão de transcritos, proteínas ou metabolitos produzidos nessa sequência. Esse estudo pressupõe que determinados nutrientes presentes em alimentos possam estar relacionados com a ativação ou silenciamento da expressão de genes por meio de mecanismos epigenéticos, como a modificação das histonas ou do DNA. (SALES *et al.*, 2014; FARHUD *et al.*, 2010). E a nutrigênica visa avaliar o impacto dos diferentes padrões genotípicos sobre os componentes da dieta. A exploração dessas informações genômicas junto com tecnologias de alto nível permite a aquisição de novos conhecimentos que visam obter um melhor entendimento das interações entre nutrientes e genes dependendo do genótipo. (SIMOPOULOS, 2010; ORDOVAS *et al.*, 2004). No contexto dos estudos epidemiológicos nota-se um interesse

particular diante da exposição a determinados alimentos em função da variabilidade genética humana. Apesar disso ressalta-se algumas limitações para esses estudos, por falta de padrão de “dose” consumida para determinada necessidade, mesmo que as quantidades fossem conhecidas, a “dose” biológica varia bastante entre indivíduos em virtude da variabilidade genética poder afetar a absorção, a biotransformação, o metabolismo, a distribuição ou a eliminação de um nutriente ou composto bioativo (El-SOHEMY, 2007).

Além da Nutrigenética e da Nutrigenômica, a Epigenômica Nutricional também tem importância no estudo da genômica nutricional.

### 1.3 TELÔMERO E TELOMERASE

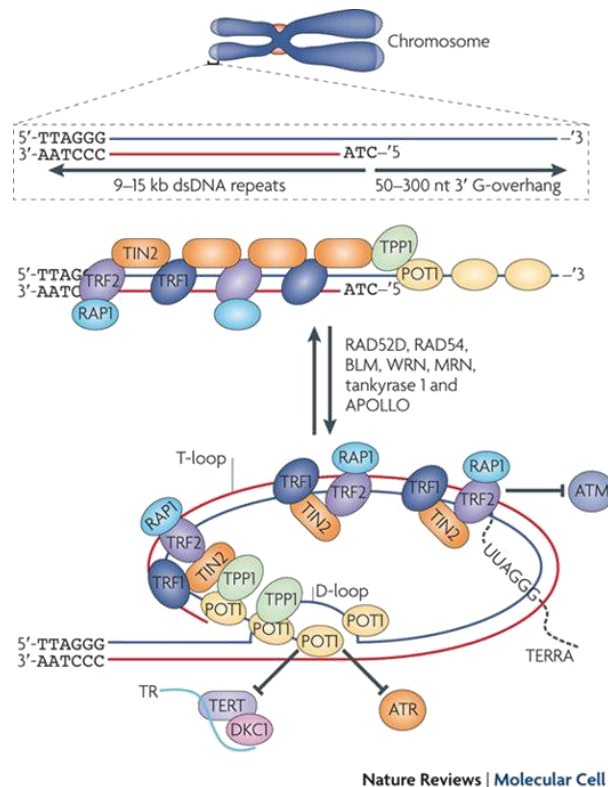
O genoma humano é composto de cópias condensadas de ácido desoxirribonucleico (DNA), que tem em sua composição, a informação genética de cada indivíduo. O DNA é composto por duas fitas que são mantidas unidas por pontes de hidrogênio. Essas fitas são compactadas juntas formando o nucleossomo, que fica compactado em um dos 23 pares de bastonetes chamados de cromossomos. O cromossomo tem uma estrutura contendo um centrômero onde ocorre a união condensada dos pares de bastonetes, e extremidades chamadas de telômeros. Estas são estruturas protetoras, compostas pelas bases TTAGGG repetidas em sequência (MOYZIS *et al.*, 1988) de cadeia dupla e por um complexo proteico específico, o *shelterin*. No caso dos telômeros humanos, o seu comprimento pode variar entre 9 e 15 Kb (CIFUENTES-ROJAS E SHIPPEN, 2012).

O DNA telomérico na maioria dos eucariotos consiste repetidas cadeias curtas e ricas em guanina (G) na extremidade 3' da região telomérica, referida como fita G. A fita complementar contendo a extremidade 5' é rica em citosina (C), referida como fita C. A fita G por sua vez é mais longa que a fita C, devido a saliência no final 3' (HUG; LINGNER, 2006). Essas fitas G se dobram para trás sobre si mesmas ao longo da cadeia dupla de DNA formando uma “volta”, conhecida como T-Loop (STEWART & WEINBERG, 2006). O T-Loop é estabilizada pela ligação do telômero às proteínas TRF1, TRF2 e Pot1 (Telomeric repeat binding factor 1, 2 e Protection of telomeres protein 1 respectivamente). Essas caudas protegem o DNA da fusão e da degradação, dificultando também a replicação cromossômica, uma vez que a polimerase, principal enzima da replicação do DNA, atua de forma linear (LINGNER *et al.*, 1995).

Em humanos as proteínas formam o complexo proteico *shelterin*, que se liga às sequências de DNA telomérico: TRF1, TRF2, RAP1 (Repressor/activator protein 1), TIN2 (TRF1 interacting protein 2), TINT1/PIP1/PTOP1 (TTP1- também designado por POT1-

interacting protein) e Pot1 (WANG; ZHAO; LU, 2015) (Figura 2). As proteínas TRF1 e TRF2 interatuam com a cadeia dupla de DNA telomérico, POT1 e TPP1 interatuam com a região de cadeia simples, TRF2 liga-se a RAP1, proteínas de ligação a segmentos de DNA de cadeia simples ou dupla interatuam entre si via TIN2 que, por sua vez, interatua com as proteínas TRF1, TRF2 e TPP1 (MAICHER *et al.*, 2012; ZVEREVA *et al.*, 2010).

**Figura 2- Estrutura do complexo telômero/shelterin.**



Legenda: Representação esquemática das proteínas de ligação ao telômero, do complexo *shelterin*.

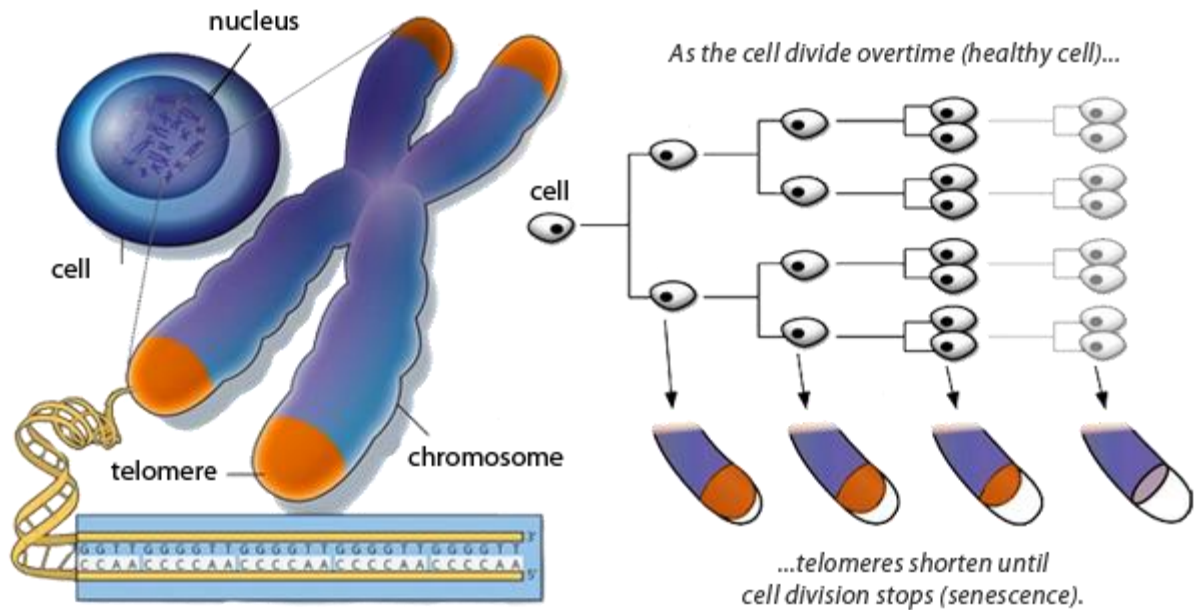
Fonte: O'Sullivan; Karlseder, 2010

O telômero tem funções importantes, entre elas: regular a expressão gênica através do silenciamento transcricional de genes localizados próximos aos telômeros (BAUR JA *et al.*, 2004) ou afastados dos telômeros (ROBIN JD *et al.*, 2014); proteger o genoma da degradação nucleotídica prematura, promovendo a formação de estruturas do DNA em forma de laço (T-Loop) (De LANGE, 2004), da fusão entre os cromossomos e preservar suas informações; proteger contra recombinação e reparos desnecessários; ajudar a garantir a correta segregação dos cromossomos durante a mitose (SHAMMAS, 2011; CANUDAS S. *et al.*, 2009).

As repetições teloméricas 5'-TTAGGG-3' encurtam em cada divisão celular, devido a complicações da replicação das extremidades dos cromossomos. Em cada replicação do DNA, o telômero sofre um encurtamento (figura 3). Isso resulta da impossibilidade da enzima DNA

polimerase que não é capaz de completar o processo de cópia (GREIDER CW *et al.*, 1985) e proceder à replicação do DNA nos segmentos terminais da molécula. Esse problema é superado com a atividade de uma enzima chamada telomerase.

Figura 3 - Localização dos telômeros e o encurtamento na divisão celular.

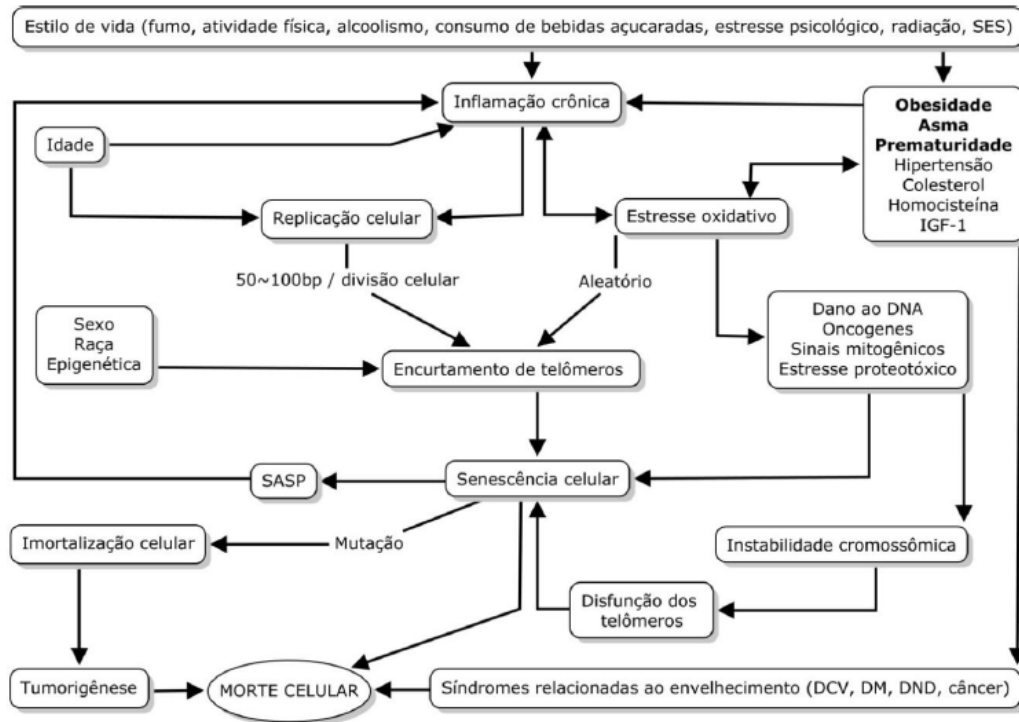


Fonte: Weekly Global Research, 2016

A telomerase é um complexo que possui em seu interior uma fita de ácido ribonucleico (RNA) que servirá de molde para a extensão do telômero, e em uma via específica de recombinação conhecida como alongamento alternativo dos telômeros (REDDEL RR *et al.*, 2003). Ela é essencial para a manutenção adequada do comprimento telomérico, pois garante a replicação do DNA telomérico durante a divisão celular (SHAY E WRIGHT, 2011). Esta é uma enzima muito ativa no período embrionário. Os telômeros são fisiologicamente curtos tanto no espermatozoide quanto no óvulo, assim como nos estágios mais iniciais após a fertilização até a fase de mórula e quando chegam a blastocisto já estão muito grandes. Presume-se que neste período intermediário ocorra a ativação da telomerase (WRIGHT *et al.*, 1996). Com exceção das células germinais, células embrionárias e células cancerígenas, a expressão da telomerase humana é desativada após o nascimento, tornando inevitável o encurtamento telomérico. (BLASCO, 2005; CONG *et al.*, 2002; LEWIS *et al.*, 2016). Portanto essa análise sugere que o comprimento do telômero pode ser um “relógio biológico” (ALLSOPP *et al.*, 1992). Além da idade biológica, o encurtamento dos telômeros tem sido relacionado a fatores

ambientais e a comportamento ou estilo de vida (CHERKAS LF *et al.*, 2008). Em um determinado ponto o seu comprimento atinge um ponto crítico e se for continuada leva à degradação cromossômica e a morte celular (SHAMMAS, 2012). (Figura 4)

**Figura 4 - Mapa conceitual relacionando comprimento telomérico e morte celular.**



Legenda: IGF-1 = fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1; SASP = fenótipo secretor associado à senescência; DCV = doença cardiovascular; DM = diabetes mellitus; DND= doenças neurodegenerativas; SES = status socioeconômico;

Fonte: Adaptado de (GLEI *et al.*, 2014)

O estresse oxidativo, desencadeado por fatores endógenos e exógenos, também pode desencadear o encurtamento do DNA telomérico. Como os telômeros contém um alto teor de guanina, o DNA telomérico é extremamente sensível a danos oxidativos e, de fato, o estresse oxidativo e a inflamação têm sido identificados como os principais determinantes no encurtamento dos telômeros (HOUBEN JM *et al.*, 2008; ZGLINICKI T *et al.*, 2005).

Recentemente, estudos tem demonstrado que o tamanho telomérico pode ser uma característica herdada e modificada (BROER *et al.*, 2013). Pesquisas mostram a influência de fatores genéticos na biologia do telômero, podendo ter uma associação entre o comprimento telomérico e uma variação na sequência de DNA que afeta somente uma base (adenina (A), timina (T), citosina (C) ou guanina (G)) (SNPs) no gene codificador da RNA telomerase, da transcriptase reversa (ATZMON *et al.*, 2009). De acordo com uma meta análise de comprimento telomérico, com 19713 indivíduos, foi encontrada uma alta herdabilidade para

este fenótipo (70%) (BROER *et al.*, 2013). O tamanho telomérico mais curto tem sido associado à patologias crônicas, incluindo: aterosclerose (BENETOS *et al.*, 2004), infarto do miocárdio (BROUILLETTE *et al.*, 2003), Alzheimer (PANOSSIAN *et al.*, 2003), e insuficiência cardíaca (OESEBURG *et al.*, 2010), além de outras doenças como disqueratose congênita (CARROLL, 2009), fibrose pulmonar idiopática (ARMANIOS, 2012) e síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson (CALADO, 2009).

#### 1.4 RELAÇÃO DA DIETA E O COMPRIMENTO TELOMÉRICO

O impacto da dieta sobre o tamanho telomérico em estudos é cada vez mais frequente, visto o aumento constante na variedade de alimentos. Achados na literatura descrevem uma possível associação entre a alimentação inadequada com o aumento do estresse oxidativo e inflamação, podendo influenciar na manutenção dos telômeros (SHAMMAS, 2011). Um estudo transversal mostrou que a suplementação vitamínica múltipla pode estar relacionada com telômeros mais longos, reforçando ainda mais a hipótese de que antioxidantes são importantes para a manutenção de telômeros. (XU Q *et al.*, 2009). Outro estudo mostrou que uma dieta com alto consumo de antioxidantes específicos e compostos anti-inflamatórios (vitamina E ou C, polifenóis, curcumina, ou ácidos graxos ômega 3) tem sido associada com telômeros mais compridos (FARZANEH-FAR *et al.*, 2010; KIECOLT-GLASER *et al.*, 2013; O'CALLAGHAN *et al.*, 2014; THOMAS *et al.*, 2009; XU *et al.*, 2009).

#### 1.5 QUANTIFICAÇÃO TELOMÉRICA

Os métodos existentes para mensurar os telômeros podem ser tanto experimentais quanto computacionais (NERSISYAN, 2016). Dentre os métodos experimentais que visam fornecer informações precisas sobre o comprimento das repetições dos telômeros em diferentes tipos de células. Fazendo a verificação do comprimento médio dos telômeros totais da célula ou de alguns cromossomos específicos, assim como a reação em cadeia da polimerase (PCR). (AUBERT *et al.*, 2012).

##### 1.5.1 Análise de PCR em tempo real

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica que possibilita a amplificação de sequências específicas de ácido desoxirribonucleico (DNA). A PCR foi originalmente descrita por SAIKI *et al.* (1985) e é utilizada em vários campos da ciência até os dias de hoje. É uma técnica com centenas de métodos descritos, cada um para uma determinada situação,

com alta especificidade e aplicabilidade. Sua principal característica está na capacidade de amplificar cópias de DNA a com pouca quantidade de amostra (CHEN; CLEJAN, 1993).

A técnica Reação em cadeia da Polimerase quantitativa (qPCR) em tempo real, que será utilizada neste trabalho, baseia-se na detecção da fluorescência que é gerada por uma molécula repórter (fluoróforo) que irá aumentar à medida que a reação ocorre. Existe o valor de Ct (Ciclo de detecção) que é inversamente proporcional ao número de cópias do DNA, portanto quanto menor a quantidade de material genético na amostra, maior será o número de ciclos para atingir uma fluorescência significativa (Thereshol) (MOCELLIN, 2003). A partir do momento em que o Thereshol é ultrapassado pode se dizer que o Ct está relacionado com a quantidade de DNA amplificado (MORTARINO *et al.*, 2004). A cada ciclo de amplificação se acumula produto fazendo como que seja detectado pela fluorescência (ORLANDO *et al.*, 1998; WONG; MEDRANO, 2005). A fluorescência identificada pelo PCR em tempo real é gerada por marcadores fluorescentes específicos. Dentre os marcadores pode ser destacado o SYBER® Green. Esse marcador é altamente sensível e se liga a cada nova cópia de DNA dupla-fita, emitindo fluorescência. Ao final dos ciclos térmicos são geradas duas curvas, a curva de dissociação e a curva térmica (Temperatura de Melting) (RAMOS-PAYÁN *et al.*, 2003).

A técnica de PCR quantitativo faz a utilização de uma enzima, a DNA polimerase, para sintetizar a nova fita de DNA. No entanto, é necessário um ponto de partida que serão os primers, específicos para a região telomérica, que permitirá amplificar o número de cópias da sequência de interesse (amplicons), que é quantificada pelo aparelho (AUBERT *et al.*, 2012). Os telômeros consistem em uma região com uma sequência de DNA curta e repetida in tandem, portanto quanto maior for a sequência telomérica analisada, maior será a disponibilidade de alvos para o primer anelar e mais amplicons serão gerados.

Em um qPCR tradicional, para cada reação é utilizado um par de primers específico, e cada tipo de amplicon é resultado do sinal lido pelo aparelho. Entretanto a mensuração telomérica necessita de duas reações diferentes, com características diferentes (número de ciclos, tempo e temperatura) em placas diferentes, aumentando suas chances de erros (EISENBERG *et al.*, 2015). Cawthon e colaboradores (2009) desenvolveram uma técnica de quantificação de telômeros, que utiliza dois pares de primers na mesma reação, um para telômeros (T) e outro para gene cópia simples (S) de referência, com duas leituras de sinal em etapas e temperaturas diferentes que contemplam as duas reações. Então a razão T / S é calculada e os valores encontrados são comparados entre os grupos para fornecer informações, em termos relativos, do comprimento dos telômeros (CAWTHON, 2002, 2009).



## 1.6 JUSTIFICATIVA

Sabe-se que a alimentação balanceada está associada à saúde do indivíduo. Apesar disso, muitos indivíduos têm hábitos menos saudáveis como dietas hipercalóricas, pouca ingestão de frutas e legumes, alta ingestão de bebidas açucaradas e sódio em grandes quantidades. Conhece-se hoje alguns mecanismos que ligam as patologias com estas formas de alimentação. A obesidade hoje é considerada um processo inflamatório. Sabe-se que tais processos agem sobre o tamanho telomérico causando encurtamento do mesmo. O presente estudo avalia se a obesidade em crianças seguidas em um amplo estudo de coorte (IVAPSA) apresentou influência no encurtamento do tamanho telomérico.

## 1.7 OBJETIVOS

### 1.7.1 **Objetivo geral**

Identificar a influência do estado nutricional com a variação do tamanho telomérico de crianças acompanhados pelo estudo de coorte IVAPSA.

### 1.7.2 **Objetivos específicos**

Identificar o estado nutricional de uma coorte de crianças na cidade de Porto Alegre.

Realizar extração e quantificação de DNA de material de mucosa oral e avaliar sua qualidade.

Realizar amplificação do DNA e análise telomérica através de PCR em tempo real.

Estudar relação entre estado nutricional e variação de tamanho telomérico.

## **2 ARTIGO CIENTIFÍCO**

O artigo intitulado “Avaliação da Influência do Estado Nutricional Em Modificações do Comprimento Telomérico” foi formatado conforme normas para publicação junto ao periódico *Jornal de Pediatria* (Anexo A).

## **Avaliação da Influência do Estado Nutricional Em Modificações do Comprimento Telomérico**

Tatiane Madeira Reis<sup>1</sup>; Mariana Bohns Michalowski<sup>1,3\*</sup>; Monique Cabral Hahn<sup>1,2</sup>; Ciliana Rechenmacher<sup>1,2</sup>; Bianca Da Rosa Cazarotto<sup>1,2</sup>; Marcelo Zubaran Goldani<sup>1,2,3</sup>; Juliana Rombaldi Bernardi<sup>1,2</sup>;

*1 Laboratório de Pediatria Translacional / Núcleo de Estudos em Saúde da Criança e do Adolescente (NESCA) – Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, RS, Brasil*

*2 Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente – Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos, 2400, 2º andar, Porto Alegre, RS, Brasil*

*3 Departamento de Pediatria – Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos, 2400, 2º andar, Porto Alegre, RS, Brasil*

\* Correspondência

Mariana Bohns Michalowski

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350 - Santa Cecília, Porto Alegre - RS, 90035-007

Email: mmichalowski@hcpa.edu.br;

## RESUMO

**Introdução:** O comprimento telomérico é uma característica confiável do envelhecimento biológico, e do risco de desenvolver doenças crônicas relacionadas à idade através de mecanismos comuns de inflamação e oxidação. Há grande variabilidade de eventos que levam ao encurtamento telomérico podendo variar desde uma herança genética até variáveis de estilo de vida, como dieta, tabagismo e exercícios físicos. Esse estudo visa entender a associação existente entre a variação de tamanho telômeros de recém-nascidos sob condições adversas e seu estado nutricional. **Objetivo:** avaliar o impacto da obesidade infantil sobre o tamanho telomérico ao nascer e na infância. **Métodos:** O comprimento dos telômeros foi avaliado por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Para realização do cálculo foi utilizado a quantidade de DNA telomérico dividido pela quantidade de DNA de controle de cadeia simples (Razão T/S), de células da mucosa oral de uma amostra de 30 crianças entre 3-6 anos de vida, divididos nos seguintes grupos de: obesos (n=3); sobrepeso (n=4); eutróficos (n=23) **Resultados:** Não foi encontrada diferença estatística significativa entre o comprimento dos telômeros de crianças obesas e eutróficas. **Conclusão:** Os achados deste estudo sugerem que no tempo observado, a presença de obesidade não causou alterações no tamanho telomérico. Se tal característica gerará alterações a longo prazo resta a ser esclarecido através do seguimento da coorte.

**Palavras Chave:** Comprimento telomérico; obesidade e tamanho telomérico; telômero; obesidade e telômero, obesidade infantil.

## ABSTRACT

**Introduction:** Telomeric length is a reliable feature of biological aging, and the risk of developing age-related chronic diseases through common mechanisms of inflammation and oxidation. There is a great variability of pathways that lead to telomeric shortening. It is modifiable and may be either explained as a genetic inheritance, or partly explained by even lifestyle variables such as diet, smoking and exercise. This study aims to understand the association between telomere size variation in children and nutritional status. **Objective:** To evaluate the impact of childhood obesity on telomeric size, where it was analyzed at birth and in childhood. **Methods:** Telomere length was evaluated by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The amount of telomeric DNA divided by the amount of single-stranded control DNA (T / S Ratio) of oral mucosa cells from a sample of 30 children aged 3-6 years was used for the calculation. groups of: obese (n = 3); overweight (n = 4); **Results:** No statistically significant difference was found between telomere length of obese and eutrophic children. **Conclusion:** The findings of this study suggest that at the time observed, the presence of obesity was not enough to cause changes in telomeric size. Whether this feature will generate long-term changes remains to be clarified by following the cohort.

**Keywords:** Telomeric length; telomere; child obesity; children's telomere; obesity and telomer;

## INTRODUÇÃO

Os telômeros exercem funções importantes, entre elas: regular a expressão gênica através do silenciamento transcricional de genes localizados próximos aos telômeros<sup>3</sup> ou afastados dos telômeros<sup>25</sup>; proteger o genoma da degradação nucleotídica prematura, promovendo a formação de estruturas do DNA,<sup>16</sup> da fusão entre os cromossomos e preservar suas informações; proteger contra recombinação e reparos desnecessários; ajudar a garantir a correta segregação dos cromossomos durante a mitose.<sup>27,10</sup> Os telômeros encurtam com cada divisão celular e, eventualmente, atingem um comprimento crítico. Os telômeros encurtam substancialmente com o aumento da idade e o comprimento dos telômeros (TL) pode ser um bioindicador do envelhecimento.<sup>26</sup>

Estudos tem associado o tamanho telomérico mais curto a patologias crônicas, incluindo: aterosclerose<sup>4</sup>, infarto do miocárdio<sup>8</sup>, Alzheimer<sup>23</sup>, e insuficiência cardíaca<sup>22</sup>, além de outras doenças como disqueratose congênita<sup>11</sup>, fibrose pulmonar idiopática<sup>1</sup> e síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson.<sup>9</sup>

A variabilidade interindividual telomérica é ampla, e isso pode ser atribuível a herdabilidade e ambiente. A herdabilidade responde por até 70% da variância em telômeros.<sup>7,20</sup> Além dos fatores genéticos, o telômero também é influenciado pelas condições ambientais. Por exemplo, o encurtamento dos telômeros tem sido relacionado a fatores ambientais e comportamento ou estilo de vida.<sup>14</sup> Como os telômeros contém um alto teor de guanina, o DNA telomérico é extremamente sensível a danos oxidativos e, de fato, o estresse oxidativo e a inflamação têm sido identificados como os principais determinantes no encurtamento dos telômeros.<sup>21,32</sup> Outro fator que vem sendo descrito por diversos estudos é uma possível associação entre a alimentação inadequada com o aumento do estresse oxidativo e inflamação, podendo influenciar na manutenção dos telômeros.<sup>27</sup>

O impacto da dieta sobre o tamanho telomérico em estudos é cada vez mais frequente, visto o aumento constante na variedade de alimentos. Achados na literatura descrevem uma possível associação entre a alimentação inadequada com o aumento do estresse oxidativo e inflamação, podendo influenciar na manutenção dos telômeros.<sup>27</sup> Por exemplo, uma dieta hipercalórica pode estar associada com um aumento da produção de espécies reativas, induzindo então o estresse oxidativo e nitrosativo. A obesidade pode reduzir a capacidade antioxidante e aumentar a lipoperoxidação miocárdica.<sup>29</sup> Portanto, o estresse oxidativo pode ser significativo nas alterações metabólicas resultantes da obesidade.<sup>28,18</sup> Esses dados dão ainda mais preocupantes quando pensamos em crianças. Segundo a Organização Mundial da Saúde, a obesidade infantil tem aumentado significativamente na maioria dos países. A obesidade

ocorre com maior frequência no primeiro ano de vida, entre 5 e 6 anos e na adolescência.<sup>15</sup> As definições de sobrepeso e obesidade em crianças são complicadas, pois a altura ainda está aumentando e a composição corporal muda com o tempo.<sup>13</sup> Diversos parâmetros são mensurados para levar a um diagnóstico de sobrepeso ou obesidade em crianças, sendo utilizado curvas e valores tabelados expressos em escore z e percentis, medidas antropométricas básicas comparadas das seguintes formas: peso/idade, altura/idade, IMC/idade, separando por faixa etária (0-5 anos, 5-19 anos) e separando cada curva por sexo.

## **OBJETIVOS**

O objetivo do estudo é avaliar a existência da possível associação entre a obesidade infantil e o comprimento telomérico em idade de 3-6 anos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Universo e Amostragem**

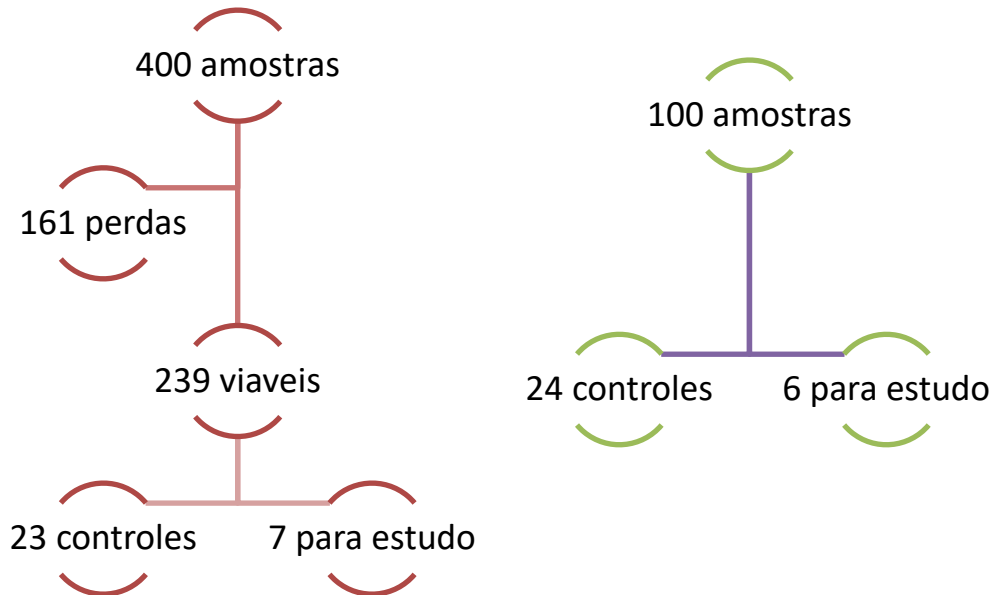
**Crterios de Inclusão:** puérperas que tiveram seu parto no Grupo Hospitalar Conceição/Hospital Fêmeina (GHC) e no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), que residam na cidade de Porto Alegre, RS, que não apresentarem hipertensão e diabetes na gestação, assim como, que não sejam tabagistas. **Crterios de exclusão:** São excluídas da amostra as puérperas com teste positivo para HIV. Do mesmo modo serão excluídas do estudo as crianças que manifestarem ou possuírem doenças congênitas diagnosticadas ao nascimento, gemelares, que apresentam peso inferior a 2500g e todas aquelas que necessitarem de internação hospitalar. Dentro desse grupo de puérperas foi feita uma subdivisão para as crianças, onde crianças controle foram selecionadas como tendo escore Z menor que +2 e maior que -2 para sexo e idade.

A amostra foi constituída de 400 amostras, provenientes de gestantes coletadas do projeto original IVAPSA (registrado no HCPA nº 11-0097) no período de 2011 a 2015, o qual contou com um tamanho da amostral final de 400 pares mãe-criança. Houve algumas perdas durante o estudo, como a recusa em continuar no estudo, além de perdas de contato dos participantes por troca de telefone ou endereço. Acontecimentos não esperados com as amostras de DNA, que tiveram baixa qualidade na extração e não puderam ser recoletadas, deixaram alguns pares incompletos, onde só havia amostra de DNA de um dos indivíduos disponíveis. Resultando assim, na exclusão de 161 casos. O tamanho amostral final foi de 239 pares de amostras para análise de telômeros, sendo que para este trabalho foram consideradas somente as crianças de



mães controle e dentro deste grupo foram selecionadas 24 crianças controle e 6 crianças com obesidade/sobrepeso para os grupos em estudo.

**Fluxograma 1 - Tamanho amostral**



#### Logística

Puérperas usuárias da maternidade do conjunto do Grupo Hospitalar Conceição / Hospital Fêmeina (GHC) e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre - RS (HCPA) convidadas a participar do estudo, juntamente com seu(ua) filho(a).

Entrevista pós-nascimento: os pesquisadores foram até os locais previamente estabelecidos, Grupo Hospitalar Conceição / Hospital Fêmeina (GHC) e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre - RS (HCPA), com o objetivo de verificar nascimentos ocorridos e as características para a exclusão ou inclusão, tanto das puérperas como das crianças, por meio de análise de arquivos médicos. Neste momento o pesquisador explica os objetivos do projeto para a puérpera (e possíveis acompanhantes) e convida para participar do estudo juntamente com seu filho. Havendo interesse o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) (Apêndice A) é apresentado, possíveis dúvidas são esclarecidas, se de acordo, a puérpera assina o TCLE. São coletados dados dos arquivos médicos das mães e para as crianças: comprimento, peso ao nascer, e para as mães: tanto do peso atual, quanto do ganho de peso na gestação (Apêndice B).

Ao final, um número de identificação específico é gerado para cada par de mãe-criança, correspondente aos questionários e aos exames realizados, para desta forma manter o anonimato

tanto da mãe quanto da criança. Na sequência, amostras de saliva da mãe e da criança foram coletadas com swab estéril para extração de DNA genômico.

#### Instrumentos e medidas

DNA e genotipagem: o DNA foi extraído da mãe e do bebê com o auxílio de *swabs* estéreis na primeira entrevista pós-parto usando o DNA Bucal *Swabs*® da Isohelix (SK-2, Isohelix, United Kingdom). As mães foram orientadas a enxaguar a boca com 100ml de água destilada, a coleta é feita raspando as células da mucosa oral e juntamente com a saliva. Em seguida o *swabs* é armazenado dentro de um *ependorff* de 2ml e cortado o restante da haste. As amostras são devidamente transportadas sob refrigeração até a unidade de armazenamento no Laboratório de Pediatria Translacional / NESCA, localizado no Centro de Pesquisa Experimental – HCPA e foram guardadas em um local com refrigeração a -20°C até sua utilização, entre 2 a 30 dias antes da extração.

Extração de DNA: a primeira etapa para a extração de DNA é a coleta de amostra biológica, que foi feito através da extração da mucosa oral e saliva das participantes. Para isto é necessário isolar o DNA dos demais componentes da célula, como proteínas, carboidratos e lipídios.

Para a extração de DNA foi seguido um protocolo previamente estabelecido e consolidado.<sup>5</sup> O processo inicial é de lise celular, através da ação de um detergente, neste protocolo é usado o TES (10 mM Tris HCl, pH 7,6, 1 mM EDTA, 0,6% SDS), então, 200 µl de TES e 5 µl de proteinase K (10 mg / mL) são adicionados aos tubos contendo o *swab* e incubados overnight à 42°C. No dia seguinte retira-se do da incubação e em seguida, com o auxílio de uma pinça inverte-se o *swab* de forma que ele fique com a haste de algodão para cima, coloca-se na minicentrífuga e dá um spin de 8 a 10 segundos. Em seguida, é adicionado NaCl para potencializar a precipitação da amostra, remove-se o *swab* e é adicionado 42 mL de NaCl saturado (6M). Após ocorre a separação dos ácidos nucleicos dos demais constituintes celulares, por meio de centrifugação, por 5 minuto a 14.000 rpm, o sobrenadante transferido para um novo tubo e o *pelet* é descartado. Junto ao novo tubo com o sobrenadante é adicionado etanol absoluto para precipitar o DNA, o volume de etanol absoluto é 500µL em cada *ependorff*. Os tubos são agitados em *vortex* e centrifugados por 2 minuto a 14.000 rpm. O etanol puro é descartado e será adicionado 1 ml de etanol a 70% e agitado em *vortex*. Em seguida, os tubos são novamente centrifugados por 2 minuto a 14.000 rpm e o sobrenadante é descartado. O enxague com etanol a 70% e a centrifugação são repetidos e, após descartado o sobrenadante, os tubos abertos são colocados na estufa a 30°C por 20 minutos para evaporar o etanol residual.

O DNA é dissolvido em 60µl de TE 10: 0,1 (10mM de Tris HCl, 0,1mM de EDTA) e para a sua quantificação foi utilizado um aparelho NanoDrop. O material foi armazenado a – 20°C até sua análise no Laboratório de Pediatria Translacional / NESCA, localizado no Centro de Pesquisa Experimental – HCPA.

Análise por reação em cadeia da polimerase quantitativa (PCR) em tempo real: As reações de PCR em tempo real foram realizadas utilizando o equipamento PCR em tempo real 7500 da Applied Biosystems. Foi adotado o protocolo de Cawthon 2002 com modificações de Barbé-Tuana (2016), o qual já está implementado e é utilizado há algum tempo no Departamento de Bioquímica da Faculdade de Farmácia da UFRGS.<sup>19</sup>

Foram preparadas duas misturas principais de reagentes de PCR, uma com o par iniciador T (telômero) e outra com o par iniciador S (gene36B4). A reação de PCR em tempo real para os telômeros contém: 2 µL de SYBR Green (I nucleic acid gel stain – Invitrogen, EUA. Estoque 10.000X – diluído em DMSO para 100x; posteriormente diluído em água para 1x para uso); 2 µL de Tampão 10x PCR MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen, EUA); 0,8 µL de MgCl<sub>2</sub> 50mM (Invitrogen, EUA); 0,04 µL de dNTP 100 mM (Invitrogen, EUA); 0,1 µL de Primer F 50 µM; 0,2 µL de Primer R 50 µM (Invitrogen, EUA); 0,08 µL de Taq Platinum (Invitrogen, EUA) e 12,28µL de água estéril autoclavada. As reações, tanto para os telômeros quanto para o 36B4 continham 25ng de DNA extraído (2,5 µL de DNA na concentração 10 ng/ µL). O volume final da reação foi de 40µL.

Na reação para o gene 36B4 a quantidade de primer F é de 0,12 µL por amostra, e o volume final de água estéril por amostra é de 12,26 µL. Tanto para o gene dos telômeros quanto do 36B4 os primers, Forward e Reverse possuíam concentração de 50 µM para uso.

Sequência de primers para análise de telômeros:

Forward (5'→3'): GGTTTTTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGT

Reverse (3'→ 5'): TCCCGACTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTA

Sequência de primers para análise de 36B4:

Forward (5'→3'): CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC

Reverse (3'→5'): CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA

O gene 36B4 foi utilizado como controle endógeno para estabelecer o número de cópias do genoma por amostra, ele é um gene autossômico de cópia simples.<sup>19,6</sup>

Foi utilizado para a reação dos telômeros o seguinte perfil térmico: Estágio 1:10 min a 95°C; Estágio 2:20 ciclos a 95°C por 15 segundos, e 54°C por 2 minutos, seguido da curva de

dissociação. Para a amplificação do gene 36B4 foi utilizado o seguinte perfil: Estágio 1:10 min a 95°C; Estágio 2:30 ciclos a 95°C por 15 segundos, e 60°C por 1 minuto, seguido da curva de dissociação. O protocolo, incluindo os primers utilizados, foi baseado no trabalho de Cawthon e col. (2002), padronizado por Grun em 2015.

#### Processamento de dados, análises estatísticas

O presente estudo irá comparar taxa de amplificação dos fragmentos de PCR do telômero e do gene cópia simples, obtida pelo cálculo  $[2^{CT(\text{telômeros})}/2^{CT(36B4)}]^{-1}$ , denominado razão T/S.<sup>12,2</sup> A variação da razão T/S é indicativa se há encurtamento do comprimento dos telômeros.

#### Análises estatística

Os dados foram inseridos em banco através do programa SPSS versão 20.0. Como os valores relativos do comprimento telomérico possuem distribuição assimétrica, foi necessário fazer a transformação em logaritmo para os valores ficarem normais, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Os testes foram feitos com logaritmo, e ao final convertidos para média geométrica e intervalo de confiança de 95%. Foi utilizada ANOVA para comparação das médias dos telômeros entre os grupos. Foi adotado o teste t para amostras independentes e foram feitas correlações de Pearson e Spearman a fim de verificar a associação entre variáveis da criança e o comprimento telomérico.

Análise: Foram analisados os tamanhos dos telômeros de crianças controle e obesas/sobrepeso em relação ao grupo pertencente separando por sexo.

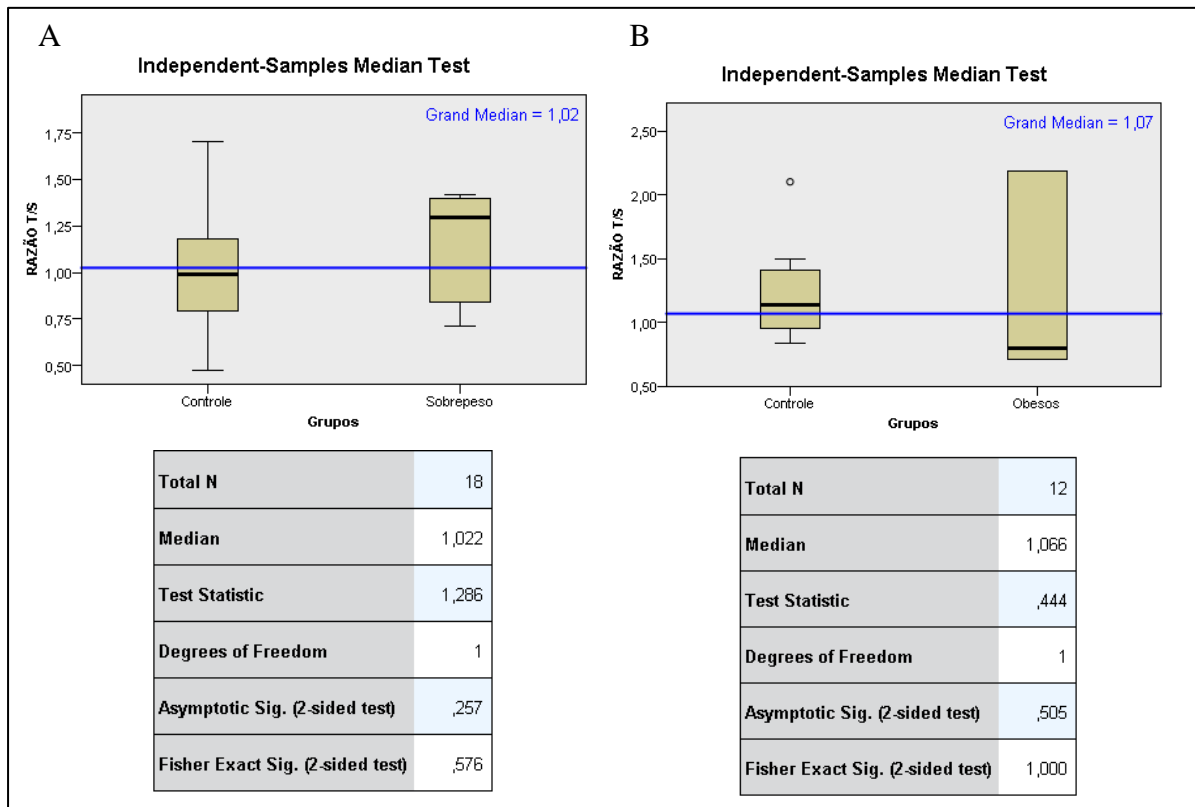
## RESULTADOS

Os resultados contaram com amostras de 30 crianças, separadas por grupos: Obesos/Sobrepeso (n=6) e Controle (n=24).

As amostras analisadas não apresentaram diferença estatística significativa ( $p > 0.05$ ).

Os telômeros são uma variável assimétrica, portanto eles não possuem uma distribuição normal dentro da população. Portanto, foram convertidos os valores em logaritmo, para possibilitar a análise de variância e testes posteriores. Ao reconverter uma análise com logaritmo, observa-se a média geométrica e o intervalo de confiança (IC) para o sexo feminino e masculino onde, a média geométrica foi de 1,02 e 1,07 respectivamente e o IC de 95% para ambos (Figura 1).

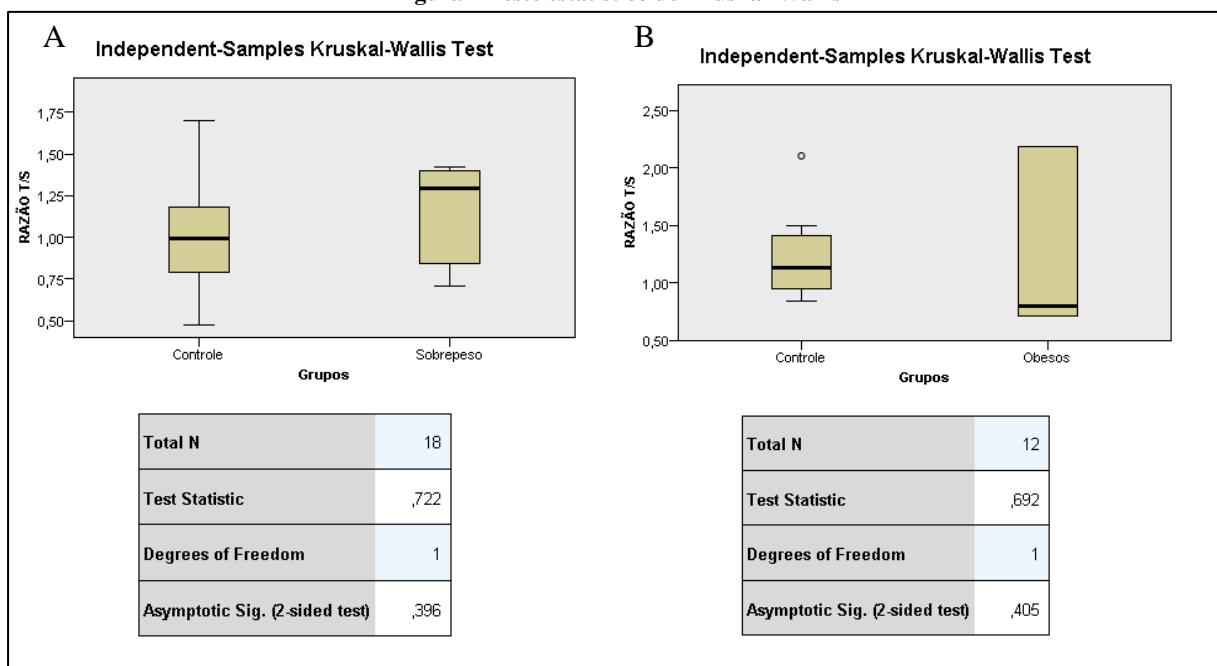
Figura 1 Análise independente da mediana geométrica.



Comprimento telomérico (razão T/S) para o sexo feminino (A) e para o masculino (B) nos diferentes grupos.

A análise mostrou que não houve diferença significativa entre o comprimento telomérico dos grupos das crianças com obesidade e eutróficas. A mediana da relação telomérica das crianças não variou entre os grupos (Figura 2).

Figura 2 Teste estatístico de Kruskal-Wallis



Boxplot – Comparação da do Comprimento telomérico (razão T/S) entre indivíduos eutróficos e obesos no sexo feminino (A) e no sexo masculino (B). Os gráficos da caixa indicam o máximo e o mínimo, os quartis inferior e superior e o valor médio da razão logarítmica T / S em cada grupo.

## DISCUSSÃO

Diversos estudos relacionam o tamanho telomérico infantil à obesidade, estresse oxidativo e inflamação. Apesar disso, poucos dados são encontrados na literatura sobre essa relação de tamanho dos telômeros na infância e a obesidade no Brasil, a maioria dos estudos foram aplicados a uma população com hábitos alimentares diferentes dos da população brasileira. Nosso estudo buscou ver a associação entre estas variáveis, uma vez que elas podem variar conforme a grupo populacional, a proposta do estudo foi investigar a associação entre o comprimento dos telômeros em crianças com obesidade e um grupo controle.

O comprimento telomérico possui distribuição heterogênea na população, inclusive nas crianças deste estudo. Conforme acontecem alterações estruturais e funcionais nos telômeros ocorre perda de nucleotídeos a cada replicação celular, o que é um processo fisiológico. Entretanto, ao atingir um determinado comprimento crítico, isso induzirá sinais de resposta ao dano no DNA, levando a célula a sair do seu ciclo celular e iniciando a cascata de senescência celular. Assim, a obesidade leva a um processo inflamatório, que aumenta a produção de adipocinas levando a uma inflamação sistêmica, essa inflamação é prejudicial aos telômeros, podendo então levar ao seu encurtamento.<sup>24</sup>

Examinamos o comprimento dos telômeros em crianças obesas e eutróficas saudáveis, e curiosamente os comprimentos de telômeros em crianças obesas não diferiam das crianças eutróficas. Parece estar aumentado esse marcador de senescência celular em pessoas obesas tendo um grande impacto na sua saúde. Embora a obesidade possa estar correlacionada com a senescência celular, pode demorar um tempo maior para levar uma consequência no tamanho do telômero, pois não apareceu no início da infância quando indivíduos obesos mais jovens foram comparados com os eutróficos.<sup>31</sup> Com o atual cenário onde vivemos, que crianças com sobrepeso ou obesidade são cada vez mais frequente esses dados são de extremo interesse.

É possível que a disparidade entre descobertas e as de trabalhos anteriores se deva a diferenças genéticas ou não genéticas indeterminadas que existem entre as populações examinadas. Sabe-se que o parte do telômero é passado para a próxima geração através dos gametas, tem outra parte que pode ser influenciada pelo ambiente: hábitos e situações externas às quais o indivíduo é exposto ao longo da vida, e por último a parte que é herdada da telomerase e sua boa funcionalidade para a manutenção dos telômeros.<sup>30,17</sup>

A principal limitação deste estudo é o tamanho da amostra relativamente pequeno, a possibilidade de que os resultados encontrados nessa população de crianças estudadas podem, devido à falta de poder estatístico do estudo, ter uma verdadeira diferença entre as médias na população infantil obesa. Um estudo apoiado por maior poder estatístico pode demonstrar um

cenário pior para crianças obesas que, como adultos obesos, poderiam ter telômeros mais curtos e, por sua vez, senescência celular prematura.

### **CONCLUSÃO**

Neste estudo, não observamos associação em nenhuma das coortes entre o escore Z do IMC e o comprimento telomérico em crianças com obesidade comparadas ao grupo controle, subdivididas por sexo. Pouco se sabe sobre as influências que os telômeros do indivíduo podem sofrer durante a infância, a literatura traz poucos trabalhos e ainda é controversa em relação ao impacto que a obesidade pode exercer sobre o telômero da criança. Ainda são necessários muitos estudos para verificar outras fontes de heterogeneidade como: (1) classificação da obesidade, (2) faixa etária (crianças vs. adultos), (3) tipo de tecido (leucócitos vs. tecido adiposo), (4) país de origem, (5) separação por sexo. Portanto estudos mais controlados adicionais são necessários para investigar estas importantes questões.

## REFERÊNCIAS

1. ARMANIOS M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet.* 13(10): 693–704, 2012.
2. BARBE-TUANA, FM. et al. Shortened telomere length in bipolar disorder: a comparison of the early and late stages of disease. *Rev Bras Psiquiatr.*, v. 38, n. 4, p. 281-286, 2016.
3. BAUR JA, Wright WE, Shay JW. Analysis of mammalian telomere position effect. *Methods Mol Biol* 2004;287:121-36.
4. BENETOS, Athanase et al. Short Telomeres Are Associated With Increased Carotid Atherosclerosis in Hypertensive Subjects. *Hypertension*, [s.l.], v. 43, n. 2, p.182-185, fev. 2004.
5. BERNARDI JR, Ferreira CF, Nunes M, da Silva CH, Bosa VL, Silveira PP, Goldani MZ. Impact of Perinatal Different Intrauterine Environments on Child Growth and Development in the First Six Months of Life--IVAPSA Birth Cohort: rationale, design, and methods. *BMC Pregnancy Childbirth* 2;12:25, 2012.
6. BOULAY, J. L. et al. Gene dosage by quantitative real-time PCR. *Biotechniques*, v. 27, n. 2, p. 228-30, 232, Aug 1999.
7. BROER, Linda et al. Meta-analysis of telomere length in 19 713 subjects reveals high heritability, stronger maternal inheritance and a paternal age effect. *European Journal Of Human Genetics*, [s.l.], v. 21, n. 10, p.1163-1168, 16 jan. 2013. Springer Nature.
8. BROUILLETTE, Scott et al. White Cell Telomere Length and Risk of Premature Myocardial Infarction. *Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology*, [s.l.], v. 23, n. 5, p.842-846, maio 2003.
9. CALADO RT. Telomeres and marrow failure. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009:338–343, 2009.



10. CANUDAS, Silvia; SMITH, Susan. Differential regulation of telomere and centromere cohesion by the Scc3 homologues SA1 and SA2, respectively, in human cells. *The Journal Of Cell Biology*, [s.l.], v. 187, n. 2, p.165-173, 12 out. 2009.
11. CARROLL KA, Ly H. Telomere dysfunction in human diseases: The long and short of it! *Int J Clin Exp Pathol* 2:528–543, 2009.
12. CAWTHON, R. M. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res*, v. 30, n. 10, p. e47, 2002.
13. CHAN, Ruth S.m.; WOO, Jean. Prevention of Overweight and Obesity: How Effective is the Current Public Health Approach. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, [s.l.], v. 7, n. 3, p.765-783, 26 fev. 2010.
14. CHERKAS LF, Hunkin JL, Kato BS, e outros. Associação entre Atividade Física no Tempo de Lazer e Comprimento de Telômeros de Leucócitos. *Arch Intern. Med.* 2008
15. DIETZ, William H.; GORTMAKER, Steven L.. Preventing Obesity in Children and Adolescents. *Annual Review Of Public Health*, [s.l.], v. 22, n. 1, p.337-353, maio 2001.
16. DE Lange T (2004). T-loop and the origin of telomeres. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5(4):323–9
17. EPEL, E.; BLACKBURN, E. O Segredo Está nos Telômeros: Receita Revolucionária Para Manter a Juventude, Viver Mais e Melhor. Ed. 1. Brasil: Planeta do Brasil, 2017.
18. FARINATTI, Paulo de Tarso Veras. Teorias biológicas do envelhecimento: do genético ao estocástico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, [s.l.], v. 8, n. 4, p.129-138, ago. 2002. FapUNIFESP (SciELO).
19. GRUN, L. K. Padronização da Técnica de PCR em Tempo Real para a Determinação do Comprimento Relativo de Telômeros em Diferentes Desordens Associadas ao Envelhecimento. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em

- Ciências Biológicas: Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde - ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
20. HJELMBORG, Jacob B et al. The heritability of leucocyte telomere length dynamics. *Journal Of Medical Genetics*, [s.l.], v. 52, n. 5, p.297-302, 13 mar. 2015.
  21. HOUBEN, Joyce M.j. et al. Telomere shortening in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Medicine*, [s.l.], v. 103, n. 2, p.230-236, fev. 2009.
  22. OESEBURG, Hisko et al. Telomere biology in healthy aging and disease. *Pflügers Archiv - European Journal Of Physiology*, [s.l.], v. 459, n. 2, p.259-268, 10 set. 2010.
  23. PANOSSIAN, L. Telomere shortening in T cells correlates with Alzheimer's disease status. *Neurobiology Of Aging*, [s.l.], v. 24, n. 1, p.77-84, fev. 2003.
  24. PRESCOTT, Jennifer et al. Epidemiologic evidence for a role of telomere dysfunction in cancer etiology. *Mutation Research/fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis*, [s.l.], v. 730, n. 1-2, p.75-84, fev. 2012. Elsevier BV.
  25. ROBIN JD, Ludlow AT, Batten K, Magdinier F, Stadler G, Wagner KR, et al. Telomere position effect: Regulation of gene expression with progressive telomere shortening over long distances. *Genes Dev* 2014;28:2464-76, 2014.
  26. SEND, Tabea Sarah et al. Telomere Length in Newborns is Related to Maternal Stress During Pregnancy. *Neuropsychopharmacology*, [s.l.], v. 42, n. 12, p.2407-2413, 11 abr. 2017. Springer Science and Business Media LLC.
  27. A SHAMMAS, Masood. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Current Opinion In Clinical Nutrition And Metabolic Care*, [s.l.], v. 14, n. 1, p.28-34, jan. 2011.
  28. SIES, Helmut; STAHL, Wilhelm; SEVANIAN, Alex. Nutritional, Dietary and Postprandial Oxidative Stress. *The Journal Of Nutrition*, [s.l.], v. 135, n. 5, p.969-972, 1 maio 2005. Oxford University Press (OUP).

29. SILVA, Wallison Junio Martins da; FERRARI, Carlos Kusano Bucalen. Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, [s.l.], v. 14, n. 3, p.441-451, 2011. FapUNIFESP (SciELO).
30. TURNER, S. & HARTSHORNE, G.M. Telomere lengths in human pronuclei, oocytes and spermatozoa. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, v. 19, n. 8, 2013
31. ZANNOLLI, Raffaella et al. Telomere length and obesity. *Acta Paediatrica*, [s.l.], v. 97, n. 7, p.952-954, jul. 2008.
32. ZGLINICKI, T.; MARTIN-RUIZ, C.. Telomeres as Biomarkers for Ageing and Age-Related Diseases. *Current Molecular Medicine*, [s.l.], v. 5, n. 2, p.197-203, 1 mar. 2005.

### 3 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os dados apresentados neste trabalho de conclusão de curso, não apresentaram diferença significativa entre o comprimento telomérico dos grupos, crianças com obesidade e eutróficas. A mediana da relação telomérica das crianças não variou entre os grupos, sugerindo que são necessários estudos populacionais adicionais em coortes jovens para identificar os traços relacionados à obesidade que expliquem se realmente existe uma relação entre o tamanho telomérico de crianças obesas comparado com crianças eutróficas, e adicionalmente, para investigar até que ponto essa diferença no comprimento dos telômeros se estende até a idade adulta. O fato de as crianças obesas terem uma idade biológica aparente significativamente maior que a idade cronológica destaca a importância da intervenção e também o apoio a esses indivíduos na primeira oportunidade de minimizar o risco de doenças futuras. Diversos estudos demonstram significância estatística fraca e heterogeneidade importante. Estudos longitudinais controlados adicionais são necessários para investigar esta importante questão.

Embora os telômeros pareçam responder a ambientes adversos durante a infância, pesquisas biológicas mais básicas precisam ser feitas antes que possamos tirar conclusões firmes sobre as relações causais entre obesidade e tamanho telomérico em crianças.

## REFERÊNCIAS

ALLSOPP, R. C. et al. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [s.l.], v. 89, n. 21, p.10114-10118, 1 nov. 1992. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

ARMANIOS, M. Telomerase and idiopathic pulmonary fibrosis. *Mutat.*, v. 730, p. 52–58, 2012.

ATZMON, G. et al. Genetic variation in human telomerase is associated with telomere length in Ashkenazi centenarians. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [s.l.], v. 107, n. 1, p.1710-1717, 13 nov. 2009. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

AUBERT, G.; Hills, M.; Lansdorp, P. M. Telomere length measurement-Caveats and a critical assessment of the available technologies and tools. *Mutat Res.*, v. 730, p. 59–67, 2012.

BALABAN G, Silva GAP. Efeito protetor do leite materno contra a obesidade infantil. *J Pediatr (Rio J)*. 2004.

BARKER, D. J. The fetal origins of type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med*, United states, v. 130, n. 4 Pt 1, p. 322-4, 1999.

BARKER, D.J. Trajectories of growth among children who have coronary events as adults. *N Engl J Med*, v. 353, n. 17, p. 1802-9, Oct 27 2005.

BATISTA FILHO, Malaquias; RISSIN, Anete. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. *Cadernos de Saúde Pública*, [s.l.], v. 19, n. 1, p.181-191, 2003. FapUNIFESP (SciELO).

BAUR JA, Wright WE, Shay JW. Analysis of mammalian telomere position effect. *Methods Mol Biol* 2004;287:121-36.

BENETOS, Athanase et al. Short Telomeres Are Associated With Increased Carotid Atherosclerosis in Hypertensive Subjects. *Hypertension*, [s.l.], v. 43, n. 2, p.182-185, fev. 2004. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

BHADORIA, Ajeetsingh et al. Childhood obesity: Causes and consequences. *Journal Of Family Medicine And Primary Care*, [s.l.], v. 4, n. 2, p.187-192, 2015.

BLASCO MA (2005). Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet* 6:611–622.

BROER, Linda et al. Meta-analysis of telomere length in 19 713 subjects reveals high heritability, stronger maternal inheritance and a paternal age effect. *European Journal Of Human Genetics*, [s.l.], v. 21, n. 10, p.1163-1168, 16 jan. 2013. Springer Nature.

BROUILLETTE, Scott et al. White Cell Telomere Length and Risk of Premature Myocardial Infarction. *Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology*, [s.l.], v. 23, n. 5, p.842-846, maio 2003. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

CALADO, R. T. Telomeres and marrow failure. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, v. 2009, p. 338–343, 2009.

CANUDAS S, Smith S. Differential regulation of telomere and centromere cohesion by the Scc3 homologues SA1 and SA2 respectively, in human cells. *J Cell Biol* 2009;187:165-73.

CARROLL, K. A.; LY, H. Telomere dysfunction in human diseases: The long and short of it! *Int J Clin Exp Pathol*, v. 2, p. 528–543, 2009.

CAWTHON, R. M. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Research*, v. 37, n. 3, 2009.

CAWTHON, R. M. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res*, v. 30, n. 10, p. e47, 2002.

CHANG GQ, Gaysinskaya V, Karatayev O, Leibowitz SF. Dieta materna rica em gordura e programação fetal: aumento da proliferação de neurônios produtores de peptídeos hipotalâmicos que aumentam o risco de comer em excesso e obesidade. *J Neurosci* . 2008; 28 (46): 12107-12119.

CHEN, B F; CLEJAN, S. Rapid preparation of tissue DNA from paraffin-embedded blocks and analysis by polymerase chain reaction. **Journal Of Histochemistry & Cytochemistry**, [s.l.], v. 41, n. 5, p.765-768, maio 1993. SAGE Publications.

CHERKAS, Lynn F.. The Association Between Physical Activity in Leisure Time and Leukocyte Telomere Length. *Archives Of Internal Medicine*, [s.l.], v. 168, n. 2, p.154-158, 28 jan. 2008. American Medical Association (AMA).

CHOI, Sang-woon; FRISO, Simonetta. Epigenetics: A New Bridge between Nutrition and Health. *Advances In Nutrition*, [s.l.], v. 1, n. 1, p.8-16, 21 out. 2010.

CIFUENTES-ROJAS, Catherine; SHIPPEN, Dorothy E.. Telomerase regulation. *Mutation Research/fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis*, [s.l.], v. 730, n. 1-2, p.20-27, fev. 2012. Elsevier BV.

CODOÑER-FRANCH P, Valls-Bellés V, Arilla-Codoñer A, Alonso-Iglesias E. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Transl Res*. 2011;158(6):369-84.

CONG YS, Wright WE, Shay JW (2002). Human Telomerase and Its Regulation. *Microbiol Mol Biol Rev* 66(3): 407–425.

COMINETTI Cristiane, Posicionamento da “The Academy of Nutrition and Dietetics”:  
GENÔMICA NUTRICIONAL, 2013 disponível em:  
[http://www.sban.org.br/por\\_dentro/informativos/124/posicionamento-da-%E2%80%9Cthe-academy-of-nutrition-and-dietetics%E2%80%9D-genomica-nutricional](http://www.sban.org.br/por_dentro/informativos/124/posicionamento-da-%E2%80%9Cthe-academy-of-nutrition-and-dietetics%E2%80%9D-genomica-nutricional) acesso em: 14/05/2019.

COSTA, Everton de Brito Oliveira; PACHECO, Cristiane. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, [s.l.], v. 34, n. 2, p.125-136, 24 dez. 2013.

DE LANGE T (2004). T-loop and the origin of telomeres. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5(4):323–9.

EBERLE C, Ament C. Diabetic and metabolic programming: mechanisms altering the intrauterine milieu. *Pediatr* 2012:1-11, 2012.

EL-SOHEMY A (2007). Nutrigenetics. *Forum Nutr* 60: 25–30.

EISENBERG, D. T. A.; Kuzawa, C. W.; Hayes, M. G. Improving qPCR telomere length assays: controlling for well position effects increases statistical power. *Am J Human Biol.*, v. 27, n. 4, p. 570-575, 2015.

ERIKSSON, J. G. et al. Effects of size at birth and childhood growth on the insulin resistance syndrome in elderly individuals. *Diabetologia*, v. 45, n. 3, p. 342-8, Mar 2002.

FARHUD D, Zarif Yeganeh M, Zarif Yeganeh M (2010). Nutrigenomics and Nutrigenetics. *Iranian Journal of Public Health* 39(4):1-14.

FARZANEH-Far R, Lin J, Epel ES, Harris WS, Blackburn EH, Whooley MA (2010). Association of marine omega-3 fatty acid levels with telomeric aging in patients with coronary heart disease. *JAMA* 303:250–7.

FENECH M, El-Sohemy A, Cahill L, Ferguson LR, French TA, Tai ES, Milner J, Koh WP, Xie L, Zucker M, Buckley M, Cosgrove L, Lockett T, Fung KY, Head R (2011). Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints on the Current Status and Applications in Nutrition Research and Practice. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 4(2): 69–89.

FERRANTE, A. W.. The immune cells in adipose tissue. *Diabetes, Obesity And Metabolism*, [s.l.], v. 15, n. 3, p.34-38, set. 2013.

FERGUSON, L. R., Shelling, A. N. Lauren, D., Heyes, J. A., & McNabb, W. C. (2007). Nutrigenomics and gut health. *Mutation Research* 622 (2007) 1–6.

FOWDEN, A. L.; GIUSSANI, D. A.; FORHEAD, A. J. Intrauterine programming of physiological systems: Causes and consequences. *Physiology*, v. 21, p. 29-37, 2006.

GLEI, Dana A. et al. Shorter Ends, Faster End? Leukocyte Telomere Length and Mortality Among Older Taiwanese. *The Journals Of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, [s.l.], v. 70, n. 12, p.1490-1498, 17 out. 2014. Oxford University Press (OUP).

GONZÁLEZ-MUNIESA, Pedro et al. Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, [s.l.], v. 3, n. 1, p.167-177, 15 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC.

GRAY, Sarah L.; VIDAL-PUIG, Antonio J.. Adipose Tissue Expandability in the Maintenance of Metabolic Homeostasis. *Nutrition Reviews*, [s.l.], v. 65, n. 6, p.7-12, 1 jun. 2007.

GREGOR, Margaret F.; HOTAMISLIGIL, Gökhan S.. Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annual Review Of Immunology*, [s.l.], v. 29, n. 1, p.415-445, 23 abr. 2011. Annual Reviews.

GREIDER CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 1985;43:405-13.

HALES CN & Barker D J. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull* 2001; 60: 5-20.

HENLE, Ernst S. et al. Sequence-specific DNA Cleavage by Fe<sup>2+</sup>-mediated Fenton Reactions Has Possible Biological Implications. *Journal Of Biological Chemistry*, [s.l.], v. 274, n. 2, p.962-971, 8 jan. 1999. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB).



HOUBEN, Joyce M.j. et al. Telomere length assessment: Biomarker of chronic oxidative stress?. *Free Radical Biology And Medicine*, [s.l.], v. 44, n. 3, p.235-246, fev. 2008. Elsevier BV.

HOW, Lifang, Xiao Hui Zhang, Dong Wang e Andrea A. Baccarelli. “Exposições químicas ambientais e epigenética humana”. *International journal of epidemiology* 41 1 (2012): 79-105.

HOWELL, K. R., Powell, T. L. Effects of maternal obesity on placental function and fetal development. *Reproduction*, 2017, 153 R97–R108.

HUG, Nele; LINGNER, Joachim. Telomere length homeostasis. *Chromosoma*, [s.l.], v. 115, n. 6, p.413-425, 2 jun. 2006. Springer Nature.

KIECOLT-Glaser JK, Epel ES, Belury MA, Andridge R, Lin J, Glaser R, Malarkey WB, Hwang BS, Blackburn E (2013). Omega-3 fatty acids, oxidative stress, and leukocyte telomere length: a randomized controlled trial. *Brain Behav Immun* 28:16–24.

LANGLEY-EVANS, S. C.; MCMULLEN, S. Developmental Origins of Adult Disease. *Med Princ Pract.*, v. 19, p. 87-98, 2010.

LAW, C. M. et al. Fetal, infant, and childhood growth and adult blood pressure: a longitudinal study from birth to 22 years of age. *Circulation*, v. 105, n. 9, p. 1088-92, Mar 5 2002.

LEWIS KA, Tollefsbol TO (2016). Regulation of the Telomerase Reverse Transcriptase Subunit through Epigenetic Mechanisms. *Front Genet* 7:83.

LIDDLE, R. A.; JIRTLE, R. L. Epigenetic silencing of genes in human colon cancer. *Gastroenterology*, Philadelphia, v. 131, p. 960-962, 2006.

LINGNER, Joachim, et al. "Telomerase e replicação final do DNA: não é mais um problema de cadeia?" *Science* , vol. 269, n. 5230, 1995.

MAICHER, André; KASTNER, Lisa; LUKE, Brian. Telomeres and disease: Enter TERRA. *Rna Biology*, [s.l.], v. 9, n. 6, p.843-849, jun. 2012.

MARIATH, Aline Brandão et al. Obesidade e fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis entre usuários de unidade de alimentação e nutrição. *Cadernos de Saúde Pública*, [s.l.], v. 23, n. 4, p.897-905, abr. 2007.

MOCELLIN, S. et al. The dual role of IL-10. *Trends in Immunology*, v. 24, n. 1, p. 36-43, 1// 2003.

MORTARINO, M. et al. Quantitative PCR in the diagnosis of Leishmania. *Parassitologia*, Roma, v. 46, n. 1-2, p.163-167, 2004.

MOYZIS, R. K. et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)<sub>n</sub>, present at the telomeres of human chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 85, p. 6622–6626, 1988.

NERSISYAN, L. Integration of Telomere Length Dynamics into Systems Biology Framework: A Review. *Gene Regulation and Systems Biology*, v. 10, p. 35-42, 2016.

O'CALLAGHAN N, Parletta N, Milte CM, Benassi-Evans B, Fenech M, Howe PR (2014). Telomere shortening in elderly individuals with mild cognitive impairment may be attenuated with omega-3 fatty acid supplementation: a randomized controlled pilot study. *Nutrition* 30:489–91.

OESEBURG, Hisko et al. Telomere biology in healthy aging and disease. *Pflügers Archiv - European Journal Of Physiology*, [s.l.], v. 459, n. 2, p.259-268, 10 set. 2009. Springer Nature.

OLIVEIRA, Ana Mayra A. de et al. Sobrepeso e obesidade infantil: influência de fatores biológicos e ambientais em Feira de Santana, BA. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, [s.l.], v. 47, n. 2, p.144-150, abr. 2003. FapUNIFESP (SciELO).

ORDOVAS, J.M. 2004. Symposium on “New sights into variability in lipid requirement” The quest for cardiovascular health in the genomic era: nutrigenetics and plasma lipoproteins. *Proceedings of Nutrition Society*, 63: 145-152.

ORDOVAS, Jose. Diet/Genetic Interactions and Their Effects on Inflammatory Markers. *Nutrition Reviews*, [s.l.], v. 65, p.203-207, 28 jun. 2008. Oxford University Press (OUP).

ORLANDO C, Pinzani P, Pazzagli M: Developments in quantitative PCR. *Clin Chem Lab Med* 1998, 36:255-269.

O'SULLIVAN, Roderick J.; KARLSEDER, Jan. Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, [s.l.], v. 11, n. 3, p.171-181, 3 fev. 2010. Springer Science and Business Media LLC.

PANOSSIAN, L. Telomere shortening in T cells correlates with Alzheimer's disease status. *Neurobiology Of Aging*, [s.l.], v. 24, n. 1, p.77-84, fev. 2003. Elsevier BV.

PERES, Stela Verzinhasse et al. Prevalência de excesso de peso e seus fatores associados em adolescentes da rede de ensino público de Piracicaba, São Paulo. *Revista Paulista de Pediatria*, [s.l.], v. 30, n. 1, p.57-64, 2012. FapUNIFESP (SciELO).

PILGAARD, K. et al. Differential nongenetic impact of birth weight versus third-trimester growth velocity on glucose metabolism and magnetic resonance imaging abdominal obesity in young healthy twins. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 96, n. 9, p. 2835-43, Sep 2011.

RAMOS-PAYAN, R. et al. Quantification of Cytokine Gene Expression Using an Economical Real-Time Polymerase Chain Reaction Method Based on SYBR Green I. *Scandinavian Journal Of Immunology*, [s.l.], v. 57, n. 5, p.439-445, maio 2003.

RAVELLI, A. C. et al. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr*, v. 70, n. 5, p. 811-6, Nov 1999.

REDDEL RR, Bryan TM. Alternative lengthening of telomeres: dangerous road less travelled. *Lancet*. 2003;361:1840–1841.

ROBIN JD, Ludlow AT, Batten K, Magdinier F, Stadler G, Wagner KR, et al. Telomere position effect: Regulation of gene expression with progressive telomere shortening over long distances. *Genes Dev* 2014;28:2464-76.

SAELY, Christoph H.; GEIGER, Kathrin; DREXEL, Heinz. Brown versus White Adipose Tissue: A Mini-Review. *Gerontology*, [s.l.], v. 58, n. 1, p.15-23, 2012.

SALES N, Pelegrini P, Goersch M (2014). Nutrigenomics: Definitions and Advances of This New Science. *Journal of nutrition and metabolism* 202759.

SBD. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2017-2018. Grupo editorial nacional. São Paulo: 2017.

SERDULA, M.k. et al. Do Obese Children Become Obese Adults? A Review of the Literature. *Preventive Medicine*, [s.l.], v.22, n.2, p.167-177, mar. 1993. Elsevier BV.

SHAMMAS M. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2011;14(1):28.

SHAY JW, Wright WE (2011). Role of telomeres and telomerase in cancer. *Semin Cancer Biol* 21(6): 349–353.

SHILATIFARD, Ali. Chromatin Modifications by Methylation and Ubiquitination: Implications in the Regulation of Gene Expression. *Annual Review Of Biochemistry*, [s.l.], v. 75, n. 1, p.243-269, jun. 2006.

SHIN, Yun-a. How Does Obesity and Physical Activity Affect Aging?: Focused on Telomere as a Biomarker of Aging. *Journal Of Obesity & Metabolic Syndrome*, [s.l.], v. 28, n. 2, p.92-104, 30 jun. 2019. Korean Society for the Study of Obesity.

SIMOPOULOS AP. Nutrigenetics/nutrigenomics. *Annu Rev Public Health* 2010;31:53–68.

SPALDING, Kirsty L. et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*, [s.l.], v. 453, n. 7196, p.783-787, 4 maio 2008. Springer Science and Business Media LLC.

A STEWART, Sheila; WEINBERG, Robert A.. Telomeres: Cancer to Human Aging. *Annual Review Of Cell And Developmental Biology*, [s.l.], v. 22, n. 1, p.531-557, nov. 2006. Annual Reviews.

SUGANAMI T, Ogawa Y. Adipose tissue macrophages: their role in adipose tissue remodeling. *J Leukoc Biol*. 2010.

TOMKINS, Andrew. Que padrões usar para medir obesidade em crianças? *Jornal de Pediatria*, [s.l.], v. 82, n. 4, p.246-248, ago. 2006. FapUNIFESP (SciELO).

THOMAS P, Wang YJ, Zhong JH, Kosaraju S, O'Callaghan NJ, Zhou XF, Fenech M (2009). Grape seed polyphenols and curcumin reduce genomic instability events in a transgenic mouse model for Alzheimer's disease. *Mutat Res* 661:25–34.

TRUJILLO, Elaine; DAVIS, Cindy; MILNER, John. Nutrigenomics, Proteomics, Metabolomics, and the Practice of Dietetics. *Journal Of The American Dietetic Association*, [s.l.], v. 106, n. 3, p.403-413, mar. 2006. Elsevier BV.

VON ZGLINICKI T, Pilger R, Sitte N. Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts. *Free Radic Biol Med* 2000.

WANG, Caiqin; ZHAO, Li; LU, Shiming. Role of TERRA in the Regulation of Telomere Length. *International Journal Of Biological Sciences*, [s.l.], v. 11, n. 3, p.316-323, 2015. Ivyspring International Publisher.

WONG, Marisa L.; MEDRANO, Juan F.. Real-time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques*, [s.l.], v. 39, n. 1, p.75-85, jul. 2005. Future Science Ltd.

World Health Organization. *Obesity: preventing and controlling the global epidemic*. São Paulo: Roca; 2004.

WRIGHT, W. E., Piatyszek, M. A., Rainey, W. E., Byrd, W. and Shay, J. W. (1996), Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Dev. Genet.*, 18: 173-179.

WU, C. Y., Y. C. Chou, et al. (2014). "Association of body mass index with all-cause and cardiovascular disease mortality in the elderly." *PLoS One* 9(7): e102589.

XU Q, Parks CG, DeRoo LA, Cawthon RM, Sandler DP, Chen H (2009). Multivitamin use and telomere length in women. *Am J Clin Nutr* 89:1857–63.

ZALDIVAR, F.; WANG-RODRIGUES, J.; NEMET, D.; SCHWINDT, C.; GALASSETTI, P.; MILLS, P.J.; WILSON, L.D.; COOPER, D.M. Constitutive pro- and anti-inflammatory cytokine and growth factor response to exercise in leukocytes. *J Appl Physiol.*, 100: 1124-1133, 2006.

ZGLINICKI, T.; MARTIN-RUIZ, C.. Telomeres as Biomarkers for Ageing and Age-Related Diseases. *Current Molecular Medicine*, [s.l.], v. 5, n. 2, p.197-203, 1 mar. 2005. Bentham Science Publishers Ltd.

ZVEREVA, M. I.; SHCHERBAKOVA, D. M.; DONTSOVA, O. A.. Telomerase: Structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (moscow)*, [s.l.], v. 75, n. 13, p.1563-1583, dez. 2010. Pleiades Publishing Ltd.

## APÊNDICES

### Apêndice A - Termo De Consentimento Livre E Esclarecido

Seu filho(a) recém-nascido \_\_\_\_\_ e você \_\_\_\_\_ estão sendo convidados(as) a participar da pesquisa intitulada “Impacto das Variações do Ambiente Perinatal sobre a Saúde do Recém-Nascido nos Primeiros Seis Meses de Vida” que tem como objetivo principal compreender os efeitos a longo prazo de diferentes eventos ocorridos durante a gestação sobre o crescimento, o comportamento, o metabolismo e o neurodesenvolvimento infantil, assim como a identificação precoce de vulnerabilidade para efeitos deletérios destas variações. O tema escolhido justifica-se pelo número de estudos que têm demonstrado que problemas de saúde ocorridos durante a gestação podem influenciar na saúde do indivíduo.

Para alcançar os objetivos será realizada entrevista no pós-parto do alojamento conjunto e marcaremos 6 encontros com você e seu(a) filho(a), nos quais serão realizadas algumas medidas como peso, estatura, circunferência da cintura e medida das dobras cutâneas sua e do seu bebê, além da coleta de saliva. Serão realizados, também, questionários referentes à condição de saúde e nutrição, como: hábito alimentar, histórico de doenças, condições de moradia, depressão pós-parto, estresse, cuidado materno, entre outros. Todas as medidas citadas não oferecem riscos previsíveis. Os dados de identificação serão confidenciais e os nomes reservados. Caso optar por não participar, você e seu filho(a) não serão prejudicados e, se for identificado algum problema, a partir destas medidas, sendo de seu interesse, encaminharemos para tratamento em um serviço público de saúde. Os dados obtidos serão utilizados somente para este estudo, sendo os mesmos armazenados durante 5 (cinco) anos e após totalmente destruídos (conforme preconiza a Resolução 196/96).

Eu, \_\_\_\_\_ fui informada:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
- de que a minha participação e a do meu é voluntária e terei a liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, sem que isto traga prejuízo para a minha vida pessoal e nem para o atendimento prestado ao meu filho (a);
- da segurança de que eu e meu (a) filho (a) não seremos identificados quando da divulgação dos resultados e as informações serão utilizadas somente para fins científicos do presente projeto de pesquisa;
- de que se existirem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.
- sobre o projeto de pesquisa e a forma como será conduzido e que em caso de dúvida ou novas perguntas poderei entrar em contato com qualquer integrante do NESCA – Núcleo de Estudos da Criança e do Adolescente pelo telefone (51) 3359 8515 ou no próprio local na Rua Ramiro Barcellos 2350, 11º andar, sala 1132.
- também que, se houverem dúvidas quanto a questões éticas, poderei entrar em contato com Daniel Demétrio Faustino da Silva, Coordenador-geral do Comitê de Ética em Pesquisa do GHC pelo telefone 3357-2407, endereço Av. Francisco Trein 596, 3º andar, Bloco H, sala 11

Declaro que recebi cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, ficando outra via com o pesquisador.

\_\_\_\_\_  
 Nome da mãe ou responsável  
 Data \_\_\_/\_\_\_/201\_\_

\_\_\_\_\_  
 Assinatura

Marcelo Zubaran Goldani \_\_\_\_\_  
 Nome do pesquisador responsável  
 Data \_\_\_/\_\_\_/201\_\_

\_\_\_\_\_  
 Assinatura

## Apêndice B – Instrumento de coleta de dados



## PÓS-PARTO

## "IVAPSA"

Identificação:

Prontuário mãe:

Prontuário criança:

Nome do Hospital: _____	NUHOSPITAL _____
Data da entrevista: ____/____/____	GDE ____/____/____
Entrevistador(a): _____	ENTREV _____
A1) Nome da mãe: _____	
Endereço: _____ _____ ( ) casa ( ) apartamento	
Referência / Como chegar: _____	
Têm planos para se mudar? Se sim, informações do novo endereço _____	
Telefone fixo: ( ) _____	
Outros telefones para contato: ( ) _____	
Unidade de Saúde (Pré-natal): _____	
Linha de ônibus: _____	
E-mail: _____	
<b>DADOS PARA CONHECIMENTO DOS GRUPOS DE ESTUDO:</b>	
( 1 ) Diabetes ( 2 ) Hipertensão ( 3 ) Tabagismo ( 4 ) RCIU idiopático ( 5 ) Controle	
<b>DADOS GERAIS DA MÃE</b>	
A2) Qual é sua data de nascimento? ____/____/____	PNASC ____/____/____
A3) Cor ou raça da mãe? Declarada (1) branca (2) preta (3) amarela (4) parda (5) indígena Observada (1) branca (2) preta (3) amarela (4) parda (5) indígena	CORMAED _____ CORMAEO _____
A4) Cor ou raça do pai? Declarada (1) branca (2) preta (3) amarela (4) parda (5) indígena Observada (1) branca (2) preta (3) amarela (4) parda (5) indígena (8) NSA (9) IGN	CORPAID _____ CORPAIO _____
A5) Qual é a idade do pai da criança? _____ anos completos (777) Não sabe	PIDADE _____
A6) Quantas pessoas moram na sua casa, incluindo a mãe e criança? _____	PPESS _____
A7) Dessas, quantas pessoas são adultas? _____	PPESSA _____
A8) Quantos irmãos você tem ou teve? _____	PIRMA _____
A9) Qual a sua situação conjugal atual? (1) Casada ou mora com companheiro (3) Viúva (2) Solteira, sem companheiro ou separada (4) Divorciada	PCONJU _____
A10) Qual a idade de sua menarca (primeira menstruação)? _____ anos	PMENAR _____
A11) Você já engravidou antes? SE NÃO PULE PARA QUESTÃO A38. (0) Não (1) Sim	PFILHOS _____

DADOS ANTROPOMÉTRICOS ATUAIS – MÃE E CRIANÇA				
D135) <b>Peso da mãe + peso do bebê</b>	(1°) _____ Kg	(2°) _____ Kg	Média: _____ Kg	<b>15PESMB__ kg</b>
D136) <b>Peso da mãe</b>	(1°) _____ Kg	(2°) _____ Kg	Média: _____ Kg	<b>15PESOM__ kg</b>
D137) <b>Peso do bebê?</b>	(1°) _____ g	(2°) _____ g	Média: _____ g	<b>15PESOCR__ g</b>
D138) <b>Circunferência da cintura da mãe?</b>	(1°) _____ cm	(2°) _____ cm	Média: _____ cm	<b>15CCM__ cm</b>



## ANEXOS

## ANEXO A – Normas De Publicação Da Revista Brasileira De Pediatria

**JORNAL DE PEDIATRIA**

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Pediatria

## GUIA PARA AUTORES

**SUMÁRIO**

•	<b>Descrição</b>	<b>p.1</b>
•	<b>Fator de Impacto</b>	<b>p.1</b>
•	<b>Fontes de Indexação</b>	<b>p.1</b>
•	<b>Comitê Editorial</b>	<b>p.1</b>
•	<b>Guia para autores</b>	<b>p.3</b>



ISSN: 1678-4782

**DESCRIÇÃO**

Publicação bimensal da Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP), em circulação desde 1934. O Jornal de Pediatria publica artigos originais e artigos de revisão, abrangendo as diversas áreas da pediatria. Através da publicação e divulgação de relevantes contribuições científicas da comunidade médico-científica nacional e internacional da área de pediatria, o Jornal de Pediatria busca elevar o padrão da prática pediátrica e do atendimento médico especializado em crianças e adolescentes.

**FATOR DE IMPACTO**

2018: 1,689 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2019

**FONTES DE INDEXAÇÃO**

MEDLINE®

LILACS - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

Index Medicus

EMBASE

SciELO - Scientific Electronic Library Online

University Microfilms International

Excerpta Medica

Sociedad Iberoamericana de Informacion Cientifica (SIIC) Data Bases

Science Citation Index Expanded

Journal Citation Reports - Science Edition

**COMITÊ EDITORIAL****Editor-chefe**

**Renato Soibelman Procianoy**, Professor Titular, Departamento de Pediatria e Cuidados Infantis, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

**Editor Associado**

**Crésio de Aragão Dantas Alves** – Professor Adjunto, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil

**Conselho Editorial Executivo**

**Antonio José Ledo da Cunha** - Professor Titular, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Dirceu Solé** - Professor Titular, Departamento de Pediatria, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

**Gisélia Alves Pontes da Silva** - Professora Titular, Departamento de Gastroenterologia Pediátrica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

**João Guilherme Bezerra Alves** - Professor Titular, Departamento de Pediatria, Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brasil

**Magda Lahorgue Nunes** - Professora Adjunta, Departamento de Pediatria e Medicina Interna/Neurologia, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

**Marco Aurélio Palazzi Sáfiadi** - Professor Adjunto, Departamento de Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

**Paulo Augusto Moreira Camargos** - Professor Titular, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

**Conselho Editorial**

**Adrian Sandler**, Olson Huff Center, Mission Children's Hospital, Asheville, EUA

**Alan H. Jobe**, Division of Pulmonary Biology, University of Cincinnati, Cincinnati, EUA

**Andrea Biondi**, Clinica Pediatrica and Centro Ricerca Tettamanti, Università di Milano-Bicocca, Monza, Itália

**Andrew Bush**, Department of Paediatric Respiratory Medicine, Imperial School of Medicine at National Heart and Lung Institute, Londres, Inglaterra

**Ann E. Thompson**, Department of Critical Care Medicine, Children's Hospital of Pittsburgh, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, EUA

**Augusto Sola**, St Jude Hospital and Masimo Corporation, Irvine, CA, EUA

**Clemax C. Sant'Anna**, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

**Eduardo Bancalari**, Division of Neonatology, University of Miami Hospital, Miami, EUA

**Fernando C. Barros**, Faculdade de Medicina, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, Brasil

**Francisco E. Martinez**, Departamento de Puericultura e Pediatria, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil

**Francisco J. Penna**, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

**Gerd Döring**, University of Tübingen, Tübingen, Alemanha

**Jacques Lacroix**, Department of Pediatrics, Université de Montréal, Montreal, Canadá

**Jaderson C. da Costa**, Instituto do Cérebro, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

**Jean-Christophe Mercier**, Division of Pediatric Emergency Medicine, Université Paris Diderot, Paris, França

**John O. Warner**, Department of Pediatrics, Imperial College London, Londres, Inglaterra

**Luiz G. Tone**, Departamento de Puericultura e Pediatria, Serviço de Oncologia Pediátrica, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil

**Marco A. Barbieri**, Departamento de Puericultura e Pediatria, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil

**Marisa M. Mussi-Pinhata**, Departamento de Puericultura e Pediatria, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil

**Nelson A. Rosário**, Departamento de Alergia, Imunologia e Pneumologia Pediátrica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil

**Richard A. Polin**, Division of Neonatology, Children's Hospital of New York, Nova Iorque, EUA

**Richard N. Fine**, School of Medicine, Stony Brook University, Stony Brook, Nova Iorque, EUA

**Robert C. Tasker**, Department of Paediatrics, School of Clinical Medicine, University of Cambridge, Cambridge, Inglaterra

**Ruth Guinsburg**, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil

**Shlomo Shinnar**, Department of Pediatrics, Montefiore Medical Center, Bronx, Nova Iorque, EUA

**T. Michael O'Shea**, Department of Pediatrics, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, EUA

**Themis R. da Silveira**, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

**Yvan Vandenberg**, Department of Pediatrics, Vrije Universiteit Brussel, Bruxelas, Bélgica

### Tipos de Artigo

O Jornal de Pediatria aceita submissões de artigos originais, artigos de revisão e cartas ao editor.

**Artigos originais** incluem relatos de estudos controlados e randomizados, estudos de triagem e diagnóstico e outros estudos descritivos e de intervenção, bem como registros sobre pesquisas básicas realizadas com animais de laboratório (ver seção **Resultados dos ensaios clínicos** mais adiante). Os manuscritos nesta categoria não devem exceder 3.000 palavras (excluindo página de rosto, referências e anexos), 30 referências e quatro tabelas e figuras. Acesse <http://www.equator-network.org/> para informações sobre as diretrizes a serem seguidas na pesquisa em saúde para esse tipo de artigo.

**Artigos de revisão** incluem meta-análises, avaliações sistemáticas e críticas da literatura sobre temas de relevância clínica, com ênfase em aspectos como causa e prevenção de doenças, diagnóstico, tratamento e prognóstico. Os artigos de revisão não devem exceder 6.000 palavras (excluindo página de rosto, referências e anexos) e devem citar no mínimo 30 referências atualizadas. Normalmente, profissionais de reconhecida experiência são convidados a escrever artigos de revisão. As metanálises estão incluídas nesta categoria. O Jornal de Pediatria também considera artigos de revisão não solicitados. Entre em contato pelo e-mail [assessoria@jped.com.br](mailto:assessoria@jped.com.br) para submeter um esboço ou roteiro ao Conselho Editorial antes de submeter o manuscrito completo. Acesse <http://www.equator-network.org/> para informações sobre as diretrizes a serem seguidas na pesquisa em saúde para esse tipo de artigo.

**Cartas ao editor** costumam expressar uma opinião, discutir ou criticar artigos publicados anteriormente no Jornal de Pediatria. As cartas não devem exceder 1.000 palavras e seis referências. Sempre que possível, uma resposta dos autores do artigo ao qual a carta se refere será publicada junto com a carta.

**Editoriais e comentários**, que normalmente fazem referência a artigos selecionados, são solicitados a especialistas na área. O Conselho Editorial pode considerar a publicação de comentários não solicitados, desde que os autores apresentem um esboço ao Conselho Editorial antes de submeter o manuscrito.

### Idioma

Os trabalhos podem ser enviados em português ou inglês. Os artigos são publicados em inglês na versão impressa, e em inglês e português no website (html e pdf). É utilizada a ortografia americana. Portanto, os autores são aconselhados a usar o idioma com o qual eles se sentirem mais à vontade e acreditarem que se comunicarão com mais clareza. Se determinado artigo tiver sido escrito originalmente em português os autores não devem enviar uma versão em inglês, a menos que seja uma tradução de qualidade profissional.

### Check-list para submissão

Você pode usar esta lista para fazer um check-list final do seu artigo antes de enviá-lo para avaliação pela revista. Por favor, verifique a seção relevante neste Guia para Autores para obter mais detalhes.

#### **Certifique-se de que os seguintes itens estão presentes:**

Um autor foi designado como o autor para correspondência, incluindo-se seus detalhes de contato: e-mail e endereço postal completo.

Todos os arquivos necessários foram entregues:

#### *Manuscrito*

Incluir palavras-chave

Todas as figuras (incluir legendas relevantes)

Todas as tabelas (incluindo títulos, descrição, notas de rodapé)

Certifique-se de que todas citações de figuras e tabelas no texto correspondem aos arquivos enviados

Arquivos suplementares (quando necessário)

#### *Considerações adicionais*

A gramática e ortografia foram verificadas

Todas as referências mencionadas na seção Referências são citadas no texto, e vice-versa

Foi obtida permissão para uso de material protegido por direitos autorais de outras fontes (incluindo a Internet)

Foram feitas declarações de conflitos de interesse relevantes

As políticas da revista detalhadas neste guia foram revisadas.

Para mais informações, visite o nosso Centro de suporte.

## ANTES DE COMEÇAR

### *Ética na publicação*

Por favor veja nossas páginas informativas sobre [Ética na publicação](#) e [Diretrizes éticas para publicação em revistas científicas](#).

### *Declaração de conflito de interesse*

Todos os autores devem divulgar quaisquer relações financeiras e pessoais com outras pessoas ou organizações que possam influenciar de forma inadequada (viés) seu trabalho. Exemplos de potenciais conflitos de interesse incluem empregos, consultorias, propriedade de ações, honorários, testemunhos de peritos remunerados, pedidos de patentes/inscrições e subsídios ou outros tipos de financiamento. Caso não haja conflitos de interesse, por favor, registre isso: "Conflitos de interesse: nenhum". [Mais Informações](#).

### *Declaração de envio e verificação*

A submissão de um manuscrito implica que o trabalho descrito não foi publicado anteriormente (exceto sob a forma de resumo ou como parte de uma palestra ou tese acadêmica publicada, ou como pré-impressão eletrônica, consulte a seção "[Publicação múltipla, redundante ou concorrente](#)" de nossa política de ética para mais informações), que não está sendo avaliado para publicação em outro lugar, que sua publicação foi aprovada por todos os autores e tácita ou explicitamente pelas autoridades responsáveis onde o trabalho foi realizado e que, se aceito, não será publicado em outro lugar na mesma forma, em inglês ou em qualquer outro idioma, inclusive eletronicamente, sem o consentimento por escrito do detentor dos direitos autorais. Para verificar a originalidade do manuscrito, ele pode ser verificado pelo serviço de detecção de originalidade [CrossCheck](#).

### *Uso de linguagem inclusiva*

A linguagem inclusiva é um reconhecimento à diversidade, um ato de respeito a todas as pessoas, é sensível às diferenças e promove oportunidades equalitárias. Os artigos não devem fazer qualquer suposição sobre as crenças e posicionamentos de qualquer leitor, de maneira que não devem conter nada que possa sugerir que um indivíduo seja superior a outro no que concerne a raça, gênero, cultura, ou qualquer outra característica. A linguagem inclusiva deve ser usada ao longo de todo o artigo. Os autores devem assegurar que o texto seja livre de vieses, usando, por exemplo, "ele(a)", "dele(a)" em vez de "ele" ou "dele" e optando por títulos ou cargos não estereotipados (como "chairperson" em vez de "chairman").

### *Colaboradores*

Cada autor é obrigado a declarar sua contribuição individual para o artigo: todos os autores devem ter participado substancialmente da pesquisa e/ou da preparação do artigo, de modo que o papel de cada um dos autores deve ser descrito. A afirmação de que todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito deve ser verdadeira e incluída na Cover Letter aos editores.

### *Autoria*

Todos os autores devem ter contribuído de forma substancial em todos os seguintes aspectos: (1) concepção e delineamento do estudo, ou aquisição de dados, ou análise e interpretação de dados, (2) escrita do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual relevante, (3) aprovação final da versão a ser submetida.

### *Mudanças na autoria*

Espera-se que os autores avaliem cuidadosamente a lista e a ordem dos autores **antes** de submeter seu manuscrito e que forneçam a lista definitiva de autores no momento da submissão. Qualquer adição, remoção ou rearranjo de nomes de autores na lista de autoria deve ser feita somente **antes** da aceitação do manuscrito e somente se aprovado pelo editor da revista. Para solicitar tal alteração, o editor deve receber do autor para correspondência o seguinte: (a) o motivo da mudança na lista de autores e (b) confirmação por escrito (e-mail, carta) de todos os autores concordando com a adição, remoção ou rearranjo. No caso de adição ou remoção de autores, isso inclui a confirmação do autor adicionado ou removido.

Somente em circunstâncias excepcionais, o editor aceitará a adição, supressão ou rearranjo de autores após o manuscrito ter sido aceito. Enquanto o editor estiver avaliando o pedido, a publicação

do manuscrito permanecerá suspensa. Se o manuscrito já tiver sido publicado on-line, qualquer solicitação aprovada pelo editor resultará em uma retificação.

### **Resultados dos ensaios clínicos**

Um ensaio clínico é definido como qualquer estudo de pesquisa que designe prospectivamente participantes humanos ou grupos de seres humanos a uma ou mais intervenções relacionadas à saúde, para avaliar os efeitos dos desfechos de saúde. As intervenções relacionadas à saúde incluem qualquer intervenção realizada para modificar um desfecho biomédico ou relacionado à saúde (por exemplo, fármacos, procedimentos cirúrgicos, dispositivos, tratamentos comportamentais, intervenções alimentares e mudanças nos procedimentos de cuidados). Os desfechos de saúde incluem quaisquer medidas biomédicas ou relacionadas à saúde obtidas em pacientes ou participantes, incluindo medidas farmacocinéticas e eventos adversos.

De acordo com a posição do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), a revista não aceitará os resultados publicados no mesmo registro de ensaios clínicos no qual o registro primário seja uma publicação anterior se os resultados publicados forem apresentados sob a forma de um breve resumo ou tabela estruturados (menos de 500 palavras). No entanto, a divulgação de resultados em outras circunstâncias (por exemplo, reuniões de investidores) é desencorajada e pode impedir a aceitação do manuscrito. Os autores devem divulgar em sua totalidade as publicações em registros de resultados do mesmo trabalho ou relacionados a ele.

#### *Relatos de ensaios clínicos*

Ensaio controlado randomizado devem ser apresentados de acordo com as diretrizes CONSORT. Na submissão do manuscrito, os autores devem fornecer a lista de verificação CONSORT acompanhada de um fluxograma que mostre o progresso dos pacientes ao longo do ensaio, incluindo recrutamento, inscrição, randomização, remoção e conclusão, e uma descrição detalhada do procedimento de randomização. A lista de verificação CONSORT e o modelo do fluxograma estão disponíveis no seguinte link: <http://www.consort-statement.org/>. Acesse <http://www.equator-network.org/> para informações sobre as diretrizes a serem seguidas na pesquisa em saúde para esse tipo de artigo.

#### *Registro de ensaios clínicos*

A inclusão em um registro público de ensaios clínicos é uma condição para a publicação de ensaios clínicos nesta revista, de acordo com as recomendações do *International Committee of Medical Journal Editors*. Os ensaios devem ser registrados no início ou antes da inclusão dos pacientes. O número de registro do ensaio clínico deve ser incluído no fim do resumo do artigo. Estudos puramente observacionais (aqueles em que a designação da intervenção médica não está a critério do investigador) não exigirão registro.

### **Direitos autorais**

Após a aceitação de um artigo, os autores devem assinar o *Journal Publishing Agreement* (Acordo de Publicação de Artigo) ([ver mais informações sobre esse item](#)) de forma a atribuir à Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) os direitos autorais do manuscrito e de quaisquer tabelas, ilustrações ou outro material submetido para publicação como parte do manuscrito (o "Artigo") em todas as formas e mídias (já conhecidas ou desenvolvidas posteriormente), em todo o mundo, em todos os idiomas, por toda a duração dos direitos autorais, efetivando-se a partir do momento em que o Artigo for aceito para publicação. Um e-mail será enviado ao autor para correspondência confirmando o recebimento do manuscrito junto com o *Journal Publishing Agreement* ou um link para a versão on-line desse acordo.

#### **Direitos do Autor**

Como autor, você (ou seu empregador ou instituição) tem certos direitos de reuso do seu trabalho. [Mais Informações](#).

#### *A Elsevier apoia o compartilhamento responsável*

Descubra como você pode compartilhar sua pesquisa publicada nas revistas da Elsevier.

### **Papel da Fonte de Financiamento**

Deve-se identificar quem forneceu apoio financeiro para a realização da pesquisa e/ou preparação do artigo e descrever brevemente o papel do(s) patrocinador(es), se houver, no delineamento do estudo; na coleta, análise e interpretação de dados; na redação do manuscrito; e na decisão de enviar o artigo para publicação. Se a fonte (ou fontes) de financiamento não teve (ou tiveram) tal participação, isso deve ser mencionado.

### Acesso aberto

Esta revista é uma revista revisada por pares, de acesso aberto subsidiado pelo qual a Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) arca com a maior parte dos custos de publicação da revista.

Autores de artigos submetidos a partir de **1º de setembro de 2018**, que sejam aceitos para publicação no *Jornal de Pediatria*, deverão pagar uma taxa de publicação à SBP a fim de contribuir com os custos de publicação. Ao submeterem o manuscrito a esta revista, os autores concordam com esses termos.

### Valores

Se qualquer um dos autores for associado quite com a SBP: R\$ 1.500,00 por manuscrito aceito

Se nenhum dos autores for associado à SBP: R\$ 2.200,00 por manuscrito aceito

Autor estrangeiro: USD 1.000,00 por manuscrito aceito.

Quando o manuscrito for aceito para publicação, os autores receberão instruções sobre a taxa de publicação. Para mais informações, por favor, entre em contato com [assessoria@jped.com.br](mailto:assessoria@jped.com.br).

### Direitos do usuário

A permissão de reuso é definida pela seguinte licença de usuário final:

*Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)*

Para fins não comerciais, permite que outros distribuam e copiem o artigo, e o incluam em um trabalho coletivo (como uma antologia), desde que se dê crédito ao(s) autor(es) e desde que não se altere ou modifique o artigo.

### Elsevier Researcher Academy

O [Researcher Academy](#) é uma plataforma eletrônica de acesso gratuito destinada a apoiar pesquisadores em início ou meio de carreira durante sua jornada no mundo da pesquisa. O ambiente de aprendizagem (*Learn*) da plataforma oferece vários módulos interativos, webinars, guias para *download* e outros recursos para orientá-lo no processo de escrita científica e *peer review*. Sinta-se à vontade para melhorar seu manuscrito para a submissão e aprender sobre o processo de publicação.

### Idioma (uso e serviços de edição)

Por favor, escreva o seu texto em inglês de boa qualidade (o inglês americano é usado nesta revista). Os autores que sentirem necessidade de edição do manuscrito na língua inglesa, para eliminar possíveis erros gramaticais ou ortográficos de forma a atender à demanda do correto uso do inglês científico, podem contratar o [Serviço de Edição da Língua Inglesa](#) disponível no *WebShop* da Elsevier.

### Consentimento Informado e detalhes do paciente

Estudos envolvendo pacientes ou voluntários requerem a aprovação do comitê de ética e o consentimento informado, que devem ser documentados no artigo. Consentimentos, permissões e desobrigações pertinentes devem ser obtidos sempre que um autor desejar incluir detalhes de casos ou outras informações pessoais ou imagens de pacientes e de quaisquer outros indivíduos em uma publicação da Elsevier. Os consentimentos por escrito devem ser mantidos pelo autor e cópias dos consentimentos ou provas de que tais consentimentos foram obtidos devem ser fornecidos à Elsevier mediante solicitação. Para mais informações, reveja a [Política da Elsevier sobre o Uso de Imagens](#) ou [Informações Pessoais de Pacientes ou Outros Indivíduos](#). A menos que você tenha permissão por escrito do paciente (ou, se for o caso, dos parentes mais próximos ou tutores), os detalhes pessoais de qualquer paciente incluído em qualquer parte do artigo e em qualquer material complementar (incluindo todas as ilustrações e vídeos) devem ser removidos antes da submissão.

### Submissão

Nosso sistema de submissão on-line é um guia passo-a-passo dos procedimentos para inserção dos detalhes do seu manuscrito e para o upload de seus arquivos. O sistema converte os arquivos de seu artigo em um único arquivo PDF usado no processo de revisão por pares (*peer-review*). Arquivos editáveis (por exemplo, Word, LaTeX) são necessários para compor seu manuscrito para publicação final. Toda a correspondência, incluindo a notificação da decisão do Editor e os pedidos de revisão, são enviados por e-mail.

Submeta seu manuscrito

Por favor envie o seu manuscrito por meio do site [www.evise.com/evise/jrnl/JPED](http://www.evise.com/evise/jrnl/JPED).

## PREPARAÇÃO

### Revisão duplo-cega

Esta revista usa revisão duplo-cega, o que significa que as identidades dos autores não são conhecidas pelos revisores e vice-versa. [Mais informações](#) estão disponíveis em nosso site. Para facilitar o processo, deve-se incluir separadamente o seguinte:

*Página de abertura* (com detalhes do autor): deve incluir o título, os nomes dos autores, as afiliações, os agradecimentos e qualquer Declaração de Interesse, e o endereço completo do autor para correspondência, incluindo um endereço de e-mail.

*Manuscrito cego* (sem detalhes do autor): O corpo principal do artigo (incluindo referências, figuras, tabelas e quaisquer agradecimentos) não deve incluir nenhuma identificação, como os nomes ou afiliações dos autores.

### Uso de Processador de Texto

É importante que o arquivo seja salvo no formato original do processador de texto utilizado. O texto deve estar em formato de coluna única. Mantenha o layout do texto o mais simples possível. A maioria dos códigos de formatação será removida e substituída no processamento do artigo. Em particular, não use as opções do processador de texto para justificar texto ou hifenizar palavras. Destaques como negrito, itálico, subscripto, sobrescrito, etc. podem ser usados. Ao preparar tabelas, se você estiver usando uma grade na criação das tabelas, use apenas uma grade para cada tabela individualmente, e não uma grade para cada linha. Se nenhuma grade for utilizada, use a tabulação, e não espaços, para alinhar as colunas. O texto eletrônico deve ser preparado de forma muito semelhante ao dos manuscritos convencionais (veja também o [Guia para Publicar com a Elsevier](#)). Observe que os arquivos de origem das figuras, das tabelas e dos gráficos serão necessários, independentemente se você irá embuti-los ou não no texto. Veja também a seção sobre imagens eletrônicas.

Para evitar erros desnecessários, é aconselhável usar as funções "verificação ortográfica" e "verificação gramatical" do seu processador de texto.

### Estrutura do Artigo

#### Subdivisão – Seções não numeradas

O texto principal nos **artigos originais** deve conter as seguintes seções, indicadas por uma legenda: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão. As seções nos **artigos de revisão** podem variar dependendo do tópico tratado. Sugerimos que os autores incluam uma breve introdução, na qual eles expliquem (da perspectiva da literatura médica) a importância daquela revisão para a prática da pediatria. Não é necessário descrever como os dados foram selecionados e coletados. A seção de conclusões deve correlacionar as ideias principais da revisão para possíveis aplicações clínicas, mantendo generalizações dentro do escopo do assunto sob revisão.

#### Introdução

Indique os objetivos do trabalho e forneça um background adequado, evitando uma avaliação detalhada da literatura ou um resumo dos resultados. Faça uma introdução breve, incluindo apenas referências estritamente relevantes para sublinhar a importância do tópico e para justificar o estudo. No fim da introdução, os objetivos do estudo devem estar claramente definidos.

#### Materiais e Métodos

Forneça detalhes suficientes para viabilizar a reprodução do trabalho. Métodos já publicados devem ser indicados por uma referência: apenas as modificações relevantes devem ser descritas. Esta seção deve descrever a população estudada, a amostra a ser analisada e os critérios de seleção; também deve definir claramente as variáveis em estudo e descrever detalhadamente os métodos estatísticos empregados (incluindo referências apropriadas sobre métodos estatísticos e software). Procedimentos, produtos e equipamentos devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a reprodução do estudo. Deve ser incluída uma declaração relativa à aprovação pelo comitê de ética de pesquisa (ou equivalente) da instituição em que o trabalho foi realizado.

### **Resultados**

Os resultados do estudo devem ser apresentados de forma clara e objetiva, seguindo uma sequência lógica. As informações contidas em tabelas ou figuras não devem ser repetidas no texto. Use figuras no lugar de tabelas para apresentar dados extensos.

### **Discussão**

Os resultados devem ser interpretados e comparados com dados publicados anteriormente, destacando os aspectos novos e importantes do presente estudo. Devem-se discutir as implicações dos resultados e as limitações do estudo, bem como a necessidade de pesquisas adicionais. As conclusões devem ser apresentadas ao fim da seção Discussão, levando em consideração a finalidade do trabalho. Relacione as conclusões com os objetivos iniciais do estudo, evitando declarações não embasadas pelos achados e dando a mesma ênfase aos achados positivos e negativos que tenham importância científica similar. Se relevante, inclua recomendações para novas pesquisas.

### **Informações essenciais sobre a página de abertura**

A página de abertura deve conter as seguintes informações:

- a) título conciso e informativo. Evite termos e abreviaturas desnecessários; evite também referências ao local e/ou cidade onde o trabalho foi realizado;
- b) título curto com não mais de 50 caracteres, incluindo espaços, mostrado nos cabeçalhos;
- c) nomes dos autores (primeiro e último nome e iniciais do meio) e o ORCID ID. O ORCID ID deve estar na página de abertura e, também, no perfil do EVISE de todos os autores. Para isso, o autor deve ir em Update your Details, campo ORCID. Se algum dos autores não tem esta ID, deve registrar-se em <https://orcid.org/register>;
- d) grau acadêmico mais elevado dos autores;
- e) endereço de e-mail de todos os autores;
- f) se disponível, URL para o curriculum vitae eletrônico ("Currículo Lattes" para autores brasileiros, ORCID etc.);
- g) contribuição específica de cada autor para o estudo;
- h) declaração de conflitos de interesse (escreva nada a declarar ou divulgue explicitamente quaisquer interesses financeiros ou outros que possam causar constrangimento caso sejam revelados após a publicação do artigo);
- i) instituição ou serviço com o/a qual o trabalho está associado para indexação no Index Medicus/MEDLINE;
- j) nome, endereço, número de telefone, número de fax e e-mail do autor para correspondência;
- k) nome, endereço, número de telefone, número de fax e e-mail do autor encarregado do contato pré-publicação;
- l) fontes de financiamento, ou nome de instituições ou empresas fornecedoras de equipamentos e materiais, se aplicável;
- m) contagem de palavras do texto principal, sem incluir resumo, agradecimentos, referências, tabelas e legendas para figuras;
- n) contagem de palavras do resumo;
- o) número de tabelas e figuras.

### **Resumo**

É necessário um resumo conciso e factual. O resumo deve indicar de forma breve o objetivo da pesquisa, os principais resultados e as conclusões mais importantes. Um resumo é frequentemente apresentado separadamente do artigo, por isso deve ser capaz de ser compreendido sozinho. Por esse motivo, as referências devem ser evitadas, mas, se necessário, cite o(s) autor(es) e ano(s). Além disso, abreviações não padrão ou incomuns devem ser evitadas, mas, se forem essenciais, devem ser definidas em sua primeira menção no próprio resumo.

O resumo não deve ter mais de 250 palavras ou 1.400 caracteres. Não inclua palavras que possam identificar a instituição ou cidade onde o estudo foi realizado, para facilitar a revisão cega. Todas as informações no resumo devem refletir com precisão o conteúdo do artigo. O resumo deve ser estruturado conforme descrito a seguir:

#### **Resumo para artigos originais**

**Objetivo:** Declarar por que o estudo foi iniciado e as hipóteses iniciais. Defina com precisão o objetivo principal do estudo; apenas os objetivos secundários mais relevantes devem ser listados.

**Método:** Descrever o desenho do estudo (se apropriado, indique se o estudo é randomizado, cego, prospectivo, etc.), local (se apropriado, descreva o nível de atendimento, isto é, se primário, secundário ou



terciário, clínica privada ou instituição pública, etc.), pacientes ou participantes (critérios de seleção, número de casos no início e no final do estudo etc.), intervenções (incluem informações essenciais, como métodos e duração do estudo) e critérios utilizados para medir os resultados.

**Resultados:** Descrever os achados mais importantes, os intervalos de confiança e a significância estatística dos achados.

**Conclusões:** Descrever apenas conclusões que refletem o objetivo do estudo e fundamentadas por suas descobertas. Discutir possíveis aplicações das descobertas, com igual ênfase em resultados positivos e negativos de mérito científico similar.

### **Resumo para artigos de revisão**

**Objetivo:** Explicar por que a revisão foi realizada, indicando se a mesma se concentra em um fator especial, tal como etiologia, prevenção, diagnóstico, tratamento ou prognóstico da doença.

**Fontes:** Descrever todas as fontes de informação, definindo bancos de dados e anos pesquisados. Indicar brevemente os critérios de seleção dos artigos para a revisão e avaliar a qualidade da informação.

**Resumo dos achados:** Indique os principais achados quantitativos ou qualitativos.

**Conclusões:** Indique suas conclusões e sua aplicação clínica, mantendo generalizações dentro do escopo do assunto sob revisão.

### **Palavras-chave**

Imediatamente após o resumo, forneça um máximo de 6 palavras-chave, utilizando a ortografia americana e evitando termos gerais e plurais e múltiplos conceitos (evite, por exemplo, 'e', 'de'). Use poucas abreviações: apenas aquelas firmemente estabelecidas no campo de pesquisa podem ser escolhidas. Essas palavras-chave serão usadas para fins de indexação.

Por favor, utilize os termos listados no *Medical Subject Headings* (MeSH), disponíveis em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>. Quando descritores adequados não estiverem disponíveis, novos termos podem ser utilizados.

### **Abreviações**

Seja moderado no uso de abreviações. Todas as abreviações devem ser explicadas em sua primeira menção no texto. As abreviações não padrão no campo da pediatria devem ser definidas em uma nota de rodapé a ser colocada na primeira página do artigo. Evite o uso de abreviações no resumo; aquelas que são inevitáveis no resumo devem ser definidas em sua primeira menção, bem como na nota de rodapé. Assegure-se da consistência das abreviações em todo o artigo.

### **Agradecimentos**

Agrupe os agradecimentos em uma seção separada ao fim do artigo antes das referências e, portanto, não os inclua na página de abertura, como uma nota de rodapé para o título ou de outra forma. Liste aqui os indivíduos que forneceram ajuda durante a pesquisa (por exemplo, fornecendo ajuda linguística, assistência escrita ou prova de leitura do artigo, etc.).

Somente indivíduos ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas não são qualificados para autoria, devem ser mencionados. Os indivíduos citados nesta seção devem concordar por escrito com a inclusão de seus nomes, uma vez que os leitores podem inferir o endosso das conclusões do estudo.

### **Formatando as fontes de financiamento**

Listar as fontes de financiamento usando a forma padrão para facilitar o cumprimento dos requisitos do financiador:

**Financiamento:** Esse trabalho recebeu financiamento do National Institutes of Health [números dos financiamentos xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [número do financiamento zzzz]; e dos United States Institutes of Peace [número do financiamento aaaa].

Não é necessário incluir descrições detalhadas sobre o programa ou tipo de financiamento e prêmios. Quando a verba recebida é parte de um financiamento maior ou de outros recursos disponíveis para uma universidade, faculdade ou outra instituição de pesquisa, cite o nome do instituto ou organização que forneceu o financiamento.

Se nenhum financiamento foi fornecido para a pesquisa, inclua a seguinte frase:

Esta pesquisa não recebeu nenhum financiamento específico de agências de financiamento dos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

### *Unidades*

Siga as regras e convenções internacionalmente aceitas: use o sistema internacional (SI) de unidades. Se outras unidades forem mencionadas, forneça seu equivalente em SI.

### *Fórmulas matemáticas*

Por favor, cite equações matemáticas como texto editável e não como imagens. Apresente fórmulas simples de acordo com o texto normal sempre que possível e use a barra oblíqua (/) em vez de uma linha horizontal para pequenos termos fracionários, por exemplo, X/Y. Em princípio, as variáveis devem ser apresentadas em itálico. Potências de e são frequentemente mais convenientemente indicadas pela exponencial. Numere consecutivamente quaisquer equações a serem exibidas separadamente do texto (se referidas explicitamente no texto).

### *Notas de rodapé*

Notas de rodapé não devem ser usadas. Em vez disso, incorpore as informações relevantes no texto principal.

## **Imagens**

### *Manipulação de imagem*

Embora seja aceito que os autores às vezes precisem manipular imagens para obter maior clareza, a manipulação para fins de dolo ou fraude será vista como abuso ético científico e será tratada de acordo. Para imagens gráficas, esta revista aplica a seguinte política: nenhum recurso específico pode ser aprimorado, obscurecido, movido, removido ou introduzido em uma imagem. Os ajustes de brilho, contraste ou equilíbrio de cores são aceitáveis se, e enquanto não obscurecerem ou eliminarem qualquer informação presente no original. Os ajustes não lineares (por exemplo, alterações nas configurações de gama) devem ser divulgados na legenda da figura.

### *Imagens eletrônicas*

#### *Pontos Gerais*

- Certifique-se de usar letras uniformes e dimensionamento de suas imagens originais.
- Incorpore as fontes usadas se o aplicativo fornecer essa opção.
- Prefira usar as seguintes fontes em suas ilustrações: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol ou use fontes similares.
- Numere as ilustrações de acordo com sua sequência no texto.
- Use uma convenção de nomeação lógica para seus arquivos de imagens.
- Forneça legendas para ilustrações separadamente.
- Dimensione as ilustrações próximas às dimensões desejadas da versão publicada.
- Envie cada ilustração como um arquivo separado.

Um [guia detalhado sobre imagens eletrônicas](#) está disponível.

**Você é convidado a visitar este site; alguns trechos das informações detalhadas são fornecidos aqui.**

### *Formatos*

Se as suas imagens eletrônicas forem criadas em um aplicativo do Microsoft Office (Word, PowerPoint, Excel), forneça "como está" no formato de documento original.

Independentemente do aplicativo utilizado que não seja o Microsoft Office, quando sua imagem eletrônica for finalizada, utilize "Salvar como" ou converta as imagens para um dos seguintes formatos (observe os requisitos de resolução para desenhos em linha contínua, meio-tom e combinações de desenho/meio-tom descritos a seguir).

EPS (ou PDF): Desenhos vetoriais, incorporar todas as fontes utilizadas.

TIFF (ou JPEG): Fotografias em cores ou em tons de cinza (meios-tons), mantenha um mínimo de 300 dpi.

TIFF (ou JPEG): Desenho de linha de bitmap (pixels pretos e brancos puros), mantenha um mínimo de 1000 dpi.

TIFF (ou JPEG): Combinações de linha de bitmap/meio-tom (colorido ou escala de cinza), mantenha um mínimo de 500 dpi.

### **Por favor não:**

- Forneça arquivos otimizados para o uso da tela (por exemplo, GIF, BMP, PICT, WPG); esses formatos tipicamente têm um baixo número de pixels e um conjunto limitado de cores;

- Forneça arquivos com resolução muito baixa;
- Envie gráficos desproporcionalmente grandes para o conteúdo.

#### *Imagens Coloridas*

Por favor certifique-se de que os arquivos de imagens estão em um formato aceitável (TIFF [ou JPEG], EPS [ou PDF] ou arquivos do MS Office) e com a resolução correta. Se, juntamente com o seu artigo aceito, você enviar figuras de cor utilizáveis, a Elsevier assegurará, sem custo adicional, que essas figuras aparecerão em cores on-line (por exemplo, ScienceDirect e outros sites) independentemente dessas ilustrações serem ou não reproduzidas na versão impressa.

#### *Serviços de ilustração*

O [Elsevier's WebShop](#) oferece serviços de ilustração aos autores que estão se preparando para enviar um manuscrito, mas estão preocupados com a qualidade das imagens que acompanham o artigo. Os experientes ilustradores da Elsevier podem produzir imagens científicas, técnicas e de estilo médico, bem como uma gama completa de quadros, tabelas e gráficos. O "polimento" da imagem também está disponível; nossos ilustradores trabalham suas imagens e as aprimoram para um padrão profissional. Visite o site para saber mais a respeito disso.

#### *Legendas de figuras*

Certifique-se de que cada figura tenha uma legenda. Forneça as legendas separadamente, não anexadas às figuras. Uma legenda deve incluir um breve título (**não** na figura em si) e uma descrição da ilustração. Mantenha o texto curto nas ilustrações propriamente ditas, mas explique todos os símbolos e abreviações utilizados.

### **Tabelas**

Por favor, envie as tabelas como texto editável e não como imagem. As tabelas podem ser colocadas ao lado do texto relevante no artigo, ou em páginas separadas no fim. Numere as tabelas de forma consecutiva de acordo com sua ordem no texto e coloque as notas de tabela abaixo do corpo da mesma. Seja moderado no uso das tabelas, e assegure-se de que os dados apresentados nas mesmas não duplicam os resultados descritos em outro lugar no artigo. Evite usar grades verticais e sombreamento nas células da tabela.

### **Referências**

#### *Citação no texto*

Certifique-se de que todas as referências citadas no texto também estão presentes na lista de referências (e vice-versa). Qualquer referência citada no resumo deve ser fornecida na íntegra. Não recomendamos o uso de resultados não publicados e comunicações pessoais na lista de referências, mas eles podem ser mencionados no texto. Se essas referências estiverem incluídas na lista de referências, elas devem seguir o estilo de referência padrão da revista e devem incluir uma substituição da data de publicação por "Resultados não publicados" ou "Comunicação pessoal". A citação de uma referência como in press implica que o item foi aceito para publicação.

#### *Links de referência*

Maior exposição da pesquisa e revisão por pares de alta qualidade são asseguradas por links on-line às fontes citadas. Para permitir-nos criar *links* para serviços de resumos e indexação, como Scopus, CrossRef e PubMed, assegure-se de que os dados fornecidos nas referências estão corretos. Lembre-se que sobrenomes, títulos de revistas/livros, ano de publicação e paginação incorretos podem impedir a criação de *links*. Ao copiar referências, por favor tenha cuidado, porque as mesmas já podem conter erros. O uso do DOI — identificador de objeto digital (Digital Object Identifier) é encorajado.

Um DOI pode ser usado para citar e criar um *link* para artigos eletrônicos em que um artigo está *in-press* e detalhes de citação completa ainda não são conhecidos, mas o artigo está disponível on-line. O DOI nunca muda, então você pode usá-lo como um *link* permanente para qualquer artigo eletrônico.

Um exemplo de uma citação usando um DOI para um artigo que ainda não foi publicado é: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Por favor, observe que o formato dessas citações deve seguir o mesmo estilo das demais referências no manuscrito.

#### *Referências da Web*

A URL completa deve ser fornecida e a data em que a referência foi acessada pela última vez. Qualquer informação adicional, se conhecida (DOI, nomes de autores, datas, referência a uma publicação-fonte etc.), também deve ser fornecida. As referências da Web podem ser listadas separadamente (por exemplo, após a lista de referências) sob um título diferente, se desejado, ou podem ser incluídas na lista de referência.

#### *Referências de dados*

Esta revista sugere que você cite conjuntos de dados subjacentes ou relevantes em seu manuscrito citando-os em seu texto e incluindo uma referência de dados em sua lista de referências. As referências de dados devem incluir os seguintes elementos: nome(s) do(s) autor(es), título do conjunto de dados, repositório de dados, versão (quando disponível), ano e identificador persistente. Adicione [conjunto de dados] imediatamente antes da referência para que possamos identificá-la corretamente como uma referência de dados. O identificador [conjunto de dados] não aparecerá no seu artigo publicado. Os usuários do Mendeley Desktop podem facilmente instalar o estilo de referência para esta revista clicando no seguinte link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/jornal-de-pediatria>. Ao preparar seu manuscrito, você poderá selecionar esse estilo utilizando os plug-ins do Mendeley para o Microsoft Word ou o LibreOffice.

#### **Estilo de Referências**

As referências devem seguir o estilo Vancouver, também conhecido como o estilo de Requisitos Uniformes, fundamentado, em grande parte, em um estilo do American National Standards Institute, adaptado pela National Library of Medicine dos EUA (NLM) para suas bases de dados. Os autores devem consultar o *Citing Medicine, o Guia de estilo da NLM para autores, editores e editoras*, para obter informações sobre os formatos recomendados para uma variedade de tipos de referência. Os autores também podem consultar exemplos de referências ([http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)), em uma lista de exemplos extraídos ou baseados no Citing Medicine para fácil uso geral; esses exemplos de referências são mantidos pela NLM. As referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto, identificadas por números em sobrescrito. Não use numeração automática, notas de rodapé ou de pé de página para referências. Artigos não publicados aceitos para publicação podem ser incluídos como referências se o nome da revista estiver incluído, seguido de "in press". Observações e comunicações pessoais não publicadas não devem ser citadas como referências; se for essencial para a compreensão do artigo, essa informação pode ser citada no texto, seguida pelas observações entre parênteses, observação não publicada ou comunicação pessoal. Para mais informações, consulte os "Requisitos Uniformes para Manuscritos Submetidos a Revistas Biomédicas", disponíveis em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142758/>. Na sequência, apresentamos alguns exemplos do modelo adotado pelo *Jornal de Pediatria*.

#### **Artigos em revistas**

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. Nenhum autor fornecido: Informed consent, parental permission, and assent in pediatric practice. Committee on Bioethics, American Academy of Pediatrics. Committee on Bioethics, American Academy of Pediatrics. *Pediatrics*. 1995;95:314-7.
5. Artigo publicado eletronicamente antes da versão impressa: Carvalho CG, Ribeiro MR, Bonilha MM, Fernandes Jr M, Procianny 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.

**Estudos Acadêmicos**

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

**CD-ROM**

Anderson SC, Poulsen KB. Andersons electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams and 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>

**Vídeo**

A Elsevier aceita material de vídeo e sequências de animação para apoiar e aprimorar suas pesquisas científicas. Os autores que têm arquivos de vídeo ou animação que desejam enviar com seu artigo são fortemente encorajados a incluir links para estes dentro do corpo do artigo. Isso pode ser feito da mesma maneira que uma figura ou tabela, referindo-se ao conteúdo de vídeo ou animação e mostrando no corpo do texto onde ele deve ser colocado. Todos os arquivos enviados devem ser devidamente identificados de modo que se relacionem diretamente com o conteúdo do arquivo de vídeo. Para garantir que seu vídeo ou material de animação esteja apropriado para uso, por favor forneça os arquivos em um dos nossos formatos de arquivo recomendados com um tamanho máximo total de 150 MB. Qualquer arquivo único não deve exceder 50 MB. Os arquivos de vídeo e animação fornecidos serão publicados on-line na versão eletrônica do seu artigo nos produtos de web da Elsevier, incluindo o [ScienceDirect](#). Por favor forneça imagens estáticas com seus arquivos: você pode escolher qualquer quadro do vídeo ou animação ou fazer uma imagem separada. Essa imagem estática será usada em vez de ícones padrão, para personalizar o link para seus dados de vídeo. Para obter instruções mais detalhadas, visite nossas [páginas de instruções de vídeo](#).

Nota: uma vez que o vídeo e a animação não podem ser incorporados à versão impressa da revista, por favor forneça o texto para ambas as versões eletrônica e impressa para as partes do artigo que se referem a esse conteúdo.

**Material suplementar**

Materiais suplementares, como tabelas, imagens e clipes de som, podem ser publicados com seu artigo para aprimorá-lo. Os itens suplementares enviados são publicados exatamente como são recebidos (arquivos do Excel ou PowerPoint aparecerão dessa forma on-line). Por favor, envie seu material junto com o artigo e forneça uma legenda concisa e descritiva para cada arquivo suplementar. Se você deseja fazer alterações no material suplementar durante qualquer etapa do processo, certifique-se de fornecer um arquivo atualizado. Não anote quaisquer correções em uma versão anterior. Por favor, desabilite a opção "Controlar alterações" nos arquivos do Microsoft Office, pois estas aparecerão na versão publicada.

**DADOS DA PESQUISA**

Esta revista incentiva e permite que você compartilhe dados que suportem a publicação de sua pesquisa onde for apropriado, e permite que você interligue os dados com seus artigos publicados. Dados de pesquisa referem-se aos resultados de observações ou experimentação que validam os achados da pesquisa. Para facilitar a reprodutibilidade e o reuso dos dados, esta revista também incentiva a compartilhar seu software, código, modelos, algoritmos, protocolos, métodos e outros materiais úteis relacionados com o projeto.

A seguir são mostradas várias maneiras pelas quais você pode associar dados ao seu artigo ou fazer uma declaração sobre a disponibilidade de seus dados ao enviar seu manuscrito. Se estiver compartilhando dados de uma dessas maneiras, você é encorajado a citar os dados em seu manuscrito e na lista de referências. Consulte a seção "Referências" para obter mais informações sobre a citação

de dados. Para obter mais informações sobre o depósito, compartilhamento e uso de dados de pesquisa e outros materiais de pesquisa relevantes, visite a [página de Dados de Pesquisa](#).

#### *Vinculação de dados*

Se você disponibilizou seus dados de pesquisa em um repositório de dados, é possível vincular seu artigo diretamente ao conjunto de dados. A Elsevier colabora com uma série de repositórios para vincular artigos no ScienceDirect a repositórios relevantes, dando aos leitores acesso a dados subjacentes que lhes dará uma melhor compreensão da pesquisa descrita.

Existem diferentes maneiras de vincular seus conjuntos de dados ao seu artigo. Quando disponível, você pode vincular diretamente seu conjunto de dados ao seu artigo, fornecendo as informações relevantes no sistema de submissão. Para mais informações, visite a [página de vinculação de bancos de dados](#).

Para os [repositórios de dados suportados](#), um banner do repositório aparecerá automaticamente ao lado do seu artigo publicado no ScienceDirect.

Além disso, você pode vincular a dados ou entidades relevantes através de identificadores dentro do texto de seu manuscrito, utilizando o seguinte formato: Banco de Dados: xxxx (por ex., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

#### *Mendeley Data*

Esta revista é compatível com o Mendeley Data, permitindo que você deposite quaisquer dados de pesquisa (incluindo dados brutos ou processados, vídeos, códigos, software, algoritmos, protocolos e métodos) associados ao seu manuscrito em um repositório de acesso aberto e gratuito. Durante o processo de submissão, depois de fazer o upload de seu manuscrito, você terá a oportunidade de fazer o upload de seus conjuntos de dados relevantes diretamente para o Mendeley Data. Os conjuntos de dados serão listados e estarão acessíveis diretamente aos leitores ao lado do seu artigo publicado on-line.

Para mais informações, visite a página [Mendeley Data para Revistas](#).

#### *Declaração de dados*

Para promover a transparência, encorajamos os autores a declarar a disponibilidade de seus dados ao submeter o artigo. Isso pode ser um requisito da instituição de fomento. Caso seus dados não estejam disponíveis para acesso ou não forem adequados para publicação, você terá a oportunidade de descrever o motivo durante o processo de submissão, afirmando, por exemplo, que os dados da pesquisa são confidenciais. A declaração aparecerá com seu artigo publicado no ScienceDirect. Para obter mais informações, visite a página sobre [declaração de dados](#).

## **APÓS A ACEITAÇÃO**

#### *Disponibilidade do artigo aceito*

Esta revista disponibiliza os artigos on-line o mais rapidamente possível após a aceitação. Um identificador de objeto digital (DOI — Digital Object Identifier) é assignado a seu artigo, tornando-o totalmente citável e pesquisável por título, nome(s) do(s) autor(es) e o texto completo.

#### **Provas**

Um conjunto de provas (em arquivos PDF) será enviado por e-mail para o autor correspondente ou um link será fornecido no e-mail para que os autores possam baixar os próprios arquivos. A Elsevier agora fornece aos autores provas em PDF que podem receber anotações; para isso, você precisará fazer o download do [programa Adobe Reader, versão 9](#) (ou posterior). As instruções sobre como fazer anotações nos arquivos PDF acompanharão as provas (também fornecidas on-line). Os requisitos exatos do sistema são fornecidos no site da [Adobe](#).

Se não desejar usar a função de anotações em PDF, você pode listar as correções (incluindo as respostas ao Formulário de Consulta) e devolvê-las por e-mail. Por favor, liste suas correções citando o número da linha. Se, por qualquer motivo, isso não for possível, marque as correções e quaisquer outros comentários (incluindo as respostas ao Formulário de consulta) em uma impressão de sua prova, escaneie as páginas e devolva-as por e-mail. Por favor, use esta prova apenas para verificar a composição, edição, integridade e exatidão do texto, tabelas e figuras. Alterações significativas no artigo aceito para publicação só serão consideradas nesta etapa com permissão do editor-chefe

da revista. Faremos todo o possível para que seu artigo seja publicado com rapidez e precisão. É importante garantir que todas as correções sejam enviadas de volta para nós em uma única comunicação: por favor, verifique atentamente antes de responder, pois a inclusão de quaisquer correções subsequentes não será garantida. A revisão é responsabilidade exclusiva do autor.

#### **PERGUNTAS DOS AUTORES**

Visite o [Centro de Apoio da Elsevier](#) para encontrar as respostas de que você precisa. Aqui você encontrará tudo, desde Perguntas Frequentes até maneiras de entrar em contato.

Você também [pode verificar o status do seu artigo enviado](#) ou [verificar quando seu artigo aceito será publicado](#).