

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO  
ALEGRE – UFCSPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM  
PEDIATRIA: ATENÇÃO À SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

Versiéri Oliveira de Almeida

**Avaliação de marcadores  
inflamatórios e estresse oxidativo em  
sangue de cordão umbilical de  
recém-nascidos prematuros em  
relação ao peso e idade gestacional.**

**UFCSPA**

Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre

Porto Alegre,  
2023

**Versiéri Oliveira de Almeida**

**Avaliação de marcadores  
inflamatórios e estresse oxidativo em  
sangue de cordão umbilical de  
recém-nascidos prematuros em  
relação ao peso e idade gestacional.**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Pediatria: atenção à saúde da criança e do adolescente da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Obal Colvero  
Coorientador: Prof. Dr. Sérgio Luís Amantéa

**Porto Alegre,  
2023**

#### Catálogo na Publicação

Almeida, Versiéri Oliveira de

Avaliação de marcadores inflamatórios e estresse oxidativo em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos prematuros em relação ao peso e idade gestacional / Versiéri Oliveira de Almeida. -- 2023.

143 p. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Pediatria, 2023.

Orientador(a): Maurício Obal Colvero ;  
coorientador(a): Sérgio Luis Amantéa.

1. Recém-nascido prematuro. 2. Citocinas. 3. Estresse oxidativo. 4. Sangue de cordão umbilical. I. Título.

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

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador Prof. Maurício Obal Colvero, primeiramente pela oportunidade, apoio e disponibilidade.

Ao meu coorientador Prof. Sérgio Luís Amantéa, minha eterna gratidão, pela compreensão, ensinamentos e por estar sempre disponível a ajudar.

A Prof. Cláudia Ramos Rhoden, pela participação no desenvolvimento deste estudo.

Aos profissionais do Centro Obstétrico do Hospital Santa Clara, principalmente as enfermeiras. A Bruna Marmett, Roseana Carvalho e Gilson Dorneles do Laboratório de Poluição Atmosférica e Laboratório de Imunologia da UFCSPA. Aos técnicos do Laboratório de Imunologia do Hospital Dom Vicente Scherer. Todos foram fundamentais para a realização deste estudo.

Ao meu amigo e colega de pesquisa Renan Augusto Pereira, que esteve sempre comigo durante essa jornada, dividimos as angústias, os medos, aflições, mas também nossas alegrias.

A minha família, por todo carinho, suporte e incentivo, esta conquista também é para vocês.

## RESUMO

A Organização Mundial da Saúde define o nascimento prematuro como nascimentos vivos antes de 37 semanas completas de gestação. Recém-nascidos prematuros (RNPT) têm risco aumentado de desenvolver uma ampla gama de complicações. O estresse oxidativo e a inflamação são importantes mecanismos na patogênese de doenças neonatais. O objetivo deste estudo foi descrever e analisar o perfil de marcadores inflamatórios e estresses oxidativo no sangue de cordão umbilical em RNPT. Trata-se de um estudo transversal, analítico do tipo descritivo, realizado com RNPT (<37 semanas de idade gestacional) selecionados por um processo de amostragem consecutivo, no qual fora coletado sangue de cordão umbilical para a análise de interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10) e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona (GSH) e posteriormente, realizadas associações em relação a idade gestacional e o peso ao nascer. Foram analisados 66 RNPT (24 a 36+6 semanas de idade gestacional), 86,4% (n=57) prematuros moderados a tardios e 13,7% (n=9) muito prematuros; 50% (n=33) apresentaram baixo peso ao nascer (<2500g). Houve diferença significativa na distribuição de GSH em relação a idade gestacional ( $p=0,001$ ), considerando muito prematuros (<32 semanas) e prematuros moderados e tardios ( $\geq 32$  semanas) e entre as categorias de classificação do peso (<2500g ou  $\geq 2500$ g) ( $p=0,012$ ). Enzimas antioxidantes GSH foram detectadas em menores concentrações nos recém-nascidos muito prematuros (< 32 semanas) e naqueles com baixo peso (< 2500g). Os marcadores CAT, SOD, TBARS, TNF- $\alpha$ , IL-10 e IL-6, tiveram distribuição estatisticamente semelhante. Também foi encontrada uma correlação negativa significativa de IL-10 em relação ao TNF- $\alpha$  ( $r=-0,254$ ;  $p=0,040$ ), ocorrendo a diminuição de IL-10 e aumento de TNF- $\alpha$ . Concluímos que tais achados podem sugerir um potencial risco à ação do estresse oxidativo nesta população mais vulnerável pela prematuridade, pois as concentrações de antioxidantes (GSH) demonstraram ter influência proporcional ao grau de prematuridade e peso ao nascer.

**Palavras-chave:** Recém-nascido prematuro; Citocinas; Estresse oxidativo; Sangue de cordão umbilical.

## ABSTRACT

The World Health Organization defines preterm birth as live births before 37 completed weeks of gestation. Preterm newborns (PTN) have an increased risk of developing a wide range of complications. Oxidative stress and inflammation are important mechanisms in the pathogenesis of neonatal diseases. This study aimed to describe and analyze the profile of inflammatory markers and oxidative stress in umbilical cord blood in PTN. This is a cross-sectional, analytical descriptive study conducted with PTNs (<37 weeks gestational age) selected by a consecutive sampling process, in which cord blood was collected for analysis of interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione (GSH) and later, associations were made in relation to gestational age and birth weight. Sixty-six PTNs (24 to 36+6 weeks gestational age) were analyzed, 86.4% (n=57) moderate to late preterm and 13.7% (n=9) very preterm; 50% (n=33) had low birth weight (<2500g). There was a significant difference in GSH distribution in relation to gestational age ( $p=0.001$ ), considering very preterm (<32 weeks) and moderate to late preterm ( $\geq 32$  weeks) and between weight classification categories (<2500g or  $\geq 2500$ g) ( $p=0.012$ ). Antioxidant enzymes GSH were detected in lower concentrations in very preterm (< 32 weeks) newborns and those with low birth weight (< 2500g). The markers CAT, SOD, TBARS, TNF- $\alpha$ , IL-10 and IL-6, had statistically similar distribution. A significant negative correlation of IL-10 with respect to TNF- $\alpha$  ( $r=-0.254$ ;  $p=0.040$ ) was also found, with decreased IL-10 and increased TNF- $\alpha$ . We conclude that these findings may suggest a potential risk for oxidative stress in this population that is more vulnerable due to prematurity, since antioxidant concentrations (GSH) have been shown to have a proportional influence on the degree of prematurity and birth weight.

**Keywords:** Preterm newborn; Cytokines; Oxidative stress; Umbilical cord blood.

## ABREVIATURAS E SIGLAS

AIG	Adequado para Idade Gestacional
CAT	Catalase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ERNS	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
GIG	Grande para Idade Gestacional
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
H <sub>2</sub> O	Água
IL-6	Interleucina - 6
IL-10	Interleucina - 10
MDA	Malondialdeído
O <sub>2</sub>	Oxigênio
O <sub>2</sub> •-	Superóxido
Radical OH	Radical Hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
PIG	Pequeno para Idade Gestacional
PUFAs	Ácidos Graxos Poliinsaturados
PNPT	Recém-nascido Prematuro
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral - $\alpha$

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
2.1	Prematuridade.....	12
2.1.1	Fatores maternos e neonatais relacionados a prematuridade.....	13
2.2	Avaliação antropométrica de recém-nascidos prematuros.....	14
2.2.1	Peso.....	14
2.2.2	Comprimento.....	15
2.2.3	Perímetro cefálico.....	15
2.2.4	Classificação do estado nutricional - Curva de Fenton.....	15
2.3	Processo inflamatório no recém-nascido prematuro.....	16
2.3.1	Fator de necrose tumoral – $\alpha$ .....	17
2.3.2	Interleucina – 6.....	17
2.3.3	Interleucina – 10.....	18
2.4	Estresse Oxidativo em recém-nascidos prematuros.....	18
2.4.1	Marcadores de estresse oxidativo.....	20
2.4.1.1	Antioxidantes.....	20
2.4.1.2	Produtos finais de dano por estresse oxidativo.....	21
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>22</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
4.1	Objetivo principal.....	23
4.2	Objetivos específicos.....	23
<b>5</b>	<b>HIPÓTESES.....</b>	<b>24</b>
<b>6</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>25</b>
<b>7</b>	<b>ARTIGO 1.....</b>	<b>34</b>
<b>8</b>	<b>ARTIGO 2.....</b>	<b>53</b>
<b>9</b>	<b>ARTIGO 3.....</b>	<b>81</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>101</b>
	APÊNDICES.....	102
	APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	102
	APÊNDICE B – Questionário para a coleta de dados.....	104
	ANEXOS.....	106

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética.....	106
ANEXO B – Normas da Revista – Artigo 1.....	110
ANEXO C – Carta de aceite de publicação – Artigo 1.....	126
ANEXO D – Normas da Revista – Artigo 2.....	127
ANEXO E - Carta de aceite de publicação – Artigo 2.....	135
ANEXO F - Normas da Revista – Artigo 3.....	136
ANEXO G – Carta de submissão a revista – Artigo 3.....	143

## 1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define o nascimento prematuro como nascimentos vivos antes de 37 semanas completas de gestação, classificando-os de acordo com a idade gestacional ao nascimento em: extremamente prematuro (< 28 semanas), muito prematuro (28 a < 32 semanas), e prematuro moderado e tardio (32 a < 37 semanas completas)<sup>1</sup>.

Estima-se que 15 milhões de bebês nascem prematuros todos os anos<sup>2</sup>, indicando uma taxa global de cerca de 11% dos nascimentos<sup>3</sup>. No Brasil, 320 mil bebês nascem de maneira prematura a cada ano, em 2021 segundo o Ministério da Saúde, 12,19% dos nascidos vivos foram prematuros<sup>4</sup>. Embora as taxas de sobrevivência de recém-nascidos prematuros (RNPT) tenham aumentado nas últimas três décadas como resultado dos avanços da neonatologia e da tecnologia<sup>5</sup>, complicações relacionadas a prematuridade são a principal causa de morte em crianças menores de 5 anos<sup>2,6,7</sup>.

O nascimento prematuro não está relacionado a nenhum fator de risco claro, mas fatores genéticos, imunológicos, inflamatórios e de estresse podem influenciar para a sua ocorrência<sup>8</sup>. O peso ao nascer e a idade gestacional estão inversamente relacionadas a incidência e a gravidade das complicações da prematuridade<sup>9</sup>. O baixo peso ao nascer está associado ao aumento da taxa de mortalidade durante o período perinatal<sup>3,10-12</sup>, sendo considerado um excelente indicador da situação de saúde<sup>10</sup>, pois é a medida que mais facilmente reflete distúrbios agudos ou crônicos<sup>13</sup>.

O grau de prematuridade tem influência direta e proporcional ao grau de imaturidade fisiológica<sup>10</sup>, que associada a interrupção do crescimento e ao fato de não possuírem mecanismos de defesa antioxidante e imunológico bem desenvolvidos<sup>14-16</sup>, torna os RNPT mais suscetíveis a processos inflamatórios<sup>17</sup> e dano por estresse oxidativo<sup>14-16</sup>.

Apesar da resposta inflamatória ser um processo normal do nascimento, quando essa resposta encontra-se alterada, ela pode estar associada a comorbidades<sup>18</sup>. Marcadores de inflamação, principalmente citocinas pró-inflamatórias, podem indicar prognóstico de desfechos neonatais adversos, porém, ainda não existe um consenso sobre níveis aumentados ou diminuídos de citocinas em RNPT<sup>19</sup> e o perfil inflamatório desses recém-nascidos não está

bem elucidado<sup>20</sup>. A medição de citocinas do sangue do cordão umbilical, especialmente em prematuros, pode ajudar a determinar a extensão da inflamação e prever a probabilidade de complicações neonatais<sup>21</sup>.

Além disso, processos inflamatórios podem ampliar a ocorrência de estresse oxidativo durante o período perinatal<sup>22,23</sup>. O estresse oxidativo reflete um desequilíbrio entre a manifestação sistêmica de espécies reativas de oxigênio e a capacidade antioxidante<sup>9</sup>. RNPT são mais vulneráveis ao estresse oxidativo devido a fatores como desafio hipóxido-hiperóxido a que são submetidos no nascimento, infecções e deficiência no sistema antioxidante, que favorecem o aumento da produção do radical OH ocasionando maior dano oxidativo e predispondo a patologias em neonatos<sup>23,24</sup>. No entanto, de acordo com Moore et al.<sup>25</sup> enquanto alguns estudos apoiam a relação entre estresse oxidativo e prematuridade, outros são inconsistentes e contraditórios, indicando que implicações para a pesquisa e área clínica permanecem inconclusivas.

Dessa forma, investigar o perfil de marcadores inflamatórios e estresse oxidativo em relação a fatores neonatais em prematuros é de extrema relevância, pois esses podem facilitar a identificação precoce do risco e desenvolvimento de agravos em RNPT e possibilitar a detecção oportuna, tratamento de complicações adversas e permitir um direcionamento mais preciso de intervenções<sup>9,26</sup>.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Prematuridade

A prematuridade é um importante problema de saúde pública<sup>10</sup>, visto que é uma das principais causas de mortalidade e morbidade neonatal, cerca de 1 milhão de mortes neonatais por ano ocorrem devido a complicações relacionadas ao parto prematuro<sup>2,27</sup>. O nascimento prematuro pode acarretar diversas morbidades, de curto, médio e longo prazos, pois apresenta risco aumentado para alterações metabólicas, de crescimento e desenvolvimento<sup>28</sup>. A prematuridade e as complicações associadas são responsáveis por elevada incidência de doenças e comprometimento do crescimento nos primeiros anos de vida<sup>29</sup>.

O grau de prematuridade está diretamente associado ao maior risco de morbimortalidade. A idade gestacional é fundamental para a classificação da prematuridade, para o cálculo correto, recomenda-se utilizar parâmetros como a data da última menstruação e a ultrassonografia realizada no primeiro trimestre da gestação<sup>12</sup>. Recém-nascidos muito prematuros (idade gestacional < 32 semanas)<sup>30</sup> ou com baixo peso ao nascer (< 2500g), têm um risco ainda maior de desenvolver desfechos adversos<sup>3,10-12</sup>. Entre complicações da prematuridade destacam-se, as doença da membrana hialina; maior necessidade de suporte respiratório e displasia broncopulmonar; enterocolite necrosante; retinopatia da prematuridade; maior incidência de sepse neonatal; e complicações neurológicas como hemorragia periintraventricular, leucomalácia periventricular e crises convulsivas<sup>31,32</sup>. Complicações neurológicas e pulmonares, como paralisia cerebral, atraso no neurodesenvolvimento, transtorno do déficit de atenção e hiperatividade, maior incidência de autismo, pior função pulmonar, podem surgir a longo prazo<sup>33</sup>.

Apesar das associações relatadas entre parto prematuro e uma ampla gama de fatores sociodemográficos, médicos, obstétricos, fetais e ambientais, aproximadamente dois terços dos nascimentos prematuros ocorrem sem um fator de risco evidente<sup>32</sup>. O nascimento prematuro deve ser reconhecido como uma condição crônica que requer acompanhamento para facilitar ações preventivas, detecção adequada e tratamento de sequelas adversas<sup>3</sup>.

### **2.1.1 Fatores maternos e neonatais relacionados a prematuridade**

Entender as condições de nascimento é essencial para o conhecimento do perfil de nascimentos prematuros e a frequência dos fatores de risco epidemiológicos, maternos e fetais que contribuem para tal. Entre os fatores de risco mais comumente encontrados estão: idade da mãe; estado civil; escolaridade; quantidade de filhos vivos e quantidade de aborto; duração da gestação, tipo de gravidez e parto; adequação das consultas de pré-natal; apgar; raça/cor; peso ao nascer; presença e tipo de anomalia congênita; quantidade de gestações anteriores, quantidade de partos vaginais anteriores, quantidade de cesáreas anteriores, tipo de apresentação e a idade gestacional<sup>34,35</sup>.

Martinelli et al.<sup>36</sup> realizaram um estudo baseado em dados secundários de nascidos vivos no Brasil no período de 2012 a 2019, e observaram uma maior proporção de prematuridade entre mães nas faixas etárias de 10 a 14 anos e de 45 anos ou mais, analfabetas ou com 1 a 7 anos de estudo, indígenas e pretas, com 1 a 6 consultas de pré-natal. Quanto ao tipo de parto, até 2016, a maior proporção de prematuros ocorreu entre os partos vaginais e, posteriormente, passou a ser superior entre os partos cesáreos.

Um estudo caso-controle de base populacional, realizado no município de Porto Alegre, observou maior ocorrência de prematuridade nas faixas etárias extremas ( $\leq 19$  anos e  $\geq 35$  anos) e em mães com escolaridade considerada como inadequada, com diferenças estatisticamente significativas. Também, encontraram maiores frequências de prematuridade entre as mulheres com gestação múltipla, com pré-natal inadequado, que tiveram partos induzidos e com tipo de parto cesariano. Entre as variáveis que representavam as condições de nascimento observaram maiores frequências de prematuridade nas crianças com os piores escores no apgar no 5º minuto, com anomalias congênitas e com baixo peso ao nascimento<sup>37</sup>.

Duarte et al.<sup>38</sup> através de um estudo epidemiológico, concluíram que o estado civil da mãe, a escolaridade materna e a história obstétrica influenciaram de maneira significativa a ocorrência de parto prematuro e do baixo peso ao nascimento. Relataram também, que quanto mais bem conduzidas as consultas do pré-natal, menor a chance da prematuridade, destacando a importância da identificação dos fatores de risco durante o pré-natal, para adequada intervenção.

## 2.2 Avaliação antropométrica de recém-nascidos prematuros

A antropometria oferece a possibilidade de avaliar a qualidade e a quantidade do crescimento em recém-nascidos. Avaliações realizadas no momento do nascimento refletem o padrão de crescimento fetal. As três medidas mais utilizadas para avaliação nutricional em neonatos são o peso, comprimento e perímetro cefálico<sup>39,40</sup>.

A avaliação antropométrica é útil para vários propósitos, incluindo, o diagnóstico de nutrição fetal; a avaliação do risco de complicações metabólicas precoces; o monitoramento do crescimento; e o reconhecimento precoce de desnutrição<sup>41</sup>. Avaliar os parâmetros de crescimento do prematuro se faz essencial, o crescimento é um indicador global de bem-estar desde a vida fetal e por todo o período da infância e adolescência, especialmente em prematuros<sup>42</sup>.

Medidas antropométricas são de extrema importância, uma vez que são simples, factíveis, não invasivas, de baixo custo e têm concordância com métodos mais elaborados de avaliação<sup>39,42</sup>. Porém, a antropometria precisa deve basear-se em técnica e instrumentação apropriadas e os resultados obtidos interpretados em gráficos de crescimento adequados ou comparados com valores de referência apropriados<sup>43</sup>.

### 2.2.1 Peso

Para o ganho de peso fetal, o terceiro trimestre de gestação parece ser o mais crítico e importante durante o crescimento intrauterino, dessa forma, prematuros perdem parte deste ganho<sup>17</sup>. O peso de nascimento é considerado um dos melhores parâmetros para avaliação do crescimento perinatal, sendo que qualquer alteração no mesmo pode refletir distúrbios agudos ou crônicos<sup>3,11</sup>.

A classificação do peso ao nascer pode ser determinada pelo seguinte critério: extremo baixo peso (< 1000g), muito baixo peso (≥ 1000g a <1500g), baixo peso (≥ 1500 g a < 2500g), peso insuficiente (≥ 2500g a < 3000 g), peso adequado (≥ 3000g a < 4000 g)<sup>44</sup>.

De forma geral, o baixo peso ao nascer < 2500g é considerado um indicador importante de saúde do recém-nascido, e está associado ao aumento da taxa de mortalidade no período perinatal<sup>10</sup>. A percentagem de baixo peso em uma população reflete também outros indicadores de saúde pública, que incluem nutrição materna e sistema de saúde precário<sup>12</sup>.

Além disso, o peso ao nascer em prematuros está fortemente associado à massa livre de gordura, sendo considerado um prognóstico para resultados posteriores do desenvolvimento neurológico<sup>41,45</sup>.

### **2.2.2 Comprimento**

A medida de comprimento reflete as diferenças do seu potencial genético, é um indicador do tamanho corporal e do crescimento linear do recém-nascido<sup>46</sup>. O comprimento do corpo determinado logo após o nascimento, também reflete a massa livre de gordura em prematuros<sup>41</sup>. Para avaliar o comprimento ao nascer podem ser utilizados os gráficos transversais específicos de Fenton<sup>47</sup> de acordo com o sexo e idade gestacional.

A avaliação do crescimento do RNPT, especialmente daquele pequeno para a sua idade gestacional, é importante para identificar sua condição de saúde e seu prognóstico. Problemas resultantes da prematuridade podem interferir no crescimento dos RNPT, portanto, é essencial dar atenção à medida do comprimento, possibilitando relacionar qualquer déficit desse com o possível desenvolvimento de patologias<sup>39</sup>.

### **2.2.3 Perímetro Cefálico**

A medida do perímetro cefálico é um bom parâmetro para avaliar o crescimento cerebral, uma vez que se correlaciona diretamente com o tamanho do encéfalo. As medidas do perímetro cefálico no nascimento, podem ser interpretadas com os gráficos transversais de Fenton<sup>47</sup> para sexo e idade gestacional.

O perímetro cefálico é um bom indicador do desenvolvimento cerebral, um importante critério a fim de avaliar a recuperação do prematuro<sup>48</sup>. Em RNPT existe uma estreita relação entre o crescimento do perímetro cefálico e o desfecho do neurodesenvolvimento. A recuperação do perímetro cefálico e o resultado do neurodesenvolvimento estão intimamente relacionados e ambos estão associados ao crescimento fetal e neonatal precoce<sup>49</sup>.

### **2.2.4 Classificação do estado nutricional - Curva de Fenton**

O cruzamento do peso ao nascer com a idade gestacional permite uma avaliação nutricional da criança que nasce<sup>12</sup>. As curvas de Fenton<sup>47</sup> determinam

a adequação do peso em relação à idade gestacional, refletem o crescimento intrauterino e foram construídas a partir de revisão sistemática e metanálise de dados provenientes de seis grandes estudos populacionais realizados em países desenvolvidos, como Alemanha, Estados Unidos, Itália, Austrália, Escócia e Canadá. Elas permitem monitorar o crescimento prematuro a partir das 22 semanas de gestação, porém, esses valores são mais robustos a partir de 24 semanas<sup>47</sup>.

A classificação da adequação do peso ao nascer em relação à idade gestacional, é dividida em: adequados para a idade gestacional (AIG) os recém-nascidos com peso ao nascer entre os percentis 10 e 90; pequenos para a idade gestacional (PIG) os que estão abaixo do percentil 10; e grande para a idade gestacional (GIG) acima do percentil 90 das referidas curvas<sup>44</sup>.

### **2.3 Processo inflamatório no recém-nascido prematuro**

Uma resposta inflamatória ocorre logo ao nascimento, desencadeada por um estímulo de estresse a que o feto é submetido<sup>18,19,50</sup>. Essa resposta inflamatória é principalmente mediada pelas citocinas. As citocinas são proteínas de baixo peso molecular, secretadas por células do sistema imunológico e agem principalmente como mediadoras e reguladoras da imunidade, inflamação e hematopoiese<sup>19,51</sup>.

Apesar de ser uma resposta normal ao processo do nascimento, quando essa resposta inflamatória sistêmica no recém-nascido encontra-se alterada, ela pode estar associada a comorbidades<sup>18</sup>. No caso de RNPT essa resposta inflamatória é ainda imatura, o que favorece o desbalanço na sua regulação, e possibilita o desenvolvimento de complicações da prematuridade<sup>17</sup>.

Fatores associados ao parto prematuro, como infecção materna, ruptura prematura de membranas e trabalho de parto prematuro estão relacionados com alterações inflamatórias no recém-nascido e contribuem para uma reação inflamatória mais abundante e a manifestação de comorbidades em RNPT<sup>52-54</sup>.

As citocinas controlam a resposta inflamatória através de mecanismos pró-inflamatórios e também anti-inflamatórios. Sabe-se que um desbalanço neste controle pró e anti-inflamatório pode trazer consequências ao organismo através de uma resposta inflamatória exagerada possibilitando o desenvolvimento de doenças graves<sup>19</sup>. Níveis aumentados de citocinas pró-

inflamatórias, particularmente interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), estão associados ao parto prematuro em comparação com os níveis encontrados em recém-nascidos a termo<sup>19</sup>. O aumento de IL-6 e o TNF- $\alpha$  são importantes mediadores da resposta ao estresse e à infecção em prematuros<sup>50</sup>. Blanco-Quirós et al.<sup>55</sup> relatou níveis aumentados de Interleucina-10 (IL-10) no sangue do cordão umbilical em RNPT, sugerindo estar relacionado à imaturidade fetal, pois esses níveis estavam inversamente correlacionados com a idade gestacional. De acordo com Anderson et al.<sup>20</sup> ainda não está clara a contribuição para a suscetibilidade infecciosa dos níveis séricos de citocinas em RNPT.

### **2.3.1 Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$**

Uma das principais citocinas pró-inflamatórias, o TNF- $\alpha$  é um marcador inicial de inflamação sistêmica, produzida principalmente por monócitos, macrófagos e linfócitos-T, desencadeia uma resposta inflamatória local, ativando células inflamatórias<sup>51</sup>.

Níveis elevados de TNF- $\alpha$  parecem estar relacionados com a maior gravidade de doenças, embora alguns estudos não confirmem essa relação. No estudo de revisão, realizado por Lyon et al.<sup>19</sup> foi observado que níveis aumentados de TNF- $\alpha$  estavam associados à ocorrência de nascimento prematuro em comparação aos níveis encontrados em nascimentos a termo. Já Anderson et al.<sup>20</sup> não observaram diferenças nos níveis de TNF- $\alpha$  avaliado em sangue de cordão de prematuros em relação à nascidos a termo. E Förster-Waldl et al.<sup>56</sup> demonstraram uma menor produção de TNF- $\alpha$  pelos monócitos do cordão umbilical em RNPT em comparação a recém-nascidos a termo.

### **2.3.2 Interleucina-6**

A IL-6 é uma importante citocina pró-inflamatória, com efeitos locais e sistêmicos, e é produzida por vários tipos de células, como macrófagos, monócitos, fibroblastos e células vasculares endoteliais. Ela tem efeitos inflamatórios, participa na resposta imune, atua na hematopoiese e também na transição da resposta imune aguda para a resposta imune crônica. Sua produção é estimulada em resposta a outras citocinas, como TNF- $\alpha$ <sup>51</sup>.

Considerada um importante marcador da resposta inflamatória sistêmica, a IL-6 alcança rapidamente picos de concentração sérica em quadros

infeciosos<sup>57</sup>. O aumento de IL-6 em sangue de cordão umbilical é utilizado para caracterizar a síndrome da resposta inflamatória fetal<sup>18,52</sup>, estando também associada a um risco aumentado de morbidade e mortalidade neonatal<sup>58</sup>. De acordo com Takahashi et al.<sup>54</sup>, a IL-6 parece ser a citocina clinicamente mais importante no período neonatal por estar relacionada à complicações neonatais.

### **2.3.3 Interleucina-10**

Na regulação da resposta imune, a IL-10 é uma citocina de ação predominantemente anti-inflamatória. Ela é produzida por células imunes ativadas, como macrófagos e linfócitos<sup>59</sup>. Suas atuações envolvem a inibição da síntese de citocinas pró-inflamatórias e a modulação da ação de outros agentes inflamatórios e a estimulação da produção de citocinas anti-inflamatórias<sup>57,59,60</sup>. Sua liberação ocorre mais tardiamente na resposta inflamatória em comparação com outras citocinas, sendo o TNF- $\alpha$  um dos principais estímulos para sua secreção<sup>61</sup>.

Um estudo que avaliou a presença de IL-10 em sangue de cordão demonstrou que RNPT têm maiores concentrações desta citocina que recém-nascidos a termo, o que pode ser explicado devido ao efeito imunossupressivo observado durante a gestação, que diminui quando esta aproxima-se do termo<sup>55</sup>. De acordo com Takahashi et al.<sup>54</sup>, a IL-10 pode desempenhar um papel significativo em várias condições patológicas em recém-nascidos.

## **2.4 Estresse oxidativo em recém-nascidos prematuros**

A transição do meio intrauterino para extrauterino aumenta muito a produção de radicais livres, o que normalmente é controlado pelo sistema de defesa antioxidante<sup>16,62</sup>. O estresse oxidativo é um desequilíbrio dessa regulação, cuja manifestação sistêmica de espécies reativas de oxigênio (EROs)/ espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e a capacidade do sistema de defesa antioxidante do corpo de inativá-lo posteriormente ou de reparar o dano resultante não ocorrem de maneira eficiente<sup>22,62,63</sup>.

As EROs incluem radicais livres e moléculas oxigenadas de radicais não livres. O estresse oxidativo e o desequilíbrio da reação redox podem ser originados por essas espécies radicais<sup>24</sup>. A geração de EROs pelas mitocôndrias é altamente variável e depende das condições metabólicas e do desequilíbrio

intramitocondrial entre fatores oxidativo e antioxidantes<sup>23</sup>. Os radicais livres de oxigênio são espécies químicas extremamente reativas que reagem com vários conteúdos de células vivas, tais como, fosfolípidios, aminoácidos e ácidos nucleicos que levam à peroxidação de lipídios, quebras de fita de DNA, entre outros danos que resultam em lesão celular<sup>9,22,24,62,64,65</sup>.

Antioxidantes são capazes de contrabalançar a produção de radicais livres, neutralizando diretamente ou removendo EROs e ERNs e/ou reparando e protegendo de danos celulares induzidos pelas mesmas. Os antioxidantes mais comuns são: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione (GSH), vitamina C e E e minerais<sup>22</sup>.

Enzimas antioxidantes são induzidas nas últimas semanas de gestação, portanto, em RNPT podem se apresentar em níveis reduzidos<sup>16,22</sup>. Assim, neonatos prematuros são mais suscetíveis ao estresse oxidativo, principalmente por não possuírem mecanismos de defesa antioxidante e imunológico bem desenvolvidos, estando sujeitos ao desenvolvimento de complicações no período neonatal<sup>16,63,64</sup>. As principais razões para essa suscetibilidade são: desafio hipóxico-hiperóxico, presença de infecções, deficiência de defesa antioxidante e níveis elevados de ferro livre<sup>23,24</sup>.

O dano induzido por estresse oxidativo desempenha um papel importante em vários processos patológicos que estão envolvidos em doenças neonatais<sup>22,23,25,26,66</sup>. Alguns estudos apontam que a maioria das complicações da prematuridade, como displasia broncopulmonar, retinopatia da prematuridade, enterocolite necrosante, hemorragia intraventricular, leucomalácia periventricular e lesões da substância branca parecem estar relacionadas a lesão oxidativa<sup>9,15,22,24,67</sup>.

O papel do estresse oxidativo na patogênese de doenças mediadas por radicais livres, tem sido demonstrado principalmente pela dosagem de biomarcadores que detectam: níveis de proteínas fragmentadas, DNA e peroxidação de lipídios<sup>16,22,64</sup>. Um dos marcadores mais comumente usados para avaliar a peroxidação lipídica é o malondialdeído (MDA)<sup>16,25,65</sup>. Níveis mais elevados desse biomarcador sugerem aumento do dano permanente associado ao estresse oxidativo<sup>68</sup>. Estudos indicam que a identificação de biomarcadores confiáveis no período perinatal parece ser essencial para a descoberta precoce

de doenças associadas aos radicais livres e o subsequente resultado de saúde em longo prazo<sup>26,64</sup>.

## **2.4.1 Marcadores de estresse oxidativo**

### **2.4.1.1 Antioxidantes**

Os antioxidantes protegem as células das reações de peroxidação, limitando danos celulares e ajudando a manter a integridade da membrana celular<sup>14</sup>. Também, podem impedir a formação de EROs e ERNs eliminando diretamente, removendo e/ou reparando os danos celulares dependentes de EROs / ERNs <sup>22,25</sup>. A prematuridade estará associada a mecanismos antioxidantes deficientes, que são primariamente enzimáticos, mas também não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos mais estudados em neonatos são: CAT, SOD e GSH<sup>69</sup>.

CAT: também chamada hidroperoxidase, é uma enzima antioxidante intracelular endógena expressa na maioria das células<sup>25</sup>, considerada homotetrâmera por possuir em cada monômero um grupo heme responsável pela atividade enzimática. Para evitar o excesso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o converte em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub><sup>70</sup>.

SOD: são enzimas antioxidantes endógenas que catalisam a dismutação de superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) para H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>. Existem três isoformas de SOD em humanos: a citoplasmática e a extracelular que contém cobre e zinco em seu sítio de ativação e a mitocondrial que contém manganês<sup>25,26</sup>. Todas as isoformas provêm a conversão do superóxido de hidrogênio<sup>71</sup>. A SOD é a primeira enzima de desintoxicação e o antioxidante mais poderoso da célula, atuando como um componente do sistema de defesa de primeira linha contra EROs<sup>22,26</sup>.

GSH: A GSH possui papel central na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo<sup>72</sup>. É um tripeptídeo intracelular de cisteína produzido no citosol<sup>25</sup>, representa o tiól não protéico intracelular mais abundante, atuando como um sistema antioxidante por sua capacidade de eliminar EROs<sup>26</sup>.

#### **2.4.1.2 Produtos finais de dano por estresse oxidativo**

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): são formadas como um subproduto da peroxidação lipídica que podem ser detectadas pelo ensaio TBARS usando ácido tiobarbitúrico como um reagente. EROs têm meia-vida extremamente curta e são difíceis de medir diretamente, assim, o que pode ser medido são os vários produtos dos danos produzidos pelo estresse oxidativo, tais como as TBARS. Os ensaios de TBARS medem o MDA dentre os produtos da peroxidação lipídica<sup>73</sup>. O MDA é um aldeído secundário formado a partir da peroxidação lipídica de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) e F2-isoprostanos, compostos do tipo prostaglandina formados durante as fases posteriores da peroxidação lipídica de PUFAs<sup>25</sup>. O MDA é um dos indicadores mais utilizados para avaliar o estresse oxidativo medido em sangue de cordão umbilical<sup>74</sup>.

### 3 JUSTIFICATIVA

O nascimento prematuro é um dos principais determinantes da mortalidade e morbidade neonatal, tendo implicações diversas que podem ser expressas a curto, médio e longo prazos<sup>2,27,28</sup>. RNPT são mais suscetíveis ao desenvolvimento de complicações e o risco está diretamente associado a uma menor idade gestacional e ao baixo peso ao nascer<sup>9</sup>.

Processos inflamatórios e o estresse oxidativo têm sido implicados na patogênese de diversas doenças que ocorrem no período neonatal<sup>23,24</sup>. Prematuros são particularmente sensíveis ao estresse oxidativo, devido a um desequilíbrio na produção de radicais livres e no sistema de defesa antioxidante<sup>16</sup>; e o aumento de marcadores inflamatórios podem estimular a produção de EROs<sup>22,23</sup>, conseqüentemente aumentando o estresse oxidativo e tornando os neonatos ainda mais propensos a desfechos desfavoráveis.

Assim, a pesquisa tem o intuito de ampliar o conhecimento na temática da saúde perinatal, elucidando o perfil de marcadores inflamatórios, dano oxidativo e atividade antioxidante associados a idade gestacional e peso ao nascimento. Além disso, visa contribuir na compreensão dos fatores de risco para o desenvolvimento de patologias manifestadas no período neonatal e conseqüentemente auxiliar para um direcionamento mais preciso de intervenções.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo principal**

Estabelecer o perfil inflamatório e estresse oxidativo em sangue de cordão umbilical de RNPT.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Investigar a associação entre marcadores de estresse oxidativo e níveis de citocinas em relação ao peso ao nascer de RNPT.
  
- Investigar a associação entre marcadores de estresse oxidativo e citocinas em relação a idade gestacional de RNPT.
  
- Avaliar a correlação entre os marcadores inflamatórios e estresse oxidativo.

## 5 HIPÓTESES

*Hipótese nula:* O perfil de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo avaliados em sangue de cordão umbilical de RNPT não difere em relação a idade gestacional e peso ao nascer.

*Hipótese alternativa:* O perfil de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo avaliados em sangue de cordão umbilical de RNPT está associado à idade gestacional e peso ao nascer.

## 6 REFERÊNCIAS

1. World health organization. Born Too Soon: The Global action report on preterm Birth [E-book Internet]. Geneva: WHO; 2012 [capturado em 2022 Jun 8]. 128 p. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44864/9789241503433\\_eng.pdf;jsessionid=3C49CE9E855CB64DBA80FE692A3CB2F4?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44864/9789241503433_eng.pdf;jsessionid=3C49CE9E855CB64DBA80FE692A3CB2F4?sequence=1)
2. World Health Organization. Preterm birth – 19 February 2018 [Internet]. WHO; 2018 [capturado em 2022 Jun 8]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>
3. Crump C. Preterm birth and mortality in adulthood: a systematic review. *Journal of Perinatology* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2022 Jun 8];40(6):833-843. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41372-019-0563-y>
4. Ministério da Saúde (BR). Campanha do Ministério da Saúde defende separação zero entre pais e recém-nascidos [Internet]. Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde. Brasília/DF; 2021 [capturado em 2022 Jun 8]. Disponível em: <https://www.conasems.org.br/campanha-do-ministerio-da-saude-defende-separacao-zero-entre-pais-e-recem-nascidos/>
5. Parlapani E, Agakidis C, Karagiozoglou-Lampoudi T. Anthropometry and Body Composition of Preterm Neonates in the Light of Metabolic Programming. *Am Coll Nutr* [periódico on-line]. 2018 [capturado em 2022 Jun 8];37(4):350-359. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07315724.2017.1400479>
6. Chawanpaiboon S, Vogel JP, Moller AB, Lumbiganon P, Petzold M, Hogan D, et al. Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: a systematic review and modelling analysis. *Lancet Glob Health* [periódico on-line]. 2019 [capturado em 2022 Jun 8];7(1):e37-e46. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30451-0](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30451-0)
7. Costa A, Moller AB, Blencowe H, Johansson EW, Hussain-Alkhateeb L, Ohuma EO, et al. Study protocol for WHO and UNICEF estimates of global, regional, and national preterm birth rates for 2010 to 2019. *PLoS One* [periódico on-line]. 2021 [capturado em 2022 Jun 8];16(10):e0258751. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258751>
8. Cappelletti M, Della Bella S, Ferrazzi E, Mavilio D, Divanovic S. Inflammation and preterm birth. *J Leukoc Biol* [periódico on-line]. 2016

- [capturado em 2022 Jun 8];99(1):67-78. Disponível em: <https://doi.org/10.1189/jlb.3MR0615-272RR>
9. Falsaperla R, Lombardo F, Filosco F, Romano C, Saporito MAN, Puglisi F, et al. Oxidative Stress in Preterm Infants: Overview of Current Evidence and Future Prospects. *Pharmaceuticals (Basel)* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2021 Mar 8];13(7):145. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ph13070145>
  10. Campos JO, da Silva AM, de Santana MS, de Oliveira TLPS, Rocha CSA, da Silva AR, et al. Assessment of nutritional status of preterm newborns in the neonatal intensive care unit. *Braz. J. of Develop* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2022 Jun 10];6(10):80007-80028. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n10-432>
  11. Ministério da Saúde (BR). Atenção à saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde [E-book Internet]. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde; 2014 [capturado em 2022 Jun 10]. 2. ed;194 p. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/atencao\\_saude\\_recem\\_nascido\\_v1.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/atencao_saude_recem_nascido_v1.pdf)
  12. Guedes RRL, Soares JMA, Pinheiro MB, Fontes JS. Profile of prematurity and neonatal weight adequacy in maternity of Minas Gerais and parallel with medical literature. *Residência Pediátrica. Sociedade Brasileira de Pediatria* [periódico on-line]. 2022 [capturado em 2022 Jun 10];1-7. Disponível em: <https://doi.org/10.25060/residpediatr-2022.v12n1-265>
  13. Ramel SE, Gray HL, Ode KL, Younge N, Georgieff MK, Demerath EW. Body Composition Changes in Preterm Infants Following Hospital Discharge: Comparison With Term Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [periódico on-line]. 2011 [capturado em 2022 Jun 10];53(3):333-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3182243aa7>
  14. Bharadwaj SK, Bhat BV, Vickneswaran V, Adhisivam B, Bobby Z, Habeebullah S. Oxidative Stress, Antioxidant Status and Neurodevelopmental Outcome in Neonates Born to Pre-eclamptic Mothers. *Indian J Pediatr* [periódico on-line]. 2018 [capturado em 2021 Mar 10];85(5):351–357. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2560-5>
  15. Norishadkam M, Andishmand S, Zavar reza J, Sakhvidi MJZ, Hachesoo VR. Oxidative Stress and DNA Damage in the Cord Blood of Preterm Infants. *Mutat Res* [periódico on-line]. 2017 [capturado em 2021 Mar 10];824:20-24. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2017.10.003>

16. Pajai SS, Bezalwar AP. Oxidative Stress in Preterm Neonates: An Analysis of Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Profiles. *J Clin Diagn Res [periódico on-line]*. 2020 [capturado em 2021 Mar 10];14(12):CC01-CC03. Disponível em: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2020/45902.14388>
17. Guimarães EAA, Vieira CS, Nunes FDD, Januário GC, de Oliveira VC, Tibúrcio JD. Prematurity and associated factors in Divinópolis, Minas Gerais state, Brazil, 2008-2011: analysis of the Information System on Live Births. *Epidemiol. Serv. Saude [periódico on-line]*. 2017 [capturado em 2022 Jun 10];26(1):91-98. Disponível em: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742017000100010>
18. Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Pineles BL, Erez O, et al. The fetal inflammatory response syndrome. *Clin Obstet Gynecol [periódico on-line]*. 2007 [capturado em 2022 Jun 10];50(3):652-83. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e31811ebef6>
19. Lyon D, Cheng CY, Howland L, Rattican D, Jallo N, Pickler R, et al. Integrated review of cytokines in maternal, cord, and newborn blood: part I---associations with preterm birth. *Biol Res Nurs [periódico on-line]*. 2010 [capturado em 2022 Jun 10];11(4):371–376. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1099800409344620>
20. Anderson J, Thang CM, Thanh LQ, Dai VTT, Phan VT, Nhu BTH, et al. Immune Profiling of Cord Blood From Preterm and Term Infants Reveals Distinct Differences in Pro-Inflammatory Responses. *Front Immunol [periódico on-line]*. 2021 [capturado em 2022 Jun 11];12:777927. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.777927>
21. Otsubo Y, Hashimoto K, Kanbe T, Sumi M, Moriuchi H et al. Association of cord blood chemokines and other biomarkers with neonatal complications following intrauterine inflammation. *PLoS One [periódico on-line]*. 2017 [capturado em 2022 Jun 11];12(5):e0175082. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175082>
22. Lembo C, Buonocore G, Perrone S. Oxidative Stress in Preterm Newborns. *Antioxidants (Basel) [periódico on-line]*. 2021 [capturado em 2022 Jun 11];10(11):1672. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox10111672>
23. Perrone S, Santacroce A, Longini M, Proietti F, Bazzini F, Buonocore G. The Free Radical Diseases of Prematurity: From Cellular Mechanisms to Bedside. *Oxid Med Cell Longev [periódico on-line]*. 2018 [capturado em 2021 Mar 11];2018:7483062. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/7483062>

24. Ozsurekci Y, Aykac Kubra. Oxidative Stress Related Diseases in Newborns. *Oxid Med Cell Longev* [periódico on-line]. 2016 [capturado em 2021 Mar 11];2016:2768365. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/2768365>
25. Moore TA, Ahmad IM, Zimmerman MC. Oxidative Stress and Preterm Birth: An Integrative Review. *Biol Res Nurs* [periódico on-line]. 2018 [capturado em 2021 Mar 11];20(5):497-512. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1099800418791028>
26. Perrone S, Laschi E, Buonocore G. Oxidative stress biomarkers in the perinatal period: Diagnostic and prognostic value. *Semin Fetal Neonatal Med* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2021 Mar 11];25(2):101087. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.siny.2020.101087>
27. Wagura P, Wasunna A, Laving A, Wamalwa D, Ng'ang'a P. Prevalence and factors associated with preterm birth at kenyatta national hospital. *BMC Pregnancy Childbirth* [periódico on-line]. 2018 [capturado em 2022 Jun 15 8];18(1):107. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12884-018-1740-2>
28. Terrazzan AC, Procianoy RS, Silveira RC. Neonatal cord blood adiponectin and insulin levels in very low birth weight preterm and healthy full-term infants. *J Matern Fetal Neonatal Med* [periódico on-line]. 2014 [capturado em 2022 Jun 15];27:616-20. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.823939>
29. Gäddlin PO. Follow-up studies of very low birthweight children in Sweden. *Acta Paediatr* [periódico on-line]. 2011 [capturado em 2022 Jun 15 8];100(7):940-949. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2011.02288.x>
30. Lemola S. Long-term outcomes of very preterm birth: Mechanisms and interventions. *European Psychologist* [periódico on-line]. 2015 [capturado em 2022 Jun 15];20:128–137. Disponível em: <https://doi.org/10.1027/1016-9040/a000207>
31. Platt MJ. Outcomes in preterm infants. *Public Health* [periódico on-line]. 2014 [capturado em 2022 Jun 15];128(5):399–403. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2014.03.010>
32. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller AB, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet & Gynaecol* [periódico on-line]. 2018 [capturado em 2022 Jun 15];52:3-12. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.04.003>

33. Franz AP, Bolat GU, Bolat H, Matijasevich A, Santos IS, Silveira RC, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder and very preterm/very low birth weight: a meta-analysis. *Pediatrics* [periódico on-line]. 2018 [capturado em 2022 Jun 15];141(1):e20171645. Disponível em: <https://doi.org/10.1542/peds.2017-1645>
34. Leal MC, Esteves-Pereira AP, Nakamura-Pereira M, Torres JA, Theme-Filha M, Domingues RMSM, et al. Prevalence and risk factors related to preterm birth in Brazil. *Reprod Health* [periódico on-line]. 2016 [capturado em 2022 Set 8];13(Suppl 3):127. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12978-016-0230-0>
35. Cobo T, Kacerovsky M, Jacobsson B. Risk factors for spontaneous preterm delivery. *Int J Gynaecol Obstet* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2022 Set 9];150(1):17-23. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijgo.13184>
36. Martinelli KG, Dias BAS, Leal ML, Belotti L, Garcia EM, dos Santos Neto ET. Prematuridade no Brasil entre 2012 e 2019: dados do Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos. *R. bras. Est* [periódico on-line]. 2021 [capturado em 2022 Jun 15];38:1-15,e0173. Disponível em: <https://doi.org/10.20947/S0102-3098a0173>
37. Oliveira LL, Gonçalves AC, Costa JSD, Bonilha ALL. Fatores maternos e neonatais relacionados à prematuridade. *Rev Esc Enferm USP* [periódico on-line]. 2016 [capturado em 2022 Jun 20];50(3):382-389. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0080-623420160000400002>
38. Duarte IL, Neto NL, Carretero DC, de Freitas CC, Vieira ALS, Guimarães LCR. Fatores Preditores Maternos e Neonatais Relacionados à Prematuridade em um Município do Interior de São Paulo. *R bras ci Saúde* [periódico on-line]. 2021 [capturado em 2022 Jun 20];25(2):205-216. Disponível em: <https://doi.org/10.22478/ufpb.2317-6032.2021v25n2.55280>
39. Silveira RC. Seguimento ambulatorial do prematuro de risco [E-book Internet]. São Paulo: Departamento Científico de Neonatologia. Sociedade Brasileira de Pediatria; 2012 [capturado em 2022 Jun 20]. 84 p. Disponível em: [https://www.sbp.com.br/fileadmin/user\\_upload/pdfs/Seguimento\\_prematuro\\_ok.pdf](https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/pdfs/Seguimento_prematuro_ok.pdf)
40. Johnson MJ, Wiskin AE, Pearson F, Beattie RM, Leaf AA. How to use: nutritional assessment in neonates. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* [periódico on-line]. 2015 [capturado em 2022 Jun 20];100:147–154. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/archdischild-2014-306448>

41. Pereira-da-Silva L, Virella D, Fusch C. Nutritional Assessment in Preterm Infants: A Practical Approach in the NICU. *Nutrients* [periódico on-line]. 2019 [capturado em 2022 Jun 20];11(9):1999. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu11091999>
42. Sociedade Brasileira de Pediatria. Monitoramento do crescimento de RN pré-termos [periódico on-line]. 2017 [capturado em 2022 Ago 8]. Departamento Científico de Neonatologia. Disponível em: [https://www.sbp.com.br/fileadmin/user\\_upload/2017/03/Neonatologia-Monitoramento-do-cresc-do-RN-pt-270117.pdf](https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/2017/03/Neonatologia-Monitoramento-do-cresc-do-RN-pt-270117.pdf)
43. Pereira-da-Silva L. Neonatal anthropometry: a tool to evaluate the nutritional status, and to predict early and late risks. In book: *The Handbook of Anthropometry: Physical Measures of Human Form in Health and Disease* [E-book on the Internet]. New York; 2012 [capturado em 2022 Jun 20];ed.1;65:1079-1104. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1788-1>
44. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* [periódico on-line]. 1967 [capturado em 2022 Jun 20]; 71(2):159-63. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(67\)80066-0](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(67)80066-0)
45. Ramel SE, Zhang L, Misra S, Anderson CG, Demerath EW. Do anthropometric measures accurately reflect body composition in preterm infants? *Pediatr Obes* [periódico on-line]. 2017 [capturado em 2022 Jun 20];1:72-77. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijpo.12181>
46. Figueira, BBD. Avaliação nutricional. In: Costa, Helenice de Paula Fiod; MARBA, Sérgio Tadeu. *O recém-nascido de muito baixo peso*. São Paulo: Editora Atheneu; 2004.p. 203-214.
47. Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatrics* [periódico on-line]. 2013 [capturado em 2022 Jun 20];20:13-59. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2431-13-59>
48. Galvão GMM, Xavier CC, Pontes TB. A dinâmica do crescimento do perímetro cefálico de recém-nascidos pré-termo menores de 2000 gramas do nascimento a 42 semanas de idade corrigida. *Rev Med Minas Gerais* [periódico on-line]. 2016 [capturado em 2022 Jun 20];26(5):S72-S82. Disponível em: <http://www.rmmg.org/artigo/detalhes/2003>
49. Ghods E, Kreissl A, Brandstetter S, Fuiko R, Widhalm K. Head circumference catchup growth among preterm very low birth weight infants: effect on neurodevelopmental outcome. *J Perinat Med* [periódico

- on-line]. 2011 [capturado em 2022 Jun 21];39(5):579-586. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/jpm.2011.049>
50. Areia AL, Mota-Pinto A. Inflammation and Preterm Birth: A Systematic Review. *Reprod. Med* [periódico on-line]. 2022 [capturado em 2022 Jun 21];3:101-111. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/reprodmed3020009>
51. Oliveira CMB, Sakata RK, Issy AM, Gerola LR, Salomão R. Citocinas e Dor. *Rev Bras Anesthesiol* [periódico on-line]. 2011 [capturado em 2022 Jul 8];61(2):255-265. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-70942011000200014>
52. Romero R, Chaemsathong P, Korzeniewski SJ, Tarca AL, Bhatti G, Xu Z et al. Clinical chorioamnionitis at term II: the intra-amniotic inflammatory response. *J perinat Med* [periódico on-line]. 2016 [capturado em 2022 Jul 8];44(1):5-22. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/jpm-2015-0045>
53. Sobic D, Koenig JM. A perfect storm: fetal inflammation and the developing immune system. *Pediatr Res* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2022 Jul 8];87(2):319-326. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0582-6>
54. Takahashi N, Uehara R, Kobayashi M, Yada Y, Koike Y, Kawamata R, et al. Cytokine profiles of seventeen cytokines, growth factors and chemokines in cord blood and its relation to perinatal clinical findings. *Cytokine* [periódico on-line]. 2010 [capturado em 2022 Jul 8];49(3):331-337. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2009.11.024>
55. Blanco-Quirós A, Arranz E, Solis G, Villar A, Ramos A, Coto D. Cord blood interleukin-10 levels are increased in preterm newborns. *Eur J Pediatr* [periódico on-line]. 2000 [capturado em 2022 Jul 8];159(6):420-423. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s004310051299>
56. Förster-Waldl E, Sadeghi K, Tamandl D, Gerhold B, Hallwirth U, Rohrmeister K, et al. Monocyte toll-like receptor 4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging. *Pediatr Res* [periódico on-line]. 2005 [capturado em 2022 Jul 8];58(1):121-124. Disponível em: <https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000163397.53466.0F>
57. Valerio TA, Cancelier AC, Constantino L, Petronilho F, Ritter C, Dal-Pizzol F. Inflammatory and oxidative cord blood parameters as predictors of neonatal sepsis severity. *Rev Bras Ter Intensiva* [periódico on-line]. 2012 [capturado em 2022 Jul 8];24(1):30-34. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-507X2012000100005>

58. Wolfsberger CH, Bruckner M, Baik-Schneditz N, Schwabegger B, Mileder LP, Avian A, et al. Fetal Inflammatory Response Syndrome and Cerebral Oxygenation During Immediate Postnatal Transition in Preterm Neonates. *Front Pediatr* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2022 Jul 8];8:401. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00401>
59. Sabat R, Grutz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, Geginat J. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev* [periódico on-line]. 2010 [capturado em 2022 Jul 8];21(5):331-44. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2010.09.002>.
60. Procianoy RS, Silveira RC. Association between high cytokine levels with white matter injury in preterm infants with sepsis. *Pediatr Crit Care Med* [periódico on-line]. 2012 [capturado em 2022 Jul 8];13(2):183-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/PCC.0b013e3182231074>
61. Borish L. IL-10: evolving concepts. *J Allergy Clin Immunol* [periódico on-line]. 1998 [capturado em 2022 Jul 8];101(3):293-7. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(98\)70238-6](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70238-6)
62. Bandyopadhyay T, Bhatia BD, Khanna HD. A study of oxidative stress in neonates delivered through meconium-stained amniotic fluid. *Eur J Pediatr* [periódico on-line]. 2017 [capturado em 2021 Mar 8];176(3):317-325. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00431-016-2845-0>
63. Stefanov G, Briyal S, Pais G, Puppala B, Gulati A. Relationship Between Oxidative Stress Markers and Endothelin-1 Levels in Newborns of Different Gestational Ages. *Front Pediatr* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2021 Mar 8];8:279. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00279>
64. Ghany EAGA, Elhamed WAA, Ali AA, Youness ER, Hussein JS. Antioxidant profiles and markers of oxidative stress in preterm neonates. *Paediatr Int Child Health* [periódico on-line]. 2016 [capturado em 2021 Mar 8];36(2):134-140. Disponível em: <https://doi.org/10.1179/2046905515Y.0000000017>
65. Elkabany ZA, El-Farrash RA, Shinkar DM, Ismail EA, Nada AS, Farag AS, et al. Oxidative stress markers in neonatal respiratory distress syndrome: advanced oxidation protein products and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in relation to disease severity. *Pediatr Res* [periódico on-line]. 2020 [capturado em 2021 Mar 8];87:74-80. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0464-y>
66. Perrone S, Tataranno ML, Negro S, Longini M, Toti MS, Alagna MG, et al. Placental histological examination and the relationship with oxidative stress in preterm infants. *Placenta* [periódico on-line]. 2016 [capturado em

- 2021 Mar 8];46:72-78. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.placenta.201>
67. Giuffrè M, Rizzo M, Scaturro G, Pitruzzella A, Gammazza AM, Cappello F, et al. Oxidative stress markers at birth: Analyses of a neonatal population. *Acta Histochem* [periódico on-line]. 2015 [capturado em 2021 Mar 8];117(4-5):486-491. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2015.01.007>
68. Moore TA, Schmid KK, Anderson-Berry A, Berger AM. Lung Disease, Oxidative Stress, and Oxygen Requirements in Preterm Infants. *Biol Res Nurs* [periódico on-line]. 2016 [capturado em 2021 Mar 8];18(3) 322-330. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1099800415611746>
69. Matyas M, Zaharie G. Antioxidants at Newborns. In: Shalaby E, editor. *Antioxidants* [E-book on-line]. London: IntechOpen; 2019 [capturado em 2022 Set 18]. Disponível em:  
<https://www.intechopen.com/chapters/66207> doi:  
10.5772/intechopen.85175
70. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* [periódico on-line]. 2015 [capturado em 2022 Jul 8];97:55-74. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
71. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1) Mn-SOD (SOD2) and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med* [periódico on-line]. 2002 [capturado em 2022 Ago 1];33(3):337-349. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)00905-x](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)00905-x)
72. Huber PC, Almeida WP, Fatima A. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e a importância em processos patológicos. *Quim. Nova* [periódico on-line]. 2008 [capturado em 2022 Ago 1];31(5)1170-1179. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500046>
73. Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res* [periódico on-line]. 2004 [capturado em 2022 Ago 1];43(3):200-227. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2003.10.001>
74. El Bana SM, Maher SE, Gaber AF, Aly SS. Serum and Urinary Malondialdehyde (MDA), Uric acid, and Protein as markers of perinatal asphyxia. *Electron Physician* [periódico on-line]. 2016 [capturado em 2022 Ago 1];8(7):2614-9. Disponível em: <https://doi.org/10.19082/2614>

**ARTIGO 1****Jornal de Pediatria - Fator de Impacto 2021: 2,99**

DOI: 10.1016/j.jpmed.2021.11.008

**Neonatal diseases and oxidative stress in premature infants: an integrative review  
Oxidative stress in premature infants**Versiéri Oliveira de Almeida<sup>1</sup>, Renan Augusto Pereira<sup>2</sup>, Sérgio Luís Amantéa<sup>3</sup>, Cláudia Ramos Rhoden<sup>4</sup>, Maurício Obal Colvero<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Ph.D student in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil. E-mail: versiéri.almeida@iffarroupilha.edu.br CV: <http://lattes.cnpq.br/3830267088896121> <https://orcid.org/0000-0003-1274-6857>

<sup>2</sup> Master's Degree student in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil. E-mail: renanpereira.alergia@gmail.com CV: <http://lattes.cnpq.br/5309799700183658> <https://orcid.org/0000-0003-3750-9620>

<sup>3</sup> Ph.D in Pneumological Sciences. Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil. E-mail: sergioa@ufcspa.edu.br CV: <http://lattes.cnpq.br/5913829984538008> <https://orcid.org/0000-0002-1256-3957>

<sup>4</sup> Post-doctoral degree Physiology (Environmental Science). Atmospheric Pollution Laboratory. Postgraduate Program in Health Sciences. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil. E-mail: crhoden@ufcspa.edu.br CV: <http://lattes.cnpq.br/8581973221292737> <https://orcid.org/0000-0002-3099-9375>

<sup>5</sup> Ph.D. in Pediatrics Medicine and Child Health. Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil. E-mail: mcolvero@hotmail.com CV: <http://lattes.cnpq.br/9963517090873405> <https://orcid.org/0000-0002-0091-8431>

**Institution to which the paper is related:** Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Specific contribution of each author to the study:**

<sup>1</sup> Conception and design of the study; research, analysis, and interpretation of data; writing of the article; critical review of the intellectual content; and final approval of the version to be submitted.

<sup>2,3</sup> Research, analysis, and interpretation of data; writing of the article; critical review of the intellectual content; and final approval of the version to be submitted.

<sup>4</sup> Analysis and interpretation of data; critical review of the intellectual content; and final approval of the version to be submitted.

<sup>5</sup> Conception and design of the study; critical review of the intellectual content; and final approval of the version to be submitted.

**Conflict of interest:** The authors declare that there are no conflicts of interest.

**Author for mailing and pre-publication contact:** Versiéri Oliveira de Almeida  
Address: Avenida Pinheiro Machado, 689, apto 504, Centro, Ijuí/RS, Brasil. ZIP CODE:  
98700-000. Phone number: (55)99128-3799 E-mail:  
versieri.almeida@iffarrroupilha.edu.br

**Financing:** This research has not received any specific funding from public, commercial, or non-profit sector funding agencies.

**Word count of main text:** 3.760

**Word count of the abstract:** 247

**Number of tables and figures:** 3

## Abstract

**Objective:** To describe the relationship of oxidative stress and antioxidant biomarkers in cord blood of premature newborns and the prognosis of diseases in the neonatal period.

**Sources:** This study consists of an integrative review. Searches were conducted in electronic databases Scopus, PubMed, Web of Science, and Medline/Lilacs through the Virtual Library on Health Issues, using the descriptors: “premature infants”, “preterm infants”, “preterm birth”, “preterm”, “oxidative stress”, “antioxidants”, “infant, premature, diseases” and “cord blood”. Original articles published between 2016 and 2021 in Portuguese, English, or Spanish, which analyzed oxidative stress and/or antioxidant levels through cord blood of premature newborns and evaluated clinical outcomes, were included.

**Summary of the findings:** Of the 1,003 studies reviewed, after exclusion of duplicate articles, analysis of titles, abstracts, and full texts, 18 articles were included. 72.2% (n=13) of analyzed studies reported a positive association between oxidative stress and the development of prematurity-related diseases; 27.7% (n=5) showed no significant relation. Outcomes that showed a positive association were: intrauterine growth restriction, necrotizing enterocolitis, bronchopulmonary dysplasia, intraventricular hemorrhage, fetal inflammatory response syndrome, early-onset neonatal sepsis, retinopathy of prematurity, morbidity and mortality.

**Conclusion:** The analysis of oxidative stress and antioxidants in cord blood of premature newborns may be useful in the prognosis of some pathologies. The consequences of oxidative damage are known to be associated with increased morbidity in the short and long term. Further investigation is needed in this population, in order to define normality parameters of biomarkers, clinical manifestations, diagnosis and treatment of these conditions.

**Descriptors:** Infant, Premature. Oxidative stress. Antioxidants. Infant, Premature, Diseases. Cord blood.

## Introduction

Prematurity is a major public health problem. Complications from premature birth are the leading cause of death in children under five years of age.<sup>[1]</sup> In 2017, of the 2.5 million newborns who died from preventable causes, nearly two-thirds were premature.<sup>[2]</sup>

Oxidative stress has been implicated as a possible pathophysiological condition to contribute to this unfavorable situation. Premature neonates lack a well-developed

antioxidant and immune defense mechanisms, making them more susceptible to oxidative stress injury.<sup>[3-5]</sup> The main reasons for this susceptibility are a hypoxic-hyperoxic challenge, presence of infections, deficiency in antioxidant defense, and high levels of free iron.<sup>[6,7]</sup>

The transition from intrauterine to the extrauterine environment greatly increases free radical production, which is normally downregulated by the antioxidant defense system.<sup>[8]</sup> Oxidative stress is caused by excessive reactive oxygen species (ROS), which are generated when there is an imbalance in this regulation. In oxidative stress, there is an inability of antioxidant defense system to repair the ROS damage,<sup>[8,9]</sup> due to either an excessive formation or impaired inactivation of ROS, or a combination of both.<sup>[9]</sup>

ROS include free radicals and oxygenated molecules of non-free radicals. Both of them can generate oxidative stress and redox reaction imbalance.<sup>[6]</sup> Oxygen-free radicals are extremely reactive chemical species; they react with various cellular molecules – such as phospholipids, amino acids and nucleic acids – and lead to lipid peroxidation, DNA strand breaks and other damaging processes, which culminate in cellular injury.<sup>[6,8,10-12]</sup>

Oxidative stress-induced damage has an important role in several pathological pathways involved in neonatal diseases.<sup>[6,13,14]</sup> For example, some studies point out that most complications of prematurity, such as bronchopulmonary dysplasia (BPD), retinopathy of prematurity (ROP), necrotizing enterocolitis (NEC), intraventricular hemorrhage (IVH), periventricular leukomalacia (PVL), and white matter lesions seem to be related to oxidative injury.<sup>[6,15]</sup>

According to Ozsurekci et al.,<sup>[6]</sup> there are still gaps in knowledge about the potential role of oxidative injury in the pathogenesis of neonatal diseases. New studies should be conducted to investigate more extensively diagnostic and prognostic values of various oxidative stress and antioxidant biomarkers in order to reduce oxidative tissue injury in neonates.

Cord blood has been the most widely used matrix when evaluating mechanisms related to prematurity<sup>[16]</sup> as it allows monitoring of biomarkers without causing any distress to the babies and providing relevant information.<sup>[17]</sup>

From this perspective, the objective of this study is to describe the relationship between oxidative stress and antioxidant biomarkers in cord blood of premature newborns and the development of diseases in the neonatal period of preterm newborns.

## Method

This study consists of an integrative literature review, which is a method that enables the analysis and synthesis of results in a systematized manner, providing support for decision making and improvement of clinical practice. The preparation of this review respected all the pre-established phases for its realization, covering the following steps: formulation of guiding questions; selection and retrieval of articles according to inclusion and exclusion criteria; data collection; evaluation of selected studies; discussion and interpretation of results, and presentation of the review.<sup>[18]</sup>

Studies that evaluated biomarkers of oxidative stress and/or antioxidant levels in cord blood of preterm newborns and evaluated clinical outcomes were included. Searches were conducted from January to March 2021, and studies published between 2016 and 2021 in Portuguese, English, or Spanish were included. Original peer-reviewed articles and indexed in the electronic databases Scopus (Elsevier), PubMed (via National Library of Medicine), Web of Science (main collection), and Medline/Lilacs through the Virtual Health Library were chosen. Specific descriptors and their synonyms were used, according to the Medical Subject Headings (MeSH) terms and their equivalents in Portuguese, established by the Health Sciences Descriptors (DeCS). The terms were combined using the Boolean operators “AND” and “OR” to compose the search strategy. The following terms were used in searches: “*premature infants*” OR “*preterm infants*” OR “*preterm birth*” OR “*preterm*” AND “*oxidative stress*” OR “*antioxidants*” AND “*infant, premature, diseases.*” The search equation used was: (“*premature infants*” OR “*preterm infants*” OR “*preterm birth*” OR *preterm*) AND (“*oxidative stress*” OR *antioxidants*) AND *diseases*.

To be included in this review, studies should evaluate oxidative stress and/or antioxidant biomarkers in cord blood of preterm infants (i.e. born before 37 weeks of gestational age (GA)) and associate them with a clinical outcome (a clinical condition, disease or epidemiological indicators, such as morbidity or mortality). Quantitative or qualitative data were extracted from included articles. Studies were excluded if they were duplicate publications; review studies; if they evaluated oxidative stress and/or antioxidants in premature newborns but did not associate it with a clinical outcome; studies that did not evaluate oxidative stress and/or antioxidants using cord blood; experimental studies with animals; or studies with objectives out of the scope of this review.

Two authors independently screened the titles and identified by the searches, and those which met the eligible criteria were selected for the full text review. The selected full text articles were further evaluated by two independent authors, and the studies were definitively included in the review when they met all the inclusion criteria. Any differences between the two reviewers were resolved through a third independent author. The analysis of the studies was conducted in a systematized way, using a structured instrument containing the following information: title of the article; journal; database; Qualis evaluation; authors; country; language; year; objectives; sample characteristics; analyzed variables; data analysis; results; and conclusions. The studies were critically analyzed regarding their authenticity, methodological quality, relevance of the information and representations to ensure the scientific integrity of the review.

## Results

One thousand and three articles were identified by the search strategy. Were excluded 968 articles after title/abstract analysis and after excluding duplicates, so 35 articles were fully assessed for eligibility. Two additional studies were included by assessing article references. After full-text analysis, 19 articles were excluded because they did not meet the inclusion criteria. Thus, a total of 18 studies were included in the review. Figure 1 shows the flowchart of the article selection process. Included studies were presented as follows concerning the year of publication: 5 in 2016, 3 in 2017, 2 in 2018, 3 in 2019, 3 in 2020, and 2 publications in 2021. Synthesis of the articles, year of publication, type of study, sample, source of specimen, biomarkers, diseases evaluated, and the main outcomes are described in Table 1<sup>[3-5,8-10,12,13,19-28]</sup>.

Most of studies were published in English language (94.4%, n=17), and one was in Portuguese. Regarding study methodology, six articles were case-control studies, five were prospective studies, three were cross-sectional studies, two were cohort studies, one was a clinical trial, and one was an observational analytic study.

Most studies had their sample composed only of premature newborns (61.1%, n=11). In the remaining (38.8%, n=7), term newborns were also included. Sample specimens differed in some articles. 50% (n=9) evaluated only cord blood, 16.6% (n=3) analyzed cord blood and venous blood a few hours after birth, and 33.3% (n=6) evaluated cord blood together with urine, saliva, maternal blood, and venous blood.

The following biomarkers of oxidative stress were assessed in the studies: 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) (n=3); malondialdehyde (MDA) (n=10), isoprostanes (n=2) and 8-iso-prostaglandin (n=1); advanced oxidative protein products

(AOPP) / carbonyls protein (n=3); total antioxidant capacity (TAC) (n=6); total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) (n=1); cortisol (n=1); non-protein bound iron (NPBI) (n=1). ROS and nitrate markers were also analyzed (n=1). Antioxidants evaluated in the studies were superoxide dismutase (SOD), catalase, vitamin E (n=3); copper, zinc, vitamin A (n=2); glutathione, paraoxonase-1 (PON-1), glutathione peroxidase (GPx) and vitamin C (n=1).

Evaluated pathologies included: HIV (5 articles); IUGR, BPD, ROP (4 articles); sepsis (3 articles); NEC, RDS and morbidity/mortality (2 articles); and chronic lung disease (CLD), white matter injury, DNA damage, neurological disease, fetal inflammatory response syndrome (FIRS), cardiac functions and endothelial dysfunction (one article).

The studies that reported a positive association between oxidative stress and/or development of diseases related to prematurity were 72.2% (n=13); 27.7% (n=5) showed no significant association. Positive correlations were found in IUGR,<sup>[8,13,25]</sup> NEC,<sup>[10,20]</sup> morbidity and mortality;<sup>[5,26]</sup> BPD, IVH;<sup>[10]</sup> FIRS;<sup>[21]</sup> early-onset neonatal sepsis;<sup>[22]</sup> RDS<sup>[12]</sup> and ROP.<sup>[27]</sup> CLD,<sup>[19]</sup> DNA damage,<sup>[4]</sup> IVH,<sup>[24]</sup> cardiac functions,<sup>[23]</sup> and endothelial dysfunction<sup>[9]</sup> were not associated with oxidative stress levels in included studies.

Table 2<sup>[5,8,10,12,13,20-22,25-27]</sup> shows levels of oxidative stress and/or antioxidants correlated with clinical outcomes. It was observed the following associations: 1) MDA and vitamin A were associated with ROP;<sup>[27]</sup> 2) AOPP,<sup>[13]</sup> MDA, 8-OHdG<sup>[8]</sup> and vitamin E<sup>[25]</sup> were associated with intrauterine growth restriction; 3) Cortisol,<sup>[20]</sup> vitamin A and vitamin E<sup>[10]</sup> were associated with NEC; 4) Vitamins A and E were associated with BPD and IVH;<sup>[10]</sup> 5) PON-1 was associated with FIRS;<sup>[21]</sup> 6) GPx was associated with sepsis;<sup>[22]</sup> 7) AOPP and 8-OHdG were associated with RDS<sup>[12]</sup> and 8) MDA,<sup>[5,26]</sup> and ROSs,<sup>[26]</sup> nitrates, vitamin C, and vitamin E<sup>[5]</sup> were associated with morbidity and mortality.

Three of the 13 studies which found association between oxidative biomarkers and disease development used different samples to analyze data: venous blood drawn a few hours after birth<sup>[28]</sup> maternal blood,<sup>[3]</sup> and salivary cortisol.<sup>[20]</sup>

In general, studies have shown that premature newborns have a higher level of oxidative stress biomarkers compared to term newborns due to several factors. Moreover, worse prognosis (low Apgar score, admission to the neonatal intensive care unit, assisted ventilation and hospital stay time) and increased morbidity and mortality have been

related to higher levels of oxidative stress and lower levels of antioxidants with the development of some pathologies.

## Discussion

In premature newborns, oxidative stress is a physiological event during the normal transition from the intrauterine to the extrauterine environment. Outside the uterus, free radical production increases significantly and must be counterbalanced by the antioxidant defense system. Healthy full-term newborns can tolerate these drastic changes; however, when intrauterine development is incomplete or abnormal, this tolerance might be affected.<sup>[8]</sup> The identification of reliable biomarkers to analyze the oxidant-antioxidant system dysregulation is essential to improve neonatal care. Furthermore, evaluation of oxidative stress through cord blood may be useful in determining prognosis of some pathologies.<sup>[29]</sup>

Most of the studies included in this review showed a relationship between increased levels of oxidative stress biomarkers and/or decreased levels of antioxidants in cord blood and higher risk of clinical outcomes, such as neonatal diseases and morbimortality. Among the conditions that showed a greater association with increased oxidative stress and/or reduced antioxidant levels were ROP,<sup>[27]</sup> IUGR,<sup>[8,13,25]</sup> RDS,<sup>[12]</sup> sepsis<sup>[22]</sup> and morbidity and mortality.<sup>[5,26]</sup> Falsaperla et al.<sup>[11]</sup> also observed that the imbalance between the newborn's oxidant and antioxidant factors seems to play an important role in the onset of the main pathologies of the preterm infant, such as BPD, ROP, NEC, IVH, periventricular leukomalacia and white matter lesions.

One of the selected studies evaluated 189 premature newborns (38 with ROP and 151 without ROP) in a case-control study and showed that MDA and vitamin A concentration in cord blood are independent predictor variables of ROP.<sup>[27]</sup> ROP is an eye disease that affects 7 to 15% of premature infants and is caused by abnormal vascular growth in the retina, and may cause significant visual impairment or even blindness.<sup>[20]</sup>

To monitor ROP progression among neonates AOPPs and 8-OHdG might be relevant biomarkers of oxidative stress. In a study conducted by Elkabany et al.<sup>[12]</sup> these markers were measured in the cord blood of 80 premature newborns at <34 weeks GA (40 newborns with RDS and 40 newborns without RDS), with a positive association. Another marker which might be considered as a diagnostic tool is GPx. One study evaluated 21 preterm infants (30 and 36 weeks) and showed that early-onset neonatal sepsis had a significant correlation with GPx levels in preterm infants from mothers with risk factors for this disease.<sup>[22]</sup>

A review by Casavant et al.<sup>[30]</sup> showed that, compared to term infants, premature newborns had lower levels of antioxidants, vitamin A, vitamin E and catalase (an enzyme that neutralizes ROS and is linked to increased rates of NEC and BPD). In a case-control study conducted by Ghany et al.<sup>[10]</sup> with 100 preterm and 100 full-term newborns, levels of vitamin A, vitamin E, catalase, TAC, and MDA were analyzed. The study described a significant relationship between decreased antioxidant levels at birth and the risk of neonatal morbidities, including BPD, NEC, and IVH. In addition, cortisol was another marker that showed significant association with NEC. NEC is the main cause of morbidity and mortality in premature babies, with a mortality rate of up to 30% and an increased risk of delayed neurological development, especially in pregnancies with inadequate prenatal care.<sup>[20]</sup>

Among the reports which evaluated IUGR, Silva et al.<sup>[25]</sup> analyzed the concentration of vitamin E in umbilical cord serum in 140 newborns (64 premature and 76 term) to test a correlation between the biomarker and intrauterine growth. Results showed that IUGR was more frequent in premature newborns, and most of them had low vitamin E levels. IUGR is a complication of pregnancy, often described when the fetus is estimated to be small for the GA and has an incidence ranging between 3 and 7% of births. In the study by Perrone et al.<sup>[13]</sup> with 129 premature newborns, it was observed that newborns with vascular perfusion lesions had higher levels of AOPP, low GA, and IUGR. Bandyopadhyay et al.<sup>[8]</sup> evaluated 109 newborns (27 premature and 82 term ones) and related IUGR to higher levels of AOPP, MDA and 8-OHdG.

The study by Pajai and Bezalar<sup>[5]</sup> associated higher morbidity and mortality rates with increased levels of MDA and nitrates and decreased levels of vitamins C and E, especially in premature male newborns. Liu et al.<sup>[26]</sup> stated an association between MDA and ROS levels and a higher risk of low Apgar score, NICU admission and mechanical ventilation. Ozalkaya et al.<sup>[21]</sup> determined TAC, PON-1, TOS, and OSI levels in 51 preterm infants (<34 weeks). They showed a significant association between PON-1 levels and PPRM and FIRS, alongside with a higher incidence of RDS and a higher mortality of infants with FIRS.

Alternative markers used in the studies are the antioxidant activity levels. Antioxidant activity measurement may be generally more useful than oxidative stress levels because the results allow a greater understanding of potential mechanisms and therapeutic interventions.<sup>[14]</sup> In this review, antioxidants that showed a significant association between their levels and the development of morbidities were PON-1,<sup>[21]</sup>

GPx,<sup>[22]</sup> and vitamins A, C, and E.<sup>[5,10]</sup> It is essential to measure multiple antioxidants and include measures that identify specific ROS or RNS that may be associated with imbalanced antioxidant levels or activity. The inclusion of these additional measures provides a more comprehensive comprehension of the biological processes involving antioxidants.<sup>[14]</sup>

Also, data obtained from some studies reveals a positive association between oxidative stress and neurological diseases. However, these analyses were not obtained from cord blood. One of them stated that analysis of plasma IsoPs (24 and 48 h after birth) might represent an early biomarker to identify the risk of brain damage in premature patients.<sup>[28]</sup> Bharadwaj et al.<sup>[3]</sup> evaluated the neurodevelopment of 71 children and measured oxidative/antioxidant stress levels. They concluded that maternal TAC in PE is useful for predicting impaired motor development at one year of corrected age. Dietze et al.<sup>[20]</sup> observed through salivary cortisol analysis that newborns whose mothers smoked more than 10 cigarettes per day were at higher risk for IVH. IVH affects 30 to 60% of preterm infants and is characterized as white matter lesion due to microvascular events that occur in the germ matrix, putting the infant at increased risk for neurodevelopmental delays and additional brain damage.<sup>[20]</sup>

On the other hand, several studies did not confirm the association between oxidative stress biomarkers and the development of pathologies, morbimortality or prognosis. Moore et al.<sup>[19]</sup> examined 31 premature newborns to evaluate the association between CLD and 8-OHdG levels. They observed that CLD was associated with lower levels of oxidative stress, which contradicts previous studies. Authors justify these conflicting results by different methodologies used in sample collection and analysis, alongside with other additional factors that might have affected 8-OHdG levels. Dekker et al.<sup>[24]</sup> evaluated 52 preterm infants for 8iPGF2 $\alpha$  levels in order to find a higher risk of developing IVH, but no significant association was found. Norishadkam et al.<sup>[4]</sup> compared 25 premature and 25 term newborns to verify the relationship between oxidative stress and DNA damage and also found no significant association. Stefanov et al.<sup>[9]</sup> evaluated the relationship between glutathione, MDA, and endothelin-1 levels to analyze endothelial dysfunction in 63 infants born between 24 to 42 weeks. Still, there was no significant relationship between the two factors analyzed. Finally, Arman et al.<sup>[23]</sup> evaluated the global oxidant and antioxidant status in newborns of mothers with and without PE; there was no statistically difference between groups. The absence of significant associations in these studies may be justified by clinical factors affecting

biomarkers levels, small sample size in most studies and the complexity of transition neonatal period, in which a not fully comprehended mixed-redox state might occur.<sup>[9]</sup>

The present study has some limitations. Although the utility of cord blood samples for assessment of oxidative stress biomarkers and its possible clinical implications is evident, they cannot be used in follow-up analysis after birth. Alternative noninvasive monitoring options that have shown some positive results are newborn saliva and urine samples, which may be used for longitudinal follow-ups.<sup>[29]</sup> Also, different methodologies, biomarkers and the limited number of participants in each study make results unreliable when extrapolating to general population of preterm babies.

An accurate assessment of oxidative damage and the possibility of targeted treatments might improve neonatal care.<sup>[31]</sup> Currently, none of these biomarkers are used in clinical practice. However, further researches on the field might help to overcome the technical and economic barriers and enable their routine use. As a future perspective, in the next few years, diagnostic strategies directed to the identification of the risk of oxidative stress-related pathologies might be developed and guidelines for their prevention and treatment might be updated, reducing the morbidity and mortality of premature newborns.

The authors of the present study conclude that the analysis of oxidative stress and antioxidant levels in cord blood of premature newborns might be useful in assessing diagnosis and prognosis of some clinically relevant pathologies. Oxidative stress and antioxidant activity are involved in the pathophysiology of the development of several neonatal diseases, and their consequences are associated with increased short- and long-term morbidity, impaired neurodevelopment, and increased mortality. More information and research in the area are needed to impact these clinical outcomes.

## References

[1] World Health Organization. Preterm birth – 19 February 2018. [Internet]. World Health Organization; c2018 [cited 2021 Mar 5]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>

[2] Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde. OPAS Brasil Quase 30 milhões de recém-nascidos prematuros e doentes necessitam de tratamento para sobreviver todos os anos. [Internet]. Organização Pan-Americana da Saúde; c2018 [cited 2021 Mar 5]. Available from: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5821:quase-30-milhoes-de-recem-nascidos-prematuros-e-doentes-necessitam-de-tratamento-para-sobreviver-todos-os-anos&Itemid=820#:~:text=De%20acordo%20com%20o%20relat%C3%B3rio,beb%C3%AAs%20que%20morrem%20nasceram%20prematuros](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5821:quase-30-milhoes-de-recem-nascidos-prematuros-e-doentes-necessitam-de-tratamento-para-sobreviver-todos-os-anos&Itemid=820#:~:text=De%20acordo%20com%20o%20relat%C3%B3rio,beb%C3%AAs%20que%20morrem%20nasceram%20prematuros)

- [3] Bharadwaj SK, Bhat BV, Vickneswaran V, Adhisivam B, Bobby Z, Habeebullah S. Oxidative Stress, Antioxidant Status and Neurodevelopmental Outcome in Neonates Born to Pre-eclamptic Mothers. *Indian J Pediatr.* 2018;85(5):351–357. <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2560-5>
- [4] Norishadkam M, Andishmand S, Zavar reza J, Sakhvidi MJZ, Hachesoo VR. Oxidative Stress and DNA Damage in the Cord Blood of Preterm Infants. *Mutat Res.* 2017;824:20-24. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2017.10.003>
- [5] Pajai SS, Bezalwar AP. Oxidative Stress in Preterm Neonates: An Analysis of Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Profiles. *J Clin Diagn Res.* 2020;14(12):CC01-CC03. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2020/45902.14388>
- [6] Ozsurekci Y, Aykac Kubra. Oxidative Stress Related Diseases in Newborns. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:2768365. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2768365>
- [7] Perrone S, Santacroce A, Longini M, Proietti F, Bazzini F, Buonocore G. The Free Radical Diseases of Prematurity: From Cellular Mechanisms to Bedside. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:7483062. <https://doi.org/10.1155/2018/7483062>
- [8] Bandyopadhyay T, Bhatia BD, Khanna HD. A study of oxidative stress in neonates delivered through meconium-stained amniotic fluid. *Eur J Pediatr.* 2017;176(3):317-325. <https://doi.org/10.1007/s00431-016-2845-0>
- [9] Stefanov G, Briyal S, Pais G, Puppala B, Gulati A. Relationship Between Oxidative Stress Markers and Endothelin-1 Levels in Newborns of Different Gestational Ages. *Front Pediatr.* 2020;8:279. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00279>
- [10] Ghany EAGA, Elhamed WAA, Ali AA, Youness ER, Hussein JS. Anti-oxidant profiles and markers of oxidative stress in preterm neonates. *Paediatr Int Child Health.* 2016;36(2):134-140. <https://doi.org/10.1179/2046905515Y.0000000017>
- [11] Falsaperla R, Lombardo F, Filasco F, Romano C, Saporito MAN, Puglisi F, et al. Oxidative Stress in Preterm Infants: Overview of Current Evidence and Future Prospects. *Pharmaceuticals (Basel).* 2020;13(7):145. <https://doi.org/10.3390/ph13070145>
- [12] Elkabany ZA, El-Farrash RA, Shinkar DM, Ismail EA, Nada AS, Farag AS, et al. Oxidative stress markers in neonatal respiratory distress syndrome: advanced oxidation protein products and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in relation to disease severity. *Pediatr Res.* 2020;87:74-80. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0464-y>
- [13] Perrone S, Tataranno ML, Negro S, Longini M, Toti MS, Alagna MG, et al. Placental histological examination and the relationship with oxidative stress in preterm infants. *Placenta.* 2016;46:72-78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2016>
- [14] Moore TA, Ahmad IM, Zimmerman MC. Oxidative Stress and Preterm Birth: An Integrative Review. *Biol Res Nurs.* 2018;20(5):497-512. <https://doi.org/10.1177/1099800418791028>

- [15] Giuffrè M, Rizzo M, Scaturro G, Pitruzzella A, Gammazza AM, Cappello F, et al. Oxidative stress markers at birth: Analyses of a neonatal population. *Acta Histochem.* 2015;117(4-5):486-91. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2015.01.007>
- [16] Caldas JPS, Vilela MMS, Braghini CA, Mazzola TN, Marba STM. Antenatal maternal corticosteroid administration and markers of oxidative stress and inflammation in umbilical cord blood from very low birth weight preterm newborn infants. *J Pediatr (Rio J).* 2012;88(1):61-6. <http://dx.doi.org/10.2223/JPED.2158>
- [17] Slater L, Asmerom Y, Boskovic DS, Bahjri, Plank MS, Angeles KR, et al. Procedural Pain and Oxidative Stress in Premature Neonates. *J Pain.* 2012;13(6):590-597. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.03.010>
- [18] Mendes KDS, Silveira RCCP, Galvão CM. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. *Texto & Contexto Enferm.* 2008;17(4):758-64. <https://doi.org/10.1590/S0104-07072008000400018>
- [19] Moore TA, Schmid KK, Anderson-Berry A, Berger AM. Lung Disease, Oxidative Stress, and Oxygen Requirements in Preterm Infants. *Biol Res Nurs.* 2016;18(3) 322-330. <https://doi.org/10.1177/1099800415611746>
- [20] Dietze TR, Rosea FF, Moore TA. Maternal variables associated with physiologic stress and perinatal complications in preterm infants. *J Neonatal Perinatal Med.* 2016;9(3):271-277. <https://doi.org/10.3233/NPM-16915134>
- [21] Ozalkaya E, Karatekin G, Topçuoğlu S, Karatepe HO, Taner Hafizoglu T, Baran P, et al. Neonatology oxidative status in preterm infants with premature preterm rupture of membranes and fetal inflammatory response syndrome. *Pediatr Neonatol.* 2017;58:437-441. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pedneo.2016.08.008>
- [22] Coutinho FG, Diniz EMA, Kandler Ingrid, Cianciarullo MA, Santos NR. Assessment of oxidative damage and enzymatic antioxidant system activity on the umbilical cord blood and saliva from preterm newborns with risk factors for early-onset neonatal sepsis. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2018;64(10):888-895. <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.64.10.888>
- [23] Arman D, Ercin S, Topçuoğlu S, Kaya A, Yavuz T, Karatekin G, et al. The Association between Oxidative Stress and Cardiac Functions in Infants Born to Preeclamptic Mothers. *Am J Perinatol.* 2019;36(11):1205-1210. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1676481>
- [24] Dekker J, Martherus T, Lopriore E, Giera M, McGillick EV, Hutten J, et al. The Effect of Initial High vs. Low FiO<sub>2</sub> on Breathing Effort in Preterm Infants at Birth: A Randomized Controlled Trial. *Front Pediatr.* 2019;7:504. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00504>
- [25] Silva AB, Medeiros JFP, Lima MSR, Mata AMB, Andrade EDO, Bezerra DS, et al. Intrauterine growth and the vitamin E status of full-term and preterm newborns. *Rev*

Paul Pediatr. 2019;37(3):291-296.

<http://dx.doi.org/10.1590/19840462/2019;37;3;00003>

[26] Liu L, Zheng B, Jiang Z, Wu S, Jin Q, Lin P, et al. Elevated cord blood oxidative stress biomarkers negatively affect neonatal outcomes of mothers with severe preeclampsia: A case-control study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020;1:1-19. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-23080/v1>

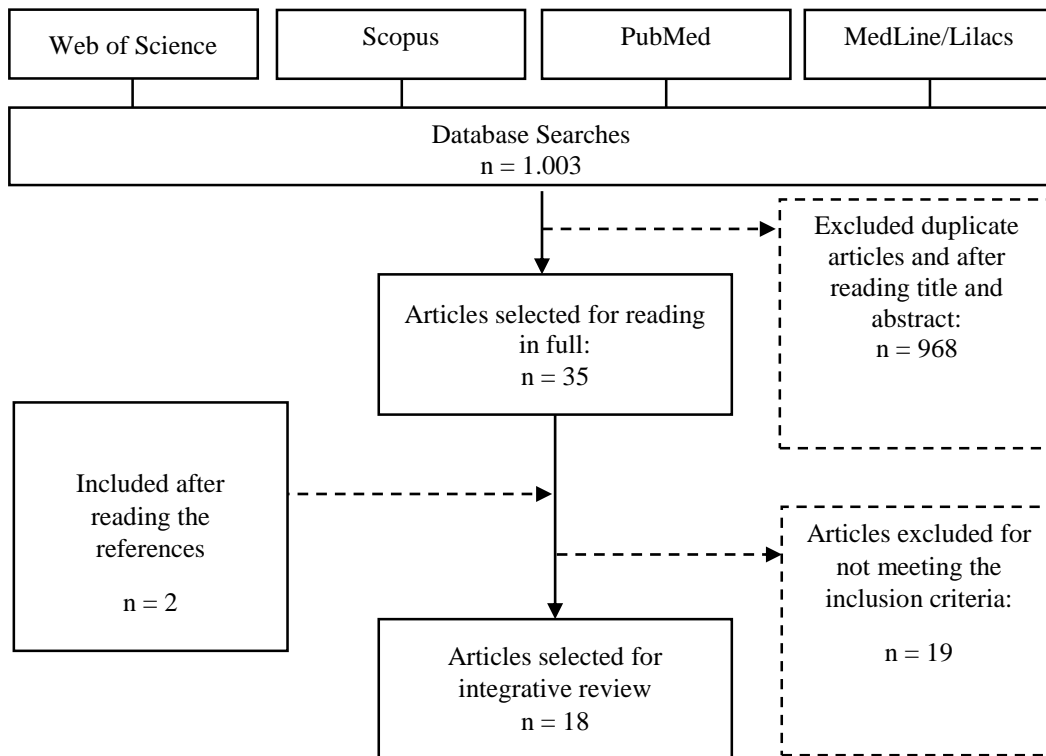
[27] Agrawal G, Dutta S, Prasad R, Dogra MR. Fetal oxidative stress, micronutrient deficiency and risk of retinopathy of prematurity: a nested case-control study. *Eur J Pediatr*. 2021; 180(5):1487-1496. <https://doi.org/10.1007/s00431-020-03896-x>

[28] Coviello C, Perrone S, Buonocore G, Negro S, Longini M, Dani C, et al. Isoprostanes as Biomarker for White Matter Injury in Extremely Preterm Infants. *Front Pediatr*. 2021; 8:618622. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.618622>

[29] Peña-Bautista C, Durand T, Vigor C, Oger C, Galano JM, Cháfer-Pericás C. Non-invasive assessment of oxidative stress in preterm infants. *Free Radic Biol Med*. 2019;142:73-81. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.02.019>

[30] Casavant SG, Cong X, Fitch RH, Moore J, Rosenkrantz T, Starkweather A. Allostatic Load and Biomarkers of Stress in the Preterm Infant: An Integrative Review. *Review. Biol Res Nurs*. 2019;21(2):210-223. <https://doi.org/10.1177/1099800418824415>

[31] Perrone S, Laschi E, Buonocore G. Oxidative stress biomarkers in the perinatal period: Diagnostic and prognostic value. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2020;25(2):101087. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2020.101087>



**Figure 1** Flowchart of the study selection process for the integrative review on oxidative stress in premature newborns.

**Table 1** Studies reviewed by oxidative stress biomarker categor

Article / Country	Type of study	Sample	Source of specimen	Oxidative stress and antioxidants biomarkers	Diseases evaluated	Main outcomes
Moore et al., 2016 <sup>19</sup> United States	Prospective	31 PTN	Cord blood and urine	8-OHdG	CLD IVH BPD ROP	CLD was associated with lower levels of 8-OHdG. There were no significant differences regarding IVH, BPD, and ROP incidences.
Perrone et al., 2016 <sup>13</sup> Italy	Cohort	120 PTN	Cord blood	IsoPs NPBI AOPP	IUGR	Placental injuries (inflammation or impaired perfusion) were associated with elevated OS levels. PTN with vascular perfusion lesions had higher levels of AOPP, low GA, and the IUGR.
Dietze et al., 2016 <sup>20</sup> United States	Prospective	31 PTN	Cord blood and saliva	Cortisol	NEC IVH BPD ROP	The higher the GA at the beginning of prenatal care, the lower cord blood cortisol and tended to have a higher risk of NEC. In salivary cortisol, NB whose mothers smoked had a higher risk of IVH.
Ghany et al., 2016 <sup>10</sup> Egypt	Case-control study	200 NB 100 PTN 100 FT NB	Cord blood and venous blood	MDA; TAC Catalase Vitamin A Vitamin E	NEC BPD IVH	Positive relationship between reduced antioxidant levels at birth and the risk of neonatal morbidities, including BPD, IVH, NEC.
Bandyopadhyay et al., 2017 <sup>8</sup> India	Transversal	109 NB 27 PTN 82 FT NB	Cord blood	MDA 8-OHdG	IUGR	Term NB and late PTN with IUGR had higher levels of MDA and 8-OHdG compared to infants suitable for GA through meconium-stained amniotic fluid.
Norishadkam et al., 2017 <sup>4</sup> Iran	Case-control study	50 NB 25 PTN 25 FT NB	Cord blood	MDA Catalase SOD TAC	DNA damage	There was no significant association between MDA, SOD, TAC, catalase, and early DNA damage in cord blood plasma for PTN.

Ozalkaya et al., 2017 <sup>21</sup> Turkey	Prospective	51 PTN	Cord blood	TAC PON-1 TOS OSI	FIRS RDS IVH BPD ROP Sepsis	Higher levels of TOS were associated with NB with PPROM; Higher PON-1 was associated with higher risk of PPROM, FIRS or both. NB with PPROM and FIRS had higher incidence of RDS. NB with FIRS had higher mortality.
Bharadwaj et al., 2017 <sup>3</sup> India	Cohort	143 NB 71 w/ GA >35 e 72 w/ GA >39	Maternal blood and cord blood	Protein carbonyls MDA TAC	Neurologic diseases IUGR Sepsis	OS increases in NB and mothers with PE. Decreased maternal TAC is associated with negative neuromotor results. Maternal TAC during PE is useful to predict poor motor development at the corrected age of one year.
Coutinho et al., 2018 <sup>22</sup> Brazil	Transversal	21 PTN	Cord blood, saliva, and urine	MDA SOD GPx Catalase	Sepsis	GPx in cord blood can be a diagnostic tool for suspicion of early-onset neonatal sepsis in PTNs of mothers with risk factors for sepsis.
Armann et al., 2018 <sup>23</sup> Turkey	Case-control study	80 PTN	Cord blood	TAC TOS OSI	Cardiac functions	TAC, TOS, and OSI were significantly higher for NB of mothers with PE. Echocardiographic parameters are not affected by the oxidant state.
Elkabany et al., 2019 <sup>12</sup> Egypt	Prospective Case-control study	40 PTN	Cord blood	MDA; AOPP 8-OHdG TAC Copper; Zinc	RDS	AOPPs and 8-OHdG can be used as serum biomarkers for OS among NBs with RDS to monitor disease progression.
Dekker et al., 2019 Netherlands <sup>24</sup>	Clinical trial	52 PTN	Cord blood and venous blood	8iPGF2 $\alpha$	Grade III IVH	8iPGF2 $\alpha$ did not differ among groups. There were also no differences regarding intubation, the incidence of grade III IVH, or death before hospital discharge.
Silva et al., 2019 Brazil <sup>25</sup>	Transversal	140 NB 54 PTN and 76 FT NB	Cord blood	Vitamin E	IUGR	IUGR was more frequent in PTB; most of the infants had low vitamin E levels.

Stefanov et al., 2020 <sup>9</sup> United States	Prospective Pilot study	63 NB 50 PTN and 13 FT NB	Cord blood and venous blood	MDA Glutathione	Endothelial dysfunction	MDA was higher in cord blood than at 24 hours of life, regardless of GA. PTN had higher ET-1 levels in cord blood than 24 hours of life, but overall, ET-1 had no significant association with OS.
Liu et al., 2020 China <sup>26</sup>	Case-control study	816 NB 182 PTN 634 FT NB	Cord blood	MDA SOD ROSs	Morbidity and mortality	Higher levels of MDA and ROSs are associated with lower Apgar scores; NICU admission and ventilation, i.e., are significantly associated with higher morbidity and mortality.
Pajai e Bezalwar 2020 <sup>5</sup> India	Observational Analytic	45 PTN	Cord blood	MDA Nitrates Vitamin C Vitamin E	Morbidity and mortality	PTN shows higher MDA and nitrates levels and reduced levels of vitamins C and E, especially in males, indicating increased morbidity and mortality.
Agrawal et al., 2021 India <sup>27</sup>	Nested case- control	189 PTN	Cord blood and venous blood (both from NB and mother)	MDA Copper Zinc Vitamin A	ROP	MDA and vitamin A in umbilical cord plasma were independent predictive variables of ROP.
Coviello et al., 2021 Netherlands <sup>28</sup>	Prospective observational study	44 PTN	Cord blood and plasma	F2-isoprostanes	White matter injury	Early verification of plasma IsoPs can help discriminate abnormal WMI scores at term-equivalent age; and represents an early biomarker for identifying PTN at risk of brain injury.

Note. AOPP = advanced oxidative protein products; BPD = bronchopulmonary dysplasia; CLD = chronic lung disease; DNA = deoxyribonucleic acid; ET-1 = endothelin-1; FIRS = fetal inflammatory response syndrome; FT = full-term; GA = gestational age; GPx = glutathione peroxidase; IVH = intraventricular hemorrhage; IsoPs = isoprostanes; IUGR = intrauterine growth restriction; MDA = malondialdehyde; NB = newborns; NEC = necrotizing enterocolitis; NICU = neonatal intensive care unit; NPBI = non-protein bound iron; OS = oxidative stress; OSI = oxidative stress index; PE= preeclampsia; PON-1 = paraoxonase-1; PPROM = preterm premature rupture of membrane; PTN = preterm newborn; RDS = respiratory distress syndrome; ROP = retinopathy of prematurity; ROS = reactive oxygen species; SOD= superoxide dismutase; TAC = total antioxidant capacity; TOS = total oxidant status; WMI = white matter injury; 8-OHdG = 8- hydroxydeoxyguanosine; 8iPGF2 $\alpha$  = 8-iso-prostaglandin F2.

**Table 2** Oxidative stress biomarkers and antioxidants correlated with evaluated conditions.

<b>Condition</b>	<b>Biomarker</b>
<b>ROP</b>	↑ MDA <sup>27</sup> ↓ Vitamin A <sup>27</sup>
<b>IUGR</b>	↑ AOPP <sup>13</sup> ↑ MDA <sup>8</sup> ↑ 8-OHdG <sup>8</sup> ↓ Vitamin E <sup>25</sup>
<b>NEC</b>	↑ Cortisol <sup>20</sup> ↓ Vitamin A <sup>10</sup> ↓ Vitamin E <sup>10</sup>
<b>BPD</b>	↓ Vitamin A <sup>10</sup> ↓ Vitamin E <sup>10</sup>
<b>IVH</b>	↓ Vitamin A <sup>10</sup> ↓ Vitamin E <sup>10</sup>
<b>FIRS</b>	↓ PON-1 <sup>21</sup>
<b>Sepsis</b>	↓ GPx <sup>22</sup>
<b>RDS</b>	↑ AOPP <sup>12</sup> ↑ 8-OHdG <sup>12</sup>
<b>Morbidity and mortality</b>	↑ MDA <sup>5,26</sup> ↑ ROS <sup>26</sup> ↑ Nitrates <sup>5</sup> ↓ Vitamin C <sup>5</sup> ↓ Vitamin E <sup>5</sup>

Note. AOPP = advanced oxidative protein products; BPD = bronchopulmonary dysplasia; FIRS = fetal inflammatory response syndrome; GPx = glutathione peroxidase; IVH = intraventricular hemorrhage; IUGR = intrauterine growth restriction; MDA = malondialdehyde; NEC = necrotizing enterocolitis; PON-1 = paraoxonase-1; RDS = respiratory distress syndrome; ROP = retinopathy of prematurity; ROS = reactive oxygen species; 8-OHdG = 8- hydroxydeoxyguanosine;

**ARTIGO 2**

**Journal of Perinatology** - Fator de Impacto 2021: 3,225

DOI: 10.1038/s41372-022-01528-w

**Immunoglobulin G and subclasses placental transfer in fetuses and  
preterm newborns: a systematic review**

**Immunoglobulin G and subclasses in preterm infants**

Renan Augusto Pereira (RP)<sup>1</sup>, Versiéri Oliveira de Almeida (VA)<sup>1</sup>, Lennon Vidori  
(LV)<sup>1</sup>, Maurício Obal Colvero (MC)<sup>1</sup>, Sérgio Luís Amantéa (SA)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Correspondence**

Renan Augusto Pereira, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre,  
Porto Alegre, Brazil.

**Email:** renanpereira.alergia@gmail.com

**Keywords:** Immunoglobulin G; Fetus; Infant, Premature.

1           **ABSTRACT**

2

3           Immunoglobulin G (IgG) and subclasses are the only class of antibodies

4 capable of crossing placenta and providing protection against neonatal infectious

5 diseases, especially in premature infants. This systematic review aimed to review

6 the literature concerning the transplacental transfer of IgG and its subclasses in

7 fetuses and preterm newborns and compare the results with data from term

8 neonates. Eleven studies were included in the final review. Most studies

9 demonstrated a lower transplacental passage of IgG2 than other subclasses in

10 term and preterm newborns and a more efficient passage of total IgG and IgG1

11 after 37 weeks of gestational age. These results elucidate the physiology of IgG

12 subclass transfer during pregnancy and may explain one of the reasons preterm

13 newborns are especially susceptible to specific pathogens, such as encapsulated

14 bacteria.

## 1 Introduction

2

3 Infection is one of the major causes of neonatal death. Maternal antibodies  
4 transferred to the fetus via the placenta are essential to protect the baby while  
5 the neonatal immune system is still immature (ref. 1 and 2). For their  
6 immunoprotection, the fetus and the newborn (NB) rely heavily on maternal  
7 antibodies, mainly immunoglobulin G (IgG), delivered by active transplacental  
8 transport (ref. 3). IgG is the only class of antibodies capable of crossing the  
9 histological layers of the placenta and providing protection against neonatal  
10 infectious diseases (ref. 2). While IgG receptors (Fc $\gamma$ RI, FC $\gamma$ RIIa-c and Fc $\gamma$  RIIIa-  
11 c) mediate the effector functions of the immune system, IgG homeostasis and  
12 transplacental IgG transport during pregnancy are mediated by FcRn receptors  
13 (ref. 4 and 5).

14 There are four subtypes of IgG: IgG1, IgG2, IgG3, and IgG4. Although their  
15 protein structures share 90% of similarity, small differences confer distinct  
16 characteristics concerning antigen-binding capacity, complement cascade  
17 activation, and immunocomplex formation. Due to these differences, IgG  
18 subclasses express specific immunological roles *in vivo* (although an overlap of  
19 functions is observed). **Figure 1** and **Table 1** show the structural, functional, and  
20 clinical differences in IgG subclasses (ref. 4 and 6).

21

22 Although variations in immunoglobulin levels according to gestational age  
23 (GA) and birth weight have been studied so far, data are still limited, especially in  
24 preterm newborns (PTNB). The humoral immune system in PTNB has lower IgG  
25 concentrations than in term newborns (ref. 7). One of the reasons is a more  
26 intense antibody transfer in the third trimester, and, therefore, PTNB receive a  
27 lower level of maternal IgG than term newborns; this contributes to a greater  
28 susceptibility to infection and diseases in this subset of patients (ref. 8, 9 and 10).

1 In addition, different factors (ref. 11 and 12) influence the production and  
2 effectiveness of placental transfer of IgG and subclasses during pregnancy.  
3 Nonetheless, there is no consensus in the literature about the hierarchy of IgG  
4 subclass transfer (ref. 12).

5 A better understanding of the factors involved in IgG transplacental  
6 transport may help identify babies at risk of infections and develop strategies to  
7 decrease these risks, especially in PTNB (ref. 13). Considering the perspective,  
8 this systematic review aimed to review the literature concerning the  
9 transplacental transfer of IgG and its subclasses in fetuses and preterm newborns  
10 and compare the results with data from term neonates.

11

## 12 **Materials and Methods**

13 This research involved a systematic literature review based on the  
14 Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)  
15 method, selecting articles regarding transplacental transfer of IgG and  
16 subclasses in fetuses and PTNB. The review protocol was registered in  
17 PROSPERO (International prospective register of systematic reviews), available  
18 at:

19 [https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display\\_record.php?ID=CRD42021283007](https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42021283007).

20 The following databases were selected to identify the articles: Embase  
21 ([www.elsevier.com/embase](http://www.elsevier.com/embase)), *Web of Science* (<https://clarivate.com/products/web-of-science/>), and PubMed  
22 (<http://www.pubmed.gov>). The descriptors used to develop the search strategies  
23 were defined by Medical Subjects Heading (MeSH), produced by the National  
24 Library of Medicine of the United States of America  
25

1 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>). The descriptors selected  
2 were: “*Immunoglobulin G*” and “*Premature Birth*.”

3 The search strategy on PubMed search portal is described in **Appendix**  
4 **1**. The search strategy was adapted to the other databases included in the study.  
5 There was no language or period limitation for the search of articles. Studies that  
6 assessed placental transfer of IgG and subclasses in mothers and PTNB under  
7 37 weeks of GA were included. Exclusion criteria were: duplicate publications;  
8 review studies; experimental studies with animals; and research whose topic was  
9 not under the objectives of this review.

10 The search for articles was conducted between September 2021 and  
11 February 2022. In the initial stage, article identification was made through  
12 searches combining the descriptor and Boolean operators in the selected  
13 databases with subsequent identification and exclusion of duplicate articles. In  
14 the selection stage, articles were excluded by title and/or abstract based on the  
15 mentioned criteria. Next, titles and abstracts were assessed by two independent  
16 reviewers; discrepant results were evaluated by subsequent consensus between  
17 the reviewers. Finally, in the third step, eligible articles were selected for full  
18 reading and further refinement of the selection to be included in the final analysis.

19

## 20 **Results**

21 A total of 6,353 articles meeting the inclusion criteria were found; 3,722  
22 articles were selected after the exclusion of duplicates. After analyzing titles and  
23 abstracts, 60 articles were selected for complete reading, and nine were included  
24 for the final qualitative analysis. Two papers were included after reading the  
25 references, resulting in 11 articles selected for the systematic review. **Figure 2**

1 shows the complete flowchart of the article selection process. The summary of  
2 articles according to author, year of publication, country, sample size and IgG  
3 measurement method is described in **Table 2**.

4 Of the 11 studies selected, 9 evaluated both PTNB and term newborns; 2  
5 studies evaluated only PTNB. In addition, all studies collected cord and maternal  
6 blood for IgG and subclasses analysis. Also, four studies collected additional NB  
7 blood via cordocentesis (ref. 14, 15, 18 and 20).

8

### 9 **Relationship between IgG levels and subclasses in mothers and PTNBs**

10 **Table 3** summarizes the findings of the five studies that analyzed the  
11 relationship between IgG levels and subclasses in maternal sera and PTNB (ref.  
12 15, 19, 20, 21 and 24). There was no consensus on the rate of placental transfer  
13 of IgG1, IgG3 and IgG4 among these studies; however, all five studies found  
14 significantly higher levels of IgG2 in mothers than in PTNB. Of the four articles  
15 that assessed total IgG, three reported higher levels in PTNB than in mothers  
16 (ref. 15, 19 and 24).

17

### 18 **Relationship between IgG levels and subclasses in maternal and term** 19 **newborn sera**

20 The relationship between IgG levels and subclasses in mothers and term  
21 newborns was analyzed in 7 studies, and results are summarized in **Table 4**. In  
22 all studies, IgG1 had a higher concentration in term newborns than in mothers  
23 (ref. 14, 17, 20, 21, 22, 23 and 24). Maternal IgG2 levels were found to be higher  
24 in mothers than in term newborns in five studies (ref. 14, 20, 21, 22 and 24).  
25 There was no consensus among studies regarding maternal and fetal IgG3 and

1 IgG4 levels. Total IgG was compared in three studies, all showing higher levels  
2 in term newborns compared to mothers (ref. 17, 20 and 24).

3

#### 4 **Relationship between GA and Placental transfer of total IgG and** 5 **subclasses**

6 As shown in **Table 4**, in most studies, the concentration of IgG and  
7 subclasses was positively correlated with GA (ref. 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21,  
8 22 and 23).

9 Also, most studies reported IgG1 as the main IgG subclass transferred to  
10 the fetus (ref. 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23 and 24), followed by IgG3 (ref. 17  
11 and 23) and IgG4 (ref. 24), respectively. IgG2 had the lowest placental transfer,  
12 as described in 7 studies (ref. 18, 19, 20, 21, 22, 23 and 24); the remaining four  
13 studies referred IgG4 as having the lowest transplacental passage (ref. 14, 15,  
14 16 and 17).

15

#### 16 **Discussion**

17 The data from this systematic review showed that there was no consensus  
18 among the studies between IgG levels and subclasses from mothers and  
19 newborns, except for: *a*) IgG2, which proved to be the only IgG subclass with  
20 significant lower levels in term and PTNB than in mothers; and *b*) IgG1 and total  
21 IgG, with significant higher levels in term newborns than in mothers (but not in  
22 preterm newborns). These results reflect a lower transplacental passage of IgG2  
23 than other subclasses in term and preterm newborns and a more efficient  
24 passage of total IgG and IgG1 after 37 weeks of pregnancy. However, the order  
25 of the other subclasses varied significantly, and it is not possible to identify a

1 definitive specific sequence that characterizes the transplacental transfer of IgG  
2 subclasses.

3           Similar results were found in a descriptive work conducted by Ellinger &  
4 Fuchs (ref. 3), which demonstrated that all subclasses in the blood of term NB  
5 reach the same level or are even higher than in the maternal circulation, except  
6 for IgG2 (which remains at 60% of the maternal level). Also, a review conducted  
7 by Palmeira et al. (ref. 25) showed that there is no consensus on the hierarchy of  
8 transplacental subclass transfer, despite the commonly made statement that the  
9 order is IgG1 > IgG4 > IgG3 > IgG2. Clements et al. (ref. 12) conducted a cohort  
10 to evaluate the concentrations and rates of transplacental transfer of IgG  
11 subclasses in term newborns. The authors reported the following hierarchy of  
12 subclass transfer efficiency: IgG1 > IgG3 > IgG4 = IgG2. In our review, out of the  
13 11 articles included, only 1 study in PTNB indicated the sequence IgG1 > IgG4 >  
14 IgG3 > IgG2, as stated by Clements et al. Our study showed that older studies  
15 indicated IgG4 as the least efficient transfer subclass. However, all articles  
16 published after 90's found IgG2 as having the lowest transfer efficiency, not IgG4.  
17 One of the explanations of these discrepancies may be due to the variation in  
18 affinities of these subclasses for the IgG (ref. 27) transport FcRn receptors:  
19 preferential transport seems to occur for IgG1, followed by IgG4, IgG3, and IgG2  
20 – for which FcRn receptors have the lowest affinity (ref. 21). However, besides  
21 GA, other factors such as birth weight, mother's age or parity, maternal  
22 immunocompetence, multiple pregnancies and zygosity, concomitant infections,  
23 specific antibody levels acquired post-immunization and placental integrity  
24 influence IgG transplacental transport (ref. 13 and 25). In fact, preterm small for  
25 gestational age neonates were found to have significantly reduced IgG levels as

1 compared to preterm appropriate for gestational age (ref. 28). The placental  
2 dysfunction reduces the nutrient supply to these poorly growing infants, possibly  
3 limiting IgG transfer. This phenomenon is manifested further by the progressive  
4 decrease in IgG transport at post term, when the placenta is known to become  
5 increasingly dysfunctional (ref. 29). Although there is a theoretical influence on  
6 total IgG and subclasses in conditions such as infants/newborns with perinatal  
7 stress, asphyxia or infected mothers (particularly chorioamnionitis), there is no  
8 published data regarding IgG subclass levels on these specific conditions.

9 Active transplacental transfer of immunoglobulins begins early in  
10 pregnancy (around the 13th week of gestation) (ref. 7). Several studies point out  
11 that fetal levels of total IgG increase with advancing GA, being relatively low  
12 between the 17th and 22nd weeks (5-10% of maternal levels) (ref. 7 and 25). By  
13 the 32nd week, they reach 50% of maternal levels and generally exceed maternal  
14 IgG plasma levels at birth (ref. 7, 13, 20 and 25). In a cohort conducted by  
15 Twisselmann et al. (ref. 26), plasma concentrations of total IgG decreased in  
16 PTNB at lower gestational ages. In our analysis, total IgG levels in both PTNB  
17 (ref. 15, 19 and 24) and term newborns (ref. 17, 20 and 24) were higher than  
18 those in mothers. Only one study showed higher levels of total IgG in mothers  
19 compared to PTNB (ref. 20). The exact cause for this effect is not known. Some  
20 studies have shown that, in maternal hypergammaglobulinemia (abnormally high  
21 levels of IgG), FcRn becomes supersaturated, and unbound IgG molecules are  
22 destroyed (ref. 25), leading to decreased fetal antibody transfer. A similar effect  
23 is observed in black women, who usually have a higher level of total IgG than  
24 white women; therefore, it can be said that transplacental transfer is correlated  
25 with maternal race (ref. 30).

1           There are many conflicting reports on the carriage of the different  
2 subclasses. Determination of the level of IgG subclass transfer is fundamental,  
3 since unrecognized immunodeficiencies due to less efficient transfer of some IgG  
4 types may lead to increased susceptibility to certain infections, especially in cases  
5 of prematurity. Furthermore, higher IgG levels at birth are believed to be  
6 associated with better and longer protection because maternal IgG is the main  
7 humoral protection in the newborn's first months of life (ref. 31, 32 and 33).

8           Understanding the immunological factors involved in the neonatal period  
9 may be essential to reduce the incidence of infections, consequently reducing  
10 morbidity and mortality in this group of patients. As IgG2 is important on the  
11 recognition of polysaccharide antigens (such as *Neisseria meningitides* and  
12 *Streptococcus pneumoniae* cell walls), its levels could have a clinical implication  
13 on NB's susceptibility to these agents. In addition, IgG1 is crucial in the activation  
14 of complement and recognition of proteins, which are the most frequent antigens  
15 recognized by the immune system in pathogenic microorganisms. The synthesis  
16 of specific IG subclass according to the bacterial organisms in the NB, mainly in  
17 preterm, needs to be further explored. Reduced total IgG values of these  
18 subclasses in a compatible clinical setting may guide clinical therapeutic  
19 decisions, as suggested by a literature review conducted by Perez et al. (ref. 34).

20           Although intravenous immunoglobulin replacement therapy showed no  
21 reduction in mortality during hospital stay, death or major disability in infants with  
22 suspected or proven infection (ref. 35), there is a possibility that selected infected  
23 patients with low levels of serum IgG subclasses might have some benefit from  
24 human immunoglobulin replacement, or even a targeted, appropriate IgG  
25 subclass infusion.

1           A limiting factor in this type of review is the lack of standardization of  
2 methods for measuring IgG and subclasses over the years; one can mention  
3 radial immunodiffusion, radioimmunoassay, immunofluorescence, and, more  
4 recently, nephelometry and mass spectrometry. Unfortunately, there are few or  
5 no comparative studies between the techniques. Another limitation is the difficulty  
6 in comparing different study populations: factors such as ethnicity, parity, BMI,  
7 placental weight, birth weight, gestation at birth and exposure to maternal  
8 antigens (by vaccination or infections) may interfere in the levels of IgG and  
9 subclasses transferred from mother to fetus.

10           This systematic review concludes that most studies point to a pattern in  
11 the passage of IgG and subclasses via the transplacental route, with a lower rate  
12 of IgG2 transfer and a higher rate of total IgG and IgG1 transfer. However, for  
13 IgG3 and IgG4, there is still no consensus in the literature. It is possible to detect  
14 levels of IgG subclasses in premature and term newborns regardless of  
15 gestational age, which reinforces the importance of these proteins for defense  
16 mechanisms against various infectious processes. Nevertheless, it is still not  
17 possible to establish a hierarchical pattern of their concentrations exclusively  
18 based on gestational age; only the IgG1 and IgG2 fractions have shown a clear  
19 pattern of expression. These results indicate that the mechanism of  
20 transplacental passage and the resulting concentration of subclasses in the  
21 mother and fetus is complex and influenced by factors other than gestational age.  
22 Differences in the sampled population characteristics, maternal exposure to  
23 infectious agents, and vaccines are biologically plausible factors to justify these  
24 results. Studies with more significant numbers of preterm and term neonates from  
25 different ethnic backgrounds may address the impact of genetic and

1 environmental factors on variation in IgG levels. In addition, there is a need for  
2 population-based studies that search for standard references for IgG and  
3 subclasses values, ideally including values adjusted for gestational age, ethnicity,  
4 environmental factors, and method of measurement, in order to establish cutoff  
5 points to guide clinical decisions.

6

## 7 **Author information**

### 8 **Authors and Affiliations**

- 9 **1. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre,**  
10 **Brazil**

11 Renan Augusto Pereira, Versiéri Oliveira de Almeida, Lennon Vidori,  
12 Maurício Obal Colvero, Sérgio Luís Amantéa.

### 13 **Contributions**

14 RP and SA conceived the presented idea. VA and MC completed original  
15 literature search and methodology. All authors contributed to analyzing  
16 literature, synthesizing results, and writing manuscripts. All authors agree  
17 to the final manuscript version.

### 18 **Corresponding author**

19 Correspondence to **Renan Augusto Pereira.**

### 20 **Ethics Approval**

### 21 **Competing interests**

22 The authors declare no competing interests.

23 This study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki.

### 24 **Data Availability Statement**

1 The data that support the findings of this study are available from the  
2 corresponding author upon request.

3

#### 4 **References**

- 5 1 Fouda GG, Martinez DR, Swamy GK, Permar SR. The impact of IgG  
6 transplacental transfer on early life immunity. *ImmunoHorizons*. 2018;2:14-25.  
7 doi: 10.4049/immunohorizons.1700057.
- 8 2 Ciobanu AM, Dumitru AE, Gica N, Botezatu R, Peltecu G, Panaitescu AM.  
9 Benefits and Risks of IgG Transplacental Transfer. *Diagnostics (Basel)*.  
10 2020;10(8):583. doi: 10.3390/diagnostics10080583.
- 11 3 Ellingerl, Fuchs R. HFcRn-mediated transplacental immunoglobulin G  
12 transport: protection of and threat to the human fetus and newborn. *Wien Med*  
13 *Wochenschr*. 2012;162(9-10):207-13. doi: 10.1007/s10354-012-0085-0.
- 14 4 Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG Subclasses and Allotypes: From  
15 Structure to Effector Functions. *Front. Immunol*. 2014;5:520. doi:  
16 10.3389/fimmu.2014.00520.
- 17 5 Baker K, Qiao SW, Kuo T, Kobayashi K, Yoshida M, Lencer WI, et al. Immune  
18 and non-immune functions of the (not so) neonatal Fc receptor, FcRn. *Semin*  
19 *Immunopathol*. 2009;31:223–236. doi: 10.1007/s00281-009-0160-9.
- 20 6 Napodano C, Marino MP, Stefanile A, Pocino K, Scatena R, et al.  
21 Immunological Role of IgG Subclasses. *Immunological Investigations*,  
22 2020;50(4):427-444. doi: 10.1080/08820139.2020.1775643.
- 23 7 Ozdemir SA, Ozer EA, Kose S, Ilhan O, Ozturk C, Sutcuoglu S. Reference  
24 values of serum IgG and IgM levels in preterm and term newborns. *J Matern Fetal*  
25 *Neonatal Med*. 2016;29(6):972-6. doi: 10.3109/14767058.2015.1027680.

- 1 8 [Melville](#) JM, Moss TJM. The immune consequences of preterm birth. *Front.*  
2 *Neurosci.* 2013;7(79):1-9. [doi: 10.3389/fnins.2013.00079](https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00079).
- 3 9 Lozano NA, Lozano A, Marini V, Saranz RJ, Blumberg RS, Baker K, et al.  
4 Expression of FcRn receptor in placental tissue and its relationship with IgG  
5 levels in term and preterm newborns. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018;80:e12972.  
6 [doi: 10.1111/aji.12972](https://doi.org/10.1111/aji.12972).
- 7 10 Kan B, Razzaghian HR, Lavoie PM. An immunological perspective on  
8 neonatal sepsis. *Trends Mol Med.* 2016;22:290–302. [doi:](https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.02.001)  
9 [10.1016/j.molmed.2016.02.001](https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.02.001).
- 10 11 Stach SCL, Brizot ML, Liao AW, Francisco RPV, Palmeira P, et al.  
11 Transplacental Total IgG Transfer in Twin Pregnancies. *Am J Reprod Immunol.*  
12 2014; 2(6):555-60. [doi: 10.1111/aji.12305](https://doi.org/10.1111/aji.12305).
- 13 12 Clements T, Rice TF, Vamvakas G, Barnett S, Barnes M, Donaldson B, et al.  
14 Update on Transplacental Transfer of IgG Subclasses: Impact of Maternal and  
15 Fetal Factors. *Front. Immunol.* 2020;11:1920. [doi: 10.3389/fimmu.2020.01920](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01920)
- 16 13 Van den Berg JP, Westerbeek EAM, Van der Klis FRM, Berbers GAM, Van  
17 Elburg RM. Transplacental transport of IgG antibodies to preterm infants: A  
18 review of the literature. *Early Human Development* 2013 Feb;87(2):67-72. 14  
19 Morell A, Skvarile F, Van Lochem E, Kleemola M. Human IgG subclasses in  
20 maternal and fetal serum. *Vox Sang.* 1971;21(6):481-92. [doi: 10.1111/j.1423-](https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1971.tb04808.x)  
21 [0410.1971.tb04808.x](https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1971.tb04808.x).
- 22 15 Schur PH, Alpert E, Alper A. Gamma G subgroups in human fetal, cord, and  
23 maternal sera. *Clin Immunol Immunopathol.* 1973;2(1):62-6. [doi: 10.1016/0090-](https://doi.org/10.1016/0090-1229(73)90036-6)  
24 [1229\(73\)90036-6](https://doi.org/10.1016/0090-1229(73)90036-6).

- 1 16 Catty D, Seger R, Drew R, Stroder J, Metze H. IgG-Subclass Concentrations  
2 in Cord Sera from Premature, Full Term and Small-for Dates Babies. *Europ. J.*  
3 *Pediat.*1977;125:89-96.
- 4 17 Pitcher-Wilmott RW, Hindocha P, Wood CB. The placental transfer of IgG  
5 subclasses in human pregnancy. *Clin Exp Immunol.*1980;41(2):303–308.
- 6 18 Garty BZ, Ludomirsky A, Danon YL, Peter JB, Douglas SD. Placental Transfer  
7 of Immunoglobulin G Subclasses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1994;1(6):667-9. doi:  
8 10.1128/cdli.1.6.667-669.1994.
- 9 19 Malek A, Sager R, Schneider H. Maternal-Fetal Transport of Immunoglobulin  
10 G and Its Subclasses During the Third Trimester of Human Pregnancy. *Am J*  
11 *Reprod Immunol.* 1994;32(1):8-14. doi: 10.1111/j.1600-0897.1994.tb00873.x.
- 12 20 Malek A, Sager R, Kuhn P, Nicolaides KH, Schneider H. Evolution of  
13 maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. *Am J*  
14 *Reprod Immunol.* 1996;36(5):248-55. doi: 10.1111/j.1600-0897.1996.tb00172.x.
- 15 21 Costa-Carvalho BT, Vieria HM, Dimantas RB, Arslanian C, Naspitz CK, D Solé  
16 D, et al. Transfer of IgG subclasses across placenta in term and preterm  
17 newborns. *Braz J Med Biol Res.* 1996;29(2):201-4.
- 18 22 Hashira S, Okitsu-Negishi S, Yoshino K. Placental transfer of IgG subclasses  
19 in a Japanese population. *Pediatr Int.* 2000;42(4):337–342. doi: 10.1046/j.1442-  
20 200x.2000.01245.x.
- 21 23 Okoko BJ, Wesumperuma HL, Fern J, Yamuah LK, Hart CA. The  
22 transplacental transfer of IgG subclasses: influence of prematurity and low  
23 birthweight in the Gambian population. *Ann Trop Paediatr.* 2002; 22(4):325-  
24 32.doi: 10.1179/027249302125001985.

- 1 24 Akbulut H, Çelik I, Çelik A, Akbulut A, Ayar A. Placental transfer of total IGG  
2 and IGG subclasses in a Turkish population living in eastern Anatolia. *Nobel Med.*  
3 2012;8(2):59-64.
- 4 25 Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M.  
5 IgG Placental Transfer in Healthy and Pathological Pregnancies.  
6 *Clin Dev Immunol.* 2012; 2012:985646. doi: 10.1155/2012/985646.
- 7 26 Twisselmann N, Bartsch YC, Pagel J, Wieg C, Hartz A, Ehlers M, et al. IgG  
8 Fc Glycosylation Patterns of Preterm Infants Differ With Gestational Age. *Front.*  
9 *Immunol.* 2019;9:3166. doi: 10.3389/fimmu.2018.03166.
- 10 27 Ferrante A, Beard LJ, Feldman RG. IgG subclass distribution of antibodies to  
11 bacterial and viral antigens. *Pediatr Infect Dis J.* 1990 Aug;9(8 Suppl):S16-24.
- 12 28 Sharma M, Laroia D, Taluja RK, Mathur PS. Serum IgG at birth in preterm  
13 appropriate- and small-for-gestational age newborns. *Indian J Pediatr.* 1991;  
14 58(5)657-60. doi: 10/1007/BF02820185.
- 15 29 Ventolini G, Neiger R. Placental dysfunction: Pathophysiopathology and  
16 clinical considerations. *Journal of Obstetrics & Gynaecology.* 2006;26(8)728-730.  
17 doi:10.1080/01443610600955685. 30 Hartter HK, Oyedele OI, Dietz K, Kreis S,  
18 Ho\_man JP, Muller CP. Placental transfer and decay of maternally acquired  
19 antimeasles antibodies in Nigerian children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*  
20 2000;19(7):635–641. doi: 10.1097/00006454-200007000-00010.
- 21 31 Van Den Berg JP, Westerbeek EAM, Van Der Klis FRM, Berbers GAM, Van  
22 Elburg RM. Transplacental transport of IgG antibodies to preterm infants: A review  
23 of the literature. *Early Hum Dev.* 2011; 87(2):67-72. doi:  
24 10.1016/j.earlhumdev.2010.11.003.

- 1 32 Borghia S, Bournazosa S, Thulinb NK, Lic C, Gajewskid A, Sherwood RW, et  
2 al. FcRn, but not FcyRs, drives maternal-fetal transplacental transport of human  
3 IgG antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020; 9;117(23):12943-12951. doi:  
4 10.1073/pnas.2004325117.
- 5 33 Wilcox CR, Holder B, Jones CE. Factors Affecting the FcRn-Mediated  
6 Transplacental Transfer of Antibodies and implications for vaccination in  
7 Pregnancy. *Front. Immunol*. 2017;8:1294. doi: 10.3389/fimmu.2017.01294.
- 8 34 Perez EE, Orange JS, Bonilla F, Chinen J, Chinn IK, Dorsey M, El-Gamal Y,  
9 Harville TO, Hossny E, Mazer B, Nelson R, Secord E, Jordan SC, Stiehm ER, Vo  
10 AA, Ballow M. Update on the use of immunoglobulin in human disease: A review  
11 of evidence. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(3S):S1-S46.
- 12 35 Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for suspected or proven  
13 infection in neonates. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;1(1):CD001239. doi:  
14 10.1002/14651858.CD001239.pub6.

**Figure and Table Legends**

**Figure 1** Structural differences in IgG subclasses

**Figure 2** Flowchart of the study selection process for the systematic review

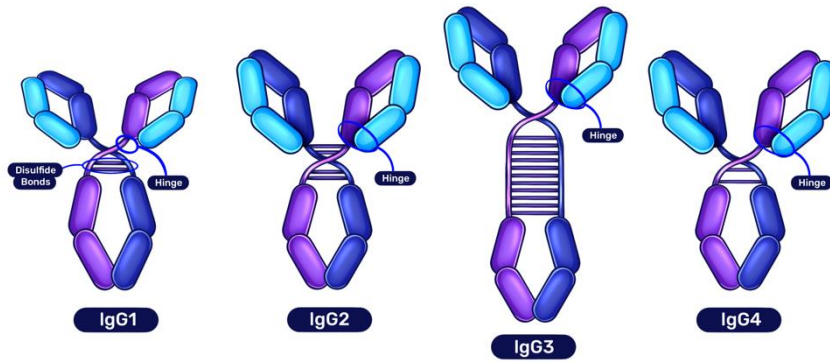
**Table 1** Functional and clinical differences in IgG subclasses

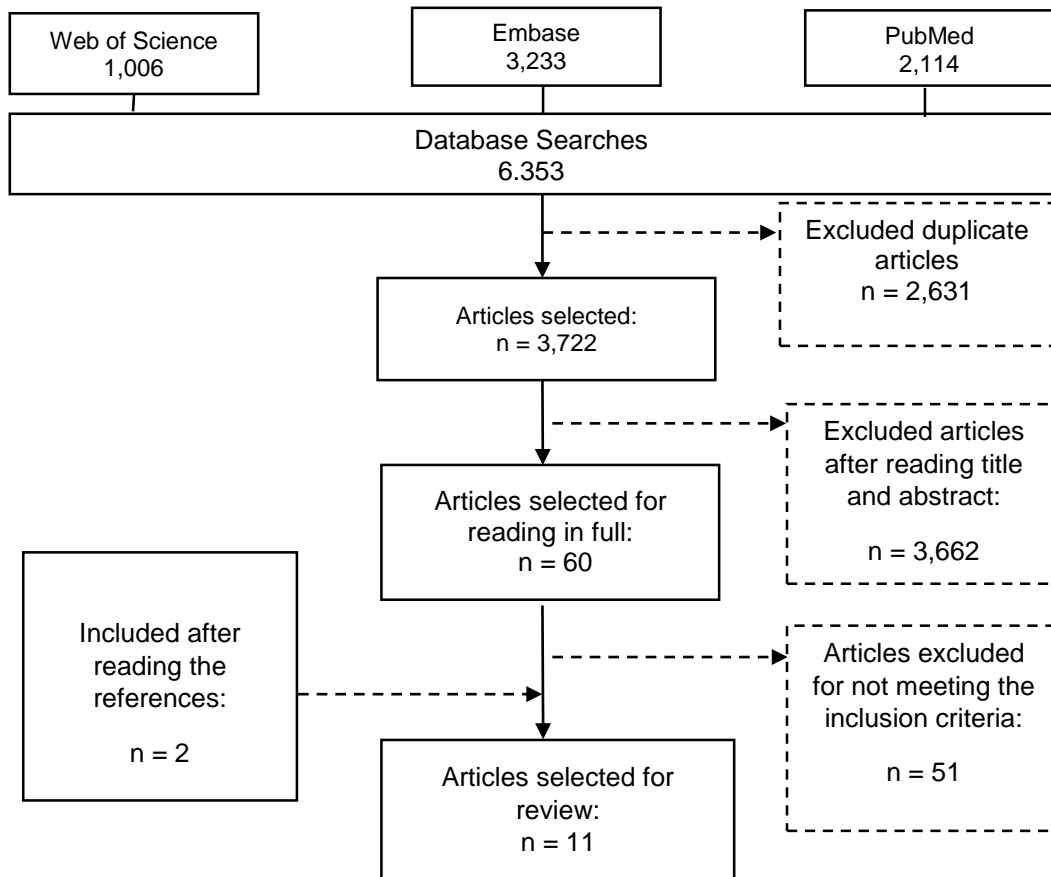
**Table 2** Characteristics of the reviewed studies.

**Table 3** Concentrations of IgG subclasses in maternal serum, fetus/PTNB, and term newborns

**Table 4** Relationship between GA and IgG subclasses

**Figure 1** Structural differences in IgG subclasses



**Figure 2** Flowchart of the study selection process for the systematic review

**Table 1** Functional and clinical differences in IgG subclasses

	<b>IgG1</b>	<b>IgG2</b>	<b>IgG3</b>	<b>IgG4</b>
Relative serum level	60%	32%	4%	4%
Half-life	21 days	21 days	7 days	21 days
Binding to C1q	++	+	+++	-
Binding to FcγRI receptors	+++	-	++++	++
Binding to FcγRII* receptors	+ to +++	- to +	++ to ++++	+ to ++
Binding to FcγRIII* receptors	++ to +++	- to +	++++	- to ++
Binding to FcRn receptors	++++	++	+++	+++
Clinical Characteristics	<p>Primary defense against protein antigens</p> <p>IgG1 deficiency is associated with recurrent infections, especially in the respiratory and gastrointestinal tracts</p>	<p>Active against encapsulated bacteria (polysaccharide antigens)</p> <p>IgG2 deficiency generates susceptibility to invasive infections by <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Neisseria meningitides</i>, and <i>Streptococcus pneumoniae</i>.</p>	<p>Potent pro-inflammatory and complement activators against protein antigens</p> <p>The first subclass to rise in acute infections but is rapidly replaced by IgG1 due to its short half-life</p>	<p>Generally considered benign and anti-inflammatory, involved in tolerance mechanisms</p> <p>Produced in response to helminth and allergen infections, as well as autoantigens</p>

**Table 2** Characteristics of the reviewed studies

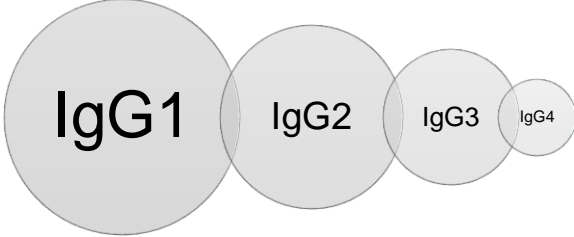

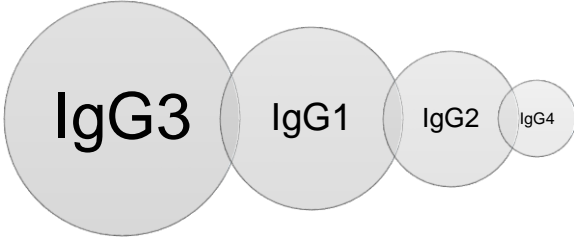

<b>Authors/ year / country</b>	<b>SAMPLE (n)</b>	<b>GESTATIONAL AGE INCLUDED (WEEKS)</b>	<b>IGG MEASUREMENT METHOD</b>
Morell et al, 1971, Finland (ref. 14)	128	13 to 42	Modified radioimmunoassay
Schur et al., 1973, EUA (ref. 15)	39	11 to 35	Modified radial immunodiffusion
Catty et al, 1977, England (ref. 16)	47	28 to 41	Radial Immunodiffusion
Pitcher-Wilmott et al, 1980, United Kingdom (ref. 17)	34	28 to 42	Modified single immunodiffusion
Garty et al., 1994, Israel (ref. 18)	34	18 to 35	Immunoradiometric assay
Malek et al., 1994, Switzerland (ref. 19)	38	28 to 42	Human IgG ELISA and modified radial immunodiffusion
Malek et al., 1996, Switzerland (ref. 20)	107	17 to 41	Human IgG ELISA
Costa-Carvalho et al, 1996, Brazil (ref. 21)	137	33 a 41	Single radial immunodiffusion
Hashira et al., 2000, Japan (ref. 22)	228	20 to 42	Human IgG ELISA
Okoko et al., 2002, Gambia (ref. 23)	180	35 to 42	Laser nephelometry
Akbulut et al, 2012, Turkey (ref. 24)	180	32 to 42	Immunoturbidimetric and single radial immunodiffusion

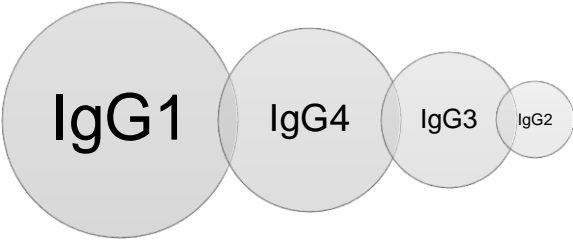


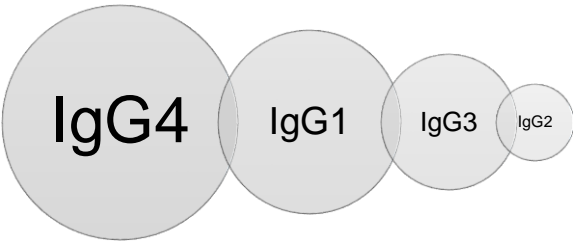
**Table 3** Concentrations of IgG subclasses in maternal serum, fetus/PTNB, and term newborns

<b>Fetuses and PTNB</b>	<b>vs</b>	<b>Term Newborns</b>
Maternal < PTNB: 3 of 4 studies (ref. 15, ref. 19 and ref. 24) Maternal > PTNB: 1 of 4 studies (ref. 20)	<b>Total IgG</b>	<b>Maternal &lt; NB: 3 of 3 studies</b> (ref. 17, ref. 20 and ref. 24)
Maternal > PTNB: 2 of 5 studies (ref. 20 and ref. 21) Maternal < PTNB: 2 of 5 studies (ref. 15 and ref. 19) Maternal = PTNB: 1 of 5 studies (ref. 24)	<b>IgG1</b>	<b>Maternal &lt; NB: 7 of 7 studies</b> (ref. ref. 14, ref. 17, ref. 20, ref. 21, ref. 22, ref. 23 and ref. 24)
<b>Maternal &gt; PTNB: 5 of 5 studies</b> (ref.15, ref. 19, ref. 20, ref. 21 and ref. 24)	<b>IgG2</b>	Maternal > NB: 5 of 7 studies (ref. 14, ref. 20, ref. 21, ref. 22 and ref. 24) Maternal < NB: 2 of 7 studies (ref.17 and ref. 23)
Maternal > PTNB: 3 of 5 studies (ref. 15, ref. 20 and ref. 21) Maternal = PTNB: 2 of 5 studies (ref. 19 and ref. 24)	<b>IgG3</b>	Maternal > NB: 1 of 7 studies (ref. 24) Maternal < NB: 3 of 7 studies (ref. 17, ref. 22 and ref. 23) Maternal = NB: 3 of 7 studies (ref. 14, ref. 20 and ref. 21)
Maternal > PTNB: 1 of 5 studies (ref. 20) Maternal < PTNB: 1 of 5 studies (ref. 15) Maternal = PTNB: 3 of 5 studies (ref. 19, ref. 21 and ref. 24)	<b>IgG4</b>	Maternal < NB: 3 of 7 studies (ref.17, ref. 22 and ref. 23) Maternal = NB: 4 of 7 studies (ref. 14, ref. 20, ref. 21 and ref. 24)

The results highlighted in bold were unanimous among the studies that evaluated the association. NB = newborn; PTNB = preterm newborn; IgG = immunoglobulin G.

**Table 4** Relationship between GA and IgG subclasses

Article	Relationship with GA	Distribution of IgG subclasses
<b>Morell et al., 1971 (ref. 14)</b>	IgG and Subclasses increased with GA	
<b>Schur et al., 1973 (ref. 15)</b>	IgG and Subclasses increased with GA	
<b>Catty et al., 1977 (ref. 16)</b>	IgG and IgG1, IgG2, and IgG3 increased with GA. IgG4 showed no increase with GA	
<b>Pitcher- Wilmott et al., 1980 (ref. 17)</b>	IgG and Subclasses increased with GA	
<b>Garty et al., 1994 (ref. 18)</b>	IgG and Subclasses increased with GA	

<p><b>Malek et al., 1996 (ref. 20)</b></p>	<p>IgG and IgG1, IgG3, and IgG4 increased with GA. IgG4 slow linear increase throughout gestation</p>	
<p><b>Costa-Carvalho et al., 1996 (ref. 21)</b></p>	<p>IgG1 and IgG3 increased according to GA</p>	
<p><b>Hashira et al., 2000 (ref. 22)</b></p>	<p>IgG and Subclasses increased with GA</p>	
<p><b>Malek et al., 1994 (ref. 19)</b></p>	<p>IgG and Subclasses increased with GA</p>	
<p><b>Okoko et al., 2002 (ref. 23)</b></p>	<p>IgG and Subclasses increased with GA</p>	
<p><b>Akbulut et al., 2012 (ref. 24)</b></p>	<p>No significant correlation was detected between IgG and subclasses and increased GA</p>	

Size of circles represent relative concentrations of IgG subclasses. GA = gestational age; NB = newborn; IgG = immunoglobulin G.

## Supplementary Material

### Appendix 1: Search Strategy

#### PubMed (MEDLINE):

##### #1: 250.084

“Immunoglobulin G”[MeSH] OR “Immunoglobulin G” OR “IgG” OR “IgG Antibody” OR “Antibody, IgG” OR “Gamma Globulin, 7S” OR “7S Gamma Globulin” OR “IgG2A” OR “IgG2B” OR “Polyglobin” OR “Allerglobuline” OR “IgG(T)” OR “Immunoglobulin GT” OR “GT, Immunoglobulin” OR “IgG1” OR “IgG4” OR “IgG2” OR “IgG3”

##### #2: 324.455

“Premature Birth”[MeSH] OR “Premature Birth” OR “Birth, Premature” OR “Births, Premature” OR “Premature Births” OR “Preterm Birth” OR “Birth, Preterm” OR “Births, Preterm” OR “Preterm Births” OR “Infant, Premature”[MeSH] OR “Infant, Premature” OR “Infants, Premature” OR “Premature Infant” OR “Preterm Infants” OR “Infant, Preterm” OR “Infants, Preterm” OR “Preterm Infant” OR “Premature Infants” OR “Neonatal Prematurity” OR “Prematurity, Neonatal” OR “Obstetric Labor, Premature”[MeSH] OR “Obstetric Labor, Premature” OR “Labor, Premature Obstetric” OR “Premature Labor” OR “Preterm Labor” OR “Labor, Preterm” OR “Labor, Premature” OR “Premature Obstetric Labor” OR “premature” OR “preterm” OR “Gestational Age”[MeSH] OR “Gestational Age” OR “Age, Gestational” OR “Ages, Gestational” OR “Gestational Ages” OR “Maturity, Chronologic Fetal” OR “Chronologic Fetal Maturity” OR “Fetal Maturity, Chronologic” OR “Fetal Age” OR “Age, Fetal” OR “Ages, Fetal” OR “Fetal Ages”

##### #3: 2.114

#1 AND #2

**Embase:****#1: 442.414**

'prematurity'/exp OR 'extremely premature infant' OR 'infant, extremely premature' OR 'infant, premature' OR 'infant, premature, diseases' OR 'neonate, premature' OR 'pre-mature infant' OR 'pre-term baby' OR 'pre-term child' OR 'pre-term infant' OR 'pre-term neonate' OR 'pre-term newborn' OR 'premature' OR 'premature baby' OR 'premature birth' OR 'premature child' OR 'premature childbirth' OR 'premature infant' OR 'premature infant disease' OR 'premature infant diseases' OR 'premature neonate' OR 'premature newborn' OR 'premature syndrome' OR 'prematunitas' OR 'prematurity' OR 'preterm baby' OR 'preterm child' OR 'preterm infant' OR 'preterm neonate' OR 'preterm newborn' OR 'premature labor'/exp OR 'labor, premature' OR 'labour, premature' OR 'obstetric labor, premature' OR 'obstetric labour, premature' OR 'premature delivery' OR 'premature labor' OR 'premature labour' OR 'premature obstetric labor' OR 'premature obstetric labour' OR 'preterm birth' OR 'preterm delivery' OR 'preterm labor' OR 'preterm labour' OR 'gestational age'/exp OR 'age, gestation' OR 'gestation age' OR 'gestation time' OR 'gestational age'

**#2: 293.789**

'immunoglobulin g'/exp OR 'igg' OR 'c425' OR 'cytotect' OR 'gamimune n' OR 'gamma g' OR 'gamma g globulin' OR 'gamma g immunoglobulin' OR 'gamma globulin g' OR 'gamma immunoglobulin g' OR 'gammaglobulin g' OR 'gammar iv' OR 'gammonativ' OR 'ig g' OR 'igg antibody titer' OR 'igg l' OR 'igg receptor site' OR 'igg subclass' OR 'immune globulin g' OR 'immunoglobulin g' OR 'immunoglobulin g antiserum' OR 'immunoglobulin g immune serum' OR

'immunoglobulin g life span' OR 'immunoglobulin g subclass' OR 'immunoglobulin gamma g' OR 'immunoglobulin ig g' OR 'immunoglobulin igg' OR 'plasma igg' OR 'c 425'

**#3: 3.233**

#1 AND #2

**Web of Science:**

**#1: 167,397**

ALL=("Immunoglobulin G" OR "IgG" OR "IgG Antibody" OR "Gamma Globulin" OR "IgG2A" OR "IgG2B" OR "Polyglobin" OR "Allerglobuline" OR "IgG(T)" OR "Immunoglobulin GT" OR "GT, Immunoglobulin" OR "IgG1" OR "IgG4" OR "IgG2" OR "IgG3")

**#2: 268,071**

ALL=(Premature OR Preterm OR "Gestational Age" OR "Fetal Age")

**#3: 1,006**

#1 AND #2

**ARTIGO 3****Paediatrics and International Child Health – Fator de Impacto 2021: 2.725****Inflammatory markers and oxidative stress of umbilical cord blood in preterm newborns**

Versiéri Oliveira de Almeida<sup>1</sup>, Renan Augusto Pereira<sup>1</sup>, Sérgio Luís Amantéa<sup>2</sup>, Cláudia Ramos Rhoden<sup>3</sup>, Lennon Vidori<sup>4</sup>, Victória Porcher Simioni<sup>4</sup>, Fernanda Silva dos Santos<sup>4</sup>, Bruna Marmett<sup>5</sup>, Roseana Boek Carvalho<sup>5</sup>, Maurício Obal Colvero<sup>6</sup>

<sup>1</sup> PhD student in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

<sup>2</sup> PhD in Pneumological Sciences. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

<sup>3</sup> Post-doctoral degree Physiology (Environmental Science). Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

<sup>4</sup> Medicine School. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

<sup>5</sup> PhD student in Health Sciences. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

<sup>6</sup> PhD. in Pediatrics Medicine and Child Health. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil. E-mail: mcolvero@hotmail.com

**Author for mailing:** Versiéri Oliveira de Almeida - Address: Avenida Pinheiro Machado, 689, apto 504, Centro, RS, ZIP CODE: 98700-000. E-mail: versieri.almeida@iffarrroupilha.edu.br

## Abstract

**Background:** Preterm newborns (PTN) have an increased risk of developing complications, inflammatory processes, and oxidative stress are important mechanisms in the pathogenesis of neonatal diseases. **Aim:** To analyze the inflammatory and oxidative markers profile in cord blood in PTNs and the association between these markers with birth weight and gestational age. **Methods:** Cord blood was collected from PTNs (< 37 completed weeks of gestation) for the analysis of interleukin-6 (IL-6), interleukin -10 (IL-10), and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); oxidative stress was assessed by measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione (GSH). These values were associated with gestational age and birth weight. **Results:** Sixty-six PTNs were analyzed, 86.4% ( $n=57$ ) were moderate to late preterm and 13.7% ( $n=9$ ) very preterm; 50% ( $n=33$ ) had low birth weight (<2500g). There was a significant difference in GSH distribution in relation to gestational age ( $p=0.001$ ), considering very preterm (<32 weeks) and moderate to late preterm ( $\geq 32$  weeks) and between weight classification categories (<2500g or  $\geq 2500$ g) ( $p=0.012$ ). Antioxidant enzymes (GSH) were detected in lower concentrations in very preterm (< 32 weeks) newborns and those with low birth weight (< 2500g). A significant negative correlation of IL-10 versus TNF- $\alpha$  was also found ( $r=-0.254$ ;  $p=0.040$ ), with decreased IL-10 and increased TNF- $\alpha$  occurring. **Conclusions:** Antioxidants levels (GSH) were lower in cord blood of PTNs with low birth weight and very preterm babies. These findings might instigate further studies on studying the potential role of antioxidants in the pathogenesis of preterm complications.

**Abbreviations:** CAT: catalase; EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; GSH: glutathione; IL-6: interleukin-6; IL-10: interleukin-10; MDA: malondialdehyde; PTN: preterm newborn; ROS: reactive oxygen species; RNS: reactive nitrogen species; SOD: superoxide dismutase; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor- $\alpha$ .

**Keywords:** Infant, premature - Cytokines - Oxidative stress - Fetal blood.

## Introduction

Prematurity is defined as birth that occurs before 37 completed weeks of gestation<sup>1</sup>. An estimated 15 million babies are born prematurely each year, indicating a global premature birth rate of about 11%. Complications from premature birth are the leading cause of death in children under 5 years of age<sup>2,3</sup>.

Preterm newborns have an increased risk of developing a wide range of complications<sup>4</sup>. Very preterm infants (gestational age < 32 weeks)<sup>5</sup> or those with low birth weight (< 2500g) are even more susceptible to develop adverse outcomes<sup>6-8</sup>. Birth weight is considered a predictor of survival in the perinatal period<sup>6</sup> and is an isolated parameter for determining short- and long-term health conditions<sup>9</sup>.

Infectious diseases are one of the leading causes of morbimortality in this population<sup>10</sup>. The incomplete development of the immune system in preterm newborns (PTN) leads to increased vulnerability to infections<sup>11</sup>. Several factors contribute to the neonatal infectious process, and oxidative stress is one of the points that favor tissue damage due to the immaturity of the antioxidant system<sup>12,13</sup>. Oxidative stress and inflammation are important mechanisms in the pathogenesis of neonatal diseases. Findings demonstrate a close relationship between oxidative stress mediators and inflammation markers, such as cytokines<sup>13</sup>.

Cytokines are proteins secreted by cells of the immune system that act mainly as mediators and regulators of inflammation, immunity, and hematopoiesis. In some studies, pro-inflammatory cytokines were found to be associated with adverse outcomes in neonates, but the results are inconsistent<sup>14</sup>. Despite the importance of the topic, few studies analyzed the relationship between the concentrations of inflammatory cytokines and oxidative stress in cord blood<sup>15,16</sup>, especially in PTNs.

The present study aims to analyze the profile of inflammatory and oxidative stress of cord blood in PTNs and the association between these markers with birth weight and gestational age.

## Methods

### *Delineation*

This is a cross-sectional, analytical descriptive study carried out at Obstetric Center of Hospital Santa Clara - Santa Casa de Misericórdia, in Porto

Alegre, Rio Grande do Sul. A consecutive sampling process was used throughout working days (Monday to Friday). Umbilical cord blood from premature newborns was collected.

#### *Patients and methods*

Preterm infants with gestational age less than 37 completed weeks of gestation from January to December 2021 were included in this study. Patients with a higher chance of immunodeficiency at birth were excluded from the study: newborns with genetic syndromes, maternal exposure to human immunodeficiency virus, and use of immunosuppressive medications during pregnancy. Other exclusion criteria were insufficient cord blood for all laboratory analysis and parents that did not consent to participate in this study.

#### *Variables under study*

Sociodemographic and clinical data were collected from the patient's medical records and by interviews with parents through the application of a semi-structured questionnaire. The variables included in the analysis were as follows: maternal age; race; marital status; education; occupation; monthly income; prenatal; type of deliver; premature rupture of membrane; maternal infection at the time of delivery; preeclampsia; pregnancy-specific hypertensive disease; infections during pregnancy; gestational diabetes; use of cigarettes, alcohol, and drugs; gender of the newborn; birth weight; length and head circumference; adequacy of weight for gestational age according to Fenton curves<sup>17</sup> (small for gestational age; adequate for gestational age; large for gestational age); and 1st and 5th minute Apgar scores.

Gestational age was estimated by ultrasonography in the first trimester or, in the absence of this information, by calculating the date of the last menstrual period. To identify the degree of prematurity, the World Health Organization classification scale was used as a reference, which categorizes infants as extremely premature (< 28 weeks); very premature (> 28 to 32 weeks); and moderate/late premature (> 32 to 37 weeks)<sup>1</sup>. For analysis purposes, data were divided into the following groups: < 32 weeks and  $\geq$  32 weeks. Weight at birth was classified in low birth weight (< 2500 grams) and normal birth weight ( $\geq$  2500 grams).

Endpoints were the concentrations of oxidant substances: thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)/malondialdehyde (MDA); antioxidants:

glutathione (GSH), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD); and cytokines: interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ).

#### *Storage of biological material*

For the analysis of oxidative stress markers and cytokines, 8.5ml samples of cord blood were obtained at the time of delivery. After being collected, blood was distributed in 4 tubes (2 with EDTA anticoagulant and 2 tubes without anticoagulant) and stored under refrigeration. The blood samples were centrifuged for 10 minutes at 3500 rpm, and plasma/serum were immediately frozen and stored at -80°C until the moment of analysis.

#### *Laboratory Analysis*

##### *Cytokines*

Concentrations of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 were quantified in serum and determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in a microplate reader (EzReader, USA) using eBioscience kit. The detection limits of each cytokine were: TNF- $\alpha$ , 4-500 pg/mL, IL-6, 2-200 pg/mL; IL-10, 2-300 pg/mL.

##### *Oxidative stress*

For the analysis of lipid peroxidation in plasma, we used the TBARS technique, which is based on the formation of pink pigments when lipid peroxidation products (including MDA) react with thiobarbituric acid, detectable at 535 nm<sup>18</sup>.

The CAT activity was determined in plasma according to Aebi (1984)<sup>19</sup>. Briefly, we verified the decomposition of hydrogen peroxide by CAT at 25°C for 120 seconds, determined at 240 nm in a spectrophotometer (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, SP, Brazil).

The SOD analysis occurred using plasma according to the pyrogallol auto-oxidation technique, which is a substrate for SOD<sup>20</sup>. One unit of SOD is defined as the amount of enzyme capable of inhibiting 50% of the reaction. The absorbances of the samples were determined in a spectrophotometer (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, SP, Brazil) at 420 nm in 60 and 120 seconds.

GSH levels in plasma were established according to the QuantiChrom™ glutathione assay kit from BioAssay Systems. The absorbance was read at 412 nm in 15 minutes using a spectrophotometer (Perkin-Elmer Lambda 35, São Paulo, SP, Brazil).

##### *Statistical analysis*

Frequency analysis were used for categorical variables and descriptive measures (mean and standard deviation) were used for quantitative variables with normal distribution, confirmed by the Shapiro-Wilk normality test. Non-parametric data were described by median and their 25-75% interquartile ranges (IQ<sub>25-75</sub>). For non-parametric distribution tests, the Mann-Whitney test was applied. The correlation between variables was determined by Spearman's test. In data analysis, *p*-values of 0.05 or lower were considered statistically significant. All analyses were performed on SPSS software version 28.0.

### *Ethical aspects*

The research was approved by the Ethics and Research Committee of the Hospital da Criança Santo Antônio - Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre, Rio Grande do Sul (register number/CAAE 20296919.9.0000.5683). Furthermore, the ethical principles of the National Health Council Resolution no. 466 of December 12, 2012<sup>21</sup> were respected, and the legal representatives of the newborns signed the Informed Consent.

### **Results**

Characteristics of PTNs, perinatal, and neonatal data are described in Table 1. Sixty-six PTNs (24 to 36+6 weeks of gestational age) were analyzed; 86.4% (*n*=57) were classified as moderate/late preterm ( $\geq 32$  weeks of gestational age); 50% (*n*=33) had low birth weight ( $< 2500$ g). Most of the newborns 57.6% (*n*=38) were male.

Socio-demographic data revealed that most mothers were 78.8% (*n*=52) between 20 and 34 years old, 56.1% (*n*=37) were white, 51.5% (*n*=34) reported having no companion, and 53.0% (*n*=35) had no formal employment. The average monthly family income most reported was 1 to 3 minimum wages by 56.06% (*n*=37) of the mothers; 21.21% (*n*=14) 3 to 6 minimum wages; 19.69% (*n*=13) up to 1 minimum wage; 1 (1.51%) more than 6 minimum wages; one did not know the answer.

Table 2 summarizes, the profile of inflammatory (IL-6 and TNF- $\alpha$ ), anti-inflammatory (IL-10), oxidative damage (TBARS/MDA) and enzymatic antioxidant (GSH, SOD, and CAT) markers. Tables 3 and 4 shows the subgroups of PTNs considering gestational age and birth weight, respectively, since there is no baseline data for cytokines and oxidative stress in this population. There was a significant difference in the distribution of GSH levels according to gestational

age (very preterm *versus* moderate/late preterm) ( $p=0.001$ ) and also between low birth weight and normal birth weight groups ( $p=0.012$ ), with lower values of the antioxidant marker in very preterm and low birth weight groups. CAT, SOD, TBARS/MDA, TNF- $\alpha$ , IL-10, and IL-6 markers had a statistically similar distribution between prematurity and birth weight classification categories.

To verify other possible associations, correlation analysis was performed between oxidative stress markers and cytokines. There was a significant negative correlation between IL-10 and TNF- $\alpha$  ( $r= -0.254$ ;  $p=0.040$ ), with a tendency to decrease IL-10 and increase TNF- $\alpha$ . No other significant correlation was found among other markers.

## Discussion

This study provides a profile of the main inflammatory and oxidative stress markers analyzed in PTNs, associating with factors such as birth weight (< 2500g and  $\geq$  2500g) and degree of prematurity (< 32 weeks and  $\geq$  32 weeks gestation). We observed that PTNs with low birth weight and very preterm had reduced levels of the antioxidant enzyme GSH. We also found a negative correlation between IL-10 and TNF- $\alpha$  cytokine levels.

Compared to other studies, our analysis showed higher levels of cytokines in the inflammatory profile of PTNs (median levels of TNF- $\alpha$ : 16.7 pg/mL, IL-10: 13.4 pg/mL and IL-6: 8.3pg/mL). Lindner et al.<sup>22</sup> evaluated cytokines in cord blood of 93 PTNs (24 to 36 weeks) and showed median levels of TNF- $\alpha$  of 8.5 pg/mL, IL-10 of 6.1 pg/mL and IL-6 of 3.3 pg/mL. Takahashi et al.<sup>16</sup> evaluated the cytokine profile of full-term and premature newborns, and the mean levels of TNF- $\alpha$ , IL-10, and IL-6 were 2.05 pg/mL, 0.993 pg/mL, and 4.88 pg/mL, respectively. Anderson et al.<sup>23</sup> found median levels of TNF- $\alpha$  of 17.08 pg/mL, IL-10 of 1.66 pg/mL and IL-6 of 2.27 pg/mL analyzing of 25 PTNs. In other words, the results vary, and this variation may be due to differences in the methodological and clinical profile of the studies. The contribution of baseline serum cytokine levels to infectious susceptibility in PTNs<sup>23</sup> is still unclear. Although there are no validated reference values for cytokines in premature infants, inflammatory markers might help to identify increased risk of comorbidities associated with prematurity<sup>16,24-26</sup>.

Oxidative stress markers have limitations for comparison with other studies due to variability in analysis techniques and results expressed in different

outcome measures. Moore et al.<sup>27</sup> made a similar statement, reporting that variety of measures restricts the interpretation and understanding of the mechanisms of oxidative stress associated with prematurity and hinders its application in clinical practice. However, several comparative studies in PTNs associate oxidative stress markers with the development of prematurity diseases<sup>27-30</sup>.

Although oxidative stress and inflammation are a normal response to birth, if this response is not balanced, it leads to an increased risk of developing neonatal diseases<sup>27</sup>. Premature birth usually occurs before the normal regulation of antioxidant systems and other defenses against reactive oxygen species (ROS), which puts the newborn at particular risk of oxidative stress-induced injury<sup>27,29</sup>.

Analysis of antioxidant markers showed an association with a significant difference in GSH levels between birth weight (< 2500g or ≥ 2500g) and gestational age (< 32 weeks and ≥ 32 weeks) groups, with lower levels in very preterm and low birth weight newborns. Such findings suggest an immaturity of antioxidant enzymes that may contribute to the occurrence of oxidative damage in cellular metabolism and consequent clinical repercussions in an organism already systemically compromised in its functions by prematurity. Giuffrea et al.<sup>31</sup> presented similar results when they evaluated cord blood from 80 full-term newborns and reported a significant correlation between GSH levels and gestational age. This relationship can be explained by the fact that the antioxidant system is regulated during the last trimester of gestation and therefore increases with the progression of gestational age<sup>31</sup>.

GSH is a non-enzymatic antioxidant, found in cells mainly in its reduced form<sup>27</sup>, has a defense mechanism in neutralizing lipid peroxidation, and plays an important role in maintaining the redox balance<sup>31</sup>. GSH acts by removing toxic peroxides through reactions catalyzed by GSH peroxidase, and is often used as an indicator of cellular redox status, reflecting the balance between the capacity of the defense response to regenerate GSH and the extent of neutralization by oxidants<sup>32</sup>.

The other oxidative stress markers (CAT, SOD, and TBARS/MDA) showed no statistically significant difference between the groups studied. Similar findings were reported by Ghany et al.<sup>29</sup>, where they could not demonstrate a significant

correlation between birth weight and CAT levels; however, they reported a significant correlation between birth weight and MDA levels in cord blood of PTNs.

A systematic review by Moore et al.<sup>27</sup> suggests that antioxidant measurements are more useful than measurements of oxidative damage markers, as the results allow for a greater understanding of potential mechanisms and interventions. However, it is necessary to measure several antioxidants and include measures that identify specific ROS or reactive nitrogen species (RNS) that may be associated with altered antioxidant levels or activity<sup>27</sup>.

Regarding the analyzed inflammatory markers - TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-10 - there was no significant difference between the classification groups concerning birth weight or gestational age. Differently from our findings, Takahashi et al.<sup>16</sup> reported an inverse correlation between gestational age and serum levels of IL-6 analyzed in cord blood of 224 newborns (66 full-term and 158 premature newborns), but TNF- $\alpha$  and IL-10 did not show statistical significance. In Otsubo et al.<sup>33</sup>, 135 newborns were analyzed, and significantly higher levels of IL-6 and IL-10 were found in the group of full-term newborns compared to premature newborns. Blanco-Quiros et al.<sup>34</sup> reported significantly higher levels ( $p=0.0001$ ) in cord blood of PTNs compared to term newborns, with values inversely correlated to gestational age. Anderson et al.<sup>23</sup> found no significant difference between PTNs and full-term newborns and levels of TNF- $\alpha$  and IL-10; only IL-6 was significant ( $p=0.05$ ) between the groups. These findings point to the absence of a specific pattern of inflammatory response mediated by cytokines or even the presence of individual factors that may influence specific responses.

The analysis of specific groups is also not able to establish a definitive judgment. Dembinski et al.<sup>10</sup> analyzed cytokines in PTNs stratified into three groups based on their GA (< 32 weeks; 33 to 36 weeks; and 37 weeks). Levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-10 at time of delivery did not differ significantly. However, the IL-10:TNF- $\alpha$  ratio was elevated in newborns under 32 weeks when compared to gestational age, although not statistically significant. Our study found a significant negative correlation between IL-10 and TNF- $\alpha$  levels, with lower levels of IL-10 associated with higher levels of TNF- $\alpha$ . According to Valerio et al.<sup>35</sup>, the magnitude of the IL-10 response seems to correlate with the severity of the

inflammatory process and the concentration of pro-inflammatory cytokines, with TNF- $\alpha$  activation.

Inflammation-related prematurity has been associated with the risk of severe complications. Indicators have demonstrated a relationship between perinatal inflammation of various causes with immune dysfunction and abnormal stress responses, not only in the immediate postnatal period but possibly throughout life. Thus, it is essential to advance in the knowledge of perinatal inflammation and its causes.

The study has some limitations. One is the sample size, especially in the profile of very preterm and extreme preterm newborns. Another factor is that we did not follow the PTNs for outcome analysis, which could provide a more comprehensive understanding of the pathological and clinical processes involving inflammatory markers and oxidative stress. Even so, our results contribute to a greater understanding of the behavior of oxidative stress and inflammatory cytokines in prematurity.

In conclusion, the results showed that antioxidant enzymes (GSH) were detected in lower concentrations in very premature newborns (< 32 weeks) and those with low birth weight (< 2500g). These findings may suggest a potential risk for oxidative stress in this population that is more vulnerable due to prematurity since antioxidant concentrations have been shown to have a proportional influence on the degree of prematurity and birth weight.

### **Acknowledgment**

We are thankful to the participants and staff at the Centro Obstétrico do Hospital Santa Clara for their availability during data collection.

### **Disclosure statement:**

The authors declare that there are no conflicts of interest.

### **Financing:**

The authors reported that there is no funding associated with the work presented in this article.

### **Notes on contributors**

**Versiéri Oliveira de Almeida**, nutritionist. PhD student in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Renan Augusto Pereira**, pediatrician. PhD student in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Sérgio Luís Amantéa**, pediatrician. PhD in Pneumological Sciences. Adjunct professor in Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Cláudia Ramos Rhoden**, pharmaceutical. Post-doctoral degree Physiology (Environmental Science). Coordinator of the Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Lennon Vidori**, student. Medicine School. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Victória Porcher Simioni**, student. Medicine School. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Fernanda Silva dos Santos**, student. Medicine School. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Bruna Marmett**, nutritionist. PhD student in Health Sciences. Postgraduate Program in Health Sciences. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Roseana Boek Carvalho**, biomedical. PhD student in Health Sciences. Postgraduate Program in Health Sciences. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Maurício Obal Colvero**, neonatologist. PhD. in Pediatrics Medicine and Child Health. Adjunct professor in Postgraduate Program in Pediatrics: Health Care for Children and Adolescents. Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

#### **ORCID**

**Versiéri Oliveira de Almeida** <https://orcid.org/0000-0003-1274-6857>

**Renan Augusto Pereira** <https://orcid.org/0000-0003-3750-9620>

**Sérgio Luís Amantéa** <https://orcid.org/0000-0002-1256-3957>

**Cláudia Ramos Rhoden** <https://orcid.org/0000-0002-3099-9375>

**Lennon Vidori** <https://orcid.org/0000-0002-5418-7830>

**Victória Porcher Simioni** <https://orcid.org/0000-0003-1306-2983>

**Fernanda Silva dos Santos** <https://orcid.org/0000-0003-3878-8457>

**Bruna Marmett** <https://orcid.org/0000-0002-2982-0323>

**Roseana Boek Carvalho** <https://orcid.org/0000-0002-8677-7763>

**Maurício Obal Colvero** <https://orcid.org/0000-0002-0091-8431>

## Appendices

Table 1. Perinatal and neonatal data of PTNs.

Characteristics	n(%)
<b>Gender</b>	
Female	28 (42.4)
Male	38 (57.6)
<b>Gestational age</b>	
≥ 32 weeks	57 (86.4)
< 32 weeks	9 (13.7)
<b>Weight</b>	
≥ 2500g	33 (50.0)
< 2500g	33 (50.0)
<b>Adequacy of weight for gestational age</b>	
SGA	5 (7.6)
AGA	57 (86.3)
LGA	4 (6.1)
<b>Apgar</b>	
1st min ≥ 7	61 (92.4)
5th min ≥ 7	64 (97.0)
<b>Had prenatal care</b>	64 (97.0)
<b>Pre-Eclampsia</b>	21 (31.8)
<b>HDP</b>	10 (15.2)
<b>Infections during pregnancy</b>	35 (53.0)
<b>Current maternal infection</b>	4 (6.1)
<b>GDM</b>	26 (39.4)
<b>Cigarette use</b>	12 (18.2)
<b>Alcohol use</b>	3 (4.5)
<b>Drug use</b>	2 (3.0)
<b>Type of delivery - Caesarean section</b>	42 (63.6)
<b>Presence of PPRM</b>	27 (40.9)

AGA: Adequate for Gestational; GDM: Gestational Diabetes mellitus; HDP: Hypertensive disorders of pregnancy; LGA: large for gestational age; PPRM: Preterm premature rupture of membrane; SGA: Small for gestational age.

**Table 2. Descriptive measures of cytokine levels and oxidative stress in PTNs.**

<b>Levels</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>LI-Ls</b>	<b>Md</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/mL)	17.9	6.9	7.7-54.4	16.7
<b>IL-10</b> (pg/mL)	15.6	8.3	7.9-48.0	13.4
<b>IL-6</b> (pg/mL)	16.6	22.7	3.2-105.2	8.3
<b>CAT</b> (pmol/mL)	0.4	0.6	0.1-5.0	0.2
<b>SOD</b> (USOD/mg)	2.3	0.8	0.1-4.8	2.2
<b>GSH</b> (mg/dl)	3.0	0.7	2.0-5.7	2.8
<b>TBARS/MDA</b> ( $\mu$ M/mg)	39.1	16.6	20.5-103.0	36.1

CAT: Catalase; GSH: Glutathione; IL-6: Interleukin-6; IL-10: Interleukin-10; LI: Inferior limit; Ls: Superior limit; M: Mean; MDA: Malondialdehyde; Md: Median; SD: Standard Deviation; SOD: Superoxide dismutase; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor- $\alpha$ .

**Table 3. Cytokine levels and oxidative stress in relation to PTNs gestational age.**

Levels	< 32(n= 9)	≥ 32 a< 37(n= 57)	*p
	M(SD)	M(SD)	
<b>TNF-α</b>	15.8 (0.5)	18.2 (1.0)	0.106
<b>IL-10</b>	15.0 (1.5)	15.7 (1.2)	0.531
<b>IL-6</b>	18.4 (9.8)	16.3 (2.9)	0.495
<b>TAC</b>	0.4 (0.1)	0.4 (0.1)	0.575
<b>SOD</b>	2.4 (0.2)	2.3 (0.1)	0.607
<b>GSH</b>	2.5 (0.1)	3.1 (0.1)	<b>0.001</b>
<b>TBARS/MDA</b>	38.5 (5.9)	39.2 (2.2)	0.730

\*Mann-Whitney Test; < 32 weeks: Very premature; >32 to < 37 weeks: Moderate to late preterm; CAT: Catalase; GSH: Glutathione; IL-6: Interleukin-6; IL-10: Interleukin-10; M: Mean; MDA: Malondialdehyde; SD: Standard Deviation; SOD: Superoxide dismutase; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; TNF-α: Tumor necrosis factor-α.

**Table 4. Cytokine levels and oxidative stress in relation to PTNs birth weight.**

Levels	< 2500g(n= 33)	≥ 2500g(n= 33)	*p
	M(SD)	M(SD)	
<b>TNF-α</b>	19.3 (1.6)	16.5 (0.5)	0.720
<b>IL-10</b>	14.9 (1.3)	16.4 (1.6)	0.934
<b>IL-6</b>	16.6 (3.9)	16.6 (4.1)	0.863
<b>TAC</b>	0.5 (0.2)	0.3 (0.0)	0.311
<b>SOD</b>	2.4 (0.1)	2.2 (0.2)	0.307
<b>GSH</b>	2.9 (0.1)	3.1 (0.1)	<b>0.012</b>
<b>TBARS/MDA</b>	37.0 (2.5)	41.1 (3.2)	0.320

\*Mann-Whitney Test; CAT: Catalase; GSH: Glutathione; IL-6: Interleukin-6; IL-10: Interleukin-10; M: Mean; MDA: Malondialdehyde; SD: Standard Deviation; SOD: Superoxide dismutase; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; TNF-α: Tumor necrosis factor-α.

## References

- [1] World Health Organization. Born Too Soon: The Global action report on preterm Birth. Geneva: World Health Organization; 2012 [cited 2022 Ago 5]. Available from:  
[http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44864/9789241503433\\_eng.pdf;jsessionid=3C49CE9E855CB64DBA80FE692A3CB2F4?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44864/9789241503433_eng.pdf;jsessionid=3C49CE9E855CB64DBA80FE692A3CB2F4?sequence=1)
- [2] World Health Organization. Preterm birth – 19 February 2018 [Internet]. World Health Organization; 2018 [cited 2022 Ago 5]. Available from:  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>
- [3] World Health Organization. Newborn Mortality. 28 January 2022 [Internet]. World Health Organization; 2018 [cited 2022 Ago 5]. Available from:  
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/levels-and-trends-in-child-mortality-report-2021>
- [4] Lembo C, Buonocore G, Perrone S. Oxidative Stress in Preterm Newborns. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(11):1672. doi: 10.3390/antiox10111672.
- [5] Lemola S. Long-term outcomes of very preterm birth: Mechanisms and interventions. *European Psychologist*. 2015;20:128-137. doi:10.1027/1016-9040/a000207.
- [6] Campos JO, da Silva AM, de Santana MS, de Oliveira TLPS, Rocha CSA, da Silva AR, et al. Assessment of nutritional status of preterm newborns in the neonatal intensive care unit. *Braz. J. of Develop.* 2020;6(10):80007-80028. doi:10.34117/bjdv6n10-432
- [7] Crump C. Preterm birth and mortality in adulthood: a systematic review. *J Perinatol*. 2020;40(6):833-843. doi: 10.1038/s41372-019-0563-y.
- [8] Guedes RRL, Soares JMA, Pinheiro MB, Fontes JS. Profile of prematurity and neonatal weight adequacy in maternity of Minas Gerais and parallel with medical literature. *Residência Pediátrica. Sociedade Brasileira de Pediatria*. 2022. doi: 10.25060/residpediatr-2022.v12n1-265
- [9] Tenório MCS, Tenório MB, Ferreira RC, Mello CS, De Oliveira ACM. Prevalence of small for gestational age newborns and associated factors in a Brazilian Northeast capital. *Rev. Bras. Saúde Mater. Infant*. 2018;18:3. doi: 10.1590/1806-93042018000300006
- [10] Dembinski J, Behrendt D, Martini R, Heep A, Bartmann P. Modulation of pro-and anti-inflammatory cytokine production in very preterm infants. *Cytokine*. 2003;21(4):200–206. doi: 10.1016/s1043-4666(02)00498-2.
- [11] Guimarães EAA, Vieira CS, Nunes FDD, Januário GC, de Oliveira VC, Tibúrcio JD. Prematurity and associated factors in Divinópolis, Minas Gerais state, Brazil, 2008-2011: analysis of the Information System on Live Births. *Epidemiol. Serv. Saude*. 2017;26(1):91-98. doi: 10.5123/S1679-49742017000100010

- [12] Mutinati M, Pantaleo M, Roncetti M, Piccinno M, Rizzo A, Sciorsci RL. Oxidative Stress in Neonatology. A Review. *Reprod Dom Anim.* 2014;49:7-16. doi: 10.1111/rda.12230
- [13] Trindade CEP, Rugolo LMSS. Free Radicals and Neonatal Diseases. *Neoreviews.* 2007;8(12):e522–e532. doi: 10.1542/neo.8-12-e522
- [14] Lyon D, Cheng CY, Howland L, Rattican D, Jallo N, Pickler R, et al. Integrated review of cytokines in maternal, cord, and newborn blood: part I--- associations with preterm birth. *Biological Research for Nursing.* 2010;11(4):371–376. doi: 10.1177/1099800409344620
- [15] Wang M, Luo C, Shi Z, Cheng X, Lei M, Cao W, et al. The Relationship Between Cord Blood Cytokine Levels and Perinatal Characteristics and Bronchopulmonary Dysplasia: A Case-Control Study. *Front Pediatr.* 2022; 7;10:807932. doi: 10.3389/fped.2022.807932
- [16] Takahashi N, Uehara R, Kobayashi M, Yada Y, Koike Y, Kawamata R, et al. Cytokine profiles of seventeen cytokines, growth factors and chemokines in cord blood and its relation to perinatal clinical findings. *Cytokine.* 2010;49(3):331–337. doi: 10.1016/j.cyto.2009.11.024
- [17] Fenton TR, KIM JH. A systematic review and meta-analysis to revise the fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatrics.* 2013;20:13-59. doi: 10.1186/1471-2431-13-59
- [18] Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 1990;186:407-421. doi: 10.1016/0076-6879(90)86134-h
- [19] Aebi, H. Catalase in vitro. *Oxygen Radicals in Biological Systems.* 1984;121–126. doi:10.1016/s0076-6879(84)05016-3
- [20] Marklund S, Marklund G. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. *Eur. J. Biochem.* 1974;47:469-474. doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x
- [21] Ministério Da Saúde (BR). Resolução N°466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Conselho Nacional de Saúde. [cited 2022 Agu 5]. Available from: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466\\_12\\_12\\_2012.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html)
- [22] Lindner U, Tutdibi E, Binot S, Monz D, Hilgendorff A, Gortner L. Levels of cytokines in umbilical cord blood in small for gestational age preterm infants. *Klin Padiatr.* 2013;225(2):70-74. doi: 10.1055/s-0033-1334879
- [23] Anderson J, Thang CM, Thanh LQ, Dai VTT, Phan VT, Nhu BTH, et al. Immune Profiling of Cord Blood From Preterm and Term Infants Reveals

- Distinct Differences in Pro-Inflammatory Responses. *Front Immunol.* 2021;1;12:777927. doi: 10.3389/fimmu.2021.777927
- [24] Bartkevičienė D, Pilypienė I, Serapinas D, Vaigauskaitė B, Vankevičiūtė RA, Bartkevičiūtė A, et al. Umbilical Blood Levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  as Predictors of the Central Nervous System Damage and Retinopathy in Preterm Infants. *Am J Perinatol.* 2021;38(10):1036-1041. doi: 10.1055/s-0040-1701508
- [25] Blanco-Quirós B, Arranz E, Solis G, Garrote JA, Mayo A. High cord blood IL-10 levels in preterm newborns with respiratory distress syndrome. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2004;32(4):189-96. doi: 10.1016/s0301-0546(04)79238-1
- [26] Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Hyun Yoon B, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179(1):194-202. doi: 10.1016/S0002-9378(98)70272-8
- [27] Moore TA, Ahmad IM, Zimmerman MC. Oxidative Stress and Preterm Birth: An Integrative Review. *Biol Res Nurs.* 2018;20(5):497-512. doi: 10.1177/1099800418791028
- [28] Pajai SS, Bezalwar AP. Oxidative Stress in Preterm Neonates: An Analysis of Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Profiles. *J Clin Diagn Res.* 2020;14(12):CC01-CC03. doi:10.7860/JCDR/2020/45902.14388
- [29] Ghany EAGA, Elhamed WAA, Ali AA, Youness ER, Hussein JS. Anti-oxidant profiles and markers of oxidative stress in preterm neonates. *Paediatr Int Child Health.* 2016;36(2):134-140. doi:10.1179/2046905515Y.0000000017
- [30] Coutinho FG, Diniz EMA, Kandler Ingrid, Cianciarullo MA, Santos NR. Assessment of oxidative damage and enzymatic antioxidant system activity on the umbilical cord blood and saliva from preterm newborns with risk factors for early-onset neonatal sepsis. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2018;64(10):888-895. doi:10.1590/1806-9282.64.10.888
- [31] Giuffrè M, Rizzob, Scaturroa G, Pitruzzella A, Gammazzac AM, Cappello F, et al. Oxidative stress markers at birth: Analyses of a neonatal population. *Acta Histochem.* 2015;117(4-5):486-491. doi:10.1016/j.acthis.2015.01.007
- [32] Marrazzo G, Barbagallo I, Galvano F, Malaguarnera M, Gazzolo D, Frigiola A, et al. Role of dietary and endogenous antioxidants in diabetes. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54(12):1599-616. doi:10.1080/10408398.2011.644874
- [33] Otsubo Y, Hashimoto K, Kanbe T, Sumi M, Moriuchi H et al. Association of cord blood chemokines and other biomarkers with neonatal complications following intrauterine inflammation. *PLoS ONE.* 2017;12(5):e0175082. doi:10.1371/journal.pone.0175082
- [34] Blanco-Quirós A, Arranz E, Solis G, Villar A, Ramos A, Coto D. Cord blood interleukin-10 levels are increased in preterm newborns. *European Journal of Pediatrics.* 2000;159(6):420–423. doi: 10.1007/s004310051299

[35] Valerio TA, Cancelier AC, Constantino L, Petronilho F, Ritter C, Dal-Pizzol F. Inflammatory and oxidative cord blood parameters as predictors of neonatal sepsis severity. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2012; 24(1):30-34. doi: 10.1590/S0103-507X2012000100005

## CONCLUSÃO

Concluimos que o grau de prematuridade e peso ao nascer tiveram influência na atividade antioxidante. A análise dos grupos nos mostrou menores níveis da enzima antioxidante GSH em recém-nascidos muito prematuros (< 32 semanas) e com baixo peso ao nascer (< 2500g) comparados a RNPT moderados e tardios e com peso  $\geq$  2500g. Tais achados podem sugerir um potencial risco à ação do estresse oxidativo nesta população mais vulnerável pela prematuridade. Porém, mais estudos são necessários para investigar e compreender o perfil de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em RNPT em relação ao valor diagnóstico e prognóstico nas doenças neonatais, possibilitando a maior aplicabilidade na prática clínica.

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nome completo do paciente menor: \_\_\_\_\_

Nome completo do responsável legal: \_\_\_\_\_

Endereço do responsável legal: \_\_\_\_\_

Telefone do responsável legal: \_\_\_\_\_

**Este termo está sendo disponibilizado em 2 vias originais, uma delas ficará com o participante da pesquisa e outra, com o pesquisador.**

**TÍTULO: “Avaliação Imunológica e Estresse Oxidativo em Pacientes Recém-Nascidos Prematuros em um Hospital de Referência no Sul do Brasil.”**

**PESQUISADORES:** Renan Augusto Pereira, Versiéri Oliveira de Almeida, Fernanda Marquezzoti, Jorge Milton Neumann, Mauricio Obal Colvero, Pâmela Portela, Sérgio Luis Amantéa.

**INTRODUÇÃO E OBJETIVO DO ESTUDO:** Antes de aceitar a participar deste estudo é importante que você leia e entenda as explicações sobre o procedimento proposto. A participação do(da) seu(sua) filho(a) neste estudo se dará por ser um recém-nascido prematuro. Todos os dados que obtivermos com sua participação servirão para avaliarmos a imunidade (ou sistema de defesa) dos bebês recém-nascidos prematuros nascidos na Maternidade Mário Totta da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

**PROCEDIMENTO:** Assim que o(a) seu(sua) filho(a) nascer e a sua placenta for retirada, coletaremos 5 mL do sangue DA PLACENTA (mas que na verdade pertence ao bebê). Não precisaremos do sangue direto do (da) seu(sua) filho(a), por isso, nenhuma picada será necessária. Este sangue será enviado ao laboratório para medirmos os anticorpos e as células de defesa do(da) seu(sua) filho(a).

**RISCOS, DANOS E DESCONFORTOS:** Não haverá nenhum dano físico a você ou a seu filho. No caso de dúvidas, você deverá entrar em contato com o pesquisador Renan Augusto Pereira no telefone (51) 99650-8686 ou com o pesquisador Sérgio Luis Amantéa pelo telefone (51) 3303-8795. Você e seu filho não abrirão mão de seus direitos legais após você assinar este termo de consentimento. Se ocorrer qualquer problema ou dano pessoal, o Sr(a) terá direito à indenização determinada por lei. Caso seja necessário, o seu filho(a) terá assistência permanente durante o estudo, ou mesmo após o término ou interrupção do estudo.

**BENEFÍCIOS:** A sua participação no estudo poderá contribuir para o conhecimento médico sobre a imunidade desses bebês.

**MÉTODO ALTERNATIVO:** Existe a alternativa da não participação neste estudo e isso não interferirá no acompanhamento médico do paciente. Você poderá discutir com o médico assistente antes de permitir a realização do teste de contato.

**DESPESAS E COMPENSAÇÕES:** Você não receberá nenhuma compensação financeira relacionada à sua participação neste estudo. Da mesma forma, você não terá nenhuma despesa pessoal em qualquer fase do estudo. Durante o período de sua participação, se houver qualquer despesa adicional de sua parte, você será reembolsado(a).

**CONFIDENCIALIDADE:** Todas as informações obtidas a respeito de seu filho(a) neste estudo serão analisadas em conjunto com as de outros voluntários, não sendo divulgado a sua identificação ou de outros pacientes em nenhum momento. Você tem a garantia de que todos os dados obtidos a respeito de seu filho(a), assim como qualquer material coletado, só serão utilizados neste estudo.

**ACESSO AOS RESULTADOS:** A qualquer momento, se for de seu interesse, você e seu filho(a) poderão ter acesso a todas as informações obtidas neste estudo, ou a respeito dos resultados gerais do estudo. Quando o estudo for finalizado, você e seu filho(a) serão informados sobre os principais resultados e conclusões obtidas no estudo.

**DESLIGAMENTO / AFASTAMENTO:** A participação de seu filho(a) neste estudo é voluntária e a sua recusa em participar ou o seu desligamento do estudo não envolverá penalidades ou perda de benefícios aos quais seu filho(a) tem direito. Você poderá cessar a sua participação e a de seu filho a qualquer momento sem afetar seu acompanhamento médico em andamento.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “**Avaliação Imunológica e Estresse Oxidativo em Pacientes Recém-Nascidos Prematuros em um Hospital de Referência no Sul do Brasil**”. Eu discuti com o Dr. Renan Augusto Pereira sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço. Diante de alguma dúvida que venha surgir fui informado(a) que poderei esclarecê-la com o pesquisador Renan Augusto Pereira pelo telefone (51) 99650-8686 ou Sérgio Luis Amantéa pelo telefone (51) 3303-8795.

\_\_\_\_\_  
Nome e assinatura do representante legal da criança

\_\_\_\_\_  
Data

Eu, Sérgio Luis Amantéa, declaro que obtive de forma apropriada e voluntária, o Consentimentos Livre e Esclarecido deste paciente (ou representante legal) para a participação neste estudo. Declaro ainda que me comprometo a cumprir todos os termos aqui descritos.

\_\_\_\_\_  
Nome e assinatura do pesquisador

\_\_\_\_\_  
Data

A assinatura da testemunha só se fará necessária, se o paciente e ou o responsável legal for incapaz de ler e/ou fornecer consentimento por escrito.

Nome completo da Testemunha: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura da testemunha

\_\_\_\_\_  
Data

## APÊNDICE B – Questionário para coleta de dados



### APÊNDICE B - INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS

Data da entrevista: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Aferidor: \_\_\_\_\_ Nº do atendimento: \_\_\_\_\_

#### Dados de identificação da mãe

Nome da mãe: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Cidade onde reside: \_\_\_\_\_ ( ) Zona urbana ( ) Zona rural

#### Dados demográficos

1. Qual a sua raça/cor?

- a) Branco
- b) Preto
- c) Pardo
- d) Índio

2. Qual o seu estado civil?

- a) Solteira
- b) Casada
- c) Divorciada/Separada
- d) Outro: \_\_\_\_\_

3. Qual a sua escolaridade?

- a) Fundamental Incompleto
- b) Fundamental Completo
- c) Ensino Médio Incompleto
- d) Ensino Médio Completo
- e) Ensino Superior Completo
- f) Ensino Superior Incompleto

4. Qual a sua profissão?

\_\_\_\_\_

5. Qual o valor médio da renda mensal familiar?

- a) Nenhuma renda
- b) Até 1 salário mínimo (R\$ 1.100,00)
- c) De 1 a 3 salários mínimos (R\$ 1.101,00 a R\$ 3.300,00)
- d) De 3 a 6 salários mínimos (R\$ 3.301,00 a R\$ 6.600,00)
- e) Acima de 6 salários mínimos (R\$ 6.601,00)

6. Quantas pessoas dependem dessa renda (contando a criança)?

\_\_\_\_\_

#### Dados materno e obstétrico

7. Idade gestacional: \_\_\_\_\_ semanas / \_\_\_\_\_ dias 8. Gestação gemelar atual: a) Sim b) Não 9. Pré-natal: a) Sim b) Não

10. Nº de consultas: \_\_\_\_\_ 11. Nº de gestações: \_\_\_\_\_ 12. Nº de partos: \_\_\_\_\_ 13. Nº partos prematuros: \_\_\_\_\_

14. Nº de abortos \_\_\_\_\_ 15. Intervalo entre a última gestação: \_\_\_\_\_ meses 16. Peso pré-gestacional: \_\_\_\_\_

17. Aumento de peso durante a gestação: \_\_\_\_\_ 18. Estatura: \_\_\_\_\_

#### Complicações:

19. DHEG: ( ) Hipertensão na gestação ( ) Pré-Eclâmpsia ( ) Eclâmpsia 20. Diabetes gestacional: a) Sim b) Não

21. Infecções gênito-urinárias: a) Sim b) Não \*Se presentes, quais infecções e qual idade gestacional?

\_\_\_\_\_

22. Outras doenças maternas/ COVID-19 durante a gestação? Crises depressivas?

\_\_\_\_\_

23. Uso de cigarro durante a gestação: a) Sim ( ) ativa ( ) passiva b) Não 24. Uso de drogas: a) Sim b) Não

25. Consumo de álcool: a) Sim b) Não \*Se sim, por quanto tempo? \_\_\_\_\_

**Informações sobre o parto:**

26. Indução do parto: a) Sim b) Não    27. Tipo de parto: a) Normal b) Cesariana
28. Tipo de anestesia: a) Raquidiana b) Peridural c) Geral
29. Motivo do parto: \_\_\_\_\_
30. Ruptura prematura das membranas: a) Presente b) Ausente \*Se sim, quanto tempo antes do trabalho de parto: \_\_\_\_ horas
31. Deslocamento placentário: a) Presente b) Ausente    32. Infecção materna atual: a) Presente b) Ausente

**DADOS DO RECÉM-NASCIDO**

33. Nome da criança: \_\_\_\_\_ 34. Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
35. Hora do nascimento: \_\_\_\_:\_\_\_\_ 36. Sexo: a) Masculino b) Feminino 37. Peso de nascimento: \_\_\_\_\_g
38. Comprimento: \_\_\_\_\_cm 39. Perímetro cefálico: \_\_\_\_\_cm 40. Classificação: a) PIG b) AIG c) GIG
41. Apgar 1º min/5º min: \_\_\_\_/\_\_\_\_    OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_

**ANÁLISES LABORATORIAIS****LINFÓCITOS**

CD3:
CD4:
CD8:
CD19:
CD 16/56:

**IMONUGLOBULINAS**

IgA:
IgM:
IgG:
IgG1:
IgG2:
IgG3:
IgG4:

**ESTRESSE OXIDATIVO**

Catalase:
Superóxido Dismutase:
Glutaciona Peroxidase:
Malondialdeído:
Capacidade Antioxidante Total:

TNF $\alpha$ :
----------------

## ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética

HOSPITAL DA CRIANÇA  
SANTO ANTÔNIO



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Avaliação Imunológica e Estresse Oxidativo em Pacientes Recém-Nascidos Prematuros em um Hospital de Referência no Sul do Brasil

**Pesquisador:** Sérgio Luís Amantéa

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 20296919.9.0000.5683

**Instituição Proponente:** Hospital da Criança Santo Antônio - Santa Casa/RS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.495.064

#### Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto" foram obtidas dos documentos Informações Básicas da Pesquisa (16/12/20.PDF) e do Projeto Detalhado submetido.

Pacientes recém-nascidos pré-termo estão mais suscetíveis a infecções no período neonatal, devido a vários fatores intrínsecos e extrínsecos. Dentre estes fatores, a imaturidade do sistema imunológico neonatal e o estresse oxidativo são variáveis importantes, porém pouco estudadas neste grupo de pacientes. O presente trabalho tem como objetivo caracterização do perfil imunológico celular e humoral de pacientes nascidos prematuros, e sua possível relação com marcadores de estresse oxidativo e fatores pré e perinatais. Consiste em estudo de custeio próprio, e desenho transversal, analítico e unicêntrico, com 50 crianças divididas em dois grupos: maiores de 28 semanas e menores de 28 semanas de idade gestacional, nascidas entre dezembro de 2019 a dezembro de 2020 em uma maternidade de alto risco do sul do Brasil.

#### Objetivo da Pesquisa:

As informações contidas nos campos "Objetivo da Pesquisa" foram obtidas dos documentos Informações Básicas da Pesquisa (16/12/20PDF) e do Projeto Detalhado submetido.

**Objetivo Primário:**

Descrever o perfil imunológico de pacientes recém-nascidos prematuros nascidos na Maternidade Mário Totta da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

**Endereço:** Av. Independência,155

**Bairro:** INDEPENDENCIA

**CEP:** 90.035-074

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3214-8997

**Fax:** (51)3214-8997

**E-mail:** cephcsa@santacasa.tche.br

HOSPITAL DA CRIANÇA  
SANTO ANTÔNIO



Continuação do Parecer: 4.495.064

**Objetivo Secundário:**

Comparar a imunidade humoral e celular de pacientes prematuros com idade gestacional menor que 28 semanas (prematuros extremos) com pacientes prematuros com mais de 28 semanas. Avaliar possível associação entre variáveis gestacionais e perinatais maternas e do RN com o número de imunoglobulinas e linfócitos de RNPT. Avaliar se há correlação entre marcadores de estresse oxidativo e níveis de imunoglobulinas e contagem de linfócitos em RNPT. Avaliar a relação entre dosagem de Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF-alfa) e as demais variáveis do estudo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

As informações contidas nos campos "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos Informações Básicas da Pesquisa (16/12/20.PDF) e do Projeto Detalhado submetido.

**Riscos:**

Como a coleta será de sangue de cordão (placenta), não haverá danos ou riscos físicos ao bebê ou à Mãe.

**Benefícios:**

O estudo poderá contribuir para o conhecimento médico sobre a imunidade dos prematuros, e entender fatores que estão associados a esta questão.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

As informações contidas nos Documento inserido.

"Declaro, em nome de todos os pesquisadores envolvidos, que optamos por ADICIONAR às variáveis do projeto a dosagem de Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF-alfa). O TNF-alfa é um sensível marcador de inflamação. Queremos, adicionalmente aos objetivos iniciais já citados, avaliar se bebês prematuros extremos tem maior perfil inflamatório do que bebês prematuros tardios.

Para isso, adquirimos o kit TNF-Alpha Human Elisa Kit (Thermofisher) para análise das amostras e obtenção dos níveis de TNF-alfa. O kit foi providenciado por custeio próprio dos pesquisadores e já foi atualizado no orçamento, também anexo.

Declaramos também que não será necessária retirada de sangue adicional do cordão do RN. Toda a amostra que precisamos para analisar esta variável adicional pode ser retirada dos frascos já coletados. Também declaramos que, devido à situação atual de pandemia, obtivemos apenas neste

**Endereço:** Av. Independência,155  
**Bairro:** INDEPENDENCIA **CEP:** 90.035-074  
**UF:** RS **Município:** PORTO ALEGRE  
**Telefone:** (51)3214-8997 **Fax:** (51)3214-8997 **E-mail:** cephcsa@santacasa.tche.br

## HOSPITAL DA CRIANÇA SANTO ANTÔNIO



Continuação do Parecer: 4.495.064

momento a autorização do CTBio para realizar as atividades de Pesquisa não relacionada à COVID-19 no Prédio 3 da UFCSPA. Por isso, todo o cronograma foi modificado a fim de atender aos prazos exigidos."

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos de apresentação obrigatória apresentados e adequados

**Recomendações:**

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Emenda Aprovada.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1671666_E1.pdf	16/12/2020 22:37:22		Aceito
Outros	Edicao_projeto.pdf	16/12/2020 22:35:34	Renan Augusto Pereira	Aceito
Orçamento	Orcamento.docx	16/12/2020 22:25:54	Renan Augusto Pereira	Aceito
Brochura Pesquisa	Brochura_da_Pesquisa.docx	16/12/2020 22:23:50	Renan Augusto Pereira	Aceito
Parecer Anterior	Carta_Resposta_parecer.docx	06/11/2019 22:46:34	Renan Augusto Pereira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Brochura_do_Pesquisador.docx	06/11/2019 22:45:28	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	Carta_Resposta_parecer.pdf	06/11/2019 22:39:55	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	Form_insc.pdf	03/10/2019 00:36:25	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	Decl_utiliz_dados.pdf	03/10/2019 00:36:07	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	Decl_Riscos_Benef.pdf	03/10/2019 00:35:42	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	Form_Isenc.pdf	03/10/2019 00:35:17	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	Decl_Confid_suj.pdf	03/10/2019 00:34:59	Renan Augusto Pereira	Aceito

**Endereço:** Av. Independência,155

**Bairro:** INDEPENDENCIA

**CEP:** 90.035-074

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3214-8997

**Fax:** (51)3214-8997

**E-mail:** cephcsa@santacasa.tche.br

HOSPITAL DA CRIANÇA  
SANTO ANTÔNIO



Continuação do Parecer: 4.495.064

Outros	Form_Obtencao_TCLE.pdf	03/10/2019 00:34:28	Renan Augusto Pereira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	03/10/2019 00:16:26	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	TERmo_Anuencia.pdf	03/09/2019 11:25:26	Renan Augusto Pereira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Isencao_Onus.pdf	02/09/2019 14:29:17	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	Formulario_Obtencao_TCLE.pdf	02/09/2019 14:28:18	Renan Augusto Pereira	Aceito
Outros	Resumo.docx	02/09/2019 14:27:44	Renan Augusto Pereira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Utilizacao_dados.pdf	02/09/2019 14:26:52	Renan Augusto Pereira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Confidencialidade_sujeito.pdf	02/09/2019 14:26:39	Renan Augusto Pereira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Riscos_beneficios.pdf	02/09/2019 14:26:19	Renan Augusto Pereira	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Compromisso_Dados_Material_biologico.pdf	02/09/2019 14:26:04	Renan Augusto Pereira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Formulario_Inscricao.pdf	02/09/2019 14:25:47	Renan Augusto Pereira	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	02/09/2019 14:25:18	Renan Augusto Pereira	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	02/09/2019 14:24:23	Renan Augusto Pereira	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PORTO ALEGRE, 11 de Janeiro de 2021

Assinado por:  
**RENAN CAVALHEIRO LANGIE**  
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Independência, 155

Bairro: INDEPENDENCIA

CEP: 90.035-074

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8997

Fax: (51)3214-8997

E-mail: cephcsa@santacasa.tche.br

## ANEXO B – Normas da Revista – Artigo 1

### NORMAS JORNAL DE PEDIATRIA



## JORNAL DE PEDIATRIA

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Pediatria

### GUIA PARA AUTORES

#### TABLE OF CONTENTS

- Descrição p.1
- Fator de Impacto p.1
- Fontes de Indexação p.1
- Comitê Editorial p.1
- Guia para autores p.3



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 2018

#### 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 Científica (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.

##### *Editores Associados*

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

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

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

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

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

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

**Marco Aurélio Palazzi Sáfiadi** – Professor Associado, Departamento de Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, Brasil

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

### **Conselho Editorial**

- **Eduardo Bancalari** - Miami, EUA
- **Marco A. Barbieri** - Ribeirão Preto, Brasil
- **Fernando C. Barros** - Montevideú, Uruguai
- **Andrea Biondi** - Monza, Itália
- **Andrew Bush** - Londres, Inglaterra
- **Jaderson C. da Costa** - Porto Alegre, Brasil
- **Richard N. Fine** - Nova Iorque, EUA
- **Ruth Guinsburg** - São Paulo, Brasil
- **Alan H. Jobe** - Cincinnati, EUA
- **Jacques Lacroix** - Montreal, Canadá
- **Francisco E. Martinez** - Ribeirão Preto, Brasil
- **Jean-Christophe Mercier** - Paris, França
- **Marisa M. Mussi-Pinhata** - Ribeirão Preto, Brasil
- **Francisco J. Penna** - Belo Horizonte, Brasil
- **Richard A. Polin** - Nova Iorque, EUA
- **Nelson A. Rosário** - Curitiba, Brasil
- **Adrian Sandler** - Asheville, EUA
- **Clemax C. Sant'Anna** - Rio de Janeiro, Brasil
- **Shlomo Shinnar** - Nova Iorque, EUA
- **Themis R. da Silveira** - Porto Alegre, Brasil
- **Augusto Sola** - Morristown, EUA
- **Robert C. Tasker** - Cambridge, Inglaterra
- **Ann E. Thompson** - Pittsburgh, EUA
- **T. Michael O'Shea** - Winston-Salem, USA
- **Luiz G. Tone** - Ribeirão Preto, Brasil
- **Yvan Vandenplas** - Bruxelas, Bélgica
- **John O. Warner** - Londres, Inglaterra

### **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 tabelas) 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**

A partir de 9 de dezembro de 2019, os trabalhos devem ser enviados em inglês, pois serão publicados apenas em inglês (html e pdf). A grama adotada é a do inglês americano.

### **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.

### **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 Publishing Campus***

O Elsevier Publishing Campus ([www.publishingcampus.com](http://www.publishingcampus.com)) é uma plataforma online que oferece palestras gratuitas, treinamento interativo e conselhos profissionais para apoiá-lo na publicação de sua pesquisa. A seção College of Skills oferece módulos sobre como preparar, escrever e estruturar seu artigo e explica como os editores analisarão o seu artigo quando ele for submetido para publicação. Use esses recursos para garantir que sua publicação seja a melhor possível.

### ***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 <https://www.editorialmanager.com/jpediatria>.

## 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, subscrito, 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 fornece 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 (por exemplo, Science Direct e outros sites).

### *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 entre colchetes. 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>

#### **Paper presentation**

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

#### *Fonte de abreviações da Revista*

Os nomes das Revistas devem ser abreviados de acordo com a Lista de Abreviações de Palavras do Título.

#### **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 atribuído 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.

[www.elsevier.com/locate/jped](http://www.elsevier.com/locate/jped)

## ANEXO C – Carta de aceite de publicação – Artigo 1

---

### Decision on submission to Jornal de Pediatria - JPEDIATRIA-D-21-00272R1

2 mensagens

Jornal de Pediatria <em@editorialmanager.com>  
Responder a: Jornal de Pediatria <assessoria@jped.com.br>  
Para: Versiéri Oliveira de Almeida <versieri.almeida@iffarroupilha.edu.br>

29 de novembro de 2021 16:52

Manuscript Number: JPEDIATRIA-D-21-00272R1  
Neonatal diseases and oxidative stress in premature infants: an integrative review

Prezada Sra. Versiéri Oliveira de Almeida,

Informamos com satisfação que seu artigo foi aceito para publicação e está programado para a edição nº 6 (Nov/Dez), ano de 2022, Volume 98 do Jornal de Pediatria. Essa programação ainda pode ser alterada de acordo com a necessidade da Editora, entretanto, o artigo será publicado "no prelo" bem antes desta data. Seguem abaixo algumas informações finais:

- Este é um bom momento para que os autores revisem as informações constantes na página de rosto, para evitar erros.

-Solicitamos aos autores enviarem o Termo de Cessão de Direitos, anexo, assinado (e escaneado) por um dos autores para [jped@jped.com.br](mailto:jped@jped.com.br) até o dia **29/12**.

-O artigo ainda passará por diversas revisões de formato, linguagem e tradução. Talvez ainda seja necessário pedir algumas informações aos autores, por isso pedimos manter seu e-mail atualizado, também para o envio das provas em PDF, posteriormente.

#### -TAXA DE PUBLICAÇÃO

Os artigos submetidos, se aceitos para publicação no Jornal de Pediatria, estão sujeitos a uma taxa para que tenham sua publicação garantida. Para o pagamento da taxa, acesse [www.jpedpaypal.com.br](http://www.jpedpaypal.com.br). Ao submeterem o manuscrito a este jornal, os autores concordam com esses termos.

Valores:

Há desconto na taxa se um dos autores for associado quite com a Sociedade Brasileira de Pediatria.

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.

-Prazo: O artigo aceito somente será publicado após a comprovação do pagamento da taxa de publicação. Após serem informados do aceite na revista, os autores devem enviar o comprovante de pagamento e os dados do pagador (nome, CPF e endereço) para [jped@jped.com.br](mailto:jped@jped.com.br) até 30 dias do envio desta mensagem (**29/12**). A partir da nossa confirmação, o artigo é enviado para editoração e publicação

-NF: Para a emissão da NF, informe o nome completo, endereço, e-mail e CPF do pagador. O pagamento realizado fora desse prazo pode acarretar uma mudança na programação para a edição seguinte, se houver outros artigos aceitos para publicação com o pagamento regularizado. Para mais informações e outras possibilidades de formas de pagamento, entre em contato conosco.

Agradecemos a submissão de seu artigo ao Jornal de Pediatria.

Atenciosamente,

Maria de Fátima Machado  
Assessora Editorial

## ANEXO D – Normas da Revista – Artigo 2

### Guide to Authors

The *Journal of Perinatology* and Springer Nature are pleased to share detailed online [Author Tutorials](#) - including interactive quizzes - which cover the following topics:

- Writing a journal manuscript
- Submitting a journal and peer review
- Writing in English
- Open Access

You can also watch a brief video giving an overview of the tutorials [here](#).

### Article Type Specifications

**Article:** Generally, the Journal only considers original research materials that are directly relevant to clinical practice. Any text beyond the limit can be published as online-only supplementary material if you feel that it is necessary (see instructions below on supplementary material)  
*Specifications: Structured abstract, max. 150 words; main body of text (including abstract, tables/figures, and references) not to exceed 25 pages; max. 5 tables or figures; max. 50 references.*

**Quality Improvement:** Authors are strongly encouraged to follow the [SQUIRE framework](#) for these articles

*Specifications: Please consult the [SQUIRE guidelines](#) for abstracts; main body of text (including abstract, tables/figures, and references) not to exceed 20 pages; max. 5 tables or figures; max. 50 references.*

**Review Article:** Reviews are intended to update readers on important subjects relevant to maternal-fetal and neonatal care. These articles are considered to be complete from the most recent major review in the literature. Review Articles are normally commissioned. Please contact the [editorial office](#) if you would like to discuss a presubmission enquiry.  
*Specifications: Abbreviated, unformatted abstract is preferred; main body of text (including abstract) not to exceed 4,500 words; liberal use of tables and figures is encouraged; max. 100 references.*

**Perspective:** Perspectives are shorter than reviews and provide an opinion-driven perspective on a particular research topic or field of interest to the JPER readership.

*Specifications: Unstructured abstract, max. 150 words; main body of text (tables/figures, and references) not to exceed 2,500 words; max. 2 tables or figures; max. 100 references.*

**Journal Club:** The Journal Club is a collaboration between the American Academy of Pediatrics Section of Neonatal-Perinatal Medicine (AAP SONPM), the International Society for Evidence-Based Neonatology (EBNEO), and the Journal of Perinatology. The Journal Club aims to: 1) provide education to trainees through both the content of the articles and the process of authoring the articles; 2) encourage trainees to critically evaluate the written literature; and 3) expose trainees to the process of authorship and review. Each Journal Club article is written by a trainee as first-author with at least one mentor as a senior author and highlights a practice-relevant study in neonatal-perinatal medicine published during the previous year.

*Specifications:* Articles consist of a formal description of the study, a short comment on the clinical implications of the study, and an Evidence-Based Medicine lesson. Examples may be found [here](#). Submissions to Journal Club require pre-approval. Please contact [Dr. Viral Jain](#) or [Dr. Matthew Rysavy](#) for additional information.

**Comment:** Comment articles are personal viewpoints and discussions of important topics of particular interest to perinatology. Comments cover basic science and clinical issues as well as those which bridge the gap between research and practice. These articles are normally commissioned. *Specifications: No abstract; main body of text (tables/figures, and references) not to exceed 1,000 words; max. 1 table; max. 10 references.*

**Correspondence:** These are brief comments on original research papers or other material published in the Journal within the last six months. These articles are subject to critical review and editorial policy. Original authors will have the opportunity to respond to the letter, should it be chosen for acceptance. *Specifications: No abstract; main body of text (tables/figures, and references) not to exceed 500 words; max. 1 table or figure; max. 5 references.*

**Brief Communication:** These reports are concise studies of high quality and broad interest and typically contain original data. Most surveys should be submitted in this article category. Brief Communications are subject to critical review and editorial policy. *Specifications: No abstract; main body of text (tables/figures, and references) not to exceed 750 words; max. 1 table or figure; max. 5 references.*

## **Preparation of Articles**

**House Style:** Authors should adhere to the following formatting guidelines

- Text should be double spaced with a wide margin.
- All pages and lines are to be numbered.
- Do not make rules thinner than 1pt (0.36mm).
- Use a coarse hatching pattern rather than shading for tints in graphs.
- Colour should be distinct when being used as an identifying tool.
- Spaces, not commas should be used to separate thousands.
- At first mention of a manufacturer, the town (and state if USA) and country should be provided.
- Statistical methods: For normally distributed data, mean (SD) is the preferred summary statistic. Relative risks should be expressed as odds ratios with 95% confidence interval. To compare two methods for measuring a variable the method of Bland & Altman (1986, Lancet 1, 307–310) should be used; for this, calculation of P only is not appropriate.
- Units: Use metric units (SI units) as fully as possible. Preferably give measurements of energy in kiloJoules or MegaJoules with kilocalories in parentheses (1 kcal = 4.186kJ). Use % throughout.
- Abbreviations: On first using an abbreviation place it in parentheses after the full item. Very common abbreviations such as FFA, RNA, need not be defined. Note these abbreviations: gram g; litre l; milligram mg; kilogram kg; kilojoule kJ; megajoule MJ; weight wt; seconds s; minutes min; hours h. Do not add 's' for plural units. Terms used less than four times should not be abbreviated.

**Cover Letter:** Authors should provide a cover letter that includes the affiliation and contact information for the corresponding author. Authors should briefly discuss the importance of the work and explain why it is considered appropriate for the diverse readership of the journal. The cover letter should confirm the material is original research, has not been previously published and has not been submitted for publication elsewhere while under consideration. If the manuscript has been previously considered for publication in another journal, please include the previous reviewer comments, to help expedite the decision by the Editorial team. Please also include a Competing Interests statement - see [Editorial Policies](#) for more details.

**Title Page:** The title page should contain:

- Title of the paper - brief, informative, of 150 characters or less and should not make a statement or conclusion
- Running title – should convey the essential message of the paper in no more than 50 characters. Should not contain any abbreviations
- Full names of all the authors and their affiliations, together with e-mail address of the corresponding author. If authors regard it as essential to indicate that two or more co-authors are equal in status, they may be identified by an asterisk symbol with the caption 'These authors contributed equally to this work' immediately under the address list.

**Abstract:** A structured abstract is required for original articles, and an abbreviated unformatted abstract is preferred for Review articles. For clinical

trials, the abstract should also include details of where and when the trial was registered, and the Clinical Trial Number.

Structured abstracts should use the following headings: Objective - reflecting the purpose of the study or the hypothesis that is being tested; Study Design - the setting for the study, the subjects (number and type), the treatment or intervention, and the type of statistical analysis; Result - include the outcome of the study and statistical significance, if appropriate; Conclusion - state the significance of the results.

**Introduction:** The Introduction should assume that the reader is knowledgeable in the field and should therefore be as brief as possible but can include a short historical review where desirable.

**Materials/Subjects and Methods:** This section should contain sufficient detail, so that all experimental procedures can be reproduced, and include references. Methods, however, that have been published in detail elsewhere should not be described in detail. Authors should provide the name of the manufacturer and their location for any specifically named medical equipment and instruments, and all drugs should be identified by their pharmaceutical names, and by their trade name if relevant.

**Results:** The Results section should briefly present the experimental data in text, tables or figures. Tables and figures should not be described extensively in the text.

**Discussion:** The Discussion should focus on the interpretation and the significance of the findings with concise objective comments that describe their relation to other work in the area. It should not repeat information in the results. The final paragraph should highlight the main conclusion(s), and provide some indication of the direction future research should take.

**Additional Information:** Details of the additional information that should be included are as follows:

**Conflict of Interest:** Authors must declare whether or not there are any competing financial interests in relation to the work described. This information must be included at this stage and will be published as part of the paper, but should also be noted in the cover letter. Please see the Competing Interests definition in the [Editorial Policies](#) section for detailed information.

*Ethics approval and consent to participate:* Manuscripts reporting studies involving human participants, human data or human tissue must:

- Include a statement on ethics approval and consent (even where the need for approval was waived).

- Include the name of the ethics committee that approved the study and the committee's reference number if appropriate.
- Include a statement that the study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki.

*Consent for publication:* If your manuscript contains any individual person's data in any form (including individual details, images or videos), consent for publication must be obtained from that person, or in the case of children, their parent or legal guardian.

**Availability of Data and Materials:** We strongly encourage that all datasets on which the conclusions of the paper rely should be available to readers. We encourage authors to ensure that their datasets are either deposited in publicly available repositories (where available and appropriate) or presented in the main manuscript or additional supporting files whenever possible. Where one does not exist, the information must be made available to referees at submission and to readers promptly upon request. Any restrictions on material availability or other relevant information must be disclosed in the manuscript's Methods section and should include details of how materials and information may be obtained. Please see the journal's guidelines on Research Data policy [here](#).

*Funding:* The funding section is mandatory. Authors must declare sources of study funding including sponsorship (e.g. university, charity, commercial organization). If no funding was received, please also state this.

*Author Contributions:* Each author's contribution to the manuscript must be provided in general terms (e.g. 'AB designed the experiments and helped to write the manuscript'). To understand more about authorship definitions, please refer to the [ICMJE Authorship Guidelines](#).

**Acknowledgements:** These should be brief, and should include sources of support including sponsorship (e.g. university, charity, commercial organisation) and sources of material (e.g. novel drugs) not available commercially.

**References:** Only papers directly related to the article should be cited. Exhaustive lists should be avoided. References should follow the Vancouver format. In the text they should appear as numbers starting at one and at the end of the paper they should be listed (double-spaced) in numerical order corresponding to the order of citation in the text. Where a reference is to appear next to a number in the text, for example following an equation, chemical formula or biological acronym, citations should be written as (ref. X). Example "detectable levels of endogenous Bcl-2 (ref. 3), as confirmed by western blot".

All authors should be listed for papers with up to six authors; for papers with more than six authors, the first six only should be listed, followed by *et al.* Abbreviations for titles of medical periodicals should conform to those used in the latest edition of Index Medicus. The first and last page numbers for each reference should be

provided. Abstracts and letters must be identified as such. Papers in press may be included in the list of references.

Personal communications can be allocated a number and included in the list of references in the usual way or simply referred to in the text; the authors may choose which method to use. In either case authors must obtain permission from the individual concerned to quote his/her unpublished work. Please see the following for examples:

**Journal article, up to six authors et al: Martin JC, Bourgnoux P, Fignon A, Theret V, Antoine JM, Lamisse F et al. Dependence on human milk essential fatty acids on adipose stores during lactation. Am J Clin Nutr 1993; 58: 653–569.**

**Journal article, e-pub ahead of print: da Costa SP, van den Engel–Hoek L, Bos AF. Sucking and swallowing in infants and diagnostic tools. J Perinatol 2008; e-pub ahead of print 17 January 2008; doi:10.1038/sj.jp.7211924.**

**Journal article, in press: Brown N. Perinatal and newborn care in South Asia: priorities for action. Arch Dis Child (in press).**

**Complete book: Willett WC. Nutritional Epidemiology. Oxford University Press: New York, 1998.**

**Chapter in book: Blizzard RM, Bulatovic A. (1996). Syndromes of psychosocial short stature. In: Lipshitz F (ed). Pediatric Endocrinology. Marcel Dekker: New York, 1986, pp 213–276.**

**Abstract: Minck P. A synactive model of neonatal behavioral organization. Phys Occup Ther Pediatr 2002; 22(Suppl 1): 28 (abstract 456). Correspondence: Sehgal A, Ramsden A (2008). Treating hypotension in the preterm infant: when and with what: a critical and systematic review [letter]. J Perinatol 28, 167.**

**Correspondence: Sehgal A, Ramsden A (2008). Treating hypotension in the preterm infant: when and with what: a critical and systematic review [letter]. J Perinatol 28, 167.**

**Electronic Database online: U.S. National Library of Medicine, National Institutes of Health. PubMed [database]. National Center for Biotechnology Information: Bethesda, MD. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>**

**Software: IBM SPSS Statistics for Windows [software], Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp; Released 2017. <https://www.ibm.com/analytics/spss-statistics-software>**

**Tables:** These should be labelled sequentially and cited within the text. Each table should be presented on its own page, numbered and titled. Reference to table footnotes should be made by means of Arabic numerals. Tables should not duplicate the content of the text. They should consist of at least two columns; columns should always have headings. Authors should ensure that the data in the tables are consistent with those cited in the relevant places in the text, totals add up correctly, and percentages have been calculated correctly. Unlike figures or images, tables may be embedded into the word processing software if necessary, or supplied as separate electronic files.

**Figure Legends:** These should be brief and specific, and should appear on a separate manuscript page after the References section. Where the data is presented in a statistical format, N should be indicated and the type of error bars defined in the legend.

**Figures:** Figures and images should be labelled, sequentially numbered and cited in the text. Figure legends should be brief, specific and appear on a separate manuscript page after the References section. Refer to (and cite) figures specifically in the text of the paper. Figures should not be embedded within the text. If a table or figure has been published before, the authors must obtain written permission to reproduce the material in both print and electronic formats from the copyright owner and submit it with the manuscript. This follows for quotes, illustrations and other materials taken from previously published works not in the public domain. The original source should be cited in the figure caption or table footnote. Scale markers should be used in the image for electron micrographs, and indicate the type of stain used. Detailed guidelines for submitting artwork can be found by downloading the [Artwork Guidelines PDF](#).

**Graphs, Histograms and Statistics:** Plotting individual data points is preferred to just showing means, especially where  $N < 10$ . If error bars are shown, they must be described in the figure legend. Axes on graphs should extend to zero, except for log axes. Statistical analyses (including error bars and p values) should only be shown for independently repeated experiments, and must not be shown for replicates of a single experiment. The number of times an experiment was repeated (N) must be stated in the legend. **The use of three-dimensional histograms is strongly discouraged when the addition of the third dimension gives no extra information.**

**Supplementary Information:** Supplementary information is material directly relevant to the conclusion of an article that cannot be included in the printed version owing to space or format constraints. The article must be complete and self-explanatory without the Supplementary Information, which is posted on the journal's website and linked to the article. Supplementary Information may consist of data files, graphics, movies or extensive tables. Please see our [Artwork Guidelines](#) for information on accepted file types. Authors should submit supplementary information files in the FINAL format as they are not edited,

typeset or changed, and will appear online exactly as submitted. When submitting Supplementary Information, authors are required to:

- Include a text summary (no more than 50 words) to describe the contents of each file.
- Identify the types of files (file formats) submitted.

Please note: We do not allow the resupplying of Supplementary Information files for style reasons after a paper has been exported in production, unless there is a serious error that affects the science and, if by not replacing, it would lead to a formal correction once the paper has been published. In these cases we would make an exception and replace the file, however there are very few instances where a Supplementary Information file would be corrected post publication.

### **Subject**

Upon submission authors will be asked to select a series of subject terms relevant to the topic of their manuscript from our subject ontology. Providing these terms will ensure your article is more discoverable and will appear on appropriate subject specific pages on nature.com, in addition to the journal's own pages. Your article should be indexed with at least one, and up to four unique subject terms that describe the key subjects and concepts in your manuscript. [Click here](#) for help with this.

### **Ontology**

## ANEXO E – Carta de aceite de publicação – Artigo 2

De: [jperinatol@us.nature.com](mailto:jperinatol@us.nature.com)  
Data: 22 de setembro de 2022 10:23:47 BRT  
Para: [renanpereira\\_alergia@gmail.com](mailto:renanpereira_alergia@gmail.com)  
Assunto: Accepted manuscript 22-563-RR  
Responder A: [jperinatol@us.nature.com](mailto:jperinatol@us.nature.com)

Manuscript Number: 22-563-RR  
Title: Immunoglobulin G and subclasses placental transfer in fetuses and preterm newborns: a systematic review  
Author: Mr Pereira

Dear Mr Pereira,

I am very pleased to inform you that your above mentioned manuscript has now been officially accepted for publication in the *the Journal of Perinatology*. The files will be forwarded to our production team within the next few hours. For further queries, please contact the *the Journal of Perinatology's* production editor at [petra.meyenvomhagen@springer.com](mailto:petra.meyenvomhagen@springer.com)

You can now use a single sign-on for all your accounts, view the status of all your manuscript submissions and reviews, access usage statistics for your published articles and download a record of your refereeing activity for the Nature journals.

### Content Sharing

To assist our authors in disseminating their research swiftly and legally to the broader community, our ShareIt initiative provides you with the ability to generate a unique shareable link that will allow anyone to read the published article. If you plan to select an Open Access option for your paper, or where an individual can view content via a personal or institutional subscription, recipients of the link will also be able to download and print the PDF.

As soon as your article is published, you can generate your shareable link by entering the DOI of your article [here](#).

In addition, Springer Nature encourages all authors and reviewers to associate an Open Researcher and Contributor Identifier (ORCID) to their account. ORCID is a community-based initiative that provides an open, non-proprietary and transparent registry of unique identifiers to help disambiguate research contributions.

In order to extend the reach and impact of your published paper, we strongly encourage you to highlight your paper on social media and research-sharing networks. Please do Tweet about your paper and view our simple [tips](#) on how to highlight your paper.

We might distribute a press release, which may contain details of your work, to news organizations and to science journals worldwide before your paper is published. Your own institution or funding agency is free to prepare your own press release, but it must mention the embargo date to the *Journal of Perinatology*.

Please note that the *Journal of Perinatology* is a Transformative Journal (TJ). Authors may publish their research with us through the traditional subscription access route or make their paper immediately open access through payment of an article-processing charge (APC). Authors will not be required to make a final decision about access to their article until it has been accepted. [Find out more about Transformative Journals](#)

**Authors may need to take specific actions to achieve compliance with funder and institutional open access mandates.** If your research is supported by a funder that requires immediate open access (e.g. according to [Plan S principles](#)) then you should select the gold OA route, and we will direct you to the compliant route where possible. For authors selecting the subscription publication route, the journal's standard licensing terms will need to be accepted, including [self-archiving policies](#). Those licensing terms will supersede any other terms that the author or any third party may assert apply to any version of the manuscript.

Thank you for submitting your work to the *the Journal of Perinatology*.

Yours sincerely,

Patrick Gallagher  
Editor-in-Chief  
the Journal of Perinatology

This email has been sent through the Springer Nature Tracking System NY-610A-NPG&MTS

*Confidentiality Statement:*

*This e-mail is confidential and subject to copyright. Any unauthorised use or disclosure of its contents is prohibited. If you have received this email in error please notify our Manuscript Tracking System Helpdesk team at <http://platformsupport.nature.com>.*

*Details of the confidentiality and pre-publicity policy may be found here <http://www.nature.com/authors/policies/confidentiality.html>*

## ANEXO F – Normas da Revista – Artigo 3

# Paediatrics and International Child Health

## Instructions for authors

Thank you for choosing to submit your paper to us. These instructions will ensure we have everything required so your paper can move through peer review, production and publication smoothly. Please take the time to read and follow them as closely as possible, as doing so will ensure your paper matches the journal's requirements.

## AUTHOR SERVICES

Supporting Taylor & Francis authors

For general guidance on every stage of the publication process, please visit our Author Services website.

## EDITING SERVICES

Supporting Taylor & Francis authors

For editing support, including translation and language polishing, explore our Editing Services website

This title utilises format-free submission. Authors may submit their paper in any scholarly format or layout. References can be in any style or format, so long as a consistent scholarly citation format is applied. For more detail see the format-free submission section below.

### About the Journal

*Paediatrics and International Child Health* is an international, peer-reviewed journal publishing high-quality, original research. Please see the journal's Aims & Scope for information about its focus and peer-review policy.

Please note that this journal only publishes manuscripts in English.

*Paediatrics and International Child Health* accepts the following types of article: original articles.

### Open Access

You have the option to publish open access in this journal via our Open Select publishing program. Publishing open access means that your article will be free to access online immediately on publication, increasing the visibility, readership and impact of your research. Articles published Open Select with Taylor & Francis typically receive 32% more citations\* and over 6 times as many downloads\*\* compared to those that are not published Open Select.

Your research funder or your institution may require you to publish your article open access. Visit our Author Services website to find out more about open access policies and how you can comply with these.

You will be asked to pay an article publishing charge (APC) to make your article open access and this cost can often be covered by your institution or funder. Use our APC finder to view the APC for this journal.

Please visit our Author Services website or contact [openaccess@tandf.co.uk](mailto:openaccess@tandf.co.uk) if you would like more information about our Open Select Program.

\*Citations received up to Jan 31st 2020 for articles published in 2015-2019 in journals listed in Web of Science®.

\*\*Usage in 2017-2019 for articles published in 2015-2019.

### **Peer Review and Ethics**

Taylor & Francis is committed to peer-review integrity and upholding the highest standards of review. Once your paper has been assessed for suitability by the editor, it will then be double blind peer reviewed by independent, anonymous expert referees. Find out more about what to expect during peer review and read our guidance on publishing ethics.

### **Preparing Your Paper**

All authors submitting to medicine, biomedicine, health sciences, allied and public health journals should conform to the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, prepared by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).

### **Structure**

Your paper should be compiled in the following order: title page; abstract; keywords; main text introduction, materials and methods, results, discussion; acknowledgments; declaration of interest statement; references; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list).

### **Word Limits**

Please include a word count for your paper. There are no word limits for papers in this journal.

### **Format-Free Submission**

Authors may submit their paper in any scholarly format or layout. Manuscripts may be supplied as single or multiple files. These can be Word, rich text format (rtf), open document format (odt), or PDF files. Figures and tables can be placed within the text or submitted as separate documents. Figures should be of sufficient resolution to enable refereeing.

- There are no strict formatting requirements, but all manuscripts must contain the essential elements needed to evaluate a manuscript: abstract, author affiliation, figures, tables, funder information, and references. Further details may be requested upon acceptance.
- References can be in any style or format, so long as a consistent scholarly citation format is applied. Author name(s), journal or book title, article or chapter title, year of publication, volume and issue (where appropriate) and page numbers are essential. All bibliographic entries must contain a corresponding in-text citation. The addition of DOI (Digital Object Identifier) numbers is recommended but not essential.
- The journal reference style will be applied to the paper post-acceptance by Taylor & Francis.
- Spelling can be US or UK English so long as usage is consistent.

Note that, regardless of the file format of the original submission, an editable version of the article must be supplied at the revision stage.

### **Taylor & Francis Editing Services**

To help you improve your manuscript and prepare it for submission, Taylor & Francis provides a range of editing services. Choose from options such as English Language Editing, which will ensure that your article is free of spelling and grammar errors, Translation, and Artwork Preparation. For more information, including pricing, visit this website.

### **Checklist: What to Include**

1. **Author details.** Please ensure everyone meeting the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) [requirements for authorship](#) is included as an author of your paper. All authors of a manuscript should include their full name and affiliation on the cover page of the manuscript. Where available, please also include ORCiDs and social media handles (Facebook, Twitter or LinkedIn). One author will need to be identified as the corresponding author, with their email address normally displayed in the article PDF (depending on the journal) and the online article. Authors' affiliations are the affiliations where the research was conducted. If any of the named co-authors moves affiliation during the peer-review process, the new affiliation can be given as a footnote. Please note that no changes to affiliation can be made after your paper is accepted. [Read more on authorship](#).
2. Should contain a structured abstract of 250 words. A structured abstract should cover (in the following order): 'Background', 'Aim', 'Methods', 'Results', 'Conclusions' Read tips on writing your abstract (<http://authorservices.taylorandfrancis.com/abstracts-and-titles/>).
3. **Graphical abstract** (optional). This is an image to give readers a clear idea of the content of your article. It should be a maximum width of 525 pixels. If your image is narrower than 525 pixels, please place it on a white background 525 pixels wide to ensure the dimensions are maintained. Save the graphical abstract as a .jpg, .png, or .tiff. Please do not embed it in the manuscript file but save it as a separate file, labelled GraphicalAbstract1.
4. You can opt to include a **video abstract** with your article. [Find out how these can help your work reach a wider audience, and what to think about when filming](#).
5. Read [making your article more discoverable](#), including information on choosing a title and search engine optimization.
6. **Funding details.** Please supply all details required by your funding and grant-awarding bodies as follows:  
*For single agency grants*  
 This work was supported by the [Funding Agency] under Grant [number xxxx].  
*For multiple agency grants*  
 This work was supported by the [Funding Agency #1] under Grant [number xxxx]; [Funding Agency #2] under Grant [number xxxx]; and [Funding Agency #3] under Grant [number xxxx].
7. **Disclosure statement.** This is to acknowledge any financial interest or benefit that has arisen from the direct applications of your research. [Further guidance on what is a conflict of interest and how to disclose it](#).

8. **Biographical note.** Please supply a short biographical note for each author. This could be adapted from your departmental website or academic networking profile and should be relatively brief (e.g. no more than 200 words).
9. **Data availability statement.** If there is a data set associated with the paper, please provide information about where the data supporting the results or analyses presented in the paper can be found. Where applicable, this should include the hyperlink, DOI or other persistent identifier associated with the data set(s). [Templates](#) are also available to support authors.
10. **Data deposition.** If you choose to share or make the data underlying the study open, please deposit your data in a [recognized data repository](#) prior to or at the time of submission. You will be asked to provide the DOI, pre-preserved DOI, or other persistent identifier for the data set.
11. **Geolocation information.** Submitting a geolocation information section, as a separate paragraph before your acknowledgements, means we can index your paper's study area accurately in JournalMap's geographic literature database and make your article more discoverable to others. [More information](#).
12. **Supplemental online material.** Supplemental material can be a video, dataset, fileset, sound file or anything which supports (and is pertinent to) your paper. We publish supplemental material online via Figshare. Find out more about [supplemental material and how to submit it with your article](#).
13. **Figures.** Figures should be high quality (1200 dpi for line art, 600 dpi for grayscale and 300 dpi for colour, at the correct size). Figures should be supplied in one of our preferred file formats: EPS, PS, JPEG, TIFF, or Microsoft Word (DOC or DOCX) files are acceptable for figures that have been drawn in Word. For information relating to other file types, please consult our [Submission of electronic artwork](#) document.
14. **Tables.** Tables should present new information rather than duplicating what is in the text. Readers should be able to interpret the table without reference to the text. Please supply editable files.
15. **Equations.** If you are submitting your manuscript as a Word document, please ensure that equations are editable. More information about [mathematical symbols and equations](#).
16. **Units.** Please use [SI units](#) (non-italicized).

### Using Third-Party Material in your Paper

You must obtain the necessary permission to reuse third-party material in your article. The use of short extracts of text and some other types of material is usually permitted, on a limited basis, for the purposes of criticism and review without

securing formal permission. If you wish to include any material in your paper for which you do not hold copyright, and which is not covered by this informal agreement, you will need to obtain written permission from the copyright owner prior to submission. More information on requesting permission to reproduce work(s) under copyright.

#### **Disclosure Statement**

Please include a disclosure statement, using the subheading “Disclosure of interest.” If you have no interests to declare, please state this (suggested wording: The authors report no conflict of interest). For all NIH/Wellcome-funded papers, the grant number(s) must be included in the declaration of interest statement. Read more on declaring conflicts of interest.

#### **Clinical Trials Registry**

In order to be published in a Taylor & Francis journal, all clinical trials must have been registered in a public repository at the beginning of the research process (prior to patient enrolment). Trial registration numbers should be included in the abstract, with full details in the methods section. The registry should be publicly accessible (at no charge), open to all prospective registrants, and managed by a not-for-profit organization. For a list of registries that meet these requirements, please visit the WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP). The registration of all clinical trials facilitates the sharing of information among clinicians, researchers, and patients, enhances public confidence in research, and is in accordance with the ICMJE guidelines.

#### **Complying With Ethics of Experimentation**

Please ensure that all research reported in submitted papers has been conducted in an ethical and responsible manner, and is in full compliance with all relevant codes of experimentation and legislation. All papers which report in vivo experiments or clinical trials on humans or animals must include a written statement in the Methods section. This should explain that all work was conducted with the formal approval of the local human subject or animal care committees (institutional and national), and that clinical trials have been registered as legislation requires. Authors who do not have formal ethics review committees should include a statement that their study follows the principles of the Declaration of Helsinki.

#### **Consent**

All authors are required to follow the ICMJE requirements on privacy and informed consent from patients and study participants. Please confirm that any patient, service user, or participant (or that person’s parent or legal guardian) in any research, experiment, or clinical trial described in your paper has given written consent to the inclusion of material pertaining to themselves, that they acknowledge that they cannot be identified via the paper; and that you have fully anonymized them. Where someone is deceased, please ensure you have written consent from the family or estate. Authors may use this Patient Consent Form, which should be completed, saved, and sent to the journal if requested.

#### **Health and Safety**

Please confirm that all mandatory laboratory health and safety procedures have been complied with in the course of conducting any experimental work reported in your paper. Please ensure your paper contains all appropriate warnings on any hazards that may be involved in carrying out the experiments or procedures you have described, or that may be involved in instructions, materials, or formulae.

Please include all relevant safety precautions; and cite any accepted standard or code of practice. Authors working in animal science may find it useful to consult the International Association of Veterinary Editors' Consensus Author Guidelines on Animal Ethics and Welfare and Guidelines for the Treatment of Animals in Behavioural Research and Teaching. When a product has not yet been approved by an appropriate regulatory body for the use described in your paper, please specify this, or that the product is still investigational.

### **Submitting Your Paper**

This journal uses Taylor & Francis' Submission Portal to manage the submission process. The Submission Portal allows you to see your submissions across Taylor & Francis' journal portfolio in one place. To submit your manuscript please [click here](#).

If you are submitting in LaTeX, please convert the files to PDF beforehand (you will also need to upload your LaTeX source files with the PDF).

Please note that Paediatrics and International Child Health uses Crossref™ to screen papers for unoriginal material. By submitting your paper to Paediatrics and International Child Health you are agreeing to originality checks during the peer-review and production processes.

On acceptance, we recommend that you keep a copy of your Accepted Manuscript. Find out more about sharing your work.

### **Data Sharing Policy**

This journal applies the Taylor & Francis Basic Data Sharing Policy. Authors are encouraged to share or make open the data supporting the results or analyses presented in their paper where this does not violate the protection of human subjects or other valid privacy or security concerns.

Authors are encouraged to deposit the dataset(s) in a recognized data repository that can mint a persistent digital identifier, preferably a digital object identifier (DOI) and recognizes a long-term preservation plan. If you are uncertain about where to deposit your data, please see this information regarding repositories.

Authors are further encouraged to cite any data sets referenced in the article and provide a Data Availability Statement.

At the point of submission, you will be asked if there is a data set associated with the paper. If you reply yes, you will be asked to provide the DOI, pre-registered DOI, hyperlink, or other persistent identifier associated with the data set(s). If you have selected to provide a pre-registered DOI, please be prepared to share the reviewer URL associated with your data deposit, upon request by reviewers.

Where one or multiple data sets are associated with a manuscript, these are not formally peer reviewed as a part of the journal submission process. It is the author's responsibility to ensure the soundness of data. Any errors in the data rest solely with the producers of the data set(s).

### **Publication Charges**

There are no submission fees, publication fees or page charges for this journal. Colour figures will be reproduced in colour in your online article free of charge. If it is necessary for the figures to be reproduced in colour in the print version, a charge will apply.

Charges for colour figures in print are £300 per figure (\$400 US Dollars; \$500 Australian Dollars; €350). For more than 4 colour figures, figures 5 and above will be charged at £50 per figure (\$75 US Dollars; \$100 Australian Dollars; €65). Depending on your location, these charges may be subject to local taxes.

**Copyright Options**

Copyright allows you to protect your original material, and stop others from using your work without your permission. Taylor & Francis offers a number of different license and reuse options, including Creative Commons licenses when publishing open access. Read more on publishing agreements.

**Complying with Funding Agencies**

We will deposit all National Institutes of Health or Wellcome Trust-funded papers into PubMedCentral on behalf of authors, meeting the requirements of their respective open access policies. If this applies to you, please tell our production team when you receive your article proofs, so we can do this for you. Check funders' open access policy mandates here. Find out more about sharing your work.

**My Authored Works**

On publication, you will be able to view, download and check your article's metrics (downloads, citations and Altmetric data) via My Authored Works on Taylor & Francis Online. This is where you can access every article you have published with us, as well as your free eprints link, so you can quickly and easily share your work with friends and colleagues.

We are committed to promoting and increasing the visibility of your article. Here are some tips and ideas on how you can work with us to promote your research.

**Article Reprints**

You will be sent a link to order article reprints via your account in our production system. For enquiries about reprints, please contact the Taylor & Francis Author Services team at [reprints@tandf.co.uk](mailto:reprints@tandf.co.uk). You can also order print copies of the journal issue in which your article appears.

**Queries**

Should you have any queries, please visit our Author Services website or contact us here.

Updated 15-05-2020

**ANEXO G – Carta de Submissão – Artigo 3**

**Submission received for Paediatrics and International Child Health (Submission ID: 229968269)**

1 mensagem

[journalshelpdesk@taylorandfrancis.com](mailto:journalshelpdesk@taylorandfrancis.com) <[journalshelpdesk@taylorandfrancis.com](mailto:journalshelpdesk@taylorandfrancis.com)>  
Para: [versieri.almeida@iffarroupilha.edu.br](mailto:versieri.almeida@iffarroupilha.edu.br)

22 de outubro de 2022 20:50



Dear Versiéri de Almeida,

Thank you for your submission.

Submission ID	<b>229968269</b>
Manuscript Title	<b>Inflammatory markers and oxidative stress of umbilical cord blood in preterm newborns</b>
Journal	<b>Paediatrics and International Child Health</b>

You can check the progress of your submission, and make any requested revisions, on the Author Portal.

Thank you for submitting your work to our journal.  
If you have any queries, please get in touch with [journalshelpdesk@taylorandfrancis.com](mailto:journalshelpdesk@taylorandfrancis.com).

Kind Regards,  
*Paediatrics and International Child Health* Editorial Office