

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA

GABRIELLE MEIRELLES RODRIGUES

**CONSUMO DE *Euterpe oleracea* Mart. E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS
EM MULHERES DA ZONA RURAL DE SÃO LUÍS, MARANHÃO**

SÃO LUÍS

2017

GABRIELLE MEIRELLES RODRIGUES

**CONSUMO DE *Euterpe oleracea* Mart E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS
EM MULHERES DA ZONA RURAL DE SÃO LUÍS, MARANHÃO**

Artigo apresentado ao Curso de Graduação em
Medicina da Universidade Federal do Maranhão
como requisito para obtenção do grau de
Médico.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Desterro
Soares Brandão Nascimento

SÃO LUÍS

2017

Rodrigues, Gabrielle.

Consumo de *Euterpe oleracea* Mart. e prevenção de doenças crônicas em mulheres da zona rural de São Luís, Maranhão / Gabrielle Rodrigues – 2017.

50 f.

Orientador: Maria do Desterro Nascimento.

Curso de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, São Luís – MA, 2017.

1. Câncer. 2. Doenças. 3. Euterpe. 4. Prevenção. I. Nascimento, Maria do Desterro. II. Título

GABRIELLE MEIRELLES RODRIGUES

**CONSUMO DE *Euterpe oleracea* Mart. E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS
EM MULHERES DA ZONA RURAL DE SÃO LUÍS, MARANHÃO**

Artigo apresentado ao Curso de Graduação em
Medicina da Universidade Federal do Maranhão
para obtenção do grau de Médico.

Aprovado em: / /

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão (Orientadora)

Pós-doutora em Oncologia
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Geusa Felipa de Barros Bezerra

Doutora em Biotecnologia
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. José Eduardo Batista

Doutor em Medicina Tropical e Saúde Pública
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal

Doutora em Biologia Humana e Experimental
Universidade Federal do Maranhão

DEDICATÓRIA

A Deus, por abençoar cada passo dessa caminhada e dar forças para que chegasse até aqui.

Aos meus pais, Elaine e Valter, minha base, e para quem agradeço por todo amor, carinho, compreensão e apoio.

A meus avós, Gilberto (*in memoriam*) e Terezinha (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos por essa caminhada, abençoar meus dias e me dar coragem para alcançar as metas que almejei.

À Universidade Federal do Maranhão, instituição que me deu a oportunidade de alcançar a profissão que tanto quis e me deu oportunidades em vários aspectos para engrandecer meu conhecimento científico e pessoal.

Ao Curso de Medicina, onde aprendi tudo que irei aplicar em breve, mas também me deu oportunidades para conhecer novas pessoas, abrir minha mente sobre os mais diversos assuntos e dar a estrutura para que pudesse concluir minha graduação.

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento, por me orientar em tal trabalho, deixando-me ainda mais perto de alcançar meu objetivo: tornar-me médica. Além disso, exemplo de profissional e pesquisadora, sempre buscando novas informações para agregar a literatura nacional e internacional.

Aos componentes da banca examinadora, Prof. Dr. José Eduardo Batista, Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal e Profa. Dra. Geusa Felipa de Barros Bezerra, muito obrigada pela disponibilidade e pela contribuição que trarão ao presente trabalho, além de louvável e admirável dedicação à docência.

Às ligas das quais participei, em especial a Liga Acadêmica de Cirurgia Experimental do Maranhão, onde convivi com pessoas maravilhosas, tive oportunidade de participar de pesquisas e também de repassar meus conhecimentos para os tantos alunos que já passaram pelo nosso laboratório. Espero ter acrescentado a essa liga tanto quanto ela me acrescentou nesses anos.

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC – UFMA) e a Profa. Dra. Graça Maria de Castro Viana, pela oportunidade de realizar pesquisas e aumentar meus conhecimentos, além de agregar à comunidade científica do Maranhão.

À Pró-Reitoria de Extensão e ao Prof. Dr. João Nogueira Neto pela abordagem diferenciada a comunidade, tentando passar conhecimentos a mesma e esclarecer suas dúvidas.

A meus pais, Valter e Elaine, por seu amor incondicional não medindo esforços para que meus sonhos e de meus irmãos fossem alcançados. Mãe, a senhora é um exemplo na profissão médica por ser ética, competente e dedicada, mas é muito mais além disso: é uma

mulher forte que se afastou da família, construí com seu suor um trabalho e garantiu para mim e meus irmãos uma criação da qual não podemos reclamar, além de ser uma mãe companheira e amada. Pai, o senhor é exemplo de calma, de perseverança e de alegria com as pequenas coisas que a vida dá, muito obrigada por me ajudar a esclarecer minhas dúvidas e me fazer tomar a decisão de retornar ao Maranhão após tantos anos para alcançar meu sonho de ser médica, o senhor foi fundamental nessa trajetória e é em minha vida.

A meus irmãos, Carolline e Vinícius, que compartilham comigo o sonho de alcançar tão louvável profissão. Obrigada por estarem por perto mesmo com centenas de quilômetros de distância.

A todos meus familiares de Uberaba, minhas tias, meus tios e meus primos, que me apoiaram quando sai da casa dos meus pais ainda jovem em busca de um estudo mais qualificado, e demonstram tanto amor e carinho quando estamos em momentos juntos e mesmo distante. Em especial a meu Vovô Beta (*in memoriam*), infelizmente o senhor nos deixou quando ainda estava no primeiro período desse curso, mas tenho certeza que durante todo esse tempo estava ao lado de Deus abençoando minha vida e de toda nossa família.

Às minhas amigas de Uberaba, em especial a Natália Nunes, Fernanda, Natália Arduini, Monique e Juliana (prima-irmã), que nesses 6 anos mantiveram nosso laço mesmo em momentos estando sem contato, sei que a amizade de vocês é para sempre e que a vontade de ver a outra feliz é compartilhada por todas.

Aos amigos da turma 94, em especial a Mônica, Rebeca, Israel, Marcos Antonio e Verbena, pessoas mais que especiais para mim e que espero manter presentes em minha vida, pois para mim a nossa amizade é inestimável. Apoiaram-me em momentos difíceis, como foi o falecimento de meu avô e muitos outros, estimulando-me a seguir em frente e ver o lado bom da vida, além de compartilhar momentos e histórias para uma vida toda.

A Rodrigo Almeida Batista, além de amigo, companheiro, estimulador, é também um namorado e uma pessoa mais que especial, compartilhando comigo momentos que jamais esquecerei e que espero ter muitos outros além do que já vivemos. Obrigada por estar sempre presente, por todo o amor e compreensão nesses anos, nunca se esqueça que compartilho dos mesmos sentimentos por você.

A todos que, de alguma maneira, contribuíram para que chegasse até aqui.

MUITO OBRIGADA!

“Meus irmãos, considerem motivo de grande alegria o fato de passarem por diversas provações, pois vocês sabem que a prova da sua fé produz perseverança. E a perseverança deve ter ação completa, a fim de que vocês sejam maduros e íntegros, sem que falte a vocês coisa alguma.”

Tiago 1:2-4

“A nossa felicidade depende mais do que temos nas nossas cabeças, do que nos nossos bolsos.”

Arthur Schopenhauer

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ARTIGO – CONSUMO DE <i>Euterpe olaracea</i> Mart. E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS EM MULHERES DA ZONA RURAL DE SÃO LUÍS – MA: EXISTE ASSOCIAÇÃO?.....	12
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. METODOLOGIA.....	18
3. RESULTADOS.....	20
4. DISCUSSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	31
APÊNDICES.....	34
ANEXOS.....	39

TABELAS

Tabela 1	Características sócio-demográficas das moradoras do bairro Maracanã, São Luís-MA.....	21
Tabela 2	Características dos hábitos de vida (consumo de juçara, tabagismo e etilismo) entre as mulheres que afirmaram consumir pelo menos 1 vez por semana.....	22
Tabela 3	Relação entre características reprodutivas e consumo de juçara em moradoras do bairro Maracanã, São Luís – MA.....	24
Tabela 4	Relação entre resultados de mamografia e ultrassonografia de mamas e consumo de juçara em moradoras do bairro Maracanã, São Luís – MA.....	25
Tabela 5	Relação entre comorbidades, história de câncer prévio, presença de nódulo mamário, história familiar de câncer de mama e de outros tipos de câncer com consumo de juçara em moradoras do bairro Maracanã, São Luís – MA.....	27

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

APA	Área de Proteção Ambiental
DP	Desvio padrão
PON-1	Paraoxidase-1

ARTIGO

**CONSUMO DE *Euterpe oleracea* Mart. E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS
EM MULHERES DA ZONA RURAL DE SÃO LUÍS – MA**

(A ser submetido ao *American Journal of Clinical Nutrition*)

CONSUMO DE *Euterpe oleracea* Mart. E PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS EM MULHERES DA ZONA RURAL DE SÃO LUÍS, MARANHÃO

Consumption of *Euterpe oleracea* Mart. and prevention of chronic diseases in women of the rural district of São Luís, Maranhão

Gabrielle Meirelles Rodrigues¹

Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento²

¹ Graduanda em Medicina na Universidade Federal do Maranhão.
gabrielle.meirelles.rodrigues@gmail.com

² Doutorado em Medicina. Professora associada IV da Universidade Federal do Maranhão.
cnsd_ma@uol.com.br

1 RESUMO

2 **Contexto:** Flavonóides provenientes de vários frutos, como a juçara, possuem atividade
3 antioxidante e benéfica em relação a várias doenças, como câncer. Dentre os cânceres, temos o
4 câncer de mama como o segundo mais prevalente entre as mulheres brasileiras, e alguns estudos
5 demonstraram a ação dos flavonoides sobre tais células neoplásicas, além de ação sobre doenças
6 neurodegenerativas, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras. **Objetivo:** Analisar a
7 relação entre o consumo de juçara e a presença de doenças crônicas em mulheres da zona rural
8 de São Luís, Maranhão. **Método:** Foi feita uma amostra de conveniência com 150 mulheres
9 residentes no bairro Maracanã, em São Luís, Maranhão, sendo coletadas características
10 sociodemográficas, hábitos, história sexual e reprodutiva, consumo de juçara e história de
11 câncer e outras doenças crônicas. A amostra foi dividida em mulheres que consumiam juçara
12 pelo menos 1 vez por semana (caso) e mulheres que não consumiam juçara (controle),
13 posteriormente sendo feita análise estatística para avaliar relação entre tais variáveis e o
14 consumo de juçara. **Resultados:** 141 mulheres (94,00%) consumiam juçara. Do total, 79,33%
15 estava com 20 a 50 anos de idade, 78,67% era lavradora ou do lar, 64,67% pardas, 76,67% não
16 fumavam, 70,00% não fazia uso de terapia hormonal, 40,67% já havia feito mamografia, 28%
17 já havia feito ultrassonografia de mama, 27,33% tinha história familiar de câncer, sendo o de
18 mama o segundo mais prevalente. As mulheres que não consumiam tiveram maior prevalência
19 de mulheres hipertensas quando comparado às consumidoras, porém câncer prévio, história
20 familiar de câncer, cardiopatia e diabetes foram mais prevalentes entre as consumidoras. Não
21 houveram relações estatisticamente significativas. **Conclusão:** Flavonóides tem sabidamente
22 efeito benéfico em alguns tipos de células neoplásicas e em outras doenças, portanto maiores
23 estudos são necessários para uma melhor avaliação do benefício do consumo de alimentos que
24 os contenham em relação a tais doenças.

25 **ABSTRACT**

26 **Background:** Flavonoids present in a variety of fruits, like juçara, have antioxidant activity
27 and is beneficial for many diseases, like cancer. Among cancers, breast cancer is the second
28 most prevalent beyond Brazilian women, and some studies demonstrate the flavonoids action
29 over those neoplastic cells, besides acting over neurodegenerative diseases, diabetes,
30 cardiovascular diseases, among others. **Objective:** Analyze the relation between the juçara
31 consumption and chronic diseases in women of the rural district of São Luís, Maranhão.
32 **Design:** Was made a convenience sample with 150 women who lives in the Maracanã
33 neighborhood, in São Luís, Maranhão, being collected sociodemographic characteristics,
34 habits, sexual and reproductive history, consumption of juçara and history of cancer and other
35 chronic diseases, than it was made a statistical analysis to compare those variables with the
36 consumption of juçara. **Results:** 141 women (94,00%) consumed juçara. Of total, 78,67% were
37 farmer or stay-at-home, 64,67% were brown, 76,67% didn't smoke, 70,00% didn't use hormone
38 therapy, 40,67% did a mammography, 28% did a breast ultrasound, 27,33% had family history
39 of cancer (breast cancer was the second most prevalent). Women who did not consume juçara
40 had bigger prevalence of hypertension than those who consumed, but previous cancer, family
41 history of cancer, cardiopathy and diabetes were more prevalent in the group of consumers.
42 There weren't any statistical significant relations. **Conclusions:** Flavonoids are well known
43 of having benefic effects on some kinds of neoplastic cells and others diseases, so more studies
44 are necessary to a better evaluation of the benefit of consumption of food that contain them in
45 relation to diseases.

46 **1. Introdução**

47 O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é um fruto típico e popular da região amazônica, que
48 nos últimos anos ganhou importância devido aos benefícios à saúde, associados a sua
49 composição fitoquímica e a capacidade antioxidante (1). É encontrado principalmente em
50 estados da região Norte do Brasil. Tem sua maior produção no Estado do Pará, seguido pelo
51 Maranhão, Amapá, Acre e Rondônia. (2)

52 Amostras de açaí foram estudadas e demonstraram ter cianidina 3-glucósido, cianidina
53 3-sambubioside, cianidina 3-rutinoside, e 3-peonidina rutinoside. O açaí possui elevada
54 concentração de antocianinas (1,02 g/100 g de sólidos secos), cujo teor nos frutos está
55 relacionado à prevenção e redução das doenças cancerígenas, cardiovasculares e circulatórias,
56 devido aos radicais livres (3).

57 Estudos experimentais demonstraram que em camundongos transgênicos certos
58 fitoquímicos consumidos na dieta podem ter efeitos protetores contra o câncer, tendo sido
59 também mostrado em modelos de cânceres mediados por agentes cancerígenos como
60 irradiações e agentes derivados de fontes exógenas ou endógenas. A proteção por fitoquímicos
61 na dieta contra o câncer são devidos à indução do sistema de defesa celular, incluindo
62 antioxidantes, desintoxicação, ativação de enzimas anti-inflamatórias, bem como vias de
63 sinalização que culminam na parada do ciclo celular e / ou morte celular (4).

64 O câncer é um problema de saúde crescente em todo o mundo devendo-se ao aumento
65 da expectativa de vida, urbanização e as subsequentes mudanças de condições ambientais (5).
66 Dentre os cânceres, o câncer de mama é o tipo de câncer mais comum entre as mulheres no
67 mundo e no Brasil, depois do de pele não melanoma, tendo cerca de 57.960 novos casos (28,1%)
68 e incidência de 56,2 casos a cada 1000 habitantes em 2016 (6).

69 Fitoquímicos que previnem câncer, especialmente flavonóides, mostraram-se capazes
70 de suprimir ou bloquear a progressão do câncer por uma variedade de mecanismos. A ingesta
71 de alguns tipos de flavonoides foi vista como potencialmente contribuinte para a prevenção de
72 câncer de mama (7), tendo sido observado, inclusive, em estudos experimentais um potente
73 agente quimiopreventivo útil no tratamento do câncer de mama estrogênio-dependente advindo
74 do extrato do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) (5).

75 As plantas contêm compostos naturais que exibem importantes propriedades bioativas,
76 cujos compostos podem fornecer alternativas aos medicamentos atuais propiciando novas
77 descobertas de drogas (8,9). Tem sido demonstrado que o consumo do açaí está relacionado à
78 prevenção e redução das doenças cancerígenas, cardiovasculares e circulatórias além de
79 promover o envelhecimento saudável e a redução do dano oxidativo (10).

80 Portanto, o presente estudo objetivou analisar a relação entre o consumo do fruto açaí e
81 a presença de doenças crônicas em mulheres da zona rural de São Luís, Maranhão.

82 2. METODOLOGIA

83 2.1. Tipo e área de Estudo

84 Trata-se de um estudo transversal, retrospectivo, analítico, de prevalência do consumo
85 de juçara em mulheres de São Luís, Maranhão, e associação com doenças crônicas.

86 O estudo foi realizado no município de São Luís, com moradoras do Parque Ecológico
87 do Maracanã, Área de Proteção Ambiental (APA), onde se localiza o Parque da Juçara (11).

88 2.2. População do Estudo

89 A população selecionada para este estudo foi de uma amostra de conveniência, sendo
90 o tamanho amostral calculado em 150 pessoas, na faixa etária entre 12 a 80 anos, no período de
91 novembro de 2014 a fevereiro de 2015.

92 Os critérios de inclusão foram: Mulheres residentes no Parque Ecológico do Maracanã
93 e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

94 Critério de exclusão: Mulheres residentes no Parque Ecológico do Maracanã portadoras
95 de déficit mental que prejudicasse o entendimento das respostas para preenchimento do
96 formulário específico, e aquelas que se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Livre e
97 Esclarecido.

98 2.3. Amostra

99 A amostra foi constituída por 141 mulheres residentes no Parque Ecológico do
100 Maracanã que consumiam juçara pelo menos 1 vez por semana (caso) e 9 mulheres (controle)
101 que não consumiam juçara.

102 2.4. Coleta de Dados

103 A coleta das amostras foi realizada entre novembro de 2014 a fevereiro de 2015.
104 Procedeu-se a entrevista utilizando-se um questionário epidemiológico estruturado que incluía
105 informações sobre características sociodemográficas, hábitos, história sexual e reprodutiva,
106 consumo de juçara e história de câncer (Apêndice A).

107 **2.5. Análise Estatística**

108 Os dados foram computados em um banco de dados eletrônico e analisados no
109 Programa de computador Stata/SE 9.0 for Windows (Stata Corporation, College Station,
110 Texas, USA). Variáveis categóricas foram apresentadas como valor absoluto e
111 porcentagem e variáveis numéricas foram representadas como média e desvio padrão.

112 Utilizou-se o teste do Qui-quadrado ou o teste exato de Fisher no estudo de
113 relações entre duas variáveis categóricas e o teste t bilateral na comparação de variáveis
114 numéricas (idade).

115 Em todos os testes o nível de significância (α) foi de 5%, ou seja, foi
116 considerando significativo quando $p < 0,05$.

117 **2.6. Aspectos Éticos**

118 Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital
119 Universitário da Universidade Federal do Maranhão sob o número 814.669/2014. (Anexo A).
120 Para o desenvolvimento do projeto, as mulheres incluídas assinaram o Termo de Consentimento
121 Livre e Esclarecido (Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares)
122 (Apêndice B).

123 3. Resultados

124 Foram incluídas 150 mulheres no estudo, sendo 0,67% (1/150) com idade inferior a 20
125 anos; 25,33% (38/150) com idade entre 20 e 30 anos; 33,33% (50/150) com idade entre 31 e 40
126 anos; 20,67% (31/150) com idade entre 41 e 50 anos, 10,67% (16/150) com idade entre 51 e 60
127 anos, 6,00% (9/150) com idade entre 61 e 70 anos e 3,33% (5/150) com idade entre 71 e 80
128 anos. A idade das pacientes variou de 12 a 80 anos, com idade média de 40,49, DP \pm 13,23 anos.
129 Não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo que consumia juçara (141
130 mulheres) e o que não consumia (9 mulheres) em relação à faixa etária. Em relação aos anos de
131 estudo, mulheres analfabetas corresponderam a 6,67% (10/150), mulheres que estudaram 1 a 3
132 anos, 4 a 7 anos, 8 a 11 anos e acima de 11 anos representaram, respectivamente, 9,34%
133 (14/150), 27,33% (41/150), 43,33% (65/150) e 12,67% (19/150). Quanto à ocupação, 40,67%
134 (70/150) eram trabalhadoras do lar, 32% (48/150) eram lavradoras, 14,67% (22/150) eram
135 comerciantes, 4,66% (7/150) eram aposentadas e 2,00% (3/150) eram estudantes. Quanto ao
136 estado civil, 36,67% (55/150) corresponderam às mulheres solteiras; 32,67% (49/150) às
137 mulheres casadas; 22,00% (33/150) corresponderam às mulheres em união estável, 6,66%
138 (10/150) às mulheres viúvas e 2,00% (3/150) às mulheres separadas. Em relação a raça, 64,67%
139 (97/150) eram pardas, 20,67% (31/150) eram negras, 13,33% (20/150) eram brancas, 0,67%
140 (1/150) era indígena e 0,66% (1/150) era amarela. Quanto à renda familiar, 15,34% (23/150)
141 recebem meio salário por mês, 48,00% (72/150) recebem um salário por mês, 21,33% (32/150)
142 recebem dois salários por mês, 0,67% (1/150) recebe três salários por mês, 11,33% (17/150)
143 recebem mais de três salários por mês e 3,33% (5/150) não informaram (**Tabela 1**).

144 Quanto ao consumo de juçara, 94,00% (141/150) consumiam juçara ao menos 1 vez por
145 semana e 6,00% (9/150) não consumiam. Dentre as consumidoras de juçara, a maioria, 77,30%
146 (109/141) consumiam juçara há mais de 10 anos, 51,77% (73/141) consumia juçara pelo menos
147 3 vezes na semana e 86,52% (122/141), consumia em forma de suco (**Tabela 2**).

Tabela 1. Características sócio-demográficas das moradoras do bairro Maracanã, São Luís-MA.

Variáveis	N	%
Faixa etária		
< 20	1	0,67
20-30	38	25,33
31-40	50	33,33
41-50	31	20,67
51-60	16	10,67
61-70	9	6,00
71-80	5	3,33
Anos de estudo		
Analfabeta	10	6,67
1 a 3	14	9,34
4 a 7	41	27,33
8 a 11	65	43,33
Acima de 11	19	12,67
Ocupação		
Do Lar	70	46,67
Lavradora	48	32,00
Comerciante	22	14,67
Aposentada	7	4,66
Estudante	3	2,00
Estado Civil		
Solteira	55	36,67
Casada	49	32,67
União Estável	33	22,00
Viúva	10	6,66
Separada	3	2,00
Raça		
Parda	97	64,67
Negra	31	20,67
Branca	20	13,33
Indígena	1	0,67
Amarelo	1	0,66
Renda		
1/2 salário	23	15,34
1 salário	72	48,00
2 salários	32	21,33
3 salários	1	0,67
Acima de 3 salários	17	11,33
Não informado	5	3,33

Tabela 2. Características dos hábitos de vida (consumo de juçara, tabagismo e etilismo) entre as mulheres que afirmaram consumir pelo menos 1 vez por semana.

Variáveis	N	%
Tempo de consumo		
Até 10 anos	7	4,66
> 10 anos	109	72,67
Não informado	25	16,67
Não	9	6,00
Forma de consumo*		
Suco	122	81,33
Polpa	19	12,67
Sorvete	6	4,00
Não	9	6,00
Frequência na semana		
1 vez	42	28,00
2 vezes	19	12,67
3 vezes	13	8,67
Mais de 3 vezes	60	40,00
Não informado	7	4,66
Não	9	6,00
Tabagismo		
Sim	26	7,33
Não	115	76,67
Ex-fumante	9	6,00
Tempo de tabagismo		
0 – 5 anos	6	4,00
6 – 10 anos	9	6,00
11 – 15 anos	5	3,33
> 15 anos	15	10,00
Não	115	76,67
Etilismo		
Ex-etilista	5	3,33
Não	82	54,67
Sim	63	42,00

* Nessa categoria poderia haver mais de uma resposta por participante.

148 Quanto ao tabagismo, a maioria não era fumante (76,67%; 115/150), 6,00% (9/150) era
149 ex-fumante, porém dos ex-fumantes e fumantes (35 mulheres), a maioria teve ou tinha o hábito
150 de fumar por 10 anos ou mais (57,15%; 20/35). Quanto ao etilismo, 54,67% (82/150) não era
151 etilista, sendo que 42,00% (63/150) fazia consumo de bebida alcoólica e 3,33% (5/150) era ex-
152 etilista (Tabela 2).

153 Quanto às características reprodutivas, a maioria havia tido a menarca dos 11 aos 14
154 anos (70,00%; 105/150) e não havia entrado na menopausa (76,00%; 114/150). Quanto às
155 gestações, 89,33% (134/150) já havia tido uma gravidez prévia, sendo que a maioria havia tido
156 02 a 04 gestações a termo (52,00%; 78/150), não havia tido gestação pré-termo (91,33%;
157 137/150), não havia tido aborto (83,33%; 125/150) e havia amamentado (82,67%; 124/150)
158 (**Tabela 3**). Quanto ao uso de terapia hormonal, 70,00% (105/150) negou uso, sendo que das
159 que referiram uso, a maioria fazia uso de anticoncepcional oral somente (57,78%; 26/45). A
160 maioria negou história de trauma mamário prévio (88,67%; 133/150).

161 De tais mulheres, 40,67% (61/150) já havia realizado mamografia, sendo que 50,82%
162 dessas (31/61) havia realizado há cerca de 1 ano, 39,34% (24/61) havia realizado há 2 anos ou
163 mais e 9,84% (6/61) não sabia informar época da realização do exame. A maioria (59,01%;
164 36/61) obteve resultado diagnóstico categoria I. Quanto a realização de ultrassonografia de
165 mama, a maioria (72,00%; 108/150) não havia realizado, porém a maioria das que realizaram
166 havia realizado há cerca de 1 ano (23/42; 54,76%), 35,71% (15/42) havia realizado há 2 anos
167 ou mais e 9,52% (4/42) não sabia informar. Das que realizaram a maioria foi classificada na
168 categoria I (85,71%; 36/42). Os resultados dos exames diagnósticos foram submetidos a análise
169 estatística em relação ao consumo de juçara, porém não houve relação estatisticamente
170 significativa (**Tabela 4**).

171 Quando avaliadas as comorbidades, 13,33% (20/150) eram diabéticas, 6,67% (10/150)

Tabela 3. Relação entre características reprodutivas e consumo de juçara em moradoras do bairro Maracanã, São Luís – MA.

Variáveis	Consumo de Juçara		P
	Não f(%)	Sim f(%)	
Menarca*			0,88
10 anos	0 (0,00)	5 (3,55)	
11 a 14 anos	8 (88,89)	97 (68,80)	
Acima de 14 anos	1 (11,11)	36 (25,53)	
Não informado	0 (0,00)	2 (1,42)	
Não	0 (0,00)	1 (0,71)	
Menopausa*			0,60
30 anos	0 (0,00)	1 (0,71)	
35 anos	0 (0,00)	3 (2,13)	
36 a 45 anos	0 (0,00)	10 (7,09)	
Acima de 45 anos	3 (33,33)	19 (13,48)	
Não	6 (66,67)	108 (76,60)	
Gestações a termo*			0,63
01	1 (11,11)	20 (14,18)	
02 a 04	3 (33,33)	75 (53,19)	
Acima de 04	2 (22,22)	27 (19,15)	
Não	3 (33,33)	19 (13,48)	
Gestações pré-termo**			0,60
01	0 (0,00)	13 (9,22)	
Não	9 (100,00)	128 (90,78)	
Número de abortos*			0,99
01	1 (11,11)	20 (14,18)	
02	0 (0,00)	2 (1,42)	
03	0 (0,00)	1 (0,71)	
04	0 (0,00)	1 (0,71)	
Não	8 (88,89)	117 (82,98)	
Amamentação**			0,19
Não	3 (33,33)	23 (16,31)	
Sim	6 (66,67)	118 (83,69)	

*Teste do Qui-quadrado. ** Teste Exato de Fisher

Tabela 4. Relação entre resultados de mamografia e ultrassonografia de mamas e consumo de juçara em moradoras do bairro Maracanã, São Luís – MA.

Variáveis	Consumo de juçara		P
	Não f(%)	Sim f(%)	
Mamografia*			0,20
Categoria I	2 (22,22)	34 (24,11)	
Categoria II	0 (0,00)	2 (1,42)	
Categoria III	0 (0,00)	3 (2,13)	
Não	6 (66,67)	101 (71,63)	
Não Informado	1 (11,11)	1 (0,71)	
Ultrassonografia*			0,96
Categoria I	1 (11,11)	35 (24,82)	
Categoria I e II	0 (0,00)	1 (0,71)	
Categoria II	0 (0,00)	1 (0,71)	
Categoria III	0 (0,00)	2 (1,72)	
Não	8 (88,89)	101 (71,63)	
Não Informado	0 (0,00)	1 (0,71)	

*Teste do Qui-quadrado.

172 eram cardiopatas e 22,67% (34/150) eram hipertensas. Foi realizada análise estatística para
173 avaliar relação com consumo de açaí, porém não houve resultado estatisticamente significativo
174 **(Tabela 5)**.

175 Quanto a avaliação de história de câncer prévio, viu-se que 1,33% (2/150) tinham
176 história de câncer prévio, enquanto o restante (98,67%; 148/150) não tinha. Já em relação a
177 nódulo mamário, 7,33% (11/150) tinha nódulo mamário. Já em relação a história familiar de
178 câncer, 27,33% (41/150) tinha história familiar de câncer. Dessas, 31,71% (13/41) tinha história
179 de câncer em parentes de 1º grau (mãe, pai e irmãos), enquanto o restante (68,29%; 28/41) tinha
180 história de câncer em parentes de 2º grau (tios, avós e primos). Os tipos de cânceres na história
181 familiar encontrados foram: de útero (31,7%; 13/41), de mama (26,83%; 11/41), de ovário
182 (9,75%; 4/41), de estômago, fígado, intestino, próstata e pênis (cada um correspondendo a
183 4,88%; 2/41) e de osso e pulmão (cada um correspondendo a 2,44%; 1/41), tendo também 1
184 caso não informado (2,44%; 1/41). Realizada análise estatística para avaliar relação entre
185 história de câncer prévio, presença de nódulo mamária, história familiar de câncer de mama e
186 de outros tipos de câncer com consumo de juçara, porém não houve resultado estatisticamente
187 significativo (Tabela 5).

Tabela 5. Relação entre comorbidades, história de câncer prévio, presença de nódulo mamário, história familiar de câncer de mama e de outros tipos de câncer com consumo de juçara em moradoras do bairro Maracanã, São Luís – MA.

Variáveis	Consumo de juçara		P
	Não f(%)	Sim f(%)	
Câncer de mama na família**			0,62
Não	9 (100,00)	130 (92,20)	
Sim	0 (0,00)	11 (7,80)	
Outros Cânceres na família**			0,43
Não	6 (66,67)	110 (78,01)	
Sim	3 (33,33)	31 (21,99)	
Histórico de Câncer prévio**			0,71
Não	9 (100,00)	139 (98,58)	
Sim	0 (0,00)	2 (1,42)	
Nódulo**			0,38
Não	9 (100,00)	130 (92,20)	
Sim	0 (0,00)	11 (7,80)	
Diabetes*			0,91
Sim	1(11,11)	19(13,47)	
Não	8(88,89)	120 (85,11)	
Não informado	0(0,00)	2(1,42)	
Cardiopatía**			0,52
Sim	0 (0,00)	10(7,09)	
Não	9(100,00)	131(92,91)	
Hipertensão Arterial*			0,96
Sim	3(33,33)	31(21,98)	
Não	6(66,67)	105(74,47)	
Não informado	0(0,00)	5(3,55)	

*Teste do Qui-quadrado. ** Teste Exato de Fisher

188 4. Discussão

189 Dietas ricas em frutas e vegetais tem relatos de aumento da capacidade antioxidante do
190 plasma. Além de vitaminas C, E e beta-caroteno, frutas e vegetais contem compostos fenólicos
191 que contribuem com sua capacidade antioxidante (12). Flavonóides dietéticos são uma diversa
192 gama de compostos fenólicos bioativos que naturalmente ocorrem em alimentos a base de
193 vegetais e estão presentes em quantidades significativas em várias frutas, vegetais, grãos, ervas
194 e bebidas comumente consumidas (13).

195 *Euterpe oleracea* Mart. é uma espécie monocotiledônea nativa da várzea da região
196 amazônica, especificamente dos seguintes países: Venezuela, Colômbia, Equador, Guianas
197 Suriname e Brasil, principalmente nos estados do Amazonas, Amapá, Pará, Maranhão,
198 Rondônia, Acre e Tocantins. É conhecida popularmente como açai, açai do pará, açai do baixo
199 amazonas, açai de touceira, açai de planta, juçara e juçara de touceira (14 calzavara, 15
200 villachica). As duas últimas denominações citadas são bastante comuns no Estado do
201 Maranhão.

202 O fruto é arredondado, coloração preto-arroxeadado, com aproximadamente 25mm de
203 diâmetro e contém apenas uma semente grande. Análises dos fenólicos no açai revelou a
204 presença de antocianina 3-glicosideo, ácido ferúlico, epicatecina, ácido p-hidroxibenzoico,
205 ácido gálico, ácido protocatecuico, catecina, ácido elágico, ácido vanílico, ácido p-cumárico e
206 galotanino (12).

207 Como o consumo de frutas e vegetais foi associado a redução de risco de câncer em
208 humanos, especialmente, câncer de mamas. Os flavonóides dietéticos, um grupo com mais de
209 5000 composto polifenólicos diferentes, foram identificados como potencial componente em
210 frutas e vegetais para prevenção do câncer (16).

211 A alta atividade antioxidante do açaí foi confirmada em vários estudo *in vitro*. Inclusive,
212 entre frutas com alta capacidade antioxidante, que incluem “cranberries”, mirtilos e morangos,
213 o açaí demonstrou a maior capacidade antioxidante. A atividade antioxidante da suplementação
214 de açaí foi examinada em poucos estudo *in vivo* realizados em ratos. Em alguns estudos, após
215 6 semanas de ingesta de açaí em ratos que recebiam ração normal ou enriquecida com
216 colesterol, viu-se aumento da atividade antioxidante – paraoxanase-1 (PON-1) (17).

217 Estudos epidemiológicos e análises sistemáticas sugerem que dietas ricas em frutas e
218 vegetais está associada com a redução do risco de câncer, em particular de cânceres de origem
219 epitelial como o de boca, de cólon, de reto, de pulmão e de mama (16). Entretanto, para doenças
220 crônicas, devido ao longo tempo (comumente décadas) que precisam para gerar manifestações
221 de sintomas e a falta de modelos animais, estudos epidemiológicos tem sido uma ferramenta
222 primária para se fazer associações entre consumo de componentes de comidas e sua incidência
223 em doenças (18).

224 O presente estudo, então, objetivou analisar essa relação entre o consumo de doenças
225 crônicas, sendo que para isso contou com coleta de dados sobre os casos. Observou-se no
226 presente estudo uma grande prevalência do consumo de açaí entre as mulheres da amostra
227 (94,00%; 141/150), das quais a maioria 77,30% (109/141) consumiam açaí há mais de 10 anos.
228 Porém, mesmo com tal hábito, não houveram diferenças estatisticamente significativas em
229 relação ao grupo que não consumia (6,00%; 9/150) quando avaliadas as comorbidades, história
230 de câncer prévio, história de câncer familiar, alterações em exames de imagem (mamografia e
231 ultrassonografia de mama) e presença de nódulo mamário. Em muitos aspectos, a prevalência
232 entre as consumidoras foi mais alta que entre as não consumidoras (somente quando avaliada a
233 presença de hipertensão arterial sistêmica que as não consumidoras tinham prevalência mais
234 alta). E dentre os cânceres mais prevalentes quando a história familiar, o câncer de mama foi o
235 segundo, e tal tipo de câncer apresenta vários relatos em estudos experimentais de ação de

236 flavonóides presentes no extrato do açaí e outras frutas em suas células neoplásicas (5, 7, 16,
237 19).

238 Assim sendo, estudos que visam analisar a relação entre a ingesta alimentar de frutos e
239 vegetais ricos em flavonoides e o risco de doenças crônicas, como o câncer, são de grande valor
240 para a literatura internacional e para a evolução do tratamento e prevenção do câncer,
241 principalmente em relação aos cânceres mais prevalentes e de maior morbidade, como por
242 exemplo é o câncer de mama na atualidade brasileira e mundial.


Referências

1. Portinho JA, Zimmermann LM, Bruck MR. Efeitos Benéficos do Açaí. *International Journal of Nutrology*, Abril 2012. (Epub ahead of print; DOI: <http://dx.doi.org/10.22565/ijn.v5i1.54>.)
2. Figueiredo AM, Biernet IRC. Assessment of the scientific evidence of the potential use of açaí (*Euterpe oleracea*, Mart.) in clinical outcomes: analysis with focus on antioxidant and anti-inflammatory action. *International Journal of Nutrology* 2014. (Epub ahead of print; DOI: <http://dx.doi.org/10.22565/ijn.v7i2.141>)
3. Mulabagal V, Keller WJ, Calderón AI. Quantitative analysis of anthocyanins in *Euterpe oleracea* (açaí) dietary supplement raw materials and capsules by Q-TOF liquid chromatography/mass spectrometry. *Pharmaceutical Biology* 2012. (Epub ahead of print; DOI: 10.3109/13880209.2012.674141)
4. KWON, Ki Han; BARVE, Avantika; YU, Siwang. Cancer chemoprevention by phytochemicals: potential molecular targets, biomarkers and animal models. *Acta Pharmacol Sin.* 2007. (Epub ahead of print; DOI: 10.1111/j.1745-7254.2007.00694.x)
5. SILVA, DF. Análise da citotoxicidade do extrato de juçara (*Euterpe oleracea* Mart.) do Maranhão em células malignas humanas. 2013. 101 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.
6. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação Geral de Ações Estratégicas, Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro: Inca, 2016.

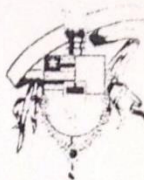
7. Hui C, Qi X, Qianyong Z, Xiaoli P, Jundong Z, Mantian M. Flavonoids, Flavonoid Subclasses and Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of Epidemiologic Studies. *PLoS ONE* 2013 (Epub ahead of print; DOI:10.1371/journal.pone.0054318).
8. Mohanty S., Cock IE. The chemotherapeutic potential of *Terminalia ferdinandiana*: Phytochemistry and bioactivity. *Pharmacogn Rev.* 2012. (Epub ahead of print; DOI: 10.4103/0973-7847.95855).
9. Liedo P, Carey JR, Ingram DK. The interplay among dietary fat, sugar, protein and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp in modulating lifespan and reproduction in a Tephritid fruit fly. *Exp Geronto.* 2012. (Epub ahead of print; DOI: 10.1016/j.exger.2012.05.001)
10. Laslo M, Sun X, Hsiao C. A botanical containing freeze dried açai pulp promotes healthy aging and reduces oxidative damage in sod1 knockdown flies. *Age (dordr)* 2013 (Epub ahead of print; DOI: 10.1007/s11357-012-9437-3).
11. Feitosa AC, Trovão JR. Atlas escolar do Maranhão: Espaço Geo-Historico e Cultural, João Pessoa: Grafset, 2006.
12. Udani JK, Singh BB, Singh VJ. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. (Epub ahead of print; DOI: 10.1186/1475-2891-10-45).
13. Cassidy A, O'Reilly EJ, Kay C, Sampson L, Franz M, Forman JP. Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011 (Epub ahead of print; DOI: 10.3945/ajcn.110.006783).
14. Calzavara BBG. As possibilidades do açazeiro no estuário amazônico. *Boletim da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Belém, (5):1-103, 1972.*

15. Villachica H, Carvalho JEU, Müller CH, Diaz SC, Almanza M. Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia. Lima: Tratado de Cooperación Amazonica, 1996. 367p. (TCA-SPT,44)
16. Cui, L, Liu, X, Tian, Y, Xie, C, Li, Q, Cui, H, Sun, C. Flavonoids, flavonoid subclasses and breast cancer risk: A meta-analysis of epidemiologic studies. PLoS ONE 2013, 8, e54318. (doi:10.1371/journal.pone.0054318)
17. Pala D, Barbosa PO, Silva CT. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) dietary intake affects plasma lipids, apolipoproteins, cholesteryl ester transfer to high-density lipoprotein and redox metabolism: a prospective study in women. *Clinical Nutrition* 2017 (Epub ahead of print: doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2017.02.001>).
18. Beecher GR. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr* 2003;133:3248S–54S.
19. Qing-hui W, Shuai G, Xue-yan Y. Flavonoids isolated from *Sinopodophylli Fructus* and their bioactivities against human breast cancer cells. *Chinese Journal Of Natural Medicines* 2017 (Epub ahead of print; DOI: 10.1016/S1875-5364(17)30039-0).

APÊNDICE A



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO FISIOPATOLOGIA
CLÍNICA E EXPERIMENTAL-FISCLINEX - DINTER



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

**CÂNCER DE MAMA: Estudo dos Efeitos do Extrato de Açaí Originário de do
Estados Brasileiros (Pará E Maranhão), na Viabilidade e na Indução de Apoptose
em Células Mamárias**

Pesquisadora: Dulcelena Ferreira Silva

APÊNDICE 1: FICHA PROTOCOLO

Câncer prévio
 NR Não Sim → _____
Especificar (DD/MM/AAAA)

Nódulo Não Sim _____
Especificar (DD/MM/AAAA)

História Familiar de Câncer
 NR Não Sim → **Especificar abaixo**

PARENTE	TIPO DE CÂNCER	IDADE DIAG.	IDADE ATUAL	STATUS	
				VIVO	ÓBITO
				VIVO	ÓBITO
				VIVO	ÓBITO
				VIVO	ÓBITO

Fonte das informações acima Prontuário TCLE

COMORBIDADES

HIV NR Não Sim

Diabetes NR Não Sim

Cardiopatia NR Não Sim

Hipertensão Arterial NR Não Sim

1. Nome	DN. / /	Fone:
2. Endereço	Ma 1()	Ma 2() Ma 3() Ma 4()
3. Idade . anos		
4. Profissão		
5. Grau de Instrução (anos de estudo)		
(0) Nenhuma (1) de 1 a 3 (2) de 4 a 7 (3) 8 a 11 (4) 12 ou mais (5) Ignorado		
6. Estado Civil (1) Casada (2) solteira (3) Desquitada (4) acompanhada (5) viúva		
7. Cor (1) branca (2) parda (3) negra (4) índio (5) amarelo		
8. Peso kg		
9. Estatura cm		
10. Salário () meio salário () 1 salário () 2 salários (x) > 3 salários		
11. Menarca (1) 10 anos (2) 11 a 14 anos (3) acima de 14 anos		
12. Menopausa (1) 35 anos (2) 36 a 45 (3) acima de 45 anos (7n)		
13. Gravidez (1) Sim (2) Não		
14. Número de gestações a termo (1) 1 gestação (2) 2 a 4 gestações (3) acima de 4 gestações.		
15. Número de gestação Pré-termo (1) 1 gestação (2) acima de 1 gestação		
16. Número de abortos (1) 1 Aborto (2) 2 abortos (3) 3 abortos		
17. Amamentação (1) SIM (2) NÃO		
18. Período de amamentação (1) 1 a 3 meses (2) 3 a 6 meses (3) 6 meses a 1 ano (4) acima de 1 ano		
19. Câncer de mama na Família (1) SIM (2) Não		
20. Grau de Parentesco (1) Mãe (2) Avó (3) tia Materna (4) Tia Paterna (5) Sobrinha (6) Irmã (7) Prima		
21. Outros tipos de Câncer (1) SIM (2) NÃO Qual:		
22. Uso de Hormônio (1) SIM (2) NÃO		
23. Tipo de Hormônio (1) Anticoncepcional Oral (2) TRH (3) Outros		

24. Tempo de uso (1) menos de 6 meses (2) 6 meses a 1 ano (3) mais de 1 ano
25. Idade que iniciou o uso de hormônio:
26. Traumatismo de Mama (1) SIM (2) NÃO
27. Época do trauma (1) menos de 1 ano (2) mais de 1 ano (3) ignorado
28. Fumante (1) SIM (2) NÃO (3) Ex- Fumante
29. Quantidade de Cigarro/Dia:
30. Tempo de uso (em meses):
31. Etilismo (1) SIM (2) NÃO (3) EX- Etilista
32. Utiliza juçara (1) SIM (2) NÃO (3) NÃO (4) MAIS DE 70 ANOS
30. Produto (1) suco (2) sorvete (3) polpa (4) outros
33. Frequência por semana: (1) 1 dia (2) 2 dias (3) 3 dias (4) mais de 3 dias
34. Quantidade dos derivados: (1) 1 colher de sopa (2) 2 colheres de sopa (3) mais de 2 colheres de sopa
35. Quantidade da amêndoa: (1) 20 (2) 21 a 40 (3) acima de 40
36. Utiliza a amêndoa in natura (1) SIM (2) NÃO
37. Faz uso de outras gorduras: (1) SIM (2) NÃO Qual:
38. Consome Gorduras (1) SIM (2) NÃO
39. Tipo: (1) Animal (2) Vegetal
40. Tipos de carnes que consome: (1) Branca (2) Vermelha
41. Fez Mamografia (1) SIM (2) NÃO
42. Tempo que fez mamografia (1) 1 ano (2) 2 anos (3) mais de 2 anos (4) Ignorado
44. Mamografia Atual: BI-RADS® (Categoria —)
Observação:
45. Tempo que fez a US da mama (1) 1 ano (2) 2 anos (3) mais de 2 anos (4) ignorado
4 4 US BI-RADS® (CATEGORIA —)
Observação

Data: 3 / /

Pesquisador:

APÊNDICE B - TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está convidada a participar, como voluntária, desta pesquisa, a qual tem a finalidade de reconhecer a frequência alimentar da ingestão da juçara (açai) como de importância no desenvolvimento do câncer de mama. Sendo assim eu, Dulcelena Ferreira Silva e a Profa. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento (orientadora) resolvemos escrever um projeto de pesquisa tendo como objetivo estudar os efeitos ingestão da juçara em relação ao câncer de mama. Será aplicado um inquérito recordatório de 24 horas em uma amostra de 806 famílias com características similares à população alvo. Este questionário ainda abordará aspectos sócio-demográficos e história familiar de câncer em três gerações. Os benefícios desta pesquisa será adquirir noções do acometimento da doença em mulheres, que sabidamente consomem o açai na alimentação. Estes dados serão colhidos e anotados pela pesquisadora. Essa pesquisa não colocará sua vida em risco, nem expõe sua pessoa, pois seu nome será mantido em sigilo. Você poderá ter acesso aos responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. É garantida liberdade de retirada do consentimento deixando assim de participar sem qualquer prejuízo a continuidade do trabalho. As informações obtidas serão analisadas, não sendo divulgada a sua identificação; você terá o direito de ser informado dos resultados, que sejam do conhecimento da pesquisadora. Não haverá despesas para o participante em qualquer fase do estudo. Acredito ter sido suficientemente informado a respeito da pesquisa, que li ou que foram lidas para mim, ficando claro quais são os propósitos do estudo, os procedimentos realizados, a garantia de confidencialidade e de esclarecimento permanente. Ficou claro também, que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente a participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, sem penalidade, perdas ou prejuízos de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento nesse serviço.

Em caso de dúvidas, você pode procurar o Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

LOCAL E DATA:

NOME E ASSINATURA DO SUJEITO RESPONSÁVEL

RG: _____ SSP UF _____

(Nome por extenso)

(Assinatura)

Assinatura do Pesquisador Responsável

PARA QUAISQUER INFORMAÇÕES, POR FAVOR, DIRIGIR-SE AOS SEGUINTE
ENDEREÇOS:

Médico: Prof. Dr. Roberto Soares de Moura e a Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão
Nascimento

ENDEREÇO: Rua Duque Bacelar, Qd-33, nº 41, Quintas do Calhau

CEP 65067510 São Luís -MA

TELEFONE: (98) 32480174

ALUNA: Dulcelena Ferreira Silva

ENDEREÇO: Rua Felipe Camarão nº 40 Vila Passos

CEP 65025-380

TELEFONE(98) 3222 7617

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA:

ENDEREÇO: Rua Barão de Itapary , 27 São Luis -.Ma 0, 4º andar. Hospital Universitário
Presidente Dutra, CEP 65020 070

TELEFONE : (098) 2109 1223

COORDENADOR DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA:

Prof. Dr. João Inácio Lima de Souza

HUUFMA – Unidade Presidente Dutra

Rua Barão de Itapary s/n Centro – São Luís-MA

Fone (098) 2109 1223

ANEXO A

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/MA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: O PAPEL DO EFEITO CITOTÓXICO DO FRUTO JUÇARA (*Euterpe Oleracea* Mart.), ALIMENTO FUNCIONAL DO MARANHÃO, EM LINHAGENS DE CÉLULAS DE CÂNCER

Pesquisador: Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 31050314.3.0000.5087

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Patrocinador Principal: FUND DE AMPARO A PESQUISA AO DESEN CIENTIFICO E TECNOLÓGICO DO MARANHÃO - FAPEMA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 814.669

Data da Relatoria: 16/09/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo experimental para avaliação do efeito citotóxico do fruto Juçara (*Euterpe oleracea* Mart. sob células neoplásicas humanas. Extratos de *Euterpe oleracea* Mart., vulgarmente conhecida como juçara, serão testados contra linhagens de câncer de mama, colorretal e cérvix uterina e seu potencial antitumorigênico será avaliado. Área de coleta da juçara: A área escolhida para coleta dos frutos de juçara fica localizada no município de São Luís, no Parque Ecológico do Maracanã, onde se localiza o Parque da Juçara estando presentes as principais áreas de juçarais. Apresenta duas hipóteses: H0- Não existe efeito biológico do teste do extrato de juçara, originário do Maranhão na viabilidade e na indução de morte celular em células neoplásicas humanas e H1- Existe efeito biológico do teste do extrato de juçara, originário do Maranhão na viabilidade e na indução de morte celular em células neoplásicas humanas.

Os extratos serão obtidos no Laboratório de Farmacologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Os experimentos de cultura de células, viabilidade celular, análise morfológica por microscopia de luz invertida, ensaios apoptóticos e Western blotting serão realizados nas

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1988 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
UF: MA Município: SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/MA



Continuação do Parecer: 014.009

dependências do Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada (NIBA) da UFMA. A análise por microscopia eletrônica será realizada em colaboração com o Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Celular do Instituto Nacional de Câncer (INCA) no Rio de Janeiro. Espera-se evidenciar o potencial citotóxico do fruto juçara sobre células neoplásicas humanas, constituindo uma possibilidade de bioprospecção de composto natural como quimiopreventivo ou agente terapêutico complementar anticâncer. Para análise estatística dos dados, será realizado o teste one-way analysis of variance (ANOVA), seguido pelos pós-testes de Dunnett ou Tukey's, de acordo com o tipo de análise. As diferenças serão consideradas significativas quando o $p < 0,05$. O programa utilizado para realização da análise estatística será o GraphPad Prism versão 4.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

- Avaliar os efeitos citotóxicos dos extratos de juçara (*Euterpe oleracea* Mart.) nativa do Estado do Maranhão, alimento funcional

Objetivos Específicos:

- Padronizar a quantificação de polifenóis da juçara;
- Obter o extrato hidroalcoólico da casca, caroço e fruto total da juçara;
- Avaliar a viabilidade das células, morfologia e morte celular das linhagens sob os extratos de juçara.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não se aplica. O projeto trata de estudo experimental com células neoplásicas humanas frente ao extrato de juçara (*Euterpe oleracea* Mart.)

Benefícios:

Pretende-se contribuir para a melhoria da atenção oncológica, na busca de elementos naturais quimiopreventivos para o câncer.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta grande relevância social, considerando que envolverá não somente com a perspectiva de contribuições científicas originais como também de adicionar ações ao esforço mundial de combate ao câncer com a utilização de elementos naturais quimiopreventivos. Na área

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
 Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
 UF: MA Município: SAO LUIS
 Telefone: (08)3272-8708 Fax: (08)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/MA



Continuação do Parecer: 514.959

da biotecnologia em saúde a identificação frações de polifenóis da Juçara, com potencial antitumoral fornecerá dados consistentes para eleger elementos para a bioprospecção de agentes anticâncer. Os resultados e Impactos esperados propiciam demonstrar pesquisas sobre apoptose e/ou autofagia nas células malignas humanas testadas sob efeito de extrato hidroalcoólico de Juçara, considerando o fruto da palmácea, *Euterpe oleracea* Mart., ser alimento funcional no Maranhão. E em estudos posteriores, após testes farmacocinéticos, poder ser indicada como quimiopreventivo no câncer. O Impacto esperado consiste também, dotar o Maranhão de condições de infraestrutura para pesquisa em nível de cultura de células e produtos naturais, realização de testes moleculares, bioquímicos e microscopia eletrônica de transmissão, com a finalidade de melhorar os indicadores da pesquisa de câncer no Estado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto apresenta os elementos para cumprir com as exigências acadêmicas, mostrando-se exequível, com metodologia adequada. A introdução está bem fundamentada, destacando a importância da realização dessa pesquisa. O projeto realizará estudos experimentais com células neoplásicas humanas, sem envolvimento ou manipulação direta com humanos ou animais, o que dispensa a obrigatoriedade do TCLE, bem como os critérios de inclusão e exclusão dos sujeitos.

Recomendações:

Todas as recomendações foram acatadas e corrigidas pela pesquisadora e estão de acordo com as normas da resolução 466/12 do CNS.

Conclusões ou Pendências e Lista de inadequações:

Todas as pendências foram acatadas e corrigidas pela pesquisadora e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1986 CEB Velho
 Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
 UF: MA Município: SAO LUIS
 Telefone: (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/MA



Continuação do Parecer: 014.009

SAO LUIS, 01 de Outubro de 2014

Assinado por:
FRANCISCO NAVARRO
(Coordenador)

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
UF: MA Município: SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

ANEXO B – REGRAS REVISTA

Information for Authors

THE AMERICAN JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION

STATEMENT OF SCOPE

The purpose of *The American Journal of Clinical Nutrition (AJCN)* is to publish original research studies relevant to human and clinical nutrition. Well-controlled clinical studies that describe scientific mechanisms, efficacy, and safety of dietary interventions in the context of disease prevention or a health benefit will be considered. Public health and epidemiologic studies relevant to human nutrition, and innovative investigations of nutritional questions that employ epigenetic, genomic, proteomic, and metabolomic approaches are encouraged. Solicited editorials, book reviews, solicited or unsolicited review articles, invited controversy position papers, and letters to the Editor that relate to prior *AJCN* articles are essential components of the *AJCN*. All submitted material with scientific content will undergo peer review by the Editors or their designees before acceptance for publication.

Symposia or workshop articles may be published as supplements to the *AJCN* and are funded by their sponsors. The *AJCN* welcomes queries about the publication of supplements. The *AJCN* uses a 2-part acceptance process for supplements. The first step involves editorial acceptance of the topic and content as provided by the symposium organizer; the following material should be sent to the Editorial Office at doisr@nutrition.org: title, location, and date of the meeting; the names and affiliations of potential guest editors; the sponsor(s) of the meeting; the sponsor(s) of the publication; and the agenda/program from the meeting along with the names of the speakers. The second step involves anonymous peer review of the individual articles. To be considered for publication, supplement articles must be received within 3 mo of each symposium or workshop. Each manuscript should not exceed 15 text pages, exclusive of tables, figures, and references; must adhere to *AJCN* style and format; and will be reviewed according to the same scientific standards used to evaluate original research articles.

CRITERIA FOR MANUSCRIPT ACCEPTANCE

The *AJCN* can publish only about 20% of the more than 1800 original submissions received per year. Submitted manuscripts may be rejected without detailed comments after initial review by at least 2 *AJCN* editors if the manuscripts are considered inappropriate or of insufficient scientific priority for publication in the *AJCN*. All other manuscripts undergo a complete review by at least 2 consulting editors or other selected experts. Criteria for acceptance by the *AJCN* include originality, validity of data, clarity of writing, strength of the conclusions, and potential importance of the work to the field of clinical nutrition. Indicate explicitly in your cover letter what is truly new in the present work compared to work already published in the field. Because Cochrane assessments are now readily available on the web via PubMed, *AJCN* no longer considers it necessary to disseminate them by secondary publication in the Journal. Submitted manuscripts will not be reviewed if they do not conform to standard English usage and to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (Internet: <http://www.icmje.org>), which is also available free of charge from the Secretariat Office, *Annals of Internal Medicine*, American College of Physicians, Independence Mall West, Sixth Street at Race, Philadelphia, PA 19106-1572.

SUMMARY OF REQUIREMENTS

Each manuscript component should begin on a new page in the following sequence:

Title page
Abstract
Text
Acknowledgments
References

Tables: each table on a separate page, complete with title and footnotes
Legends for figures
Figures

Identify on the title page the author who will be responsible for correspondence regarding the manuscript. The signed Authors' Statement and Copyright Release Form and copies of any documents granting permission needed to reproduce material in print and electronic form or to use illustrations of identifiable subjects should be scanned and uploaded to the submission system at <http://submit.ajcn.org/> or e-mailed to ajcnsubmit@nutrition.org. If scanning is not possible, then the Authors' Statement and Copyright Release Form and any necessary documents may be faxed to (240) 404-6798. As recommended by the Council of Science Editors, when a coauthor dies or is incapacitated during the writing, submission, or peer review process, coauthors should obtain disclosure and copyright documentation from a familial or legal proxy. Authors should keep copies of all submitted material.

The *AJCN* encourages authors to provide the names, fields of interest, addresses, telephone and fax numbers, and e-mail addresses of 4-6 unbiased and qualified potential expert reviewers from outside the authors' institutions.

All material to be considered for publication in a regular or supplement issue should be submitted electronically at the following website: <http://submit.ajcn.org>. See "Tips for authors submitting manuscripts to the *AJCN*" for helpful advice regarding electronic submission.

Manuscripts will be considered with the understanding that no part has been published, simultaneously submitted, or already accepted for publication elsewhere, other than in abstract form. A health research reporting checklist must be included with the submission of every research manuscript. Papers will be screened for similarity to previously published papers using iThenticate. The Editor reserves the right to request a copy of the Institutional Review Board approval documents, data, or statistical analyses files upon which the paper is based.

Material published in the *AJCN* is copyrighted by the American Society for Nutrition, Inc. (ASN), and may not be reproduced without permission from the Managing Editor, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814-3998. E-mail: publications@nutrition.org. Effective February 1, 2016 our address will be 9211 Corporate Blvd., Suite 300, Rockville, MD 20850. If the original source is cited, the abstract appearing at the beginning of each article may be reproduced or translated for noncommercial purposes without specific permission.

To prevent conflicts of interest from arising during the peer review process, the *AJCN* requires individuals who are asked to review a manuscript to decline the solicitation if they have a possible conflict of interest. For detailed guidelines, please see <http://www.nutrition.org/publications/guidelines-and-policies/conflict-of-interest/>.

MAJOR SECTIONS OF THE *AJCN*

Editorials
Review Articles
Special Invited Articles, including Controversies and Perspectives
Original Research Communications (including formal systematic review/meta-analysis)
Letters to the Editor
Book Reviews
Books Received
ASN Announcements
Calendar of Events

Letters to the Editor that refer to a recent *AJCN* original research article must be received within 12 wk of the article's publication. Letters

must be double-spaced, must include line numbers, should include a title page, should have no more than 10 references, and should not exceed 1000 words. All letters will be subjected to editorial review and decision before acceptance. The *AJCN* does not accept letters that are unrelated to a specific, recently published original research article; that contain extensive unpublished data; or that engage in personal slander or invective. Letters should be submitted by e-mail to ajcnsubmit@nutrition.org. All letters to the Editor and book reviews must include a conflict of interest statement.

RESEARCH REGISTRATION

AJCN requires registration in an appropriate public trials registry of all clinical trials and observational studies that began after July 1, 2008. Such registries include ICMJE-approved public trials registries (<http://www.clinicaltrials.gov>, www.anzctr.org.au, www.isrctn.org, www.umcn.ac.jp, www.trialregister.nl). It is highly desirable that studies begun before July 1, 2008 also be registered. Please report the study ID number and the website where the clinical trial is registered on the title page of the paper.

REQUIRED CHECKLISTS

Depending on the design of the study, one of the health research reporting checklists referenced at the Equator Network (<http://www.equator-network.org/reporting-guidelines/>) must accompany the first version of each manuscript as "supplemental files" in the online manuscript submission system. Page or line numbers must be included to indicate where the checklist items are located in your paper. Participant flow charts should be included whenever possible, especially accompanying CONSORT, PRISMA, and STROBE checklists. If none of the checklists apply to your study, please explain in your cover letter why none is needed.

FORMAT AND STYLE REQUIREMENTS

Articles are copyedited according to *AJCN* style policy, the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals," and the style manual of the Council of Science Editors (Scientific style and format: the CSE manual for authors, editors, and publishers, 8th ed. Chicago: The University of Chicago Press; 2014).

Authorship

Scientific conduct

Each author must have participated sufficiently, intellectually or practically, in the work to take public responsibility for the content of the article, including the conception, design, and conduct of the experiment, and for the data interpretation. An article with corporate (collective) authorship must specify the key persons responsible for the article; others contributing to the work should be recognized separately. The Editors may require authors to justify the assignment of authorship. All authors must sign a statement agreeing to all the requirements for authorship with the transfer of copyright (http://www.ajcn.org/misc/Authors_Agreement_Form.pdf).

A **Change in Authorship Form** must be submitted if an author's name is added to the manuscript, there is a change in the author order, or an author wishes to remove his/her name. In the last case, a letter requesting the removal of his/her name and signed by the author must accompany the form.

Conflict of interest

Authors must disclose in the Acknowledgment section any possible conflicts of interest. For detailed guidelines, please see <http://www.nutrition.org/publications/guidelines-and-policies/conflict-of-interest/>.

Instruction: for manuscript preparation

Initial manuscript submissions

Prepare your manuscript, including figure legends and tables, in Word format. The manuscript should be formatted as follows: 216 × 279 mm (8½ × 11 in) or ISO A4 (212 × 297 mm), with margins of at least 2.5 cm; use double-spacing and 12-point type throughout. Do not justify the right margin. The abstract and text pages should have consecutive line numbers in the left margin beginning in the abstract and ending before the reference section. Number pages consecutively in the upper right-hand corner of each page, beginning with the title page. Foreign authors are advised to have their manuscripts reviewed by a scientific colleague who is fluent in English so that the manuscripts will conform to US English usage and grammar.

Revised manuscript submissions

Submit manuscript text, including figure legends and tables, in a Word file; tables must be included in the text file; do not submit tables in separate files. Submit each figure in a separate file according to the specifications listed in the section titled, Figures.

Fonts

For optimum legibility we recommend that you use only certain fonts in your document: Times, Times New Roman, Courier, Helvetica, Arial, and the Symbol font for special characters. For review purposes references will be copied from the manuscript file into the submission system and linked to the online source of the cited abstract or article.

Title page

The title page should contain: 1) Title of the article, beginning with a key word if possible, with only the first letter of the first word capitalized; 2) Author Names (first name, middle initial, last name); 3) Author Affiliation (departmental and institutional) at the time the research was done. Indicate which authors are associated with which institutions by listing the appropriate author initials in parentheses after each affiliation listed; 4) Authors' last names—listed separately for PubMed indexing; please consider this carefully, in particular for authors with names that include hyphens and prefixes. Punctuation and spacing are generally disregarded when indexing, and the name will usually be indexed under the first letter to appear in the name. 5) Any authors' changed affiliations - should be included in a separate line on the title page. 6) Disclaimers, if any, and not Conflict of Interest; 7) Corresponding Author name, mailing address, telephone number, and e-mail address; 8) the Sources of Support including grants, fellowships, and gifts of materials (eg, chemicals, experimental diets); 9) Short running head of not more than 50 characters (count letters and spaces); 10) Abbreviations list and their definitions for all abbreviations used in the text if there are 3 or more; and 11) Clinical Trial Registry number and website where it was obtained.

Abstract

A properly constructed and informative abstract is helpful for the initial editorial review of the submitted manuscript. Original research articles must include a structured abstract that contains no more than 300 words, is written in complete sentences, and includes the following headings:

Background: Provide 1 or 2 sentences that explain the context of the study.

Objective: State the precise objective, the specific hypothesis to be tested, or both.

Design: Describe the study design, including the use of cells, animal models, or human subjects. Identify the control group. Identify specific methods and procedures. Describe interventions, if used.

Results: Report the most important findings, including results of statistical analyses.

Conclusions: Summarize in 1 or 2 sentences the primary outcomes of the study, including their potential clinical importance, if relevant (avoid generalizations).

Review articles, special articles, and reports should include an unstructured abstract (no more than 300 words) that states the purpose of the article and emphasizes the major concepts and conclusions. Any abbreviations used in the abstract should be defined in the abstract at first mention.

Below the abstract, provide and identify 5–10 keywords or short phrases, including the subject group, that will help to increase the discoverability of your manuscript; do not use adjectives. Terms that are fundamental to your manuscript but are not included in your manuscript title or abstract are especially important to include to increase discoverability by indexing services such as PubMed.

Please note that during manuscript submission, you will be asked to supply keywords to assist the editors in locating suitable reviewers for your manuscript. Keywords for reviewer searches should include the terms most fundamental to your manuscript, and may differ from your list of keywords for publication.

Text

Use active voice whenever possible. Use past tense when describing and discussing the experimental work on which the article is based. Reserve present tense for reference to existing knowledge or prevailing concepts and for stating conclusions from the experimental work. Clearly differentiate previous knowledge and new contributions. Do not use level when referring to a concentration. Use metric units of measure; SI units are no longer required.

The text of observational and experimental articles should be divided into sections with the following headings: Introduction, Subjects (or Materials, for cell or animal studies) and Methods, Results, and Discussion. Long articles may require subheadings within some sections. Authors should consult recent issues of the *AJCV* for guidance on the formatting of other types of articles, book reviews, and editorials.

Introduction

Clearly state the purpose of the article. Summarize the rationale and background for the study or observation, giving only strictly pertinent references. Do not include methods, data, results, or conclusions from the work being reported. The Introduction should be limited to 1.5 manuscript pages.

Subjects (or Materials) and Methods

Describe clearly your selection of the experimental and control subjects and provide eligibility and exclusion criteria and details of randomization. Describe the methods for, and success of, any masking (blinding) of observations. Report any complications of experimental treatments. Identify the methods, apparatus (manufacturer's name in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow other researchers to reproduce the results. Define all group designations parenthetically at first mention [for example, "control (CON) and high-fat (HF) groups"] and include definitions for these abbreviations in the abbreviation footnote on the title page. Do not use trademark names, such as Teflon, as generic terms. Give references for established methods, including statistical methods; provide references and brief descriptions of methods that have been published but are not well known; and describe new or substantially modified methods, giving reasons for using them and evaluating their limitations. Identify precisely all drugs and chemicals used, including generic names, dosages, and routes of administration. If trade names for drugs and chemicals are included, give the manufacturer's name and location.

Ethics: When reporting experiments on human subjects, indicate that the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible institutional or regional committee on human experimentation or in accordance with the Helsinki Declaration of 1975 as revised in 1983. Do not use patients' names, initials, or hospital identification numbers. When reporting experiments on animals, indicate approval by the institution's animal welfare committee and state whether

the National Research Council's guide for the care and use of laboratory animals was followed.

Statistics: Describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (eg, CIs, SDs, or SEs), even for differences that were not significant. Report the numbers of observations. Specify any general-use computer programs used, including the version number and the manufacturer's name and location. Include general descriptions of statistical methods in the Subjects (or Materials) and Methods section and specific descriptions in each table and figure legend. Indicate whether variables were transformed for analysis. Provide details about what hypotheses were tested, what statistical tests were used, and what the outcome and explanatory variables were (where appropriate). Indicate the level of significance used in tests if different from the conventional 2-sided 5% alpha error and whether or what type of adjustment is made for multiple comparisons.

When data are summarized in the Results section, specify the statistical methods used to analyze them. Avoid nontechnical uses of technical statistical terms, such as *random* (which implies a randomizing device), *normal*, *significant*, *correlation*, *sample*, and *parameter*. Define statistical terms, abbreviations, and symbols not listed under "Abbreviations for statistical terms" below. If there are 3 or more abbreviations used in the text, prepare an abbreviation footnote. The footnote should be associated with the first abbreviated term in the text and should be an alphabetized listing of all author-defined abbreviations and their definitions. Detailed statistical analyses, mathematical derivations, and the like may sometimes be suitably presented as one or more appendices.

Results

Present your results in a logical sequence in the text, tables, and figures. Do not present specifics of data more than once and do not duplicate data from tables or figures in the text; emphasize or summarize only important observations. Do not present data from individual subjects except for very compelling reasons. Report losses to observation (such as dropouts from a clinical trial). Use boldface for the first mention of each table or figure.

Discussion

The Discussion should not exceed 4 typewritten pages except in unusual circumstances as approved by the Editor. Emphasize concisely the novel and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. Do not repeat in detail data or other material given in the Introduction or Results. Include the implications of the findings and their limitations and relate the observations to other relevant studies. Link conclusions with the goals of the study and avoid unqualified statements and conclusions that are not completely supported by the data. Avoid claiming priority and alluding to work that has not been completed. State new hypotheses and recommendations when warranted by the results and label them clearly as such.

Acknowledgments

1) Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name and for providing to the Editor a copy of the permission, if requested. 2) **Conflict of Interest (COI) Statement:** Authors must disclose any financial or personal relationships with the company or organization sponsoring the research at the time the research was done. Such relationships may include employment, sharing in a patent, serving on an advisory board or speakers' panel, or owning shares in the company. If an author or authors have no potential conflicts of interest, please state this. The COI Statement must include all authors. 3) **Authors' contributions to the manuscript** – Each author is required to list his or her contribution to the work, with a description of the contribution.

Please use the following descriptors: 1) designed research (project conception, development of overall research plan, and study oversight); 2) conducted research (hands-on conduct of the experiments and data

collection); 3) provided essential reagents or provided essential materials (applies to authors who contributed by providing animals, constructs, databases, etc. necessary for the research); 4) analyzed data or performed statistical analysis; 5) wrote paper (only authors who made a major contribution); 6) had primary responsibility for final content; 7) other (use only if categories above are not applicable; describe briefly); 8) for single-authored papers, please state: The sole author had responsibility for all parts of the manuscript.

Please do not include "obtained funding" (the initials of authors who received grants may be included in the footnote regarding support on the manuscript's title page). Although not all manuscripts will necessarily include all descriptors, all manuscripts, including reviews, must indicate who is responsible for design, writing, and final content. An example of a properly formatted author contribution statement is as follows: "AX, RFG, and PGY designed research; RFG and QC conducted research; PT analyzed data; AX, PGY, and QC wrote the paper; PGY had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript."

References

Number references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. For a standard journal article with more than 10 authors, please list first 10 authors before using "et al."; list all authors when 10 or fewer. In the text, identify references by Arabic numerals in parentheses (1), not superscript. References cited in tables or in legends to figures should be numbered according to the first citation of the table or figure in the text. Supplemental Material should have a separate reference section.

It is rarely necessary to cite more than 50 references in an original research article. Try to avoid citing published abstracts as references (if a published abstract is cited, include "(abstr)" at the end of the reference). Abstracts from scientific meetings not published in peer-reviewed journals may not be used as references. Unpublished observations and personal communications (written, not oral) may not be used as references but may be inserted in parentheses with the names of the responsible researchers and the year of the observation or communication. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone so cited and for providing to the Editor a copy of the permission, if requested. Doctoral dissertations may be used as references. Include manuscripts accepted but not yet published; designate journal name followed by "(in press)." Report foreign titles in the original language, identify the language, and provide the English translation in parentheses. The references must be verified by the author against the original documents.

Journals

1) Journal article published electronically ahead of print. Authors may add to a reference, the DOI ("digital object identifier" number unique to the publication) for articles in press. It should be included immediately after the citation in the References.

Bergholdt HKM, Nordestgaard BG, Ellervik C. Milk intake is not associated with low risk of diabetes or overweight-obesity: a Mendelian randomization study in 97,811 Danish individuals. *Am J Clin Nutr* 2015 Jul 8 (Epub ahead of print; DOI: [10.3945/ajcn.114.103049](https://doi.org/10.3945/ajcn.114.103049)).

2) Standard journal article: list all authors when 10 or fewer; when >10, list only the first 10 and add "et al." Abbreviate journal titles according to *Index Medicus* style, which is used in MEDLINE citations.

Jeffery RW, Wing RR, Sherwood NE, Tate DF. Physical activity and weight loss: does prescribing higher physical activity goals improve outcome? *Am J Clin Nutr* 2003;78:684-9.

3) Corporate author

National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-421.

Books and other monographs

4) Personal authors

Shils M, Shike M, Olson J, Ross AC. *Modern nutrition in health and disease*. 9th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1998.

5) Committee report or corporate author

National Research Council. *Recommended dietary allowances*. 10th ed. Washington, DC: National Academy Press, 1989.

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. *Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids*. Washington, DC: National Academy Press, 2000.

6) Chapter in book

Young VR, Tharakan JF. Nutritional essentiality of amino acids and amino acid requirements in healthy adults. 2nd ed. In: Cynober LA, ed. *Metabolic and therapeutic aspects of amino acids in clinical nutrition*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2004:439-70.

7) Agency publication

US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services. *Nutrition and your health: dietary guidelines for Americans*. Washington, DC: US Government Printing Office, 2000. [USDA Home and Garden Bulletin no. 232.]

Internet references

8) Website

National Center for Health Statistics. *National Health and Nutrition Examination Survey*. Version current 1 October 2003. Internet: <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm> (accessed 13 October 2003).

9) Online journal article

Sinha A, Madden J, Ross-Degnan D, Soumerai S, Platt R. Reduced risk of neonatal respiratory infections among breastfed girls but not boys. *Pediatrics* [serial online] 2003;112:e303. Internet: <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/content/full/112/4/e303> (accessed 14 October 2003).

Tables

Tables must be included in the text file, and each table should begin on a new page. Double-spacing of tables is preferred but not required. Number tables consecutively with Arabic numerals (do not use IA, IB, etc) and supply a brief descriptive title for each. Give each column a short or abbreviated heading. Place explanatory matter in footnotes, not in the heading or table title. Each table should contain enough detail (including statistics) that the table is intelligible without reference to the text. All nonstandard abbreviations, including group designations, used in a table or table title should be defined in a footnote to the table title, and the abbreviations should be listed in alphabetic order. If the footnote to the table title contains multiple items, the definitions of the abbreviations should be the last item. If a table contains only one abbreviated term, then a separate footnote placed after that abbreviation should be used to define that term. Commonly used approved abbreviations (see "Units and Abbreviations" below) may be used without explanation. Additionally, explanations are not needed for ANOVA, BMI, F (females), and M (males). For footnotes, use superscript Arabic numerals. For reporting results of statistical analyses, superscript letters can be used if explaining the results in the usual manner would be too complicated (see a recent issue of the *ACN* for examples). The first appearance in a horizontal row determines the order of the footnotes. Identify statistical measures of variation, such as SD and SE. **Omit internal horizontal and vertical rules before submitting your tables.** Cite each table in the text in consecutive order. Use boldface for the first mention of each table. If you use data from another published source, acknowledge the source fully. Number references in tables according to the location of the first citation of each table in the text. For an illustrated table quality checklist, visit <http://pubs.nutrition.org/site/misc/ASNTTableChecklist.pdf>.

Figures

Cite each figure in consecutive order in the text. Use boldface for the first mention of each figure. Spell out the word "Figure"; do not use "Fig." If a figure has been published, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce or adapt the material in print and electronic format. Except for documents in the

public domain, permission is required from the copyright holder, regardless of authorship or publisher.

Legends for all figures should be included within the manuscript text file on a separate page and be typed with double-spacing (legends should not be included on the figures themselves). Each legend should contain enough detail, including statistics, to make the figure intelligible without reference to the text. All nonstandard abbreviations, including group designations, used in a figure or figure legend (see below for list of standard abbreviations under "Units and Abbreviations") should be defined at the end of the figure legend in alphabetic order. When symbols, arrows, numbers, or letters are used to identify parts of the figures, identify and explain each one clearly in the legend. Explain internal scale and identify the method of staining in photomicrographs.

Files must conform to the minimum-resolution specifications listed below (see Image resolution). Figures that are part of the regular manuscript submission and not part of OSM must be uploaded as separate files. Lettering and symbols must be large enough to be readable when the figure is reduced to 1 column width (<8.5 cm) or, in rare cases, to 2 column widths. Preferred text size is 7 points.

1 column: 18p0 / 3 inches / 7.6 cm
1.5 column: 27p0 / 4.5 inches / 11.5 cm
Maximum width (to span 2 columns): 34p0 / 5.7 inches / 14.4 cm
Maximum height: 53p0 / 8.8 inches / 22.4 cm

The use of color will be evaluated for each figure on an as-needed basis, and authors who are not members of ASN must pay an extra charge if color is used. Reprints of articles with color figures will be billed at a higher charge because of the additional costs of printing color. Do not use 3-dimensional figures unless necessary. When labeling axes, capitalize

only the first word and proper nouns; use lowercase letters for the remaining words and put units in parentheses.

Formatting

Microsoft PowerPoint (PPT) and Word (DOC) files can be acceptable if properly prepared and submitted in their native format. When creating print-quality files in MS Office applications, follow these general guidelines:

1) Do not use pattern or texture fills in graphics. Instead use solid fills or percentage screens that will be effectively converted to vector images during file conversion. 2) When inserting pictures or images into files, be sure to select "insert" and not "insert link," which will not properly embed the hi-res image into the MS Office file. 3) Do not reduce or enlarge the images after placement within the MS Office file. Otherwise the image quality will be affected. 4) A separate file should be submitted for each figure. Make sure that any multi-panel figures (i.e., figures with parts labeled A, B, C, D, etc.) are assembled into one file. Rather than sending four files (Figure 1A, Figure 1B, Figure 1C, Figure 1D), the four parts should be assembled into one piece and supplied as one file. 5) If a figure is very small in the system-generated PDF file, the resolution of the figure file was not high enough. A higher-resolution figure should be uploaded before the PDF is approved. 6) Authors are requested to create and keep high-resolution print copies of the figures, in the event that they are needed for publication purposes.

Image resolution

Files at publication size must conform to the minimum-resolution specifications listed in the figure below.

Line art	Combination Halftones (grayscale or color images and type)	Halftones (grayscale or color with no type or lettering)
1000 dpi	600 dpi	300 dpi

Figure 1

For an illustrated figure quality checklist, visit <http://pubs.nutrition.org/site/misc/ASNFigureChecklist.pdf>. For video on preparing digital images for publication, visit the Preparing Digital Images for Publication series at <http://pubs.nutrition.org/site/misc/Images-0.xhtml>.

Supplemental material

Supplemental material may be included with manuscript submissions. Supplemental files for upload may include required research checklists, articles published in press elsewhere, reports or technical briefs related to manuscript submission, figure source files, questionnaires, permissions, videos, etc. All supplemental data should be clearly labeled either as "Supplemental Data for Reviewers Only," or, each page should be labeled as "Online Supporting Material" (OSM) if it is submitted for online

publication only in *The AUCN*. Online-only figures and tables should be labeled "Supplemental Figure 1," "Supplemental Table 1," etc. Upload the OSM in the format that will make it most widely accessible to readers. OSM files will not be edited before being posted online; therefore, please be sure that *The American Journal of Clinical Nutrition* format is used and that the files are accurate. Please also upload supplemental files for review only separately from supplemental files for online publication.

UNITS AND ABBREVIATIONS

Use only standard abbreviations. Consult the following sources for standard abbreviations: *Scientific Style and Format and Standard for Use of the International System of Units (SI): the Modern Metric System* (American Society for Testing and Materials, IEEE/ASTM SI 10-1997, West Conshohocken, PA, ASTM, 1997) or

www.elsevier.com/locate/pspb. Avoid abbreviations in the title, and avoid the use of abbreviations for single words. Each abbreviation should be defined in the text at first mention. If there are 3 or more abbreviations used in the text, the title page of the manuscript should contain an alphabetized listing of all author-defined abbreviations and their definitions. The footnote should be associated with the first abbreviated term in the text. Note that group designations (for example, "CON" for "control") should also be included in the abbreviation footnote. Standard units of measurement, chemical compound preceded by a digit, and the following standard abbreviations do not require definition: ADP, AIDS, AMP, ASN, ATP, AUC, BMI, BOLD, CDC, CFU, CoA, CTP, DHA, DMEM, DMSO, DNA, EDTA, eg, EGTA, ELISA, EPA, FAD, FAO, FMN, fMRI, GAPDH, GDP, GTP, HCl, HDL, HEPES, HIV, HOMA-IR, HPLC, ie, lg, IL, LDL, ln, LPS, MEM, MOPS, MRI, MUFA, n/z , NAD, NADH, NADP, NADPH, NHANES, NIH, PUFA, RNA, SDS-PAGE, SFA, TNF, tris, UDP, UNICEF, USDA, UTP, UV, VLDL, vol/vol, WHO, and wt/vol. These standard abbreviations, however, should be defined at first mention in the abstract.

Abbreviations for statistical terms

analysis of variance, ANOVA
analysis of covariance, ANCOVA
coefficient of correlation, sample, r
coefficient of multiple correlation, R
coefficient of variation, CV
confidence interval, CI
degrees of freedom, df
hazard ratio, HR
interquartile range, IQR
not significant, NS
number of observations, n
odds ratio, OR
probability, P
risk ratio, RR
standard deviation, SD
standard error of the estimate, SEE
standard error of the mean, SEM
variance ratio, F

Metric units are required and the use of the International System of Units (SI units) is optional. For a comprehensive listing of SI conversion factors, consult *SI Units for Clinical Measurement* (Young DS, Huth EJ. Philadelphia: American College of Physicians, 1998), *Am J Clin Nutr* 1998;67:166-81 or *J Nutr* 1990;120:20-35. Dosage forms and dietary ingredients may be expressed in gram or mole quantities. Energy may be expressed in kilocalories or joules; the conversion factor for converting kilocalories to kilojoules is 4.184. Do not report energy in Calories with a capital C; use kcal, MJ, or kJ instead. Temperatures should be reported in degrees Celsius. Blood pressures should be reported in millimeters of mercury. Use of katalis to report enzyme activity is optional.

Commonly used approved abbreviations

Standard units of measurement	
ampere, A	liter, L
becquerel, Bq	meter, m
coulomb, C	minute, min
curie, Ci	mole, mol
day, d	month, mo
degree Celsius, °C	ohm, Ω
farad, F	pascal, Pa
gram, g	second, s
hertz, Hz	sievert, Sv
hour, h	volt, V
joule, J	watt, W
katal, kat	week, wk
kelvin, K	year, y
kilocalorie, kcal	

Acceptable standard units

length: m, mm, μm
area: m^2 , mm^2 , μm^2

volume: L, mL, μL , pL
mass: kg, g, mg, μg , ng, pg
mass concentration: kg/L, g/L, mg/L, $\mu\text{g/L}$
substance concentration: mol/L, mmol/L, $\mu\text{mol/L}$, nmol/L

Unacceptable units

length: not acceptable: in, ft, yd, Å, μm
area: not acceptable: sq in, in², μ^2
volume: not acceptable: pint, gallon, cc, ccm, λ , μL
mass: not acceptable: oz, lb, gr, gm, gms, mgm, mgms, mgs
mass concentration: not acceptable: mg %
substance concentration: not acceptable: M, N

Combining prefixes

tera- (10^{12}), T	micro- (10^{-6}), μ
giga- (10^9), G	nano- (10^{-9}), n
mega- (10^6), M	pico- (10^{-12}), p
kilo- (10^3), k	femto- (10^{-15}), f
milli- (10^3), m	atto- (10^{-18}), a

NOMENCLATURE

In general, the *AJCN* follows the nomenclature policies of the IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature. The vitamin nomenclature is summarized at *J Nutr* 1990;120:12-19, and the amino acid nomenclature is summarized at *J Nutr* 1987;117:15. Both articles can be accessed at <http://jn.nutrition.org>. Authors are responsible for ensuring that their terminology conforms with these policies. For guidelines on gene and protein nomenclature, authors should consult the following websites:

<http://www.informatics.jax.org/> (mouse), <http://rgd.mcw.edu/> (rat), <http://www.genenames.org/> (human and other species), and <http://au.expasy.org/> (proteins).

As recommended by the American Society for Microbiology, the spelling of bacterial names should follow the *Approved Lists of Bacterial Names (Amended) & Index of the Bacterial and Yeast Nomenclatural Changes* (V. B. D. Skerman et al. ed., ASM Press, Washington, DC, 1989) and the validation lists and notification lists published in the *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (formerly the *International Journal of Systematic Bacteriology*). Further information on currently approved bacterial names can be found at: Bacterial Nomenclature Up-to-Date (<http://www.dsmz.de/microorganisms/main.php?contentid=14>) and at List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (<http://www.bacterio.cict.fr/>). If authors must use a name that does not have standing in nomenclature, the name should be enclosed in quotation marks in the title, when appropriate, and at its first use in the abstract and the text. Correspondingly, an appropriate statement concerning the nomenclatural status of the name should be made in the text.

MICROBIOLOGICAL CULTURE DEPOSITION

The *Journal (AJCN)* expects authors to deposit microbial strains used in any study to be published in publicly accessible culture collections, for example the American Type Culture Collection (ATCC) and to refer to the collections and strain numbers in the text (e.g. ATCC 53103). Since the authenticity of subcultures of culture collection specimens that are distributed by individuals cannot be ensured, authors should indicate laboratory strain designations and donor sources as well as original culture collection identification numbers. More information on the ATCC is accessible at <http://www.lgcpromochem-atcc.com/>.

CORRECTING PROOF

Contact the Production Office with any change in e-mail address from the time the manuscript was submitted. When page proofs are available, the corresponding author will be notified via an e-mail that includes instructions on how to download the proofs from a specified URL address. These proofs are to be checked carefully, and any changes are to be indicated clearly in the margins of the page proof. Changes made by

technical editors for style, grammar, and readability are not to be altered by authors unless a scientific error has been introduced. The page proofs should be returned to the AUCN Production Office. If changes are received after the deadline, the article will be printed as set.

CHARGES TO AUTHORS

Submission fee

There is a \$75 fee for manuscripts submitted to the AUCN. Authors are able to pay the submission fee during the submission process using a credit card. Payment can also be made by check (see instructions below for details). Bank transfers and institutional purchase orders are not accepted. The submission fee will be waived for invited authors, authors of manuscripts included in approved ASN annual meeting symposium publications, and corresponding authors who are members of the American Society for Nutrition (ASN). The Journal will consider requests to waive the fee for cases of financial hardship (see instructions below). Papers cannot move forward in the review process until the submission fee has been received.

To pay the submission fee by check (US funds/US bank), please make check payable to the American Society for Nutrition and mail to the following address: Manuscripts Submission Editor, American Society for Nutrition, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814 USA. Effective February 1, 2016 this address will change to 9211 Corporate Blvd., Suite 300, Rockville, MD 20850. Include the journal name, manuscript title, and manuscript ID number with your check. Use an expedited and traceable method of delivery.

Authors who lack funding for payment can request a waiver of the submission fee. Requests for waivers must be signed by the corresponding author and cosigned by an appropriate institutional official to verify that no institutional or grant funds are available for the payment of the fee. Please include the manuscript title and the manuscript ID number with your request. Waiver requests should be sent to: American Society for Nutrition, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814. Tel: 301-634-7279; Fax: 240-404-6798. Effective February 1, 2016 this address will change to 9211 Corporate Blvd., Suite 300, Rockville, MD 20850 and the phone number will be 240-428-3606. Waiver requests will receive immediate attention to avoid delays in manuscript processing. It is expected that waiver requests will be processed and authors will be notified within one business day.

Page charges

The responsible author must agree to pay page charges when the manuscript is submitted for publication. Requests for waivers of the charge must be submitted to the Editor-in-Chief with the original manuscript. After publication of their articles, responsible authors will be billed per printed journal page (3 double-spaced manuscript pages equal =1 printed journal page). Corresponding authors who are members of ASN will be billed \$85 per printed journal page for the first 7 pages and \$120 for each additional page. Corresponding authors who are not members of ASN will be billed \$125 per printed journal page for the first 7 pages and \$150 for each additional page. (Authors of reviews will be billed at \$85 or \$125 per page, depending on their membership status with ASN, regardless of the number of pages in the review.) This charge does not apply to reports of ASN meetings, official ASN statements, letters to the Editor, book reviews, or articles invited by the Editor-in-Chief. All checks should be drawn on a US bank; there will be a \$20 charge for insufficient funds. Payment may also be made with VISA, MasterCard, or American Express. Bank transfers are accepted; there is a \$20 charge per transfer. Please contact the Production Office for transfer information.

Additional charges are assessed for color figures. Authors will be charged the subsidized rate of \$400 per color figure, although this fee will be waived for corresponding authors who are ASN members, when color is deemed essential by the editor. During the manuscript submission process, all authors must indicate that color figures are included and that they agree to pay the color reproduction fee of \$400 per figure.

Authors whose papers are funded by NIH will be invoiced to have their papers deposited into the NIH PubMed Repository by ASN upon publication. The fee for ASN members is \$20 per deposit, and for non-members the fee is \$45 per deposit.

Authors of NIH-funded papers can submit a waiver request upon receipt of acceptance letter or author proof. Requests for waivers must be submitted by the corresponding author and cosigned by an appropriate institutional official to verify that no institutional or grant funds are available for the payment of deposit charges. Waiver requests should be sent to: American Society for Nutrition, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814. E-mail: journal@nutrition.org; Fax: 240-404-6798. Effective February 1, 2016 this address will change to 9211 Corporate Blvd., Suite 300, Rockville, MD 20850. Please include the journal name and manuscript number.

Page charges may be waived by the Society for acceptable reasons such as the lack of funding from grant or institutional sources as verified by an institutional official. Requests for waivers will not affect review of manuscripts or delay publication. Waivers should be requested when the acceptance letter is received or when author proofs are returned. Requests for waivers must be submitted by the corresponding author and cosigned by an appropriate institutional official to verify that no institutional or grant funds are available for the payment of page charges. Waiver requests should be sent to: American Society for Nutrition, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814. Effective February 1, 2016 this address will change to 9211 Corporate Blvd., Suite 300, Rockville, MD 20850. E-mail: journal@nutrition.org; Fax: 240-404-6798. Please include the journal name and manuscript number.

Free access publication option

Authors of accepted original research manuscripts can choose to pay a Free Access fee to allow their articles to become freely accessible on the journal website immediately upon publication. The Free Access fee is \$3000 per article, and the CC-BY Free Access fee is \$5000 per article. Free Access fees are charged in addition to other author charges (page charges, color reproduction charges, author alteration charges, and charges for reprint orders). For authors who elect not to pay the free access fee, articles will remain under access control for the first 12 months after publication.

Upon acceptance of an article, authors interested in the Free Access publication option will be instructed to download the Free Access Choice Form (<http://pubs.nutrition.org/site/misc/free-access-form.pdf>) to provide article and billing information. For authors who elect to pay the free access fee, the article will be made freely accessible immediately upon publication. The free access fee, along with the remainder of the author fees (page charges, color charges, and cost of reprints), will be billed after publication.

Authors who receive Howard Hughes Medical Institute (HHMI) funding can comply with the HHMI open access publishing requirements by selecting the American Society for Nutrition Free Access publishing option. Authors who receive Wellcome Trust or Research Councils UK (RCUK) funding can comply with those funding agencies' requirements by selecting the CC-BY Free Access publishing option. The Free Access Choice Form includes a section in which authors can provide information on their Wellcome Trust, RCUK, or HHMI grant. The American Society for Nutrition will deposit high-resolution files and the final version of the article in PubMedCentral on behalf of Wellcome Trust, RCUK, and HHMI authors who pay the free access fee and will authorize public posting on PubMedCentral and PubMedCentral mirror sites immediately.

Page proofs

The cost of changes for correction of composition, typographic, editorial, and minor author errors will be absorbed by the AUCN. Major author changes will be billed to authors at a rate of \$4 per occurrence.

Reprints

Order forms for reprints are sent with page proofs. Please follow the instructions on the form to order reprints.

Supplement fees

Supplement publications are assessed fees for the following items: color reproduction costs (\$800 per published page of color for supplement manuscripts), excessive author alterations to manuscript proofs, reprints, and page charges of \$300/page. Supplement manuscript page charges will

be charged to the supplement sponsor. A manuscript submission fee of \$75 per manuscript is assessed at the time of manuscript submission, via a separate invoice (not via the online manuscript submission system). The manuscript submission fee will not be returned if a manuscript is rejected, but the manuscript submission fee assessment will be applied toward the supplement page charge assessment.

Tips for authors submitting manuscripts to the *AJCN*

Manuscript submission to *The American Journal of Clinical Nutrition (AJCN)* must be made using the online system at <http://submit.ajcn.org/>. Users are required to register when accessing the online submission system for the first time.

Manuscript Preparation:

- Papers must be double-spaced throughout.
- Number lines continuously (not per page) beginning with the abstract and ending with the Acknowledgment; do not number lines of References, tables, and figures.
- Title page must include a list of authors' names for PubMed indexing and a list of Abbreviations in your manuscript.
- The Acknowledgment section must include a conflict of interest statement and a description of the contributions of the authors.
- Number references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text, and list 10 authors' names before using "et al."

Language Editing Services: Authors who believe their manuscript would benefit from professional editing are encouraged to use a Language Editing Service. (eg http://pubs.nutrition.org/site/misc/ASN_Language_Editing_Services.xhtml).

If you experience problems during the submission process, contact the *AJCN* manuscript office by email ajcnsubmit@nutrition.org, by telephone (301) 634-7240, or by using the "Feedback" tab in the manuscript submission system. Effective February 1, 2016, please use the telephone number, (240) 428-3622. We will address your question promptly and help you finish the submission process.