

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO



**INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL MATERNO E CONCENTRAÇÃO DE
PRECURSORES DE OLIGOSSACARÍDEOS NÃO DIGERÍVEIS NO COLOSTRO**

**CAROLINY FERNANDES DE MELO SANTOS
LILIANE SANTOS DA SILVA**

MACEIÓ

2022

**CAROLINY FERNANDES DE MELO SANTOS
LILIANE SANTOS DA SILVA**

**INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL MATERNO E CONCENTRAÇÃO DE
PRECURSORES DE OLIGOSSACARÍDEOS NÃO DIGERÍVEIS NO COLOSTRO**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Faculdade de Nutrição
da Universidade Federal de Alagoas
como requisito parcial à conclusão do
Curso de Graduação em Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Monica Lopes de Assunção

Universidade Federal de Alagoas

Faculdade de Nutrição

Coorientadora: Nidyanne Patrícia de Mesquita Chagas Lopes

Nutricionista

**Discente do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de
Alagoas.**

MACEIÓ

2022

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237i Santos, Caroliny Fernandes de Melo.
Influência do estado nutricional materno e concentração de precursores de oligossacarídeos não digeríveis no colostro / Caroliny Fernandes de Melo Santos, Liliane Santos da Silva. – 2022.
50 f. : il.

Orientadora: Monica Lopes de Assunção
Coorientadora: Nidyanne Patrícia de Mesquita Chagas.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Nutrição) –
Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Nutrição. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 35-40.

Apêndices: f. 41-50.

1. Leite humano. 2. Excesso de peso. 3. Índice de Massa Corporal. I. Silva, Liliane Santos da. II. Título.

CDU: 613.2:618.2

AGRADECIMENTOS

À Deus, por nos guiar, proteger e colocar pessoas tão especiais em nossas vidas; à nossa orientadora Dr^a Mônica Lopes de Assunção pela oportunidade e por todo o suporte necessário; à nossa coorientador Nidyanne Patrícia de Mesquita Chagas Lopes por toda disponibilidade, compreensão, ajuda e amizade durante esse período; aos nossos companheiros de pesquisa, Tiago Emanuel, Elen Dantas, Nidyanne Lopes e Laura. Obrigada por todo companheirismo e amizade durante toda pesquisa. Não iremos esquecer os nossos sorrisos, parceria, convívio e dificuldades diante da pandemia.

Aos membros da banca examinadora Luitgard Lima e Ana Paula Bulhões por aceitarem participar da avaliação do nosso trabalho; à Universidade Federal de Alagoas - UFAL e à Faculdade de Nutrição - FANUT por todo ensinamento científico e apoio acadêmico; à Santa Casa de Misericórdia de Maceió e Nossa senhora da guia por ter possibilitado a realização da nossa pesquisa; à professora Dr^a Terezinha da Rocha Ataíde, ao professor Dr. Ticiano Gomes do Nascimento e o professor Dr. Haroldo da Silva por terem disponibilizado o laboratório e equipamentos, facilitando assim a logística e realização do trabalho; à técnica Elenita pela sua disponibilidade em me acompanhar no laboratório, até mesmo durante o período da pandemia.

À equipe da nossa senhora da guia, em especial Tamires do Banco de Leite da Maternidade Nossa Senhora da Guia, que prestou todo apoio e conhecimento para nos auxiliar durante a pesquisa;

Aos nossos amigos da graduação, por dividirem as angústias e participarem de todas as realizações durante este período, sem vocês essa caminhada seria muito mais difícil e triste; aos nossos pais, Sâmara e Paulo, Fabiana e Lenildo, por estarem sempre ao nosso lado, por apoiarem nossas escolhas e por serem nosso porto seguro. O nosso amor por vocês é infinito; aos nossos irmãos, Paulo e Diogo. Obrigada por toda amizade, torcida e apoio. Amamos vocês; à minha vovó Tila, por ser minha inspiração, minha grande amiga, por me entender e ter sempre uma palavra carinhosa. Te amo muito; aos nossos amores Vincent e Hugo, por todo carinho, amizade, paciência e apoio. Com vocês somos muito mais felizes e mais fortes.

Aos nossos amigos e familiares que compreenderam as nossas ausências em inúmeros momentos e que foram solidários durante este período. Em especial, as puérperas que

aceitaram participar da nossa pesquisa mesmo em um momento de fragilidade. Que este trabalho seja útil para a saúde da mulher e das crianças em nosso país.

RESUMO

SANTOS, C.F.M; SILVA, L.S. “**Influência do estado nutricional materno e concentração de precursores de oligossacarídeos não digeríveis no colostro**” 2020. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição) - Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas.

O leite materno é o alimento recomendado para recém-nascidos por ter uma composição nutricional ideal para essa fase da vida. Entretanto, a concentração dos nutrientes varia amplamente entre as mães e estão associadas principalmente às características genéticas, práticas alimentares e estado nutricional materno. Apesar do interesse crescente sobre a composição do leite humano, pouco se sabe sobre a influência do peso corporal materno sobre a constituição desta secreção láctea. Por esta razão, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do estado nutricional materno sobre a concentração de precursores de oligossacarídeos (OLH) no colostro. Para consecução desse objetivo realizou-se um estudo transversal na Maternidade Nossa Senhora da Guia, envolvendo 80 puérperas na faixa etária entre 20 - 40 anos, com gestação de feto único. A abordagem inicial foi realizada nas primeiras 48 horas após o parto, onde foram coletadas informações referentes às condições socioeconômicas, demográficas e perinatais. Ao fim desta entrevista obteve-se o colostro, sendo este imediatamente congelado a -20°C e posteriormente armazenados em ultrafreezer, a -80°C . Os constituintes do colostro foram avaliados pela análise dos componentes principais (PCA) e pela análise discriminante ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA), considerando as quatro diferentes categorias de IMC materno (baixo peso, eutrofia, sobrepeso e obesidade), com o emprego do software SIMCA-P. Utilizou-se a ANOVA visando identificar diferenças nos constituintes do leite materno em função do estado nutricional da mãe. Os resultados mostraram altos níveis de ácido N-Acetilneuramínico em mães obesas quando comparado a mães com baixo peso ($p = 0,019$) e eutróficas ($p = 0,015$) e com relação a mães com sobrepeso ($p = 0,96$) não houve diferença significativa. Em relação à fucose, foram observadas maiores concentrações no leite de mães com baixo peso em comparação com mães eutróficas ($p=0,044$). Desse modo, observamos que os constituintes primários para a formação de OLH podem variar em relação ao estado nutricional materno.

Palavras Chaves: Leite Materno. Excesso de peso. Índice de Massa Corporal

ABSTRACT

SANTOS, C.F.M; SILVA, L.S. “**Influence of maternal nutritional status and concentration of non-digestible oligosaccharide precursors in colostrum**” 2020. Course Conclusion Paper (Graduate in Nutrition) - Faculty of Nutrition, Federal University of Alagoas.

Breast milk is the recommended food for newborns as it has an ideal nutritional composition for this stage of life. However, the concentration of nutrients varies widely among mothers and is mainly associated with genetic characteristics, dietary practices and maternal nutritional status. Despite the growing interest in the composition of human milk, little is known about the influence of maternal body weight on the constitution of this milk secretion. For this reason, this study aimed to evaluate the influence of maternal nutritional status on the concentration of oligosaccharide precursors (OLH) in colostrum. To achieve this objective, a cross-sectional study was carried out at the Nossa Senhora da Guia Maternity Hospital, involving 80 postpartum women aged between 20 - 40 years, with a single fetus pregnancy. The initial approach was carried out within the first 48 hours after delivery, where information was collected regarding socioeconomic, demographic and perinatal conditions. At the end of this interview, colostrum was obtained, which was immediately frozen at -200C and later stored in an ultrafreezer at -800C. The constituents of colostrum were evaluated by principal component analysis (PCA) and by orthogonal discriminant analysis by partial least squares (OPLS-DA), considering the four different categories of maternal BMI (underweight, normal weight, overweight and obesity), with the use of the SIMCA-P software. ANOVA was used to identify differences in the constituents of breast milk as a function of the mother's nutritional status. The results showed high levels of N-Acetylneuraminic acid in obese mothers when compared to low weight ($p = 0.019$) and eutrophic ($p = 0.015$) mothers and with respect to overweight mothers ($p = 0.96$) there was no significant difference. Regarding fucose, higher concentrations were observed in the milk of low weight mothers compared to eutrophic mothers ($p=0.044$). Thus, we observed that the primary constituents for the formation of OLH may vary in relation to maternal nutritional status.

Keywords: Breast Milk. Overweight. Body mass index.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|------------------|---|----|
| Figura 1: | Composição e estrutura geral dos oligossacarídeos do leite humano. | 14 |
| Figura 2 | Escores de PCA das amostras de leite materno em diferentes faixas de IMC. | 26 |
| Figura 3 | Séries OPLS-DA pareadas entre os grupos estudados fase aquosa. | 27 |
| Figura 4 | Concentração relativas dos N-Acetil-L-Glutamina e fucose identificados da fase aquosa do leite materno de mães com diferentes pesos (Teste t-pareado entre grupos de diferentes pesos, O=Obesidade, E=Eutrofia, B=Baixo peso e S=Sobrepeso, $p < 0,05$). | 29 |

LISTA DE TABELAS

| | Título | Página |
|-----------------|--|---------------|
| Tabela 1 | Ganho de peso (kg) recomendado durante a gestação segundo estado nutricional materno inicial. | 21 |
| Tabela 2 | Características demográficas e socioeconômicas de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió - AL, 2020. | 24 |
| Tabela 3 | Estado nutricional pré-gestacional e ganho de peso durante a gestação, em função do IMC pré-gestacional de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió – AL, 2020. | 26 |

SUMÁRIO

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | INTRODUÇÃO | 10 |
| 2. | REVISÃO DE LITERATURA | 12 |
| 2.1 | Composição e fases do leite materno | 12 |
| 2.2. | Oligossacarídeos não digeríveis do leite humano | 13 |
| 2.3. | Monossacarídeos sialilados e fucosilados do leite humano | 14 |
| 2.4. | Variações na composição dos OLH em função do IMC materno | 15 |
| 2.5. | Benefícios dos OLH para a saúde e o desenvolvimento infantil | 16 |
| 3. | MATERIAL E MÉTODOS | 19 |
| 3.1. | Tipo de Estudo e local de realização | 19 |
| 3.2. | Critério de inclusão | 19 |
| 3.3. | Cálculo do tamanho amostral | 20 |
| 3.4. | Coleta de dados | 20 |
| 3.5. | Delineamento do estudo | 20 |
| 3.5.1. | Avaliação do estado nutricional materno | 20 |
| 3.5.2. | Obtenção do colostro e pré-preparo para as análises | 21 |
| 3.5.3. | Extração de fase dupla | 21 |
| 3.6. | Preparação das amostras de colostro para análise por Ressonância | 22 |
| 3.7. | Análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | 22 |
| 3.8. | Análise Estatística Multivariada | 22 |
| 3.9. | Aspectos Éticos | 23 |

| | | |
|----|--|----|
| 4. | RESULTADOS | 23 |
| 5. | DISCUSSÃO | 30 |
| 6. | CONCLUSÃO | 32 |
| 7. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 33 |
| | APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.) | 39 |
| | APÊNDICE B | 44 |

1. INTRODUÇÃO

O leite materno é o alimento recomendado para recém-nascidos por ter uma composição nutricional ideal nessa fase da vida e devido às suas amplas vantagens para o binômio mãe e filho. Apresenta benefícios nutricionais, imunológicos, motores e um potencial efeito protetor contra o excesso de peso na infância e vida adulta. Possui uma composição dinâmica, sendo fonte nutricional e de compostos bioativos, incluindo células, agentes anti-infecciosos e anti-inflamatórios, fatores de crescimento e oligossacarídeos não digeríveis (ERICK, 2017; LARSSON et al., 2019).

Os oligossacarídeos do leite humano (OLH) são carboidratos solúveis, não digeríveis pelo trato gastrointestinal humano. Diferente da lactose, que é hidrolisada e absorvida em todo o intestino delgado e em maior quantidade no jejuno proximal, onde tem menor concentração de bactérias e apenas uma pequena fração da lactose chega ao intestino grosso onde sofre fermentação bacteriana, os OLH, após ingeridos, atravessam a barreira gástrica intactos até atingirem o cólon. Apenas uma pequena parte consegue cruzar a barreira epitelial e pode ser absorvida. Alguns estudos já comprovaram que OLH foram detectados nas fezes e urina de bebês amamentados, como também diretamente no sangue periférico. Quando presentes na corrente sanguínea apresentam funções imunológicas importantes como a redução dos níveis de TNF α , IL-1 α , IL-1 β e IL-6. (TRANTIS et al., 2018).

Sua produção ocorre na glândula mamária, através de enzimas que sofrem variação em função da genética materna, originando vários oligossacarídeos diferentes, garantindo assim uma ampla variabilidade desses carboidratos. São constituídos por três a dez unidades de monossacarídeos, apresentando na extremidade redutora a lactose sendo alongada por N-acetil-lactosamina (LacNAc) ou lacto-N-Biose (LNB). Podem ser neutros fucosilados, quando apresentam a fucose ou neutros não fucosilados quando apresentam N-acetilglucosamina e juntos representam mais de 75% do total, já o ácido siálico origina os OLH ácidos. (BODE, 2012; WANG, 2020).

Possuem a capacidade de estimular o desenvolvimento da microbiota infantil, uma comunidade complexa de microrganismos comensais que contribuem para o metabolismo do hospedeiro, à medida em que servem de substrato energético para as bactérias benéficas fazendo assim com que elas tenham vantagem de crescimento sobre as bactérias maléficas. Também modulam a imunidade atuando de forma local nas células linfóides associadas à

mucosa ou a nível sistêmico, já que, cerca de 1% é absorvido e são passados para a circulação. Além disso, atuam como antimicrobianos antiaderentes, impedindo a fixação de patógenos na mucosa e conseqüentemente sua entrada, causando assim as doenças protegendo também o trato respiratório e urinário. Existem alguns oligossacarídeos encontrados no cérebro de bebês que contribuem para o desenvolvimento do mesmo (BODE, 2012). Suas concentrações variam amplamente entre as mães e estão associadas a características genéticas, bem como práticas alimentares, estado nutricional e fatores ambientais (AZAD et al., 2018; CHICHLOWSKI et al., 2011).

Um dos parâmetros que vêm sendo estudados como um potencial modificador da composição do leite humano é o índice de massa corporal materna, sobretudo na composição de oligossacarídeos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a prevalência de obesidade durante a gravidez varia de 1,8% a 25,3% e o número de mulheres grávidas obesas vem aumentando, o que representa uma ameaça para a saúde infantil. Vale ressaltar que apesar de uma possível variabilidade na sua composição em função do estado nutricional e reservas maternas, o leite materno é o alimento ideal nos seis primeiros meses de vida, sendo a melhor fonte de nutrientes e oligossacarídeos não nutritivos para o recém-nascido. (NELSON et al., 2010; OMS, 2013; O'REILLY, REYNOLDS, 2013).

Por este motivo, torna-se importante avaliar os constituintes do leite materno e os possíveis fatores que possam interferir em sua composição, tais como o ganho de peso gestacional. Sendo assim, é necessário contextualizar a ocorrência de possíveis variações nos constituintes desse biofluido em função do estado nutricional materno, uma vez que esses oligossacarídeos têm um papel importante na modulação intestinal e imunidade infantil.

Desse modo, este estudo tem como objetivo avaliar o estado nutricional materno sobre a concentração de precursores de oligossacarídeos não digeríveis do colostro de puérperas atendidas em um hospital amigo da criança do município de Maceió - AL.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Composição e fases do leite materno

O leite humano é considerado o alimento ideal, nos seis primeiros meses de vida, por fornecer quantidades ideais de macro e micronutrientes, além de compostos bioativos. É caracterizado por ser um fluido biológico que sofre uma grande variação em sua composição em relação aos componentes nutricionais e bioativos. Esses componentes se modificam ao longo do puerpério para atender as necessidades nutricionais e imunológicas da criança (BALLARD & MORROW, 2013; MOSCA & GIANNÌ, 2017).

Existem mais de 400 proteínas diferentes que desempenham diversas funções como a nutrição e atividades imunológicas. Apresenta proporções de aproximadamente 80% advindo da proteína do soro, a α -lactalbumina e apenas 13% de caseína, diferente do leite de vaca que apresenta quantidades superiores de caseína, isso porque os animais apresentam alta taxa de crescimento em pouco tempo, ao contrário do ser humano que apresenta uma taxa lenta em comparação a esses animais. Essas proteínas apresentam maiores quantidades nas primeiras semanas de vida com aproximadamente 2 g/100 ml e chegando próximo de a 1,2 g/100 ml ao longo da amamentação (ANDREAS et al., 2015; DONOVAN, 2019; AMARAL, 2017).

Em relação aos carboidratos existem os nutritivos e não nutritivos, dentre os nutritivos a lactose é mais abundante correspondendo a cerca de 45 a 50% do conteúdo energético total, conseqüente da alta demanda energética do cérebro infantil. Este nutriente apresenta correlação positiva com o volume de leite produzido, de modo que a quantidade de lactose presente no colostro é menor do que a quantidade encontrada no leite humano maduro. E os não nutritivos como os oligossacarídeos podem variar 15 a 25g/L ao longo da lactação.

Os lipídios são a principal fonte energética fornecida pelo leite materno, cerca de 50% do valor energético, correspondendo em torno de 25 g/dia para a idade até 6 meses. É constituído principalmente por triacilgliceróis (98%) e o restante consiste em diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, fosfolipídios e colesterol. (AMARAL, 2017; ANDREAS et al., 2015; DEMMELMAIR et al., 2018; KOLETZKO et al., 2001)

De acordo com o tempo de pós-parto o leite materno vai assumindo características diferentes e se adaptando às necessidades do bebê. Conforme o estágio de lactação, ele pode ser dividido em 3 fases: colostro, leite de transição e maduro. A literatura difere as fases de

acordo com o período, porém segundo a organização mundial da saúde, o colostro é produzido entre o 2º e 3º dia pós-parto, o de transição do 7º ao 14º dia pós-parto e o maduro a partir do 14º dia (FERREIRA et al., 2020; WHO, 2009).

O colostro é o estimulador imunológico natural mais potente conhecido pela ciência é secretado em pequeno volume, apresenta coloração que pode ser mais clara e amarelada comparada ao leite maduro. É formado por nutrientes e majoritariamente por compostos bioativos. Esses possuem maior função imunológica do que nutritiva em relação às outras fases e contém enzimas como lisozima, lactoferrina, imunoglobulinas, sobretudo as IgA, citocinas, componentes do sistema complemento, leucócitos, oligossacarídeos, nucleotídeos, lipídeos e hormônios (ANDREAS et al., 2015; PALMEIRA & CARNEIRO-SAMPAIO, 2016).

2.2. Oligossacarídeos não digeríveis do leite humano

Os oligossacarídeos do leite humano (OLH) são carboidratos não digeríveis produzidos pelo tecido mamário e o terceiro maior componente sólido da secreção láctea, está presente em maior quantidade no colostro, cerca de 20-25 g/L e com concentração em torno de 5 a 15g/L no leite maduro. São formados por cinco monossacarídeos principais: galactose, glicose, N-acetilglucosamina, fucose e o ácido N-acetil-neuramínico (BODE, 2015, FERREIRA et al., 2020; SHOKRYAZDAN et al., 2017).

Esses glicanos não conjugados são altamente abundantes no leite humano, porém são menos encontrados nas fórmulas infantis. Mais de 200 OLH estruturalmente distintos foram identificados, podendo estes ser ácidos, quando tem o ácido siálico em sua porção terminal e neutros fucosilados quando apresentam fucose e neutros não fucosilados quando apresentam N-acetilglucosamina na porção terminal. Sua composição segue um projeto básico, onde todos os oligossacarídeos tem uma parte fixa, com a lactose na sua extremidade redutora e podem ser alongados na sua extremidade não redutora em unidades de dissacarídeos lacto-N-Biose ou N-Acetilglicosamina e modificados por um ou mais resíduos de fucose ou ácido siálico, como visto na figura 1 (BODE, 2012).

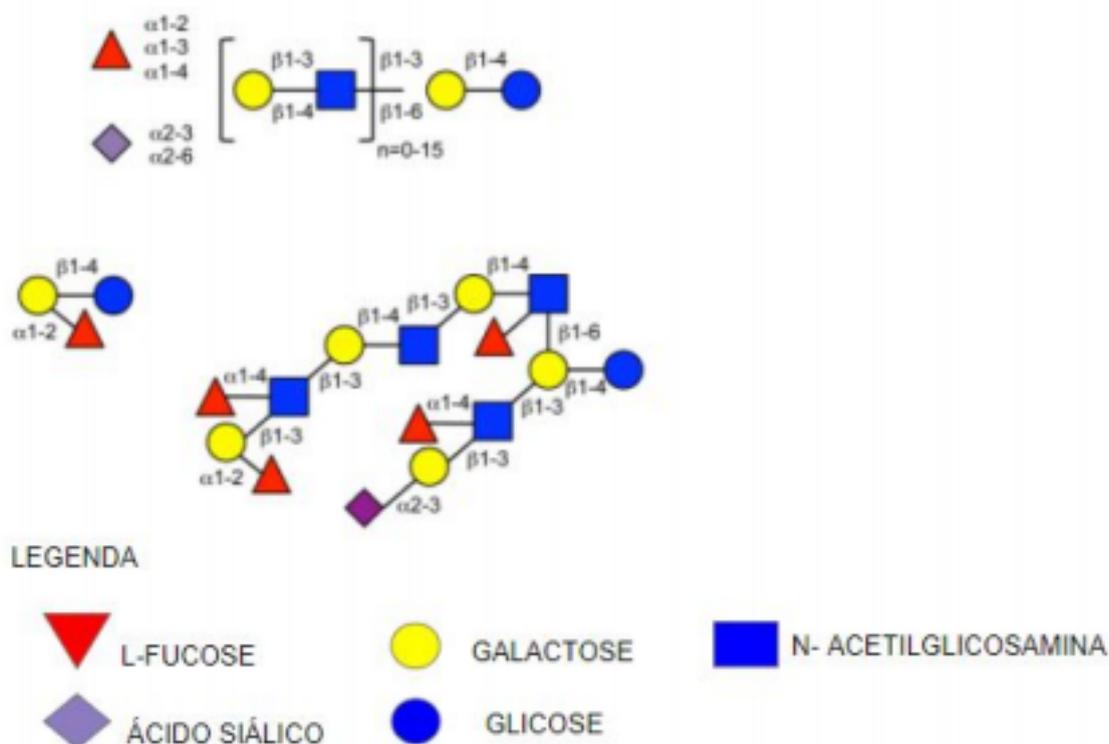


Figura 1. Composição e estrutura geral dos oligossacarídeos do leite humano.

Fonte: (BODE, 2012).

2.3. Monossacarídeos sialilados e fucosilados do leite humano

Os monossacarídeos sialilados, comumente conhecido como ácidos siálicos (AS), são compostos por nove carbonos funcionais derivados do ácido neuramínico e estão presentes nas secreções, fluidos e tecidos de mamíferos, como monômeros de oligossacarídeos sialilados ou na sua forma livre. O leite materno humano contém 0,3-1,5 mg / ml de ácido siálico e boa parte, 75% estão ligados aos oligossacarídeos. A maior parte desse ácido contido no leite é encontrada na forma de sialilactose, um oligossacarídeo formado a partir da conjugação com a lactose. (NAKANO T., SUGAWARA M., KAWAKAMI H., 2001; ZHANG X. et al., 2019; WANG S. et al., 2019).

O mesmo apresenta importante função na viscosidade de secreções mucosas, que agem como lubrificantes e agentes defensivos em cavernas corporais ou na superfície corporal. Na superfície celular também podem ser importantes para proteção contra a colonização bacteriana e infecção subsequente de células epiteliais respiratórias devido à sua capacidade de alterar a agregação celular (ZHANG X. et al., 2019; WANG S. et al., 2019).

Outro monossacarídeo existente no leite materno é a fucose que dá origem aos OLH

neutros e suas ligações podem sofrer alterações conforme a genética materna, de acordo com o grupo Secretor (Se) e grupo sanguíneo de Lewis (Le), sendo eles os grandes responsáveis pelas variações na composição desses OLH. São caracterizadas como secretoras aquelas relacionadas à fucolização do OLH que possuem os genes secretores, produzindo predominantemente a enzima fucosiltransferase 2 (FUT 2) ativa, com aumentos nas concentrações de OLH fucosilados como o 2'-fucosilactose (2'FL) e o Lacto-N-Fucopentaose 1 (LNFP 1). E não secretoras aquelas que apresentam concentrações muito baixas de 2'FL ou LNFP1 e possuem o gene de Lewis que codifica a expressão da enzima fucosiltransferase 3 (FUT3) que sintetiza 3'-fucosilactose (3'FL) e Lacto-N-Fucopentaose 4 (LNFP 4) (BODE & JANTSCHER-KRENN, 2012; DÍAZ et al, 2018; FERREIRA, 2020; WANG, 2020).

Assim como os ácidos siálicos, que apresentam ações importantes, os OLH fucosilados também têm funções fisiológicas com impacto na saúde do lactente. Eles podem funcionar como prebióticos e com isso estimular o crescimento de bactérias benéficas no intestino, sendo eles capazes de secretar metabólitos benéficos, como os ácidos graxos de cadeia curta, reprimindo assim o crescimento de microrganismos indesejados e regulando a microbiota gastrointestinal. E por isso é considerado um antimicrobiano potente e capaz de modular processos imunológicos e respostas inflamatórias, além de melhorar as habilidades de aprendizagem e memória (WAN et al., 2020).

2.4. Variações na composição dos OLH em função do IMC materno

Os OLH podem sofrer variações de acordo com a idade e fatores genéticos maternos, tempo pós-parto, índice de massa corporal materno (IMC), ganho de peso gestacional e estágio de lactação mesmo em mulheres saudáveis como mostram alguns estudos (SPRENGER; BINIA; AUSTIN, 2019). O estado nutricional pré-gestacional vem sendo associado a variações na composição de micronutrientes e compostos bioativos do leite materno. Alguns estudos recentes têm demonstrado uma relação entre o IMC pré-gravidez e mudanças na constituição do OLH. Porém, a maioria dessas pesquisas foram realizadas com leite de transição, como é o caso da coorte feita por Langström et al (2020) que analisaram a relação entre a composição do OLH 3 meses após o parto com o IMC pré-gestacional materno, onde foram encontradas relação positiva entre a IMC materno e a concentração de 2'-fucosilactose e negativa com lacto-N-neotetraose, após ajustes para as características materna.

De acordo com estudo feito por Larsson, M. W. et al., (2019) observou-se que em relação ao IMC as concentrações de lacto-N-Hexaose (LNH) e difucosyl-lacto-N-Tetraose eram maiores em mães com sobrepeso e obesidade em comparação com mães eutróficas. O aumento do IMC materno com 5 meses pós-parto foi positivamente associado com OLH total, fucose ligada a OLH, bem como 2'-fucosilactose mais abundante, e negativamente associado a sialyl-lacto-N-Tetraose e 6'-sialyllactose.

No estudo feito por Saben et al.,(2021) com 2 meses após o parto mostrou resultados semelhantes aos do Larsson, M. W. et al.,(2019) em que com mães com sobrepeso e obesidade apresentaram OLH siliados menores em comparação às mães com eutróficas, sendo o 3-sialilactose, significante menor em mães com sobrepeso em relação aos grupos de eutrofia e obesidade e o disialilactose-N-hexaose (DSLNH) foi menor em mulheres obesas. Já em relação ao OLH fucosilados, o 3'fucosilactose foi maior em mães obesas, mas outros como fucosilactose-N-hexaose (FLNH), difucosilactose-N-tetrose (DFLNT) e disialilactose-N-hexaose (DSLNH) foram menores em relação a eutrofia e sobrepeso.

Outra pesquisa realizada por Mcguire et al. (2017) mostrou que quanto maior o IMC da mãe, maiores as concentrações de 6'-sialilactose, fucodisialilactose-N-hexa e o disialilactose-N-hexaose e menores as concentrações de 2' fucosilactose. Já de acordo com a coorte feita por Ferreira, et al. (2020) o IMC pré-gravidez e o peso pré-gravidez foram diretamente correlacionados com lacto-N-neotetraose em 2–8 dias e foi inversamente correlacionado com 3-fucosilactose, lacto-N-fucopentaose e difucosilactose-N-hexaose. E por fim, segundo Bode (2012) a quantidade total de OLH é significativamente menor em mulheres com IMC entre 14 e 18 do que em mulheres com IMC entre 24 e 28.

2.5. Benefícios dos OLH para a saúde e o desenvolvimento infantil

Os OLH têm a capacidade de resistir ao pH do estômago, bem como à degradação de enzimas pancreáticas da borda em escova no intestino delgado. Desse modo, conseguem ser fermentáveis para a microflora intestinal específica o que lhes confere a característica de prebióticos. Assim, são capazes de manter um equilíbrio e estimular o crescimento e a atividade das bactérias benéficas no intestino como os *bifidobacterium* e *lactobacillus* e reduzir as populações de organismos patogênicos no intestino, já que esses microrganismos não conseguem utilizar os OLH. Um benefício direto é o aprimoramento da função imunológica do lactente, reduzindo as infecções causadas por bactérias patogênicas que se

encontram em menor número. Além disso em alguns estudos de cultura de células e outros demonstrados em ratos foi observado que a produção de butirato pelas bactérias consegue inibir significativamente a produção de interferon de citocinas pró-inflamatórias (IFN- γ) e interleucina (IL-2) em linfonodos mesentérico, controlando a inflamação e assim agindo como mais um fator protetor para o sistema imunológico (BODE, 2019 ; SHOKRYAZDAN et al., 2017).

Uma outra função é a capacidade de modular a imunidade neonatal alterando as células epiteliais e imunológicas do hospedeiro, modificando assim as respostas imunológicas, agindo também como receptores solúveis, pois compartilham muitas características estruturais permitindo que os OLH imitem os glicanos da superfície epitelial, bloqueando a ligação de vários patógenos como os *Campylobacter jejuni* , *Escherichia coli* bem como parasitas protozoários *Entamoeba histolytica* , fazendo com que os receptores de superfície celular intestinal, em vez de se ligar a essa superfície se liguem em iscas solúveis dos OLH e conseqüentemente não conseguem causar doenças (BODE, 2019; TRIANTIS et al., 2018).

Além desse bloqueio a superfície das células a porções de carboidratos contendo fucose possuem outras atividades, como a regulação de respostas via a influência de diferentes células do sistema imune, como promovendo as células Th2 responsáveis pela produção de anticorpos. *in vitro* foi demonstrado que os fucosilados diminuíram os níveis de pró-inflamatórios IL-12 derivada de macrófagos e IFN-g, e aumentou o nível de IL-10 que promove a polarização Th2. LNFP 1, também estimula Th2 , LNPF 3 promovem significativamente a resposta Th2 *in vivo* e demonstrado *in vitro* aumentando o recrutamento de macrófagos supressores e maturação da célula dendrítica, conduzindo as células T auxiliares a produzirem mais IL-4 que atuam em uma complexa rede de mecanismos regulatórios frente a diversos patógenos entre eles infecciosos e alérgenos , além de ativar as células natural killer (NK), que são responsáveis pela lise de vírus (MESQUITA JUNIOR et al., 2010; TRIANTIS et al., 2018).

O 2'-fucosilactose *in vitro* é capaz de diminuir os níveis de mRNA e a forma de CD14 ligada à membrana que é um co-receptor para lipopolissacarídeos bacterianos (LPS) levando a diminuição da inflamação induzida por LPS durante a infecção de algumas bactérias patogênicas que causam diarreias e algumas doenças urológicas, como por exemplo a *E. coli*. Os OLH sialilados *in vitro* mostrou também influência de condução de Th2, um ou dois

resíduos de ácido siálico reduziu significativamente o complexo de neutrófilos de plaquetas, com isso regulando a inflamação e assim prevenindo a enterocolite necrosante em recém-nascido amamentado (KULINICH et al., 2016).

Cerca de 1% desses OLH são absorvidos e tem ação sistêmica, dentre elas a proteção contra infecções do trato respiratório, incluindo otite média, infecção do trato urinário, sepse neonatal e enterocolite necrosante tem sido bem evidenciada durante a lactação. Isso acontece devido a componentes protetores do leite materno, estando entre estes os oligossacarídeos, que oferecem, entre suas funções, um papel protetor contra as doenças respiratórias e urinárias (PALMEIRA; CARNEIRO-SAMPAIO, 2016; KULINICH et al., 2016). Os OLH demonstraram ser capazes de aumentar a resposta antiviral inata, além de diminuir a infecção viral e inflamação das vias aéreas em humanos, reduzindo notavelmente a carga viral, bem como os níveis de citocinas que estão associados à gravidade da doença. Eles reduzem a invasão bacteriana e protegem as células de danos induzidos por bactérias, prevenindo a ação de enzimas que medeiam a morte celular. Isso levou os autores a propor que o OLH reduz os danos ao tecido epitelial da bexiga, além de funcionar como suporte na manutenção de um trato urinário saudável (KULINICH et al., 2016). Ademais, vários OLH foram encontrados na urina e no plasma de bebês amamentados, mas não em bebês alimentados com fórmula, provavelmente relacionados à ação sistêmica desses compostos no organismo infantil (GOEHRING et al., 2014).

Além das funções imunológicas e na microbiota do neonato, os OLH estão associados com o crescimento infantil e composição corporal. Os oligossacarídeos sialilados do leite humano enriquecem o sistema imunológico imaturo do recém-nascido e são essenciais para o seu desenvolvimento adequado (FERREIRA et al., 2020; LIS-KUBERKA & ORCZYK-PAWILOWICZ, 2019). Observou-se que OLH específicos estão relacionados com peso infantil, massa magra e massa gorda, o lacto-N-neo-tetraose está negativamente associado com gordura corporal e peso corporal, já 2'FL foi positivamente associado com o ganho de peso infantil (BODE, 2020).

Larsson et al. (2019) verificou que a composição do OLH estava associada com a velocidade de crescimento e mudança na composição corporal de neonatos. Observou-se que as concentrações de OLH total, bem como a fucose ligada ao OLH total em 5 meses foram positivamente associadas com o índice de massa gorda e velocidade de peso de 0 a 5 meses. Já 2'-fucosilactose (2'-FL) foi positivamente associada à velocidade de peso de 0 a 5 meses e

índice de massa gorda em 5 meses. Outro estudo, sendo esse brasileiro, desenvolvido por Tonon et al. (2019), mostrou que o peso de crianças entre 17 e 76 dias de vida foi inversamente relacionado com as concentrações de 3'-sialilactose no leite de mães secretoras. Uma coorte com 802 mães feita por Lagström H (2020) observou-se que composição do OLH três meses após o parto foi associada à altura e peso durante os primeiros 5 anos de vida em filhos de mães secretoras, a concentração de lacto-N-neo-tetraose (LNnT) foram inversamente associadas e a de 2'-fucosilactose (2'FL) foi diretamente associada aos escores z de peso e altura da criança. Em ambos os estudos a 2'-fucosilactose tem relação positiva com o ganho de peso infantil, alguns OLH também contribuem na prevenção de excesso de peso através da saciedade e um maior gasto energético. (NIE, et al. 2020)

Estudos recentes mostram que os OLH podem servir para melhorar a cognição e o desenvolvimento cerebral. Um revisão com o objetivo sintetizar as descobertas sobre os efeitos dos OLH na memória e cognição em ratos, camundongos e leitões, observou-se que a administração de fucosilado, único ou combinado com Lacto-N-neo-Tetraose e outros oligossacarídeos e também os sialilados resultam em melhorias marcantes na memória espacial e uma taxa de aprendizagem acelerada em tarefas operantes, como também, efeitos benéficos de longa duração na memória e cognição em mamíferos (DOCQ S et al., 2020). Wang et al., (2019) acharam maiores concentrações no cérebro de metabólitos e neurotransmissores considerados importantes marcadores de neurodesenvolvimento, como o glutamato e a glutamina, em leitões alimentados com OLH sialilados.

Alguns OLH possuem em sua estrutura uma ou mais moléculas de ácido siálico, que são classificados como oligossacarídeos ácidos, temos como exemplos os 3'-SL-3'-sialilactose; 3'-S, 3-FL-3'-sialil-3-fucosilactose; 6'-SL — 6'-sialilactose; DS-LNT - disialilacto-N-tetraose; LST - sialilacto-N-tetraose. (LIS-KUBERKA & ORCZYK-PAWIŁOWICZ, 2019). Tornando-se fontes de ácido siálico, que é um nutriente essencial para o desenvolvimento ideal cerebral e cognitivo. Além dos sialilados, os L-fucose e 2'-FL também estimulam o desenvolvimento do cérebro (HEGAR et al., 2019).

Durante a infância o cérebro e o sistema nervoso central apresentam um nível considerável de ácido siálico, onde desempenham papéis importantes na expressão e no desenvolvimento de suas funções. Como inibir a adesão de toxinas, bactérias e vírus aos receptores na superfície das células epiteliais, e efeitos promotores de crescimento em bifidobactérias e lactobacilos, predominantemente presentes na flora intestinal de bebês

alimentados com leite humano (ZHANG X. et al., 2019; WANG S. et al., 2019).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.2. Tipo de Estudo e local de realização

Estudo transversal realizado na Maternidade Nossa Senhora da Guia, instituição de saúde localizada no 1 Distrito Sanitário, sendo caracterizada pela prestação de serviços obstétricos às gestantes de baixo risco de todo o estado de Alagoas, através do Sistema Único de Saúde. Único hospital reconhecido pelo UNICEF como Amigo da Criança em Maceió, apresentando 80 leitos, posto de coleta de leite humano e equipe multidisciplinar capacitada para estimular o parto normal e o aleitamento materno.

3.2. Critério de inclusão

Foram incluídas puérperas na faixa etária de 20 – 40 anos, que apresentaram gestação de feto único, nascido vivo, com idade gestacional ≥ 37 semanas, sem enfermidades infectocontagiosas ou intercorrências clínicas gestacionais, estando as mesmas internadas por ocasião do trabalho de parto.

3.3. Cálculo do tamanho amostral

Para o cálculo do tamanho da amostra utilizou-se o referencial de 15% de diferença entre constituintes prebióticos do leite de mães em função do IMC. Sendo assim, considerando-se 15% o tamanho do efeito, um erro amostral de 5%, intervalo de confiança de 95% e um power de 80%, o N estimado foi de 77 mulheres, razão pela qual arredondamos para 80 participantes, visando obter 20 mães para as 4 diferentes categorias de IMC. Vale ressaltar que o tamanho amostral ainda é superior ao encontrado em outros estudos publicados^{1,2} que tratam de avaliação de metabólitos do leite humano por ressonância magnética nuclear (RMN), técnica utilizada em nosso trabalho.

¹ PERRONE, S. et al. Breast milk: to each his own. From metabolomic study, evidence of personalized nutrition in preterm infants. *Nutrition*. 2019 Jun; 62:158-161.

² DESSI, A. et al. Metabolomics of Breast Milk: The Importance of Phenotypes. *Metabolites* 2018, 8, 79.

3.4. Coleta de dados

A abordagem inicial das pacientes que atendiam os critérios de inclusão foi realizada por uma das pesquisadoras do estudo com supervisão direta de uma nutricionista em até 48 horas após o parto. Nesta ocasião explicou-se a puérpera os objetivos do estudo e foi perguntado sobre a sua disponibilidade em participar da pesquisa, mediante o consentimento por escrito ou por meio de impressão datiloscópica no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

Uma vez autorizada sua participação, a puérpera respondeu às perguntas feitas por uma de nossas colaboradoras, de acordo com um questionário (APÊNDICE B) previamente estabelecido e ao fim desta entrevista foi coletado o colostro, conforme descrito a seguir.

3.5. Delineamento do estudo

3.5.1. Avaliação do estado nutricional materno

Para avaliar o estado nutricional materno na gestação foram utilizadas as informações obtidas no cartão de acompanhamento do pré-natal e/ou prontuário da puérpera. Variáveis como estatura, peso pré-gestacional e peso atual foram coletadas para classificação das pacientes de acordo com o IMC pré-gestacional em baixo peso, eutrofia, sobrepeso ou obesidade e desta forma quantificar o ganho de peso ao longo da gestação e verificar se este se encontrava dentro do esperado segundo as recomendações do IOM (2009) demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Ganho de peso (kg) recomendado durante a gestação segundo estado nutricional materno inicial.

| Estado Nutricional pré-gestacional (IMC) | Ganho de peso semanal médio no 2º e 3º trimestre | Ganho de peso total na gestação |
|--|--|---------------------------------|
| Baixo Peso < 18,5 Kg/m ² | 0,510 kg (440 – 580) | 12,5 - 18,0 kg |
| Adequado > 18,5 ≤ 24,9 Kg/m ² | 0,420 kg (350 – 500) | 11,5 - 16,0 kg |
| Sobrepeso > 24,9 Kg/m ² | 0,280 kg (230 – 330) | 7,0 - 11,5 kg |
| Obesidade >30,0 Kg/m ² | 0,220 kg (170 – 270) | 5,0 - 9,0 kg |

Fonte: INSTITUTE OF MEDICINE, 2009.

3.5.2. Obtenção do colostro e pré-preparo para as análises

A coleta de colostro (3 mL) foi realizada ainda na maternidade, no período da manhã, sendo o mesmo extraído pela própria puérpera, por expressão manual de única mama, não sugada previamente, diretamente para um tubo de ensaio com tampa. As amostras de colostro foram congeladas imediatamente após a coleta (-20°C) e posteriormente armazenadas em -80°C até a análise, quando então elas foram descongeladas à temperatura ambiente e vortexadas vigorosamente para ressuspender os glóbulos de gordura do leite.

Em virtude da pandemia causada pelo COVID-19 os técnicos do laboratório estavam atuando de forma remota. Devido a isso foi utilizado uma subamostra com N igual a 40 das 80 amostras coletadas, para essa escolha foi realizado um sorteio aleatório onde foram selecionadas 10 amostras de cada grupo, sendo eles, baixo peso, eutrofia, sobrepeso e obesidade.

3.5.3. Extração de fase dupla

Dois mililitros de uma mistura clorofórmio/metanol na proporção de 2:1 foi adicionado a 400µL de leite materno. Essa mistura foi agitada em vórtex e 600µL de água foi adicionada. As amostras foram então centrifugadas por 10 min a 16 000xg. Este método produz duas fases e metabólitos divididos nas diferentes fases de acordo com a sua polaridade. Ambas as fases foram separadas e evaporadas usando um rota-evaporador para a fase orgânica e usando um liofilizador para a fase aquosa. Depois de secas, as fases foram congeladas a - 80°C até análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

3.6. Preparação das amostras de colostro para análise por Ressonância

O extrato seco da fase aquosa foi reconstituído em 600 µL de tampão fosfato D₂O, pH 7,2, com ácido 3-trimetilsilil propiônico (TSP) como padrão interno. O extrato seco da fase orgânica foi reconstituído em 600 µL de clorofórmio deuterado com tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. As fases reconstituídas foram transferidas para tubos de RMN de 5 mm de diâmetro para análise por espectroscopia de RMN. Uma amostra de controle de qualidade

foi preparada agrupando 50 μL de cada uma das amostras.

3.7. Análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As amostras de leite materno foram analisadas no Núcleo de Análise e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear da UFAL em um espectrômetro Bruker AVANCE operando a 600 MHz na frequência do hidrogênio. A água deuterada (D_2O) foi usada para o chaveamento do campo magnético (“lock”). A sequência de pulsos de pré-saturação do sinal residual da água (NOESYGPPR) foi usado para otimização das análises metabolômica dos biofluidos. Para a identificação dos metabólitos foram utilizados experimentos de RMN bidimensionais, tais como, J-resolvido COSY ^1H - ^1H , TOCSY ^1H - ^1H , HMBC ^1H - ^{13}C e HSQC EDITADO ^1H - ^{13}C com o auxílio do programa Chenomx e Human Metabolome Data Base (HMDB).

3.8. Análise Estatística Multivariada

Os espectros de RMN ^1H otimizados foram reduzidos (δ 0,3-10,0 ppm) e divididos em regiões de largura (bucket = 0,0005 ppm), normalizados e alinhados através do programa MATLAB versão 2015a. As regiões de δ 4,7-5,0 ppm foram excluídas da análise devido ao sinal residual da água. As análises de componentes principais (PCA) e análises discriminantes ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) foram utilizadas para a identificação de agrupamentos e identificação dos biomarcadores correspondentes ao perfil metabólico das mães, via secreção da sua glândula láctea - colostro (*oligossacarídeos, proteínas, ácidos graxos e compostos bioativos*). A PCA e OPLS-DA foram realizadas com o emprego do software SIMCAP (versão 14.0, Umetrics, Umeå, Suécia). A análise de variância (ANOVA) e o teste t pareado foram realizados no programa R studio.

3.9. Aspectos Éticos

O projeto de pesquisa foi submetido à Plataforma Brasil pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas, aprovado em 28 de fevereiro de 2020, com Certificado de Apresentação de Apreciação Ética – CAAE 3.890.492.

4. RESULTADOS

Foram entrevistadas 80 puérperas entre 20 e 40 anos, com idade média de $25,3 \pm 3,8$

anos. A maior parte das pacientes preferiu morar com o companheiro e menos de 50% possuíam ensino médio completo. Referente à classe social e renda mensal verificamos uma prevalência de puérperas de baixa renda, com 63% classificadas na classe D com uma renda familiar de até 2 salários mínimos mensais. O acesso facilitado aos serviços de saúde se mostra um ponto positivo observado, pois 92% afirmaram residir próximo a unidades básicas de saúde, facilitando o acesso.

Tabela 2. Características demográficas e socioeconômicas de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió - AL, 2020.

| VARIÁVEIS | N (80) | Média | DP | % |
|---------------------------------------|--------|------------|-----|-------|
| Faixa etária | | 25,82 | 3,8 | |
| 20 - 29 anos | 68 | | | 85,00 |
| 30 - 40 anos | 12 | | | 15,00 |
| Situação conjugal | | | | |
| Mora com o companheiro/pai da criança | 65 | | | 81,25 |
| Solteira | 15 | | | 18,75 |
| Número de membros na família | | | | |
| 2 a 3 | 19 | | | 23,75 |
| 4 a 6 | 53 | 4,48 | 1,5 | 66,24 |
| >7 | 8 | | | 10,00 |
| Escolaridade | | | | |
| Ensino fundamental incompleto | 22 | | | 27,50 |
| Ensino fundamental completo | 6 | | | 7,50 |
| Ensino médio incompleto | 14 | | | 17,50 |
| Ensino médio completo | 30 | | | 37,50 |
| Superior incompleto | 3 | | | 3,75 |
| Superior completo | 5 | | | 6,25 |
| Renda média mensal | | | | |
| Salário | - | 1.743,42\$ | | - |
| Até 2 SM (CLASSE D) | 51 | | | 63,75 |
| > 2 sm ≤ 4 sm (CLASSE C) | 11 | | | 13,75 |
| > 4 sm ≤ 10 sm (CLASSE B) | 3 | | | 3,75 |
| Não possui renda | 3 | | | 3,75 |
| Não sabe informar | 12 | | | 15 |
| Fornecimento de água | | | | |
| Sim | 77 | | | 96,25 |
| Não | 2 | | | 2,50 |
| Acesso ao serviço de saúde | | | | |
| Sim | 74 | | | 92,50 |
| Não | 6 | | | 7,50 |
| Gestacional | | | | |

Ao analisar a tabela acima, é possível observar que a maior parte das puérperas com baixo peso (42,8%), tiveram ganho de peso abaixo do recomendado na gestação, resultado semelhante também é encontrado para as eutróficas (41,3%), que apesar de seu estado nutricional estar adequado, não houve ganho de peso recomendado para o período da gestação. Quanto às puérperas com sobrepeso, mais da metade (52,0%) ganharam peso acima do preconizado para todo o período gestacional. Quanto às mães obesas (44,4%), apresentaram ganho de peso adequado. Em virtude da não obtenção do peso pré-gestacional de 3 puérperas da amostra, não foi possível a quantificação do ganho de peso gestacional, sendo esta composta por apenas 77 mães.

Para a realização das Análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) da fase aquosa do LM foram selecionadas 40 amostras. Para os escores da PCA (figura 2) foram formados por 4 grupos diferentes: 10 amostras de mães com sobrepeso (representado pela letra S – cor verde); 10 amostras de mães com Baixo Peso (representado pela letra B – cor azul); 10 amostras de mães com Eutrofia (representado pela letra E – cor vermelho); 10 amostras de mães com obesidade (representado pela letra O – cor amarela). Conforme apresentado, os escores da PCA dos grupos apresentaram-se de forma aleatória, não sendo possível a formação de agrupamentos entre os grupos das amostras de leite materno. Todavia, foram observados a presença de 3 outliers (pontos fora), sendo os três referentes às amostras de sobrepeso (escores em verde).

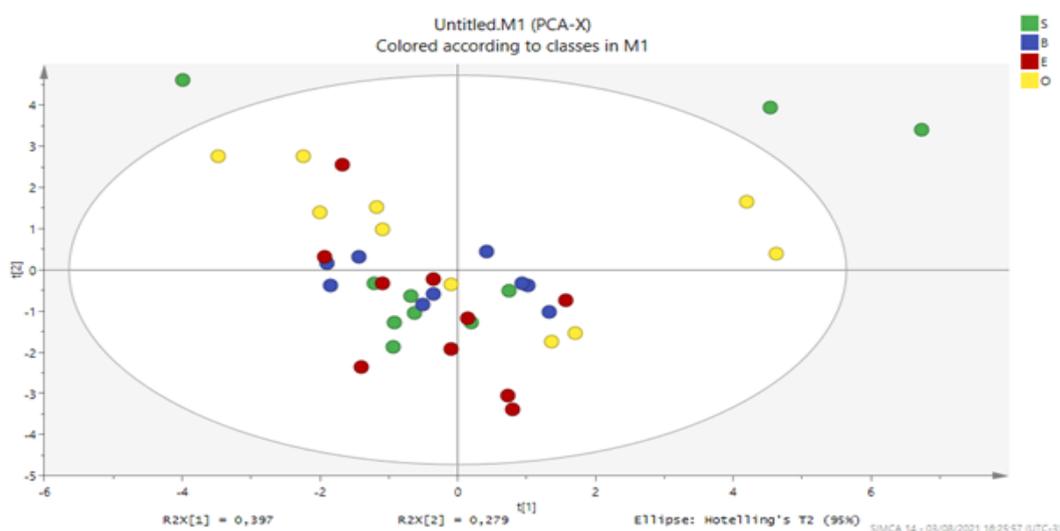
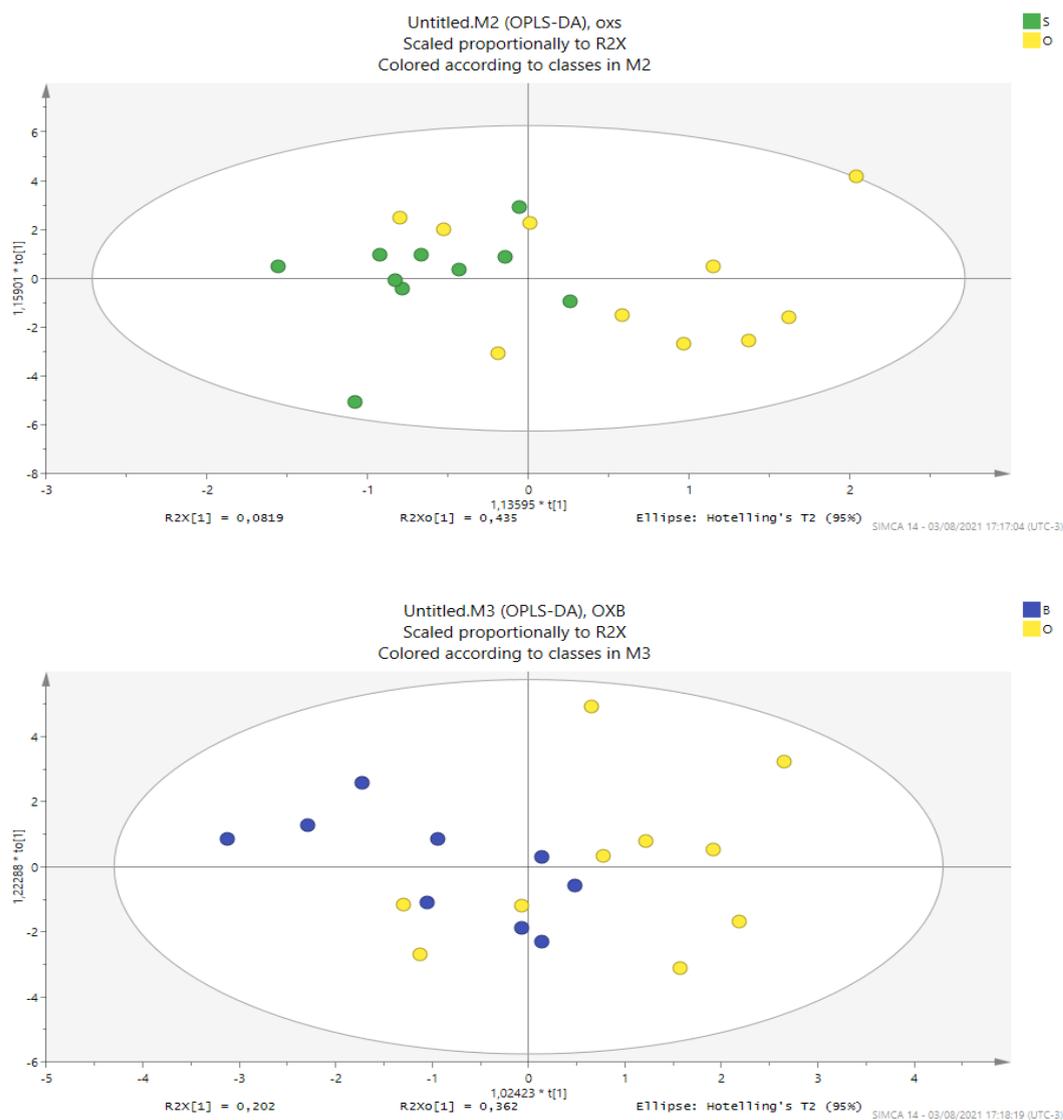
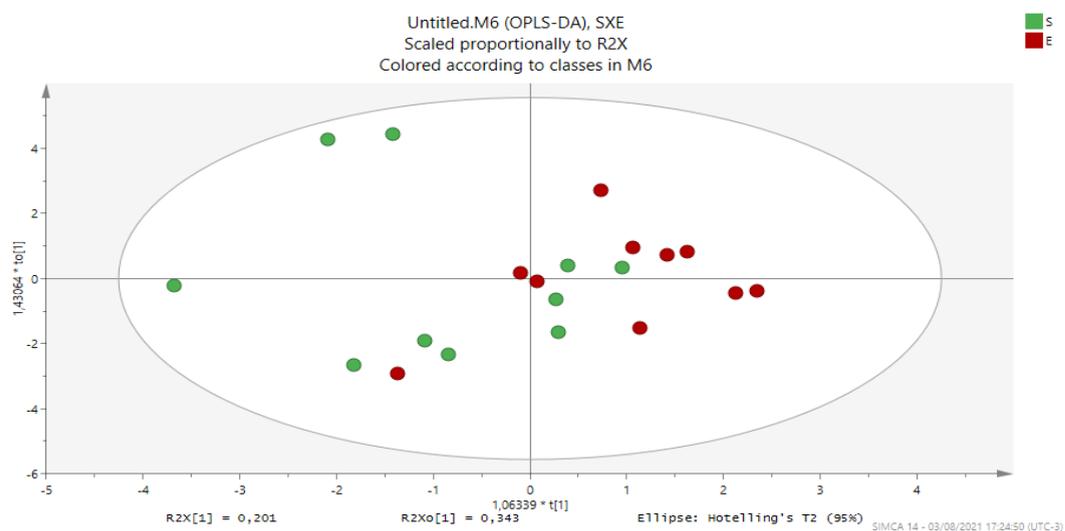
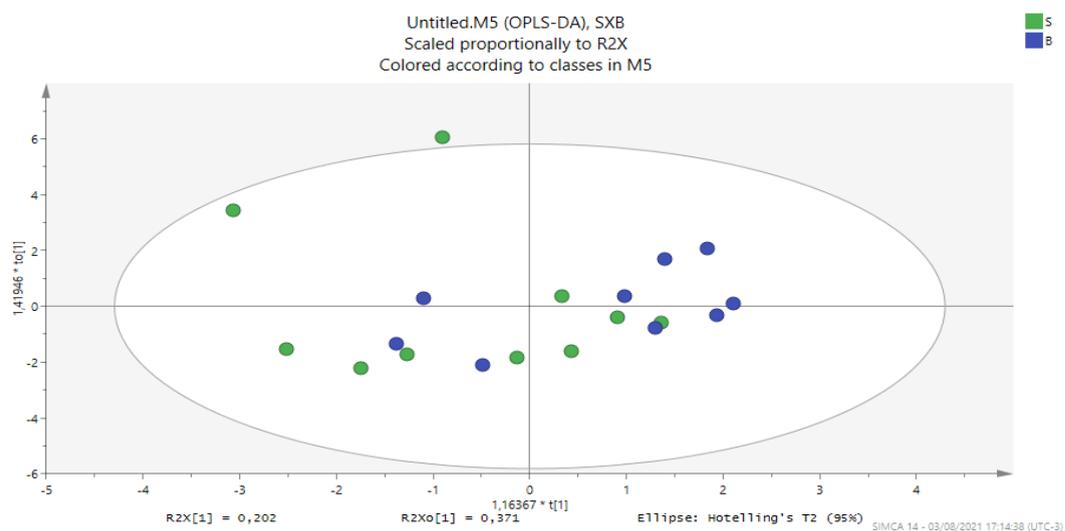
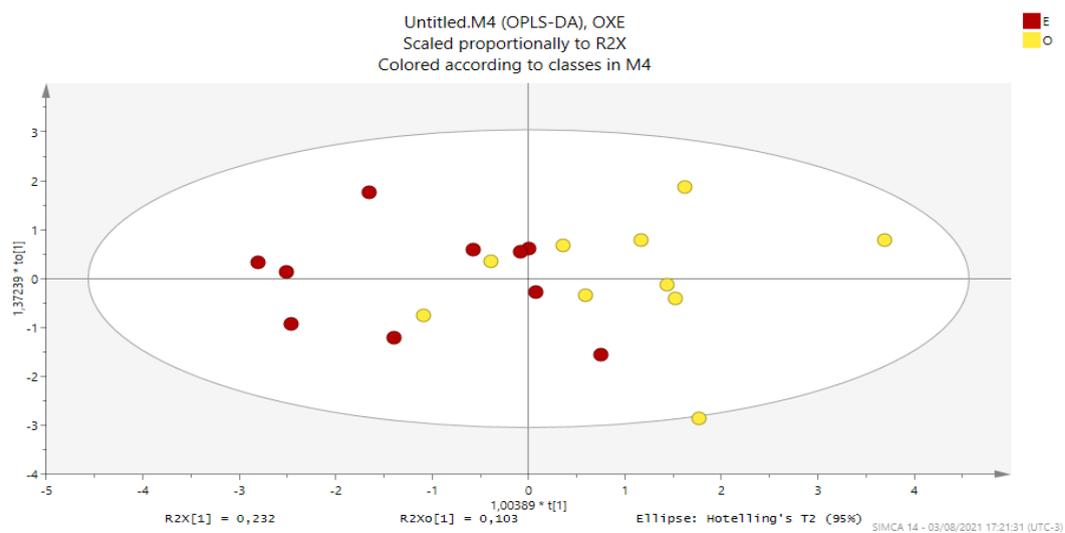


Figura 2 – Escores da PCA das amostras de leite materno em diferentes faixas de IMC.

Visando identificar diferenças entre os grupos, foram realizadas séries pareadas de análises discriminantes ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) pareando os grupos de amostras de leite materno das frações aquosas. As OPLS-DA foram realizadas da seguinte forma: grupo O *versus* grupo S (OxS); grupo O *versus* grupo B (OxB); grupo O *versus* grupo E (OxE); grupo S *versus* grupo B (SxB); grupo S *versus* grupo E (SxE) e grupo B *versus* grupo E (SxE). A validação das séries OPLS-DA foi realizada por meio da validação cruzada junto com a análise de variância (CV-ANOVA, $p < 0,05$). Os resultados das 6 séries pareadas OPLS-DA mostraram que não houve diferenças significantes, CV-ANOVA $p > 0,05$, indicando que não foi possível verificar diferenças entre as amostras de leite materno em relação a fase aquosa que é formada por aminoácidos e açúcares.





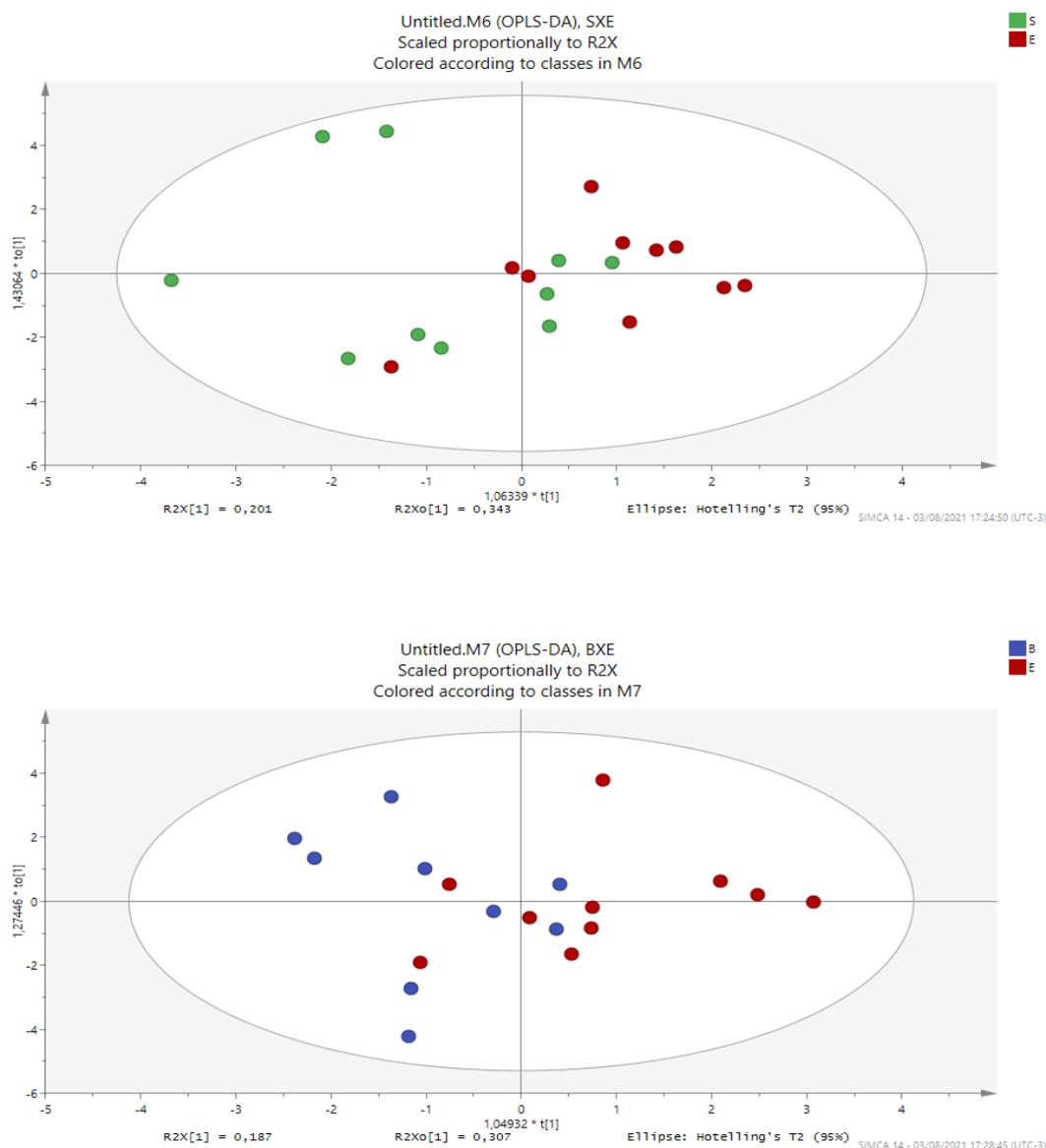


Figura 3 – Séries OPLS-DA pareadas entre os grupos estudados fase aquosa.

As análises multivariadas por meio da PCA e OPLS-DA não resultaram em diferenças significantes nos metabólitos encontrados nas amostras de leite materno em diferentes faixas de IMC. Devido a isto, decidiu-se avaliar o comportamento dos níveis dos 2 metabólitos, Ácido N-Acetilneuramínico e Fucose, identificados por meio dos gráficos boxplots, que foram construídos através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no programa matlab. O teste-T ($p < 0,05$) foi aplicado para verificar possíveis diferenças significantes entre

o pareamento dos grupos (B = baixo peso/ E = eutrofia / S = sobrepeso / O = obesidade) em relação a cada metabólito

Ao analisar os gráficos boxplots foi possível observar diferenças significantes com relação ao Ácido N-Acetilneuramínico e Fucose. Foi identificado altos níveis de Ácido N-Acetilneuramínico em mães obesas quando comparado a mães com baixo peso (OxB, $p = 0,019$) e mães com eutrofia (OxE, $p = 0,015$), já com relação a mães com sobrepeso (OxS, $p = 0,96$) não houve diferença significativa embora no gráfico boxplot apresente uma média do Ácido N-Acetilneuramínico maior para o leite de mães obesas. Os níveis de fucose apresentaram diferença significativa na comparação entre mães com baixo peso com mães com eutrofia (BxE, $p = 0,044$), sendo as mães com baixo peso com maior quantidade deste metabólito.

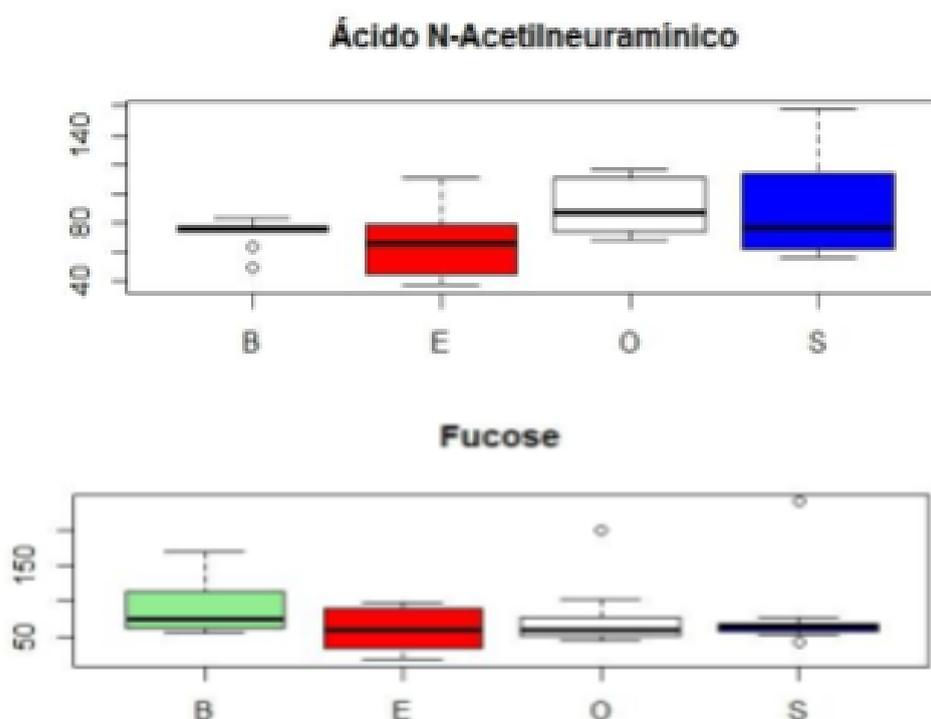


Figura 4. Concentrações relativas dos N-Acetil-L-Glutamina e fucose identificados da fase aquosa de leite materno de mães com diferentes pesos. (Teste t – pareado entre os grupos de diferentes pesos, O = Obesidade, E = Eutrofia, B = Baixo Peso e S = Sobrepeso, $p < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

Podemos observar que os metabólitos precursores para a produção de OLH, como fucose e ácido siálico, variam em função do estado nutricional materno. Foi possível

identificar maiores quantidades de fucose no leite de mães com baixo peso, em comparação com o leite de mães eutróficas ($p = 0,044$). Em um estudo feito com mães alemãs de Thurl et al. (2010), identificou que no grupo de mulheres com estado secretor positivo e na presença de fucose apresentou maiores sínteses de oligossacarídeos fucosilados com ligações no $\alpha 1,2$, visto também no estudo de Newburg et al. (2004) e Smilowitz et al. (2013). Presumindo assim que o gene secretor possa estar influenciando na presença da fucose. Esse monossacarídeo quando presente formando os oligossacarídeos neutros auxiliam na proteção imunológica prevenindo doenças que podem levar a morte nessa fase de vida, como a diarreia. (NEWBURG et al., 2004; THURL et al., 2010; THURL et al., 2017).

Larsson, M W et al., (2019) observou que o IMC materno com 5 meses pós-parto foi positivamente associado com OLH total, fucose ligada a OLH, bem como 2' -fucosilactose mais abundante, ou seja, quanto mais próximo do eutrofia maiores as concentrações de OLH fucosilados. Porém poucos estudos encontrados relataram a diferença da composição de OLM e compostos precursores de OLM no colostro em relação ao estado nutricional materno. Ninonuevo et al. (2008), observou em seu estudo que não há mudança significativa nem no total de OLM nem nos componentes individuais durante a primeira semana de lactação, as variações começam a ocorrer entre o segundo e terceiro mês, de modo que suas funções prebióticas podem ser as funções primárias, devido sua elevada quantidade e a produção constante.

Níveis mais altos de ácido N-Acetilneuramínico foram observados em mães obesas quando comparados a mães com baixo peso ($p = 0,019$) e mães com eutrofia ($p = 0,015$). O ácido N-Acetilneuramínico é a forma mais difundida de ácido siálico, carbonos funcionais importantes e monômeros de oligossacarídeos sialilados do leite humano (WANG S. et al., 2019). Cerca de 75% do ácido siálico presente no leite materno estão ligados a OLM e estes, podem ser classificados em OLM sialilados (neutros) ou não sialilados (ácidos) de acordo com a presença ou ausência de Ácido N-Acetilneuramínico (MOUKARZEL, BODE, 2016).

O ácido siálico pode ser encontrado no leite humano em maior quantidade ligado ao oligossacarídeo, mas também, em pequena quantidade ligado à proteína ou em sua forma livre. Segundo Wang et al (2001), as maiores concentrações de OLM são identificadas no colostro, chegando a 17,6 g / L e diminuindo continuamente, em contrapartida, de acordo com a revisão feita por Soyylmaz B et al. 2021, as maiores concentrações de oligossacarídeos

sializados principalmente o 6'-Sialilactose se encontra em maior quantidade no leite de transição.

Larsson et al. (2019) e Samuel et al. (2019) observaram em seus estudos que o leite materno de puérperas com IMC elevados, sobrepeso e obesidade, apresentaram maiores teores de OLM sialilados (3'SL e 6'GL), sialil-lacto-N-tetraose e 6'-sialilactose. Outra pesquisa realizada por McGuire et al., 2017 mostrou que quanto maior o IMC da mãe, maiores as concentrações de 6'-sialilactose, fucodisialilacto-N-hexa e o disialilacto-N-hexaose e menores as concentrações de 2' fucosilactose.

Crook et al. (1998) e Abdulazeez et al. (2010) relataram em suas pesquisas que mulheres com IMC mais elevados apresentam níveis séricos de ácido siálico significativamente maiores do que aqueles com baixo IMC, porque à medida que o IMC aumenta a quantidade de fluidos corporais aumenta. O que pode estar relacionado diretamente com a quantidade de AS e OLM sialilados presente em maiores quantidades no colostro de puérperas obesas. E assim sugere-se que nas mães obesas do presente estudo, poderia haver mais formação de OLM sialilados.

6. CONCLUSÃO

De acordo com o que foi observado neste estudo, os constituintes do leite humano podem variar em relação à composição corporal materna, tais como fucose e ácido siálico. Em mães obesas pode haver maior formação de OLM sialilados, devido à maior disponibilidade de ácido siálico presente no colostro e em mães com baixo peso maior proporção de OLH fucosilados, devido ao maior teor de fucose livre encontrado. Porém são necessários mais estudos que envolvam os monossacarídeos e os oligossacarídeos e suas variações em relação ao estado nutricional das mães no colostro, assim como a sua real funcionalidade no recém-nascido com evidências suficientes que expliquem os mecanismos dessas correlações.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, Y. N. DIVILLAROSA DO. A Influência das Morbidades Maternas nos Constituintes do Leite Humano: Um Estudo de Coorte. p. 113, 2017.

ABDULAZEEZ M. A.; ANIGO K. M.; NOK A. J. Body mass index in relation to sialic acid and lipid profile of some Nigerian students. **Asian J. Med.** 2010.

ANDREAS, N. J.; KAMPMANN, B.; MEHRING LE-DOARE, K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. **Early Human Development**, v. 91, n. 11, p. 629–635, 2015.

AZAD, M. B. et al. Human Milk Oligosaccharide Concentrations Are Associated with Multiple Fixed and Modifiable Maternal Characteristics, Environmental Factors, and Feeding Practices. **Journal of Nutrition**, v. 148, n. 11, p. 1733–1742, 2018.

BALLARD, O.; MORROW, A. - Human milk composition: nutrients and bioactive factors. **Pediatr Clin North Am**, 60, n. 1, p. 49-74, 2013.

BODE, L. Human Milk Oligosaccharides: Structure and Functions. Nestle Nutrition **Institute Workshop Series**, v. 94, p. 115–123, 2020.

BODE, L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. **Glycobiology**, v.22, n. 9, p. 1147-62, Sep 2012.

BODE, L.; JANTSCHER-KRENN, E. Structure-function relationships of human milk 7. oligosaccharides. **Adv Nutr**, 3, n. 3, p. 383S-391S, May 2012.

BODE, L. The functional biology of human milk oligosaccharides. **Early Human Development**, v. 91, n. 11, p. 619–622, 2015.

CHICHLOWSKI M, et al. The influence of milk oligosaccharides on microbiota of infants: opportunities for formulas. **Annu Rev Food Sci Technol**, 2011;2:331-51.

CROOK M.; LUMB P.; ANDREWS V.; SWAMINATHAN R. Serum total sialic acid, a reputed cardiovascular risk factor, and its relationship to lipids, plasma fasting insulin, blood pressure and body mass index in normal individuals. **Clinical Science** 1998.

DE OLIVEIRA TORRES, T.; GOMES, D. R.; MATTOS, M. P. Factors associated with food neophobia in children: Systematic review. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 39, 2020.

DESSI, A. et al. Metabolomics of Breast Milk: The Importance of Phenotypes. **Metabolites**. 2018, 8, 79.

DOCQ S. et al. The Protective and Long-Lasting Effects of Human Milk Oligosaccharides on Cognition in Mammals. **Nutrients**, 2020; 12(11):3572.

DONOVAN, S. M. Human Milk Proteins: Composition and Physiological Significance. **Nestle Nutrition Institute Workshop Series**, v. 90, p. 93–101, 2019.

DEMMELMAIR, H.; KOLETZKO, B. Lipids in human milk. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 32, n. 1, p. 57–68, 2018.

ERICK, M. Breast milk is conditionally perfect. **Medical Hypotheses**, v. 111, p. 82-89, 2018.

FERREIRA, A. L. et al. Human Milk Oligosaccharide Profile Variation Brazilian Cohort. **Nutrients**, v. 12, n. 3, p. 790, 2020.

GOEHRING, K. C. et al. Direct evidence for the presence of human milk oligosaccharides in the circulation of breastfed infants. **PLoS One**, 9, n. 7, p. e101692, 2014.

HEGAR, B. et al. The Role of Two Human Milk and Lacto-N-Neotetraose, in Infant **Nutrition**, v. 22, n. 4, p. 330–340, 2019.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM) AND NATIONAL RESEARCH COUNCIL (US). Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines. Rasmussen KM, Yaktine AL, editors. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. Washington, DC:

National Academies Press; 2009.

KOLETZKO, B. et al. Physiological aspects of human milk lipids. **Early Human Development**, v. 65, n. SUPPL. 2, p. 3–18, 2001.

KULINICH A., Liu L. Human milk oligosaccharides: The role in the fine-tuning of innate immune responses. **Carbohydr Res**, 2016 Sep 2;432:62-70.

LARSSON M. W., et al. Human Milk Oligosaccharide Composition Is Associated With Excessive Weight Gain During Exclusive Breastfeeding-An Explorative Study. **Front Pediatr**, 2019 Jul 18;7:297.

LAGSTROM H., et al. Associations between human milk oligosaccharides and growth in infancy and early childhood. **Am J Clin Nutr**, 2020 Apr 1;111(4):769-778.

LIS-KUBERKA J.; ORCZYK-PAWILOWICZ M. Sialylated Oligosaccharides and Glycoconjugates of Human Milk. The Impact on Infant and Newborn Protection, Development and Well-Being. **Nutrients**, 2019; 11(2):306.

LORENA, A.; FERREIRA, L. Associação entre as concentrações e a diversidade de oligossacarídeos do leite humano e o desenvolvimento infantil até 12 meses de vida da criança. 2020

MCGUIRE, M. K. et al. What's normal? Oligosaccharide concentrations and profiles in milk produced by healthy women vary geographically. **Am J Clin Nutr**, 105, n. 5, p. 1086-1100, May 2017.

MESQUITA J. et al. Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Rev. Bras. Reumatol**, São Paulo, v. 50, n. 5, p. 552-580, Oct. 2010.

MICHELETTI, N. J. a Influência Da Mídia Na Formação Dos Hábitos. p. 73–87, 2020.

MOSCA, F.; GIANNÌ, M. L. Human milk: composition and health benefits. *La Pediatria medica e chirurgica*: **Medical and surgical pediatrics**, v. 39, n. 2, p. 155,

2017.

NAKANO T.; SUGAWARA M.; KAWAKAMI H. Sialic acid in human milk: composition and functions. **Acta Paediatr Taiwan**. Jan-Feb;42(1):11-7.2001.

NELSON, S. M.; MATTHEWS, P.; POSTON, L. Maternal metabolism and obesity: modifiable determinants of pregnancy outcome. **Hum Reprod Update**, v. 16, n. 3, p. 255-75, May-Jun 2010.

NIE, Q. et al. Effects of Nondigestible Oligosaccharides on Obesity. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 11, p. 205-233, 2020.

NIÑONUEVO, Milady R. et al. Variações diárias nos oligossacarídeos do leite humano determinadas por chips microfluídicos e espectrometria de massa. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 2, pág. 618-626, 2008.

NEWBURG, D. S.; WALKER, W. A. Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk. **Pediatr Res**, v. 61, n. 1, p. 2-8, Jan 2007.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Banco de dados global sobre índice de massa corporal: classificação de IMC, 2013.

O'REILLY, J. R.; REYNOLDS, R. M. The risk of maternal obesity to the long-term health of the offspring. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 78, n. 1, p. 9-16, Jan 2013.

PALMEIRA, P.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. Immunology of breast milk. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 62, n. 6, p. 584–593, 2016.

PERRONE, S. et al. Breast milk: to each his own. From metabolomic study, evidence of personalized nutrition in preterm infants. **Nutrition**. 2019 Jun; 62:158-161.

SABEN, J. L. et al. Human milk oligosaccharide concentrations and infant intakes are associated with maternal overweight and obesity and predict infant growth. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 1–16, 2021.

SIMKO, M. et al. Maternal body mass index and gestational weight gain and their association with pregnancy complications and perinatal conditions. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 10, p. 1–11, 2019.

SHOKRYAZDAN P., et al. Effects of prebiotics on immune system and cytokine expression. **Med Microbiol Immunol**, 2017 Feb;206(1):1-9.

SMILOWITZ, J. T. et al. The human milk metabolome reveals diverse oligosaccharide profiles. **Journal of Nutrition**, v. 143, n. 11, p. 1709–1718, 2013.

Soyyılmaz B et al. The Mean of Milk: A Review of Human Milk Oligosaccharide Concentrations throughout Lactation. *Nutrients*. 2021 Aug 9;13(8):2737. doi: 10.3390/nu13082737. PMID: 34444897; PMCID: PMC8398195.

SPRENGER, N.; BINIA, A.; AUSTIN, S. Human Milk Oligosaccharides: Factors Affecting Their Composition and Their Physiological Significance. **Nestle Nutrition Institute Workshop Series**, v. 90, p. 43–56, 2019.

THURL, S. et al. Variation of human milk oligosaccharides in relation to milk groups and lactational periods. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 9, p. 1261–1271, 2010

THURL, S.; MUNZERT, M.; BOEHM, G.; MATTHEWS, C. et al. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk. *Nutr Rev*, 75, n. 11, p. 920-933, Nov 2017.

TONON, K. M. et al. Maternal and Infant Factors Associated with Human Milk Oligosaccharides Concentrations According to Secretor and Lewis Phenotypes. **Nutrients**, 11, n. 6, Jun 17 2019.

TRIUNFO S., LANZONE A. Impact of overweight and obesity on obstetric outcomes. **J Endocrinol Invest**, 2014 Apr;37(4):323-9.

TRIANSTIS V., BODE L., VAN NEERVE R. J. Immunological Effects of Human Milk Oligosaccharides. **Front Pediatr**, 2018 Jul 2;6:190.

WAN, L. et al. α -1-Fucosidases and their applications for the production of fucosylated human milk oligosaccharides. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n.

13, p. 5619–5631, 2020.

WANG, H. X.; CHEN, Y.; HAQUE, Z.; DE VEER, M. Sialylated milk oligosaccharides alter neurotransmitters and brain metabolites in piglets: an. **Nutr Neurosci**, p. 1-11, Nov 2019.

WANG S. et al Effects of oligosaccharide-sialic acid (OS) compound on maternal-newborn gut microbiome, glucose metabolism and systematic immunity in pregnancy: protocol for a randomised controlled study. **BMJ Open**. 2019 Sep 11;9(9): e026583.

WANG B.; BRAND-MILLER J.; MCVEAGH P.; PETOCZ P. Concentration and distribution of sialic acid in human milk and infant formulas. **Am J Clin Nutr**. 2001; 74:510-5.

WHO, W. H. O. Infant and young child feeding: model chapter for textbooks for medical students and allied health professionals. Geneve: **WHO Library Cataloguing-in-Publication Data**, 2009.

ZHANG X. et al., Microbial production of sialic acid and sialylated human milk oligosaccharides: **Advances and perspectives**. **Biotechnol Adv**. 2019 Sep-Oct; 37 (5):787-800. Epub 2019 Apr 24. PMID: 31028787.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa **Efeito do Índice de Massa Corporal Materno sobre a concentração de macronutrientes e compostos bioativos no colostro e metabólitos produzidos pela microbiota intestinal do recém-nascido**, coordenado pela Professora Dra. Mônica Lopes de Assunção.

1. O estudo se destina a avaliar o efeito do índice de massa corporal gestacional (IMC) sobre a concentração de nutrientes e compostos com função além do fornecimento de nutrientes que estão presentes no colostro, substâncias produzidas pelo conjunto de microrganismos que vivem no intestino do recém-nascido.
2. A importância deste estudo é mostrar que de acordo com o seu peso, podem ocorrer variações na composição do seu leite e no conjunto de microrganismos que vivem no intestino do seu filho. Essas variações podem resultar não só em diferenças de nutrientes, mas também em alterações na saúde do seu bebê, atuando de modo a promover ou prevenir doenças quando ele estiver adulto.
3. Ao final da pesquisa, deseja-se encontrar resultados que mostrem uma possível diferença entre os componentes do leite materno de acordo com o seu IMC, considerando uma possível interferência de valores elevados de peso sobre os nutrientes e compostos bioativos de maneira desfavorável, bem como nos metabólitos produzidos pela microflora intestinal do seu filho. Assim, pode-se trabalhar cada vez mais o papel da perda de peso antes da gestação, bem como o ganho de peso adequado neste período, através da utilização de alimentos regionais e de fácil acesso aos usuários do Sistema Único de Saúde.
4. A coleta de dados começará em dezembro de 2019 e terminará em fevereiro de 2020.
5. O estudo será feito da seguinte maneira:

- 24 horas após o parto, sob a supervisão de um Nutricionista, você será abordada por um dos colaboradores. Caso você atenda aos requisitos, serão explicadas todas as etapas do estudo e caso aceite participar, sua autorização se dará através da assinatura deste termo.
 - Os dados de peso e altura serão obtidos por meio do cartão de acompanhamento do pré-natal e/ou prontuário, com utilização do Índice de Massa Corporal (IMC) antes da gestação e IMC por semana gestacional.
 - O ganho de peso também será calculado ao longo da gestação para verificação se este se encontra dentro do esperado.
 - Para avaliação do Estado Nutricional do seu filho, serão obtidas as informações da Declaração de Nascido Vivo e do seu prontuário ou do dele.
 - Para obtenção do colostro, será coletada uma quantidade de 3ml à beira do leite, no período da manhã, sendo este extraído por você mesma, por aperto de uma mama, não sugada antes, diretamente para um tubo de ensaio com tampa, sendo este imediatamente refrigerado e transportado para o ultra freezer (-80°C);
 - Para obtenção da amostra do cocô da criança, será realizada a coleta entre 24hs e 48hs após o parto, ainda na Maternidade, por um dos integrantes da pesquisa. O material deverá ser colocado em tubos plásticos estéreis de 2mL e tão logo seja possível, refrigerado e transportado para armazenamento em ultra freezer (-80°C) até o momento de realização das análises.
6. A sua participação será na seguinte etapa: Entrevista e Coleta do colostro, à beira do leite.
 7. Incômodos e possíveis riscos à sua saúde física e/ou mental são: Invasão de privacidade; estigmatização a partir dos resultados; divulgação de dados confidenciais, e uso da amostra para novas pesquisas sem a autorização. E que serão tomadas as seguintes medidas para reduzir os incômodos/riscos: garantia total de sigilo da sua identidade; garantia de acesso aos resultados individuais e coletivos; garantia que o material biológico e os dados obtidos na pesquisa serão utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo e conforme acordado no TCLE ; garantia do seu direito de retirar o seu consentimento e retirar-se da pesquisa.
 8. Os benefícios esperados com a sua participação no projeto de pesquisa, mesmo que não diretamente são: conscientização quanto ao peso pré-gestacional adequado e ganho de peso adequado durante a gestação, para que haja produção de um leite materno de

“qualidade”, e iniciativas no âmbito do Sistema Único de Saúde com ações que visem à manutenção de um peso materno adequado, inclusive no período pré-gestacional.

9. Você poderá contar com a seguinte assistência de esclarecimento sobre qualquer dúvida do assunto abordado durante a pesquisa, sendo responsável por ela: Mônica Lopes.
10. Você será informada do resultado final do projeto e sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
11. A qualquer momento, você poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, poderá retirar seu consentimento, sem que aconteça qualquer prejuízo ou penalidade a você.
12. As informações conseguidas através da sua participação não permitirão a sua identificação, exceto para a equipe de pesquisa, e que a divulgação das informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto após a sua autorização.
13. O estudo não acarretará nenhuma despesa para você.
14. Você será indenizada pela pesquisadora Mônica Lopes por qualquer dano que venha a sofrer com a sua participação na pesquisa (nexo causal).
15. Os materiais biológicos (colostro e fezes) citados durante a pesquisa não serão utilizados para outros fins além daqueles explicados neste Termo de Consentimento. Esses materiais não terão seus dados pessoais, apenas código de identificação, para a manutenção do seu sigilo, e após todas as análises terem sido realizadas, o material biológico que restar, será adequadamente armazenado. Caso seja necessário fazer novas análises com seu material e/ou novas pesquisas, o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas avaliará seu novo uso. Ressalto que sem a autorização desse Comitê, novas pesquisas com os seus materiais biológicos e do seu filho não poderão ser realizadas.
16. Você receberá uma via deste termo assinada por todos.

Eu _____, tendo compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em participar dele e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço dos(as) responsáveis pela pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituição:

Endereço:

Complemento:

Cidade/CEP:

Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência: Sr.^a

Endereço:

Complemento:

Cidade/CEP:

Telefone:

Ponto de referência:

ATENÇÃO: *O Comitê de Ética da UFAL analisou e aprovou este projeto de pesquisa. Para obter mais informações a respeito deste projeto de pesquisa, informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija -se ao:*

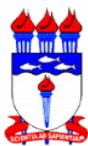
Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas Prédio do Centro de Interesse Comunitário (CIC), térreo, Campus A. C. Simões, Cidade Universitária

Telefone: 3214-1041 – Horário de Atendimento: das 8:00 as 12:00hs.

E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

Maceió, de

| | |
|--|--|
| <p>Assinatura ou impressão datiloscópica do(a) voluntário(a) ou responsável legal e rubricar as demais folhas.</p> | <p>Nome e Assinatura do Pesquisador pelo estudo (Rubricar as demais páginas)</p> |
|--|--|



APÊNDICE B



Formulário para Coleta de Dados: Puérperas

1. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

1.1 - Nome: _____

1.2 - Data de Nascimento: ____/____/____ 1.3 - Idade: _____

1.4 - Procedência: _____

1.5 - Diagnóstico Clínico Obstétrico (se houver): _____

2. DADOS SÓCIO-ECONÔMICOS

2.1 - Escolaridade: _____

2.2 - Reside com o cônjuge: Sim () Não () (Não perguntar se é casada, só se mora com o pai da criança)

2.3 - Idade do cônjuge: _____

2.4 - Nº de Membros da Família: _____ 2.5 Renda Familiar: R\$ _____

2.6 - Nº de crianças menores de 10 anos no domicílio: _____

2.7 - Recebe algum benefício do governo? Sim () Não () - Citar Bolsa Família/Cesta Nutricional

Em caso afirmativo qual é o valor? _____

2.7 - Fornecimento de Água: _____ 2.8 - Tratamento de Água: _____

2.9 - Acesso ao Serviço de Saúde: _____

3. DADOS PESSOAIS

* *Idade Gestacional*: _____ (semanas) ou *DUM* ____/____/____

3.1 - Número de gestações: 1 () 2 () 3 () 4 () + 5 () – *Contabilizar a atual também*

3.2 - Abortos: 0 () 1 () 2 () 3 ()

3.4 - Intercorrências durante a gestação desta criança? Sim () Não () Em caso afirmativo o que? _____

Considerar como intercorrências: ITU, DMG, HAS, DHEG, perda de líquido, ameaça de aborto

3.5 - Intercorrências durante gestações anteriores? Sim () Não () Em caso afirmativo o que? _____

3.6 - Fuma? Sim () Não () Fumava anteriormente? Sim () Não ()

3.7 - Bebe? Sim () Não () Bebia anteriormente? Sim () Não ()

3.8 - Em caso de gestante adolescente perguntar se já utilizou droga: Sim () Não ()

3.9 – Em caso de resposta afirmativa na questão anterior pergunta que tipo de droga e quando parou: _____

3.10 - Fez uso de alguma medicação durante a gestação? Sim () Não () Em caso afirmativo o que? _____

Não entra neste item: Sulfato ferroso ou ácido fólico

3.9 - Em caso de 2ª gestação perguntar se amamentou na 1ª e por quanto tempo?

Sim () Não () Em caso afirmativo, por quanto tempo? _____

Se não amamentou especificar qual foi o motivo: _____

3.10 - Realiza alguma atividade física: Sim () Não ()

3.11 - Em caso afirmativo qual e com que frequência: _____

4. AVALIAÇÃO CLÍNICA

4.1 – Apresenta alguma Doença – Breve relato: _____

4.2 -Antecedentes Patológicos: _____

4.3 -Antecedentes Familiares: _____

5. DADOS DIETÉTICOS

5.1 – Anamnese Alimentar

5.1.1 – Preferências Alimentares:

5.1.2 – Aversões (Fobia) Alimentares:

5.1.3 – Intolerâncias Alimentares:

5.1.4 – Alergias Alimentares:

5.1.5 – Já fez ou faz alguma dieta especial: Não () Sim () Em caso afirmativo especificar:

5.1.6 Já Recebeu Orientação Dietética: Não () Sim ()

Por quem? _____

5.1.7 - Faz Restrição de Sal: Não () Sim ()

5.1.6.2 Faz Restrição de açúcar: Não () Sim ()

5.1.8 - Faz Algum Tipo de Suplementação (ácido fólico ou ferro): () Não () Sim.

Em caso afirmativo qual? _____

5.1.9 - Apetite: () Preservado () Reduzido () Aumentado

5.1.10 - Mudança Recente de Peso: () Não () Sim

Quanto? _____ Tempo _____

5.1.11 - Dificuldade de Mastigação: () Não () Sim

5.1.12 - Trânsito Intestinal: () Regular () Constipação () Diarreia

5.3 – DIA ALIMENTAR HABITUAL

| | |
|---------------------------------|-------|
| C a f é d a M | _____ |
| | _____ |
| | _____ |
| | _____ |
| | _____ |
| | _____ |

| | |
|----------------------------|---|
| a n h ã | |
| L a n c h e | _____ _____ _____ |
| A l m o ç o | _____ _____ _____ _____ _____ |
| L a n c h e | _____ _____ _____ |
| J a n t a r | _____ _____ _____ _____ _____ |
| C e i a | _____ _____ _____ _____ |

5.4 - Frequência alimentar - Ingestão alimentar em casa

| Alimentos | Diário | 2 a 3x sem | 1 x sem | Rar o | Nunca | Alimentos | Diário | 2 a 3x sem | 1x sem | Rar o | Nunca |
|--------------|--------|------------|---------|-------|-------|---------------------|--------|------------|--------|-------|-------|
| <i>Leite</i> | | | | | | <i>Carne bovina</i> | | | | | |

| | | | | | | | | | | | |
|----------------------|--|--|--|--|--|----------------------|--|--|--|--|--|
| <i>Iogurte</i> | | | | | | <i>Frango</i> | | | | | |
| <i>Queijo</i> | | | | | | <i>Peixe</i> | | | | | |
| <i>Pães</i> | | | | | | <i>Embutidos</i> | | | | | |
| <i>Biscoitos</i> | | | | | | <i>Verduras</i> | | | | | |
| <i>Achocolatados</i> | | | | | | <i>Frituras</i> | | | | | |
| <i>Cereais</i> | | | | | | <i>Legumes</i> | | | | | |
| <i>Frutas</i> | | | | | | <i>Doces</i> | | | | | |
| <i>Suco de fruta</i> | | | | | | <i>Sorvetes</i> | | | | | |
| <i>Arroz</i> | | | | | | <i>Salgados</i> | | | | | |
| <i>Massas</i> | | | | | | <i>Refrigerantes</i> | | | | | |
| <i>Feijão</i> | | | | | | <i>Maionese</i> | | | | | |
| <i>Ovos</i> | | | | | | <i>Ketchup</i> | | | | | |

6 – DADOS ANTROPOMÉTRICOS

6.1 – Parâmetros antropométricos:

▶▶ Peso Atual: _____ Kg Peso Pré-gestacional: _____ Kg

▶▶ Estatura: _____ cm IMC Atual: _____ Kg/m² ▶▶ IMC pré-gestacional: _____ Kg/m²

▶▶ Ganho de peso até o momento: _____ Kg Meta de ganho de peso total: _____ Kg

6.2 Diagnóstico Nutricional: _____
