

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



EFEITO DO ESTADO NUTRICIONAL MATERNO SOBRE A
CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO
COLOSTRO

TIAGO EMANUEL VIEIRA DA SILVA

MACEIÓ
2022

TIAGO EMANUEL VIEIRA DA SILVA

**EFEITO DO ESTADO NUTRICIONAL MATERNO SOBRE A
CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO 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: Prof^a. Dr^a. Monica Lopes Assunção
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientadora: Me. Nidyanne Patrícia de Mesquita Chagas
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ

2 0 2 2

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

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 176

S586e Silva, Tiago Emanuel Vieira da.
Efeito do estado nutricional materno sobre a
concentração de compostos bioativos do colostro /
Tiago Emanuel Vieira da Silva. - 2022.
92 f. : il.

Orientadora: Monica Lopes 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. 63-75.
Apêndices: f. 77-88.
Anexos: f. 90-92.



Universidade Federal de Alagoas
Faculdade de Nutrição
Curso de Graduação em Nutrição

FOLHA DE APROVAÇÃO

TIAGO EMANUEL VIEIRA DA SILVA

EFEITO DO ESTADO NUTRICIONAL MATERNO SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS NO COLOSTRO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Maceió, 19 de Janeiro de 2022.

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente



MONICA LOPES DE ASSUNÇÃO
Data: 19/01/2022 00:01:17-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dr^a Monica Lopes Assunção

Luitgard Clayre Gabriel Carvalho de Lima

Me. Luitgard Clayre Gabriel Carvalho de Lima

Ana Paula de Bulhões Vieira

Me. Ana Paula Bulhões Vieira

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por estar sempre me guiando em toda essa jornada. Pelos momentos pelo qual sua presença se fez presente para garantir conforto, sabedoria, calma e força de vontade para alcançar todos os meus objetivos.

Agradeço a Ademilson Vieira dos Santos, meu pai, que nunca abandonou o barco, acreditou em meu potencial e batalhou a cada dia para garantir o melhor para seus filhos.

A minha família, meu alicerce, minha base, que sempre me apoiou nas decisões e escolhas.

Aos membros da banca examinadora, Luitgard Clayre Gabriel Carvalho de Lima e Ana Paula Bulhões Vieira por aceitarem participar da avaliação do meu trabalho.

À professora Dra. Terezinha da Rocha Ataíde, ao professor Dr. Ticiano Gomes do Nascimento e Professor Dr. Haroldo da Silva por terem disponibilizado o laboratório e equipamentos, facilitando assim a logística e realização do trabalho.

Aos meus colegas de curso, que criei laços profundos durante todos esses anos, que estavam comigo nos momentos de cansaço físico e mental, mais também nos momentos de alegria e vitória.

A minha orientadora, Prof.^a Dr. Monica Lopes Assunção, por ter acreditado na minha curiosidade e ter aceitado me orientar e passar seus conhecimentos valiosos com muito carinho e dedicação. Sou bastante grato.

A minha coorientadora Me. Nidyanne Patrícia de Mesquita Chagas, por ter lutado dia a dia para que esse trabalho fosse possível, toda a atenção, carinho e dedicação.

Ao Hospital Nossa Senhora da Guia, por toda a compreensão, dedicação e compromisso da equipe. Agradeço aos profissionais da saúde, da recepção, os responsáveis pelos serviços gerais. A todas as puérperas que permitiram que esse trabalho ganhasse vida, saibam que vocês foram essenciais para essa realização.

A comunidade acadêmica da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas, no qual tive o imenso prazer de trabalhar em diversos projetos dentro da academia.

RESUMO

SILVA, T. E. V. **“Efeito do estado nutricional materno sobre a concentração de compostos bioativos do colostro”**, 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Graduação em Nutrição) - Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas.

A obesidade se configura atualmente como um grave problema de saúde pública global, cada vez mais comum em mulheres em idade reprodutiva. O excesso de peso na gestação está associado com maior risco relativo de variação nos componentes do leite humano. A presença de compostos bioativos com funções não-nutricionais na saúde infantil e sua concentração dinâmica no leite humano, pode sofrer variação em função de diversos fatores, dentre eles, o estado nutricional materno. Diante disso, esse estudo objetiva avaliar o efeito do IMC materno sobre a concentração de compostos bioativos do colostro. Para sua consecução, foi realizado um estudo transversal, com puérperas internadas em uma maternidade pública, voltada à assistência a mulheres com baixo e médio risco obstétrico, com atendimento 100% realizado pelo SUS. A amostra foi composta por 80 mães, sendo 20 puérperas para cada categoria de IMC, considerando os seguintes critérios de inclusão: faixa etária de 20 – 40 anos, gestação de feto único vivo, idade gestacional do concepto ≥ 37 semanas, ausência de enfermidades infectocontagiosas ou intercorrências clínicas gestacionais e com registro de peso gestacional no prontuário da maternidade ou no cartão de gestante, desde que datado até 30 dias antes do parto. A coleta do colostro foi realizada por ordenha manual à beira do leito, no período entre 24 - 48 horas após o parto, pela própria paciente, supervisionada por um pesquisador habilitado. Em seguida, o colostro foi imediatamente refrigerado (-20°C) e transportado para armazenamento em ultrafreezer (-80°C), até o momento da análise de seus componentes por ressonância magnética nuclear (RMN). A identificação de agrupamentos de amostras de leite e dos biomarcadores correspondentes ao perfil metabólico das mães (compostos bioativos do leite materno) 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 (B), eutrofia (E), sobrepeso (S) e obesidade (O)). As análises foram realizadas com o emprego do software SIMCA-P (versão 14.0, Umetrics, Umeå, Suécia). Um total de 22 metabólitos foram encontrados nas amostras de leite materno, sendo 12 quantificados na fase aquosa (aminoácidos e açúcares). Os resultados das 6 séries pareadas OPLS-DA (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) em relação a cada metabólito, mostraram que não houve diferenças significativas entre as amostras de leite materno, CV-ANOVA $p > 0,05$. Desta forma, o teste-T pareado ($p < 0,05$) foi aplicado para verificar possíveis diferenças significativas entre o pareamento dos grupos (BxExSxO) em relação a cada metabólito. Em nosso estudo, o Ácido N-Acetilneuramínico (Neu5AC) apresentou níveis mais altos em mães obesas quando comparado a mães com baixo peso ($p = 0,019$) e mães com eutrofia ($p = 0,015$). Já os níveis de N-Acetil-L-Glutamina apresentaram diferença significativa na comparação entre mães com baixo peso e mães com eutrofia (BxE, $p = 0,021$), sendo as mães com baixo peso detentoras de maior quantidade deste metabólito. Resultado semelhante foi observado para a fucose, que se mostrou elevada em mães com baixopeso em relação as mães com eutrofia (BxE, $p = 0,044$). Em virtude dos achados acima sofrerem interferência de alguns fatores relacionados ao binômio mãe-filho, mais estudos são necessários para elucidar a possível influência do estado nutricional materno na concentração dos metabolitos que compõem os Oligossacarídeos do Leite Humano (OLH) fucosilados e sialilados. Esses achados, incitam novas investigações a respeito do impacto desses fatores bioativos na saúde infantil.

Palavras-chave: Obesidade, ganho de peso na gestação, leite materno, fatores bioativos, IMC.

ABSTRACT

SILVA, T. E. V. “**Effect of maternal nutritional status on the concentration of bioactive compounds in colostrum**”, 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Graduação em Nutrição) - Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas.

Obesity is currently configured as a serious global public health problem, increasingly common in women of childbearing age. Excess weight during pregnancy is associated with a higher relative risk of variation in human milk components. The presence of bioactive compounds with non-nutritional functions in child health and their dynamic concentration in human milk may vary due to several factors, including maternal nutritional status. Therefore, this study aims to evaluate the effect of maternal BMI on the concentration of bioactive compounds in colostrum. To achieve this, a cross-sectional study was carried out, with postpartum women hospitalized in a public maternity hospital, aimed at assisting women with low and medium obstetric risk, with 100% assistance provided by the SUS. The sample consisted of 80 mothers, 20 of whom had recently given birth for each category of BMI, considering the following inclusion criteria: age group of 20 – 40 years, pregnancy with a single live fetus, gestational age of the conceptus ≥ 37 weeks, absence of infectious diseases or gestational clinical complications and with a record of gestational weight in the maternity medical record or on the pregnant woman's card, as long as it is dated up to 30 days before delivery. Colostrum collection was performed by manual milking at the bedside, between 24-48 hours after delivery, by the patient herself, supervised by a qualified researcher. Afterwards, the colostrum was immediately refrigerated (-20°C) and transported for storage in an ultrafreezer (-80°C), until the moment of analysis of its components by nuclear magnetic resonance (NMR). The identification of groups of milk samples and biomarkers corresponding to the metabolic profile of the mothers (bioactive compounds in breast milk) 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 (Low weight (B), normal weight (E), overweight (S) and obesity (O)). Analyzes were performed using the SIMCA-P software (version 14.0, Umetrics, Umeå, Sweden). A total of 22 metabolites were found in breast milk samples,

12 of which were quantified in the aqueous phase (amino acids and sugars). The results of the 6 paired series OPLS-DA (O versus group S (OxS); group O versus group B (OxB); group O versus group E (OxE); group S versus group B (SxB); group S versus group E (SxE) and group B versus group E (SxE) in relation to each metabolite, showed that there were no differences significant among breast milk samples, CV-ANOVA $p > 0.05$. Thus, the paired t-test ($p < 0.05$) was applied to verify possible significant differences between the pairing of groups (BxExSxO) in relation to each metabolite. In our study, N-Acetylneuraminic Acid (Neu5AC) had higher levels in obese mothers when compared to underweight mothers ($p = 0.019$) and eutrophic mothers ($p = 0.015$). The levels of N-Acetyl-L-Glutamine showed a significant difference in the comparison between low weight mothers and eutrophic mothers (BxE, $p = 0.021$), with low weight mothers having a greater amount of this metabolite. A similar result was observed for fucosylated and sialylated Human Milk Oligosaccharides (HMO), which was shown to be elevated in low weight mothers compared to eutrophic mothers (BxE, $p = 0.044$). Because the above findings are influenced by some factors related to the mother-child binomial, further studies are needed to elucidate the possible influence of maternal nutritional status on the concentration of metabolites that make up fucosylated and sialylated Human Milk Oligosaccharides (HMO). These findings encourage further investigations into the impact of these bioactive factors on child health.

Keywords: Obesity, weight gain during pregnancy, breast milk, bioactive factors, BMI.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1: Composição do leite humano e frações de proteínas	12
Figura 2: Monossacarídeos que compõem os oligossacarídeos do leite humano (OLH).....	19
Figura 3: OLH mais abundantes no leite materno	20
Figura 4: Dados processados para análise multivariada da fase aquosa do leite materno	44
Figura 5: Escores da PCA das amostras de leite materno em diferentes faixas de IMC.....	45
Figura 6: Séries OPLS-DA pareadas entre os grupos estudados da fase aquosa	46
Figura 7: Gráficos Boxplots das concentrações relativas dos 12 metabólitos identificados da fase aquosa de leite materno de mães com diferentes categorias de IMC.....	48

QUADROS

Quadro 1: Variação na concentração de compostos bioativos no leite humano em função do estado nutricional materno.....	24
Quadro 2: Ganho de peso (kg) recomendado durante a gestação segundo EN inicial	36
Quadro 3: Metabólitos identificados na fase aquosa de amostras de leite materno ...	45

TABELAS

Tabela 1: Características demográficas e socioeconômicas de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió-AL, 2021	41
Tabela 2: Características clínicas, hábitos de vida e história reprodutiva de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió-AL, 2021	42
Tabela 3: Distribuição das gestantes segundo classificação do IMC inicial e classificação do ganho de peso gestacional total em uma maternidade de Maceió-AL, 2021	43
Tabela 4: Estado nutricional do recém-nascido e índice de massa corporal materno de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió-AL, 2021	43

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 PROBLEMATIZAÇÃO.....	11
1.2 PERGUNTA NORTEADORA DO ESTUDO.....	14
1.3 HIPÓTESE.....	14
1.4 JUSTIFICATIVA.....	14
1.5 OBJETIVOS.....	14
1.5.1 Objetivo Geral.....	14
1.5.2 Objetivos Específicos.....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 Definição de Leite Materno e processo de lactogênese.....	16
2.2 Composição e classificação do leite humano.....	17
2.3 Compostos bioativos no leite: Conceito.....	19
2.4 Tipos de compostos bioativos e variação em função do estado nutricional materno.....	20
2.4.1 Citocinas.....	20
2.4.2 Imunoglobulina A.....	21
2.4.3 Fatores de crescimento.....	22
2.4.4 Antimicrobianos.....	23
2.4.5 Oligossacarídeos do Leite Humano.....	24
2.4.6 MicroRNAs.....	28
3 Fatores maternos, fisiológicos e comportamentais que interferem na composição do leite materno.....	33
3.1 Mudanças associadas a características maternas.....	33
3.1.1 Idade gestacional.....	33
3.1.2 Polimorfismos.....	34
4 Mudanças associadas a fisiologia materna.....	34
4.1 Estágio da lactação.....	34
4.1.1 Ciclo circadiano.....	35
5 Mudanças associadas ao recém-nascido.....	36
5.1 Peso ao nascer.....	36
6 Mudanças associadas a características comportamentais.....	36
6.1 Tabagismo.....	36
6.2 Etilismo.....	37
6.3 Dieta materna.....	38
6. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
6.1 Tipo de estudo e local de realização.....	41
6.2 Critérios de inclusão.....	41
6.3 Cálculo do tamanho amostral.....	41
6.4 Coleta de dados.....	42
6.5 Delineamento do estudo.....	42
6.5.1 Avaliação do estado nutricional materno e do recém-nascido.....	42
6.5.2 Obtenção do colostro e pré-preparo para as análises.....	43

6.5.3 Extração de fase dupla.....	43
6.6 Preparação das amostras de colostro para análise por ressonância.....	44
6.7 Análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	44
6.8 Análise Estatística Multivariada.....	44
6.9 Aspectos Éticos.....	45
7. RESULTADOS.....	47
8. DISCUSSÃO.....	57
REFERÊNCIAS.....	63
APÊNDICES.....	77
ANEXOS.....	90

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

O excesso de peso se configura atualmente como um grave problema de saúde pública global, atingindo os países em desenvolvimento, mas também as grandes potências mundiais. De acordo com as estimativas globais, cerca de 1,9 bilhões e 650 milhões de adultos, apresentavam sobrepeso e obesidade respectivamente, no ano de 2016, o que demonstra claramente o caráter pandêmico desse fenômeno. Contudo, as mulheres em idade reprodutiva possuem maior prevalência que os homens. Ademais, é crescente a presença desse desfecho em crianças e adolescentes, se desenvolvendo de maneira cada vez mais precoce (ASSUNÇÃO, 2015; CHOOI; DING; MAGKOS, 2019; SEABRA et al., 2011; WHO, 2020).

De acordo com Batista Filho (2010), o processo de transição alimentar e nutricional é marcado por dois momentos: o primeiro guarda relação com a alta taxa de natalidade/alta mortalidade de crianças, adolescentes e mulheres em idade reprodutiva, principalmente por doenças infecciosas/processos carenciais. O segundo, é a alta carga de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT's), tais como: diabetes mellitus, obesidade, hipertensão arterial sistêmica e doenças degenerativas do sistema nervoso central, são cada vez mais comuns na sociedade contemporânea, associando-se a um perfil de consumo de alimentos críticos para a saúde.

Uma análise de evolução temporal mostrou que a prevalência de sobrepeso e obesidade entre mulheres brasileiras, cresceu de 43,2% para 63,3% e de 14,5% para 30,2% respectivamente, entre os anos de 2002 e 2019. Outro estudo, de base populacional, avaliou o estado nutricional de 19.931 mães entre os anos de 1982 a 2015, constatando um aumento na prevalência de excesso de peso de 22,1% para 47,0% no início da gravidez. Esses dados, são bastante preocupantes e demonstram a necessidade de políticas públicas de promoção à saúde, assim como a capacitação de profissionais de saúde que atuem sob a ótica da prevenção dessa enfermidade (HORTA et al., 2019; IBGE, 2020; STOPA et al., 2020).

O tecido adiposo produz citocinas e quimiocinas com efeitos pró-inflamatórios (proteína de quimioatração de monócitos, interleucina-8, interleucina-6, fator de necrose tumoral- α , proteína c reativa, leptina), resultando em um processo de inflamação sistêmica, resistência à insulina e estresse oxidativo (BASU et al., 2011; SALTIEL, et al., 2017).

O leite materno é o alimento perfeito para o bebê, possuindo papel determinante na proteção da obesidade infantil. Por essa razão, recomenda-se que seja ofertado em livre demanda e de maneira exclusiva nos primeiros seis meses de vida e posterior a esse período de forma complementar. Além de fortalecer o vínculo mãe e filho, seus componentes desempenham um amplo espectro de benefícios na saúde materno infantil. No entanto, apesar dos benefícios, as taxas de aleitamento materno ainda estão abaixo do ideal. O aumento da prevalência do Aleitamento Materno Exclusivo (AME) é uma tarefa complexa, pois necessita de uma rede de apoio envolvendo uma equipe multidisciplinar que entenda o contexto familiar das nutrizes, uma vez que esses fatores estão correlacionados com o não êxito da lactação (ASSUNÇÃO, 2015; BRASIL, 2015).

Publicações recentes, mostram seu papel na saúde infantil, atuando na redução do risco de infecções e alergias, melhora do neurodesenvolvimento cognitivo, protegendo contra doenças gastrointestinais, doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT's) e efeitos antiobesidade no futuro da prole. Na saúde materna, auxilia na redução do peso no pós-parto, além de reduzir o risco de desenvolver DCNT's, câncer de mama, de ovário e Artrite Reumatoide (GEDDES; PERRELLA, 2019; SHAMIR, 2016).

O complexo microbioma do leite humano é composto por fatores bioativos capazes de desempenhar uma diversidade de funções fisiológicas que vão além de proporcionar apenas nutrição. Dentre eles, destacam-se os Oligossacarídeos do Leite Humano (OLH), imunoglobulinas, citocinas, quimiocinas, hormônios, fatores de crescimento, peptídeos antimicrobianos, glicoconjugados e ácidos graxos (ANDREAS; KAMPMANN; MEHRING, 2015; BALLARD; MORROW, 2013; GILA-DIAZ, 2019; NOLAN; PARKS; GOOD, 2019).

Diante da concentração dinâmica do leite materno, esses compostos podem sofrer variação em função da alimentação materna, horário do dia, momento que ocorre o processo de lactação, idade materna, número de gestações, fatores ambientais e estado nutricional materno. Recentemente, estudos demonstraram menor diversidade na concentração de fatores bioativos no leite de mães obesas (ZIMMERMANN; NIGEL, 2020). Outro estudo, coletou amostras do soro do leite materno e após mensuração, encontrou níveis reduzidos fatores imunológicos (TGF- β 2 e sCD14) em mães com excesso de peso, quando comparadas as com peso normal. Esses achados são críticos, à medida que a atividade desses

imunoreguladores conferem proteção ao recém-nascido nos primeiros dias de vida, quando estimulam, por exemplo, a produção de imunoglobulinas (IgA) (COLLADO, et al., 2012).

Considerando o exposto, pretende-se avaliar a influência do estado nutricional materno sobre a concentração de compostos bioativos do leite humano.

1.2 PROBLEMA

Os compostos bioativos presentes no colostro sofrem variação de acordo com o estado nutricional materno?

1.3 HIPÓTESE

Os compostos bioativos presentes no colostro sofrem variação em função do estado nutricional materno.

1.4 JUSTIFICATIVA

Diante da magnitude do excesso de peso entre mulheres na faixa etária reprodutiva e a dinâmica da composição do leite materno, torna-se de extrema relevância conhecer as possíveis alterações nas concentrações de compostos bioativos presentes no colostro, em função do estado nutricional materno. Apesar do interesse crescente sobre a composição do leite humano em todo o mundo, em Alagoas, assim como no Nordeste, pesquisas nessa área são bastante escassas, embora extremamente necessárias para que tenhamos um conhecimento maior acerca de seus constituintes, e melhor compreensão do seu papel na saúde da população.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do estado nutricional materno sobre a concentração de compostos bioativos presentes no colostro.

1.5.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar as participantes da pesquisa, segundo as condições socioeconômicas e demográficas, histórico reprodutivo e do pré-natal.
- Avaliar o estado nutricional pré-gestacional e o ganho de peso gestacional das mães.
- Analisar o estado nutricional do recém-nascido em função da sua idade gestacional.
- Analisar os compostos bioativos mais prevalentes do colostro.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Definição de leite materno e processo de lactogênese

A OMS (2020), define o leite materno como:

...o alimento ideal para bebês. É seguro, limpo e contém anticorpos que ajudam a proteger contra muitas doenças infantis comuns. O leite materno fornece toda a energia e nutrientes de que o bebê necessita nos primeiros meses de vida e continua a fornecer até metade ou mais das necessidades nutricionais de uma criança durante a segunda metade do primeiro ano, e até um terço durante o segundo ano de vida.

O Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil (ENANI, 2019), revelou melhora nos indicadores de prevalência de aleitamento materno no Brasil. O incremento foi de mais de 12 vezes para amamentação exclusiva entre crianças menores de quatro meses, saindo de 4,7% para 60%. Quando se trata dos menores de seis meses, houve um aumento de 42,8%, passando de 2,9% para 45,7%, nos últimos 34 anos.

O processo de lactação envolve mecanismos regulatórios complexos. A ação neuroendócrina é modulada pela ação sinérgica de um conjunto de hormônios (glicocorticoides, insulina, fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-I), hormônio do crescimento e da tireoide). Ademais, ações diretas na glândula mamária são estimuladas, uma vez que os hormônios estrogênio, progesterona e lactogênio placentário, atuam na diferenciação do tecido epitelial mamário, enquanto a produção e reflexo de ejeção do leite, são controlados pelo efeito da prolactina (produzida na adenohipófise) e ocitocina (produzida na neurohipófise), respectivamente (VITOLLO, 2008; LEE; KELLEHER, 2016).

Por outro lado, por ser considerado um fenômeno de etiologia multifatorial, fatores sociais, psicológicos e comportamentais, estão em consonância com os mecanismos neuro-hormonais. A literatura classifica os problemas que afetam o sucesso da lactogênese em fatores hormonais (retenção placentária, deficiência e/ou resistência à prolactina e cistos ovarianos), de ordem mecânica (alterações estruturais na mama, cirurgias de redução mamária, utilização de próteses de silicone) e fatores mistos (Obesidade, primiparidade, trabalho de parto prolongado e parto cesárea) (FERRO, et al. 2009; LEE; KELLEHER, 2016).

A fase I da lactogênese ocorre por volta do segundo trimestre gestacional, e é marcada pela atuação de hormônios que atuam no desenvolvimento da mama. Na fase II, ocorre o início da produção láctea, visando garantir a continuidade e manutenção da lactação (galactopoese). A retirada da placenta, marca o início da

produção lactéa, uma vez que esse órgão é o principal responsável pela síntese de progesterona, hormônio que inibe a ação da prolactina. A fase III, é coordenada por ação neuroendócrina, envolvendo principalmente o reflexo de prolactina e ocitocina, promovendo a contração das células mioepiteliais ao redor das células alveolares e ocorrendo a ejeção do leite em resposta a sucção do recém-nascido (ALDEN, 2012; SRIRAMAN, 2017).

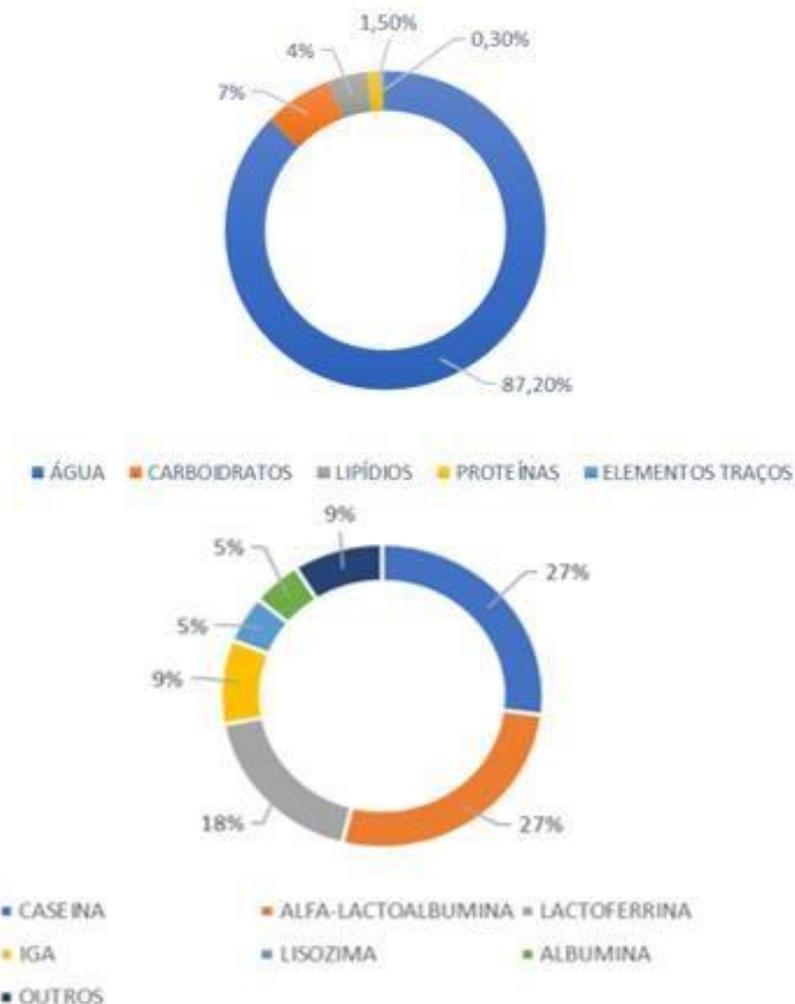
A janela entre o nascimento e as primeiras mamadas é crítica para o recém-nascido, visto que seu organismo imaturo necessita do colostro para proteção e manutenção dos processos fisiológicos. Portanto, é razoável supor que mães que estejam impossibilitadas de realizar a prática da amamentação, podem expor seus filhos a desfechos perinatais mais adversos. Esses achados, abrem o olhar para a importância do planejamento familiar e aconselhamento nutricional, antes, durante e após a gestação, compondo uma parte essencial da assistência pré-natal e o sucesso gestacional (RODRIGUES, et al, 2018; VITOLO, 2008).

2.2 Composição e classificação do leite humano.

O leite materno é extraordinário e nenhum alimento é capaz de guardar relação tão intrínseca com a evolução da espécie humana. Seu conteúdo, é nutricionalmente adequado para o recém-nascido (proteínas, lipídios e carboidratos, minerais, vitaminas e vários componentes bioativos), que garantem crescimento e desenvolvimento nos primeiros seis meses de vida e dos dois anos em diante com a alimentação complementar, além de fortalecer o vínculo mãe-filho (BALLARD & MORROW, 2013; NUNES, 2015).

A composição média de macronutrientes do leite maduro a termo é estimada em aproximadamente 1,3 g/dL para proteína; 3,0 g/dL para lipídeos; 6,5 g/dL para lactose; resultando em um valor calórico de 62 Kcal/dL. Suas variações têm forte relação com o teor de gordura do leite humano e difere entre o leite pré-termo e o de mulheres que tiveram parto a termo, com o leite das mães de prematuros tendendo a ser maior em calorias totais, proteína e lipídios (MS, 2015; REZENDE, 2014; VIEIRA, 2018).

Figura 1. Composição do leite humano e frações de proteínas



Fonte: Adaptado de Hennet, 2014.

Nota-se, pois, que o colostro é distinto em volume, aparência e composição. É rico em componentes imunológicos como IgA secretora, lactoferrina, leucócitos, além de fatores de desenvolvimento como o fator de crescimento epidérmico. Ademais, contém concentrações relativamente baixas de lactose, indicando que suas funções primárias são imunológicas e tróficas, e não nutricionais. Os níveis de sódio, cloreto e magnésio são mais elevados e os níveis de potássio e cálcio são mais baixos no colostro do que no leite posterior (BALLARD; MORROW, 2013).

Durante os primeiros 2 dias do pós-parto há poucas transformações nas mamas. É possível observar apenas secreção de colostro, substância amarelada já existente na gravidez, com grande concentração de proteínas, anticorpos e células tóxicas, que ajudam a imunizar o bebê contra infecções. Metade do conteúdo proteico elevado do colostro é composto de globulinas, que parecem idênticas às gamaglobulinas do plasma. Por esse meio, há proteção imunológica pós-natal, posto que anticorpos maternos assim veiculados são absorvidos no intestino sem digestão (presença de inibidor da tripsina) (REZENDE, 2014).

Segundo Palmeira e Carneiro-Sampaio (2016), o colostro é um alimento crucial, visto que o recém-nascido enfrenta um período neonatal crítico nos primeiros meses de vida, sendo exposto a uma série de microrganismos responsáveis por altas taxas de morbimortalidade infantil. Desta forma, o neonato que recebe imunidade passiva a através de anticorpos adquiridos durante a vida pela mãe, possui proteção contra infecções intestinais e respiratórias, assim como bom desenvolvimento e maturação do seu sistema imunológico. Após a secreção da glândula mamária, segue-se um “leite de transição”, por 2 a 3 semanas, para, finalmente, surgir o “leite maduro”, definitivo.

Segundo Bardanzellu et al. (2020), o colostro humano parece ter um papel peculiar para o recém-nascido, uma vez que exerce papel protetor contra doenças alérgicas e crônicas. Destaca ainda que esses benefícios podem se dá a longo prazo, tais como: redução da pressão sistodiastólica e do colesterol total, diminuição do risco de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), sobrepeso e obesidade.

É importante ressaltar que o sucesso da amamentação nos primeiros momentos após o parto, ocorre através do incentivo por parte dos profissionais de saúde que dão suporte as mães, enfatizando a grande importância do colostro para um melhor curso clínico de seus bebês em curto e longo prazo (CERIANI CERNADAS, 2018).

2.3 Compostos bioativos do leite: Conceito

O leite materno é o alimento padrão ouro para o lactente. O microbioma do leite é composto por fatores bioativos com funções não-nutricionais, incluindo uma vasta gama de proteínas, células intactas, agentes anti-infecciosos e anti-inflamatórios, hormônios, fatores de crescimento, oligossacarídeos do leite humano (OLH). Esses compostos possuem impacto na função ou condição corporal, conseqüentemente para a saúde humana (BALLARD; MORROW, 2013; DONOVAN, 2006; ERLIANA E FLY, 2019; NOLAN; PARKS; GOOD, 2019).

Há uma variação em sua concentração no colostro de mães de recém nascidos a termo e prematuros ou ao longo da lactação, com composição ideal a necessidade dos mesmos. Seus benefícios se dão pela atuação conjunta, sendo desta forma, um alimento completo, com funções diversas que repercutem sobre o organismo infantil (BALLARD, 2013).

Outros fatores relacionados, que possuem papel determinante nessa composição são: tempo de lactação, a duração da gestação, doenças maternas, genótipo e dieta. Pelos motivos supracitados acima, a composição desses fatores torna-se impossível de ser mimetizada por qualquer tipo de fórmula infantil, por se

correlacionar com diversos fatores intraindividuais do binômio mãe-filho (ANDREAS et al., 2015; HERNELL, 2011).

Uma serie de publicações científicas esclarecem que esses fatores não nutricionais atuam no fortalecimento do sistema imunológico, crescimento e desenvolvimento neonatal, previne ou tratam infecções gastrintestinais e possuem efeitos anti-inflamatórios bem definidos. No entanto, outros achados revelam um escopo mais amplo, trazendo benefícios em doenças que vão além do trato digestivo, a saber: neoplasias, neuro cognição e hipertensão (HILL; NEWBURG, 2015; THAI; GREGORY, 2020).

2.4 Tipos de compostos bioativos e variação em função do estado nutricional materno

2.4.1 Citocinas

Segundo Ustundag et al. (2005); Ballard & Morrow, (2013), a presença de grande quantidade de citocinas no colostro sugere a importância das mesmas para o desenvolvimento do recém-nascido, que apresenta graus variáveis de imaturidade estrutural e fisiológica nessa fase da vida. Estas, representam a classe de proteínas, peptídeos ou glicoproteínas, secretados por células específicas do sistema imunológico. Uma vez produzida na glândula mamária, estão prontamente disponíveis no colostro materno. Ademais, possuem funções na maturação do sistema imunológico do lactente. As citocinas mais estudadas no leite materno incluem: as interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12) e o TNF α (BRENMOEHL, 2018; MENCHETTI, 2016; SANTIAGO, 2016).

Os estudos estão avançando quanto ao papel das citocinas no leite materno. A citocina IL-1 β , é um mediador inflamatório, que atua na proliferação, diferenciação e apoptose celular. Estudos apontam que sua concentração no colostro é bastante variável, e supostamente atua mediando mecanismos de defesa da glândula mamária, incluindo a produção de Imunoglobulina A e outras citocinas, como a IL-6, IL-8, TNF- α e IL-12 (RAUTAVA, 2019).

Estas, por sua vez, possuem amplo escopo de funções bem definidas na literatura. A IL-8 é uma quimiocina, com papel fisiológico no desenvolvimento e maturação do intestino do recém-nascido. Devido a sua ação quimiotática, parece estar envolvida no recrutamento de células de defesa, protegendo contra infecções e alergias. Outras citocinas (TNF- α e IL-12), estão presentes no colostro e parecem estar envolvidas na proteção contra agentes patogênicos e trauma (FERRARI, 2019).

O ganho de peso excessivo na gestação, é responsável por modificar o potencial imunomodulador do leite materno. Estudos realizados por Collado, et al. (2012), identificaram decréscimo na produção de fator de crescimento transformador (TGF- β 2), CD14 solúvel (sCD14). Ademais, interleucina-6 (IL-6) encontrada no colostro de mães com excesso de peso, se correlacionou positivamente com menor concentração de bactérias do grupo *Bifidobacterium*, que possui papel essencial na manutenção da microbiota intestinal de recém-nascidos nos primeiros dias de vida.

Um outro estudo analisou os componentes imunomoduladores do leite e seu potencial efeito protetor contra a Enterocolite Necrotizante (NEC). A NEC, acomete principalmente bebês prematuros, e é caracterizada por um processo inflamatório do trato gastrointestinal, seja pelo uso de fórmulas infantis e disbiose intestinal ou imaturidade da imunidade da mucosa intestinal. Uma família de citocinas no leite materno, estão associados positivamente com a restauração do epitélio intestinal, promovendo efeitos anti-inflamatórios, antiadesivos e reparadores, sugerindo papel protetor contra a NEC (LIN; STOLL, 2006; LUCAS; COLE, 1990; NOLAN; PARKS; GOOD, 2019).

2.4.2 Imunoglobulina A

O colostro também é rico em proteínas, denominadas de componentes imunológicos celulares, quando comparado com o leite de transição ou maduro. Em especial, o Imunoglobulina A (SIgA) é responsável por 80 a 90% do total de imunoglobulinas do leite humano, onde apenas cerca de 10% é absorvido no intestino e transferido para a corrente sanguínea, com ação fundamentalmente local.

Esta imunoglobulina oferece proteção as membranas mucosas do neonato e previne com eficácia a entrada de microrganismos nos tecidos, possuindo ação anti-inflamatória. Esta proteção é de grande importância, uma vez que a produção de IgA endógena pelo neonato ainda é imatura (OGRA, 2020; PALMEIRA, 2016, COLLADO, 2012).

A composição do leite humano é dinâmica e varia entre as populações maternas. Achados revelam que mães alérgicas e sensibilizadas por IgE, possuem concentrações maiores dessa imunoglobulina no colostro, que as mães não alérgicas e aumento significativo de níveis fecais de SIgA em comparação com bebês alimentados com fórmula, com possível mecanismo de proteção adicional ao neonato (HUA, 2016)

Outra ação bem definida na literatura, consiste no seu poder de neutralizar toxinas liberadas por patógenos e a prevenção contra a translocação bacteriana,

desta forma oferece proteção ao recém-nascido contra a sepse. Vale ressaltar que a IgA não age realizando opsonização dos agentes estranhos, sua capacidade de combater os ocorre por meio da indução da fagocitose pelos neutrófilos (GRASSI et al., 2001).

Se tratando dos fatores imunomoduladores, Fujimori et al., (2010), encontraram concentrações de IgA secretora (sIgA) no colostro e séricas, significativamente maiores em mães com sobrepeso e obesas, enquanto as concentrações de IgG e IgM não variaram entre os grupos. Outro estudo, encontrou níveis médios de IgA relativamente maiores no colostro de mães obesas, que as demais imunoglobulinas do leite (ISLAM, et al., 2006)

2.4.3 Fatores de crescimento

Os fatores de crescimento estão entre os componentes bioativos encontrados no leite humano. Os vários fatores de crescimento (fator de crescimento epidérmico (EGF), TGF- α , TGF- β , fator de crescimento semelhante à insulina – IGF-I e IGF-II, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), influenciam particularmente o crescimento e o desenvolvimento do trato gastrointestinal, mas podem ter algum efeito sobre os níveis de glicose e crescimento sistêmico (PALMEIRA, 2016).

O fator de crescimento epidérmico (EGF) é um peptídeo abundante no leite materno e importante para preservar a função de barreira intestinal, melhorando o transporte de nutrientes e aumentando a atividade enzimática intestinal (COURSODON; DVORAK, 2012). Por ser resistente a ação do suco gástrico e enzimas digestivas, facilmente é absorvido no intestino, onde exerce esses efeitos. Este, é encontrado em altas concentrações no colostro, na ordem de 2.000 vezes maior que as concentrações no soro materno (DVORAK et al., 2003; PICKERING et al., 2013; READ, et al., 1984).

O IGF-I e IGF-II, também são encontradas em níveis mais elevados no colostro e diminuem continuamente ao longo da lactação. O IGF-I também pode desempenhar um papel na sobrevivência dos enterócitos após dano intestinal por estresse oxidativo (BALLARD, 2013).

O VEGF possui papel na formação de novos vasos sanguíneos, um processo denominado angiogênese. Adicionalmente, parece desempenhar funções anti-inflamatórias. Esta glicoproteína apresenta níveis mais elevados no colostro e no leite materno, sofrendo variação em função do peso ao nascer, já que está presente em concentrações maiores em recém nascidos prematuros do que naquelas com nascidos a termo (LOUI, 2012; OZGURTAS, 2010).

Um estudo transversal de Khodabakhshi, et al. (2015), analisou o efeito de hormônios e fatores de crescimento presentes no leite de mães com filhos obesos e não-obesos. Foram avaliados os níveis de grelina, leptina, adiponectina, EGF e IGF-1. No entanto, apenas uma correlação positiva significativa entre EGF e grelina foi identificada em ambos os grupos, o que pode sugerir um mecanismo de regulação do peso nos dois grupos.

2.4.4 Agentes antimicrobianos

A bioatividade do leite materno, envolve a destruição de bactérias maléficas ao organismo humano. A Lactoferrina do leite, exerce efeitos bacteriostáticos e bactericida, por sua alta afinidade com o ferro, o que resulta na apreensão de patógenos que precisam desse mineral. Esse peptídeo antimicrobiano, forma um complexo com Lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), permitindo uma ação sinérgica com a lisozima, que age degradando a matriz de proteoglicanos das bactérias patogênicas gram-negativas. Ademais, a lactoferrina atua diretamente na estimulação do epitélio intestinal, promovendo diferenciação e proliferação dos enterócitos (LÖNNERDAL, 2016).

A lactoferrina ter um papel na inflamação, uma vez que ajuda a limitar as respostas imunológicas excessivas, agindo na mitigação de muitas citocinas pró-inflamatórias, tais como: IL-1 β , IL-6, TNF- α e IL-8, bem como suprimindo a atividade dos radicais livres (GRIFFITHS, et al., 2019). Além disso, demonstrou estimular o crescimento de bactérias probióticas, atuando no equilíbrio intestinal (THAI; GREGORY, 2020).

Estudos baseados em ensaios clínicos, já demonstraram o seu papel na prevenção de diarreia, sepse neonatal e enterocolite necrosante em bebês prematuros. No entanto, em um grande ensaio clínico randomizado, com cerca de 2.203 bebês, a suplementação de lactoferrina não diminuiu a NEC ou as taxas de infecção (GRIFFITHS, et al., 2019).

Contudo, existem fatores relacionados a mãe e que repercutem sobre o filho, influenciando nas suas concentrações no leite humano. Alguns achados, revelaram que a localização geográfica, origem étnica, polimorfismos genéticos, status socioeconômico, estado nutricional, bem como infecções infantis, tipo de parto e prematuridade estão entre as possíveis causas dessa variação (VILLAVICENCIO, et al., 2017).

Evidências são bem claras quanto a sua concentração mais elevada no colostro, reduzindo significativamente no leite maduro (CZOSNYKOWSKA-ŁUKACKA, et al., 2019). No que tange ao estado nutricional materno e suas

concentrações no leite, o estudo de Hennart, et al., (1991) não encontrou relação significativa entre a concentração da lactoferrina no leite e o estado nutricional expresso pelo índice de massa corporal. Entretanto, achados de Houghton et al., (1985) demonstraram que as concentrações de Lactoferrina foram encontradas em maior quantidade no colostro de mães com IMC > 30kg/m².

A lisozima, por possuir ação conjunta com a lactoferrina, possui ação bactericida, fazendo com que a integridade da parede externa das bactérias seja destruída, ou potencializa as ações de outros fatores antimicrobianos presentes no colostro (FREITAS, 2016).

Um estudo mostrou variação nas suas concentrações em função da idade gestacional dos recém-nascidos. Elevados níveis desse metabólito no mesmo estudo, foi associado ao ganho de peso ao nascer (BRAUN, 1985)

2.4.5 Oligossacarídeos do Leite Humano

Os oligossacarídeos do leite humano (OLH) são carboidratos não-digeríveis resistentes a ação gástrica. Eles chegam intactos ao trato gastrintestinal, exercendo efeito bifidogênico e estimulando a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no colón, importantes para a manutenção da saúde intestinal e energia dos enterócitos. Os OLH são produzidos na glândula mamária, sendo 1% absorvido na circulação e a grande maioria sofre metabolização pelas bactérias intestinais ou é eliminado nas fezes e na urina. São constituídos pela combinação de cinco diferentes monossacarídeos: glicose (Glc), galactose (Gal), N-acetilglucosamina (GlcNAc), fucose (Fuc) e ácido N-acetilneurâmico (Neu5Ac) (BODE, 2015).

Atualmente, existem mais de 200 OLH, estruturalmente distintos. Praticamente todos os OLH possuem o dissacarídeo lactose (um dissacarídeo composto de uma molécula de galactose conectada por uma ligação β 1, 4-glicosídica a uma molécula de glicose) em sua extremidade redutora. A síntese de lactose ocorre no aparelho de Golgi das células epiteliais e é catalisada pela lactase sintase (WICIŃSKI, 2020; SBAN, 2021).

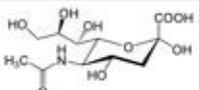
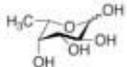
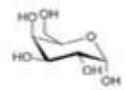
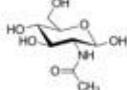
A estrutura básica do OLH contém uma base de lactose, alongada por unidades de N-acetilactosamina com posterior fucosilação e/ou sialilação. A lactose ou a cadeia de oligossacarídeo alongada e pode ser fucosilada na ligação α 1-2, α 1-3 ou α 1-4 e/ou sialilada na ligação α 2-3 ou α 2-6, devido à ação de fucosiltransferase e sialiltransferases. São classificados em três categorias principais: neutros fucosilados, neutros não fucosilados e ácidos sialilados (BODE, 2012; BOEHM; CHENG, 2021).

Os OLH neutros (fucosilados), são neutros e contêm fucose na posição terminal e formam cerca de 35% a 50% do conteúdo total de OLH. Já os neutros (não

fucosilados), são neutros e contêm N-acetilglucosamina na posição terminal e representam 42% a 55% e os ácidos (sialilados), são ácidos e contêm ácido siálico na posição terminal, estes representam de 12% a 14% (PLAZA-DÍAZ, 2018).

Os OLH neutros são responsáveis por mais de 75% do total de OLH no leite materno e 2'-fucosilactose (2'-FL), um trissacarídeo consistindo de glicose, galactose e fucose, é o mais abundante, respondendo por quase 30% de todos os OLH (STAHL, 2007).

Figura 2. Monossacarídeos que compõem os oligossacarídeos do leite humano (OLH)

Monossacarídeo	Abreviação	Símbolo	Estrutura
Ácido N-acetilneuramínico	Neu5Ac		
Fucose	Fuc		
Galactose	Gal		
N-acetilglucosamina	GlcNAc		
Glicose	Glc		

Fonte: Adaptado de CHEN, 2015.

Legenda: Ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac); Fucose (Fuc); Galactose (Gal) N-acetilglucosamina (GlcNAc); Glicose (Glc).

O colostro, contém em média de 20-25g/L de OLH, reduzindo sua concentração no leite maduro para 5-20g/L. No entanto, embora seja encontrada grande diversidade de OLH no leite, é encontrada uma variabilidade na sua concentração entre as mães em função das características do grupo sanguíneo (BODE, 2012; THURL, 2010).

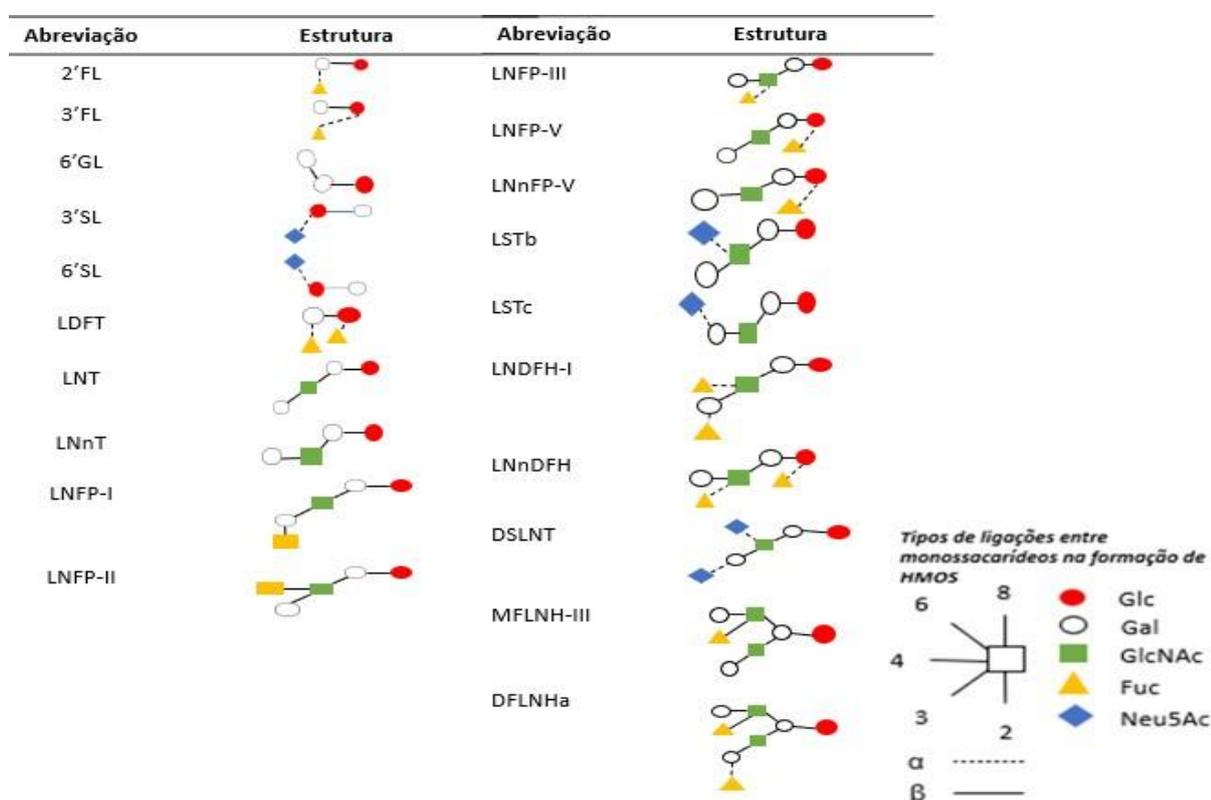
Os OLH de mães, podem variar de acordo com o seu histórico genético. Este processo se dar devido a presença de polimorfismos relacionados ao sistema de Lewis e ao status secretor. A presença de duas Fucosiltransferases (FUT2 e FUT3), codificadas por genes presentes na glândula mamária, possui papel determinante na presença ou ausência de OLH fucosilados (HEGAR, 2019).

Em mulheres com a enzima FUT2 ativa, são referidas como secretoras, pois secretam uma quantidade substancial de oligossacarídeos α 1,2-fucosilados,

entretanto as com a FUT2 inativa sem oligossacarídeos α 1,2-fucosilados, são chamadas de não secretoras (LARSSON, 2019). Em mães com ausência da enzima FUT3, foi observado colonização retardada de Bifidobactérias e apresentam mais diferenças na atividade metabólica de sua microflora, especialmente Streptococcus (WICIŃSKI, 2020).

Portanto, o leite materno pode ser atribuído a um dos quatro grupos com base na expressão de FUT2 e FUT3: secretoras *le*- positivos (*Le* + *Se* +), secretoras *le*- negativos (*Le* - *Se* +), não-secretoras *le*- positivos (*Le* + *Se* -), e *le*- negativos não secretoras (*Le* - *Se* -) (PLAZA-DÍAZ, 2018).

Figura 3. OLH mais abundantes no leite materno



Fonte: Adaptado de SAMUEL, et al, 2019.

Legenda: 2'-Fucosyllactose (2'FL); 3-Fucosyllactose (3FL); 6'-Galactosyllactose (6'GL); 3'Sialyllactose (3'SL); 6'-Sialyllactose (6'SL); Lactodifucotetraose (2', 3-difucosyllactose - LDFT); Lacto-N-tetraose (LNT); Lacto-N-neotetraose (LNnT); Lacto-N-fucopentaose-I (LNFP-I); Lacto-N-fucopentaose-II (LNFP-II); Lacto-N-fucopentaose-III (LNFP-III); Lacto-N-fucopentaose-V (LNFP-V); Lacto-N-neofucopentaose-V (LNnFP-V); Sialyllacto-N-tetraose b (LSTb); Sialyllacto-N-tetraose c (LSTc); Lacto-N-difucosylhexaose-I (LNDFH-I); Lacto-N-neodifucohexaose (LNnDFH); Disialyllacto-N-tetraose (DSLNT); Monofucosyllacto-N-hexaose-III (MFLNH-III); Difucosyllacto-N-hexaose a (DFLNHa)

Os OLH são prebióticos, uma vez que são resistentes à acidez gástrica, hidrólise por enzimas do hospedeiro e absorção gastrointestinal. Essa função, é importante para manutenção da microbiota intestinal infantil, favorecendo ao equilíbrio

da flora intestinal e competição favorável contra bactérias patogênicas (NEWBURG et al. 2005).

Efeitos antiadesivos são descritos, visto que patógenos virais, bacterianos ou protozoários se aderem a células da mucosa do hospedeiro por interações lectina-glicano. Os OLH possuem estrutura semelhante aos glicanos e podem atuar como receptores para prevenir a ligação do patógeno e reduzir o risco de infecções comuns, como a diarreia (HU et al. 2012).

Uma gama de estudos mostra o papel dos OLH sobre a atividade antiviral, principalmente norovirus e rotavirus. Sua ingestão, também promove a proteção contra patógenos que acometem as vias respiratórias, uma vez que se alojam na região laringofaríngea dos neonatos amamentados. Os OLH também afetam positivamente o sistema imunológico do bebê, por sua ação local no tecido linfóide associado a mucosa (MALT) e em nível sistêmico, visto que são encontrados no leite em concentrações de 1-133 mg/L e diversos imunorreceptores reconhecem os OLH (HANISCH, 2018; MACPHERSON, 2005; SMILOWITZ, 2014).

Recentemente diversos estudos avaliaram seu papel sistêmico no metabolismo, revelando potencial efeito antiobesidade exercido por algumas classes de OLH, tais como: maior gasto energético, saciedade e processo de termogênese (NIE, et al. 2020; LIU, et al. 2019).

A supressão de citocinas pró-inflamatórias Interferon- γ (IFN- γ) e interleucina-2 (IL-2), foi demonstrada em modelos de células animais, onde a síntese de AGCC, reduziu o processo inflamatório (BODE, 2019; SHOKRYAZDAN et al., 2017). Ademais, investigações *in vitro*, apontam para modulação do sistema imune, uma vez que foi demonstrado que os OLH fucosilados são capazes de influenciar na atividade de células do tipo Th2, responsáveis pela produção de imunoglobulinas (MESQUITA; TRIANTIS et al., 2018).

Os OLH parecem ter papel importante na Enterocolite Necrotizante (NEC) em bebês prematuros. A NEC é uma destruição grave do epitélio intestinal do bebê. Foi demonstrado que esses agentes prebióticos, aumentam a proliferação de espécies de bifidobactérias benéficas e previnem a adesão de bactérias patogênicas ao epitélio intestinal. Ademais, em modelos de cultura animal, os OLH foram capazes de prevenir a lesão intestinal, em comparação com os oligossacarídeos sintéticos (SCHANLER, 2015; Jantscher-Krenn, et al, 2012).

Além do fator genético, estudos sugerem a influência de fatores ambientais na modulação dos OLH, tais como localização geográfica e estado nutricional materno. Estudos revelam que bebês amamentados com níveis maiores de ácido siálico no leite

materno, demonstraram melhor desempenho em testes cognitivos, sugerindo melhor desenvolvimento neurológico dos mesmos (WANG, 2001; WANG; BRAND-MILLER, 2003).

Em relação ao estado nutricional materno, os estudos mostram que mulheres com sobrepeso apresentaram concentrações significativamente maiores de 3'Sialyllactose (3'SL), 6'Galactosyllactose (6'GL) e Disialyllacto-N-tetraose (DSLNT) no colostro, quando comparado a mulheres com peso normal (SAMUEL, et al, 2019). Esses achados, corroboram com os estudos de Mc Guire, et al. (2017), que analisando a composição dos OLH, encontrou maiores concentrações de 6'SL no leite de mães obesas.

O impacto do estado nutricional materno no ganho de peso de recém-nascidos, foi avaliado no estudo de Larsson, 2019. Foi possível encontrar associações positivas entre as concentrações de OLH total e fucose com o índice de massa gorda (IMG) e velocidade de peso de 0 a 5 meses de neonatos. A 2'-fucosilactose (2'-FL) foi positivamente associada com velocidade de peso de 0 a 5 meses e IMG em 5 meses.

De modo geral, os OLH têm funções que precisam ser exploradas ao longo de mais estudos e atualmente sabemos que possivelmente seus efeitos benéficos estão relacionados ao ganho de peso e neurodesenvolvimento infantil. Ademais, por modularem o microbioma intestinal dos RN, favorecem o crescimento de um perfil de bactérias benéficas para a saúde infantil (FERREIRA, 2020; MAESSEN et al., 2019).

2.4.6 Micro-RNAs

Recentemente, os Micro-RNAs (miRNAs) são RNAs não codificantes endógenos de 18-25 nt de comprimento. Eles são importantes reguladores de muitos processos biológicos, como organogênese, desenvolvimento corporal, metabolismo celular e diferenciação celular. Um estudo mostrou que os alvos dos miRNAs presentes no colostro materno, são diferencialmente expressos, estando envolvidos em uma ampla variedade de vias, incluindo MAPK, PI3K-Akt, endocítica, adesão focal e sinalização Ras, Rap1, FoxO, Hippo, Wnt, mTOR e sinalização de autofagia, bem como a via de regulação da longevidade. Tomados em conjunto, esses resultados sugerem que o colostro humano possui funções únicas em comparação com o leite maduro (WU et al, 2020).

Atualmente, diversos estudos buscam compreender os efeitos epigenéticos de fatores bioativos no leite materno e seu impacto na programação metabólica da prole. Os micro-RNAs (miRNAs) encontrados no leite materno são definidos como pequenas moléculas de RNA que modulam a atividade de alvos específicos de mRNA e

desempenham papéis importantes em uma ampla gama de processos fisiológicos e patológicos (KOSAKA, et al. 2010; MELNIK; SCHMITZ, 2017).

Recentemente, Zamanillo, et al. (2019) avaliaram a expressão de miRNAs, adiponectina e leptina no leite materno de mães com excesso de peso e possível influência no estado nutricional de lactentes participantes de uma coorte, acompanhados durante 2 anos. Associação negativa foi encontrada com o IMC infantil de mães com peso normal (miR-103, miR-17, miR-181a, miR-222, miR-let7c e miR-146b). Em contraste, mães com sobrepeso e obesidade, apresentaram genes de miRNAs, juntamente com concentrações de adiponectina e leptina, associados significativamente com ações que modulam o crescimento infantil e o desenvolvimento do cérebro, sugerindo um suposto papel no neurodesenvolvimento infantil.

O Quadro 1, apresenta a variação nas concentrações dos compostos bioativos no leite em função do estado nutricional materno e as possíveis repercussões sobre o metabolismo infantil:

Quadro 1 - Variação na concentração de compostos bioativos no leite humano em função do estado nutricional materno

Compostos bioativos	Funções	Estado Nutricional Materno	Concentrações no colostro	Referência
Agentes Antimicrobianos Lactoferrina	Proteína de fase aguda, quelatos de ferro, antibacteriano, antioxidante. Ação bactericida, destruição da parede externa das bactérias, potencializa as ações de outros fatores antimicrobianos.	OB	NE	Houghton et al., (1985)
Lisozima		-	-	
Citocinas IL-2	Recruta células T para estimular uma resposta imune específica do antígeno. Modula a resposta Imune em Th2.	SO	NE	Collado et al. (2012)
IL-4			NE	
IL-6	Estimulação da resposta de fase aguda, ativação de células B, pró-inflamatória.		NE	
IL-10	Repressão da inflamação do tipo Th1, indução da produção de anticorpos, facilitação da tolerância.		NE	
IFN- γ	Pró-inflamatório, modula a resposta em Th1.		NE	
TGF- β TNF- α	Maturação do sistema imunológico intestinal Estimula a ativação imune inflamatória.		NR NR	
Fatores de crescimento EGF IGF-1	Estimulação da proliferação e maturação celular. Estimulação de crescimento e desenvolvimento, aumento de hemácias e hemoglobina.	SO/OB	NR	Khodabakhshi et al. (2015)
sCD14			NR	
Hormônios Adiponectina Leptina	Regular o metabolismo energético. Aumentar o apetite e suprimir o gasto de energia.		SO/OB	NR NR

Insulina	Hormônio que influencia na comunidade do microbioma no lúmen do trato gastrointestinal.		NE	Khodabakhshi et al. (2015)
Grelina	Fator de crescimento que estimula a alimentação do bebê.		NR	
Obestantina	Controla o apetite e a função gastrointestinal do bebê à medida que o bebê se adapta a receber leite.	SO/OB	NR	
Imunoglobulinas				
IgA	Imunidade de mucosa, proteção do TGI.		NE	Islam et al. (2006) Fujimori et al. (2015)
IgG	Ativação do sistema complemento e citotoxicidade dependente de anticorpos.	SO/OB	NC	
IgM	Protege a superfície da mucosa intestinal infantil de vírus e bactérias.		NE	
Oligossacarídeos do Leite Humano				
3'SL	Propriedades anti-infecciosas, reduzindo a fixação do patógeno e infecção subsequente, fortalecimento da função de barreira intestinal e imunomodulação.	SO	NE	Samuel, et al. (2019)
6'GL			NE	
DSLNT			NE	
LNT			NR	
Ácidos Gráxos				
Ácidos decanoico (C10: 1)	Associado a índices aterogênicos e trombogênicos relativamente baixos	SO/OB	NE	Sinanoglou, et al. (2017)
Tridecanoico (C13: 0)				
Adrenérgico (C22: 4 ω -6)				

AGPI ω -3				
Ácido alfa-linolênico (C18:3 ω -3)		SO/OB	NR	
Ácido docosadienóico (C22:2 ω -6)				
Proteínas Alfa-lactalbumina	Atividade antimicrobiana	BP	NR	Lönnerdal, et al. (1976)

Fonte: Adaptado de Ballard e Morrow (2013) Erliana e Fly (2019) e Nolan; Parks; Good, 2019.

Legenda: NE: Níveis Elevados; NR: Níveis Reduzidos; NC: Níveis Constantes; SO: Sobrepeso; OB: Obesidade; BP: Baixo peso; Interleucina-2 (IL-2); Interleucina-4 (IL-4); Interleucina-6 (IL-6); Interleucina-10 (IL-10); Interferon Gama (IFN- γ); Fator de Necrose Tumoral (TNF- α); Fator de transformação de crescimento beta (TGF- β); Cluster de diferenciação Solúvel (sCD14); 3'Sialyllactose (3'SL); 6'Galactosyllactose (6'GL); Disialyllacto-N-tetraose (DSLNT); Lacto-N-neotetraose (LNnT); Imunoglobulina A (IgA); Imunoglobulina M (IgM); Imunoglobulina G (IgG).

3. Fatores maternos, fisiológicos e comportamentais que interferem na composição do leite materno

A composição do leite materno é extremamente complexa. Vários estudos examinaram a influência das características maternas na composição do leite. Esse biofluido é dinâmico e seus componentes biologicamente podem sofrer alterações, como as que ocorrem nos primeiros dias após o parto (ANDREAS, 2015; CASAVALE, 2019).

3.1 Mudanças associadas a características maternas

3.1.1 Idade gestacional

Os bebês prematuros são classificados como aqueles nascidos antes de 37 semanas gestacionais. A avaliação da variação dos compostos bioativos em função da Idade gestacional (IG) foi investigado em uma série de trabalhos. Alguns autores identificaram diferenças na capacidade antioxidante do leite materno de bebês a termo e pré-termo.

Os achados revelam que o leite destinado a recém nascidos prematuros, têm mais antioxidantes e igual resistência ao estresse oxidativo quando comparado ao leite humano a termo. Contudo, outros estudos mostram uma capacidade antioxidante inferior. Apesar das controvérsias, a exposição ao estresse oxidativo e restrição de nutrientes ao neonato, parece estar ligado a um possível fator adicional de proteção no leite de bebês prematuros, sendo este um aspecto que ganha destaque, porém com a necessidade de mais estudos aprofundados (FRIEL, 2011; QUILES, 2006; PĂDURARU, 2018).

Outros estudos corroboram com esses resultados. É o que revela CASTELLOTE, et al, (2011), observando que no leite materno muito prematuro contém níveis mais baixos do que o leite pré-termo, embora ainda mais elevados em comparação com o leite a termo. No colostro prematuro, o conteúdo de EGF foi encontrado foi elevado em relação ao leite do RN a termo.

Os hormônios e peptídeos também sofrem variação em função da IG. Estudo de EILERS et al. (2011) e RESTO et al. (2001), encontrou níveis de leptina mais elevados no leite de mães com recém-nascidos prematuros.

É razoável supor que esses compostos bioativos podem contribuir para a proteção em longo prazo de bebês prematuros, protegendo-os de doenças cardiometabólicas. É o que alguns autores analisaram ao observar que entre os prematuros amamentados, houveram taxas mais baixas de síndrome metabólica, hipertensão ou resistência à insulina na adolescência, em comparação com os recém-nascidos não são amamentados (SINGHAL et al, 2002).

3.1.2 Polimorfismos

A variação na composição do HMO está ligada principalmente ao polimorfismo dos genes Secretor e Lewis, que influencia na quantidade e diversidade de HMOs (BIDDULPH et al, 2021).

Em mulheres com uma enzima FUT2 ativa são referidas como secretoras, pois secretam uma quantidade substancial de oligossacarídeos α 1,2-fucosilados. No entanto, mulheres com um FUT2 inativo sem oligossacarídeos α 1,2-fucosilados são chamadas de não secretoras (LARSSON et al, 2019).

Outros estudos, encontraram polimorfismos relacionados aos genes da dessaturase de ácido graxo, que interfere na capacidade de alongar as moléculas precursoras de ácido graxo, reduzindo a capacidade de sintetizar ácido araquidônico e DHA no leite. A luz da ciência, são necessárias mais pesquisas sobre outros polimorfismos que podem impactar HMC (CASAVALLE, 2019; MOLTO-PUGMARTI et al, 2010).

4 Mudanças associadas a fisiologia materna

As concentrações do leite também são influenciadas por período de lactação, estação e ritmos circadianos, bem como tempo desde o esvaziamento mamário anterior e duração das mamadas (CASAVALLE, 2019).

4.1 Estágio da lactação

O leite é comumente classificado em colostro, leite de transição e leite maduro; no entanto, essas não são classes distintas de leite, mas referem-se à alteração gradual no conteúdo do leite ao longo da lactação (ANDREAS, 2015). O volume do leite também muda com o tempo, aumentando rapidamente na primeira semana de <20 mL / d no nascimento para ~500 mL/dia (NEVILLE, 1988).

Recentes estudos mostraram que no estágio final da lactação, as concentrações de lactose, colina, alanina, glutamato e glutamina, foram significativamente maiores e por outro lado, citrato, fosfocolina, Glicerofosfocolina e N-acetilglucosamina foram encontrados com níveis reduzidos. Esses achados complementam os estudos temporais sobre o colostro e o metabóloma de transição ao fornecer uma melhor compreensão das variações nutricionais recebidas por uma criança (WU, et al., 2016).

O colostro difere do leite maduro em termos de suas propriedades bioativas, contendo altas concentrações de imunoglobulina secretora. Os estudos também mostram que os HMOs possuem variação de acordo com o estágio da lactação, visto que foi identificado altos níveis no colostro, duas vezes maior que as concentrações do leite maduro (~ 21 g / L para ~ 13 g / L do dia 4 ao dia 120 pós-parto) (COPPA, 1999).

Este, também é altamente rico em fatores de crescimento em comparação ao leite maduro. Alguns autores mostraram que o fator de crescimento epidérmico, TGF- β e fator de estimulação de colônias, apresentaram taxas mais altas nesse biofluido (ANDREAS, 2015; BALLARD e MORROW, 2013).

4.1.1 Ciclo circadiano

A cronobiologia do leite materno ganhou grande espaço quanto ao nível de evidências ao longo dos anos e sua variação em relação ao relógio biológico materno. Apesar disso, estudos de mais robustos são necessários para examinar os muitos componentes pouco estudados, tais como: insulina, probióticos, células imunológicas e metabólitos (ITALIANER, 2020).

A melatonina foi identificada em concentrações elevadas durante a noite, sendo quase indetectável durante o dia. Ademais, foi possível observar níveis mais elevados no colostro, relacionado a atividade fagocítica das células contra as bactérias. Outro achado interessante, neste mesmo estudo, revelou um tempo de sono mais longo em recém-nascidos amamentados do que naqueles alimentados com fórmula (FEELEY, 1983).

Por outro lado, estudos nesse ramo revelam que a melatonina parece ser um componente bastante promissor. Uma vez que seu atua na neuroproteção de bebês prematuros, devido aos seus efeitos na modulação das vias neuro inflamatórias (UDIPI, 1987).

Pesquisas futuras precisam ser realizadas, porém estudos recentes mostram que diversos metabólitos sofrem variação em função do ciclo circadiano materno e possivelmente podem ter repercussões sobre a saúde e bem-estar infantil. É o que revela uma recente revisão, que mostrou variabilidade circadiana no nível de triptofano, durante o período noturno. Alguns outros trabalhos demonstraram variabilidade circadiana durante o dia em relação a nucleotídeos, microRNA, cortisol e melatonina (CUBERO, et al, 2005; WHITE, 2017).

5 Fatores relacionadas ao recém-nascido

5.1 Peso ao nascer

O leite materno de bebês Pequeno para idade gestacional (PIG), adequado para idade gestacional (AIG) e Grande para a idade gestacional (GIG), foram identificados com concentrações diferentes de leptina, especialmente durante o primeiro mês de vida. Um estudo de Larsson, (2018), mostrou que os níveis de leptina no leite são significativamente reduzidos nos Recém-nascidos (RNs) PIG em comparação com os AIG e GIG, se associando também com velocidade de crescimento nos primeiros 15 dias pós-natal.

Esses achados sugerem que a presença de leptina no leite pode ter um possível papel na modulação do crescimento, apetite e regulação da nutrição na infância, especialmente durante o período inicial de lactação (GILA-DIAZ et al. 2019).

Um estudo analisou a composição de fosfolipídios presentes no colostro materno em função da Idade Gestacional dos RNs. Os resultados revelaram que a IG afeta a concentração de fosfolipídios no leite, apresentando maiores níveis no colostro e reduzindo no leite maduro (INGVORDSEN LINDAHL, 2019).

6 Mudanças associadas a características comportamentais

6.1 Tabagismo

A literatura já é bem estabelecida quanto aos malefícios que a exposição do RN as substâncias do cigarro podem causar. Os bebês de mães que fumam durante a gravidez geralmente nascem com baixo peso ao nascer (BPN), do que bebês de mulheres não fumantes. Um fator adicional, se dos efeitos deletérios que a

nicotina tem no bebê, já que age inibindo a ação da prolactina, limitando assim o consumo do leite (AMARAL et al., 2021; FRIEL, 2011).

Alguns estudos mostram que há redução da transferência de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (PUFAs), em especial da linha ômega-3. Fato este que pode trazer repercussões para a saúde infantil, uma vez que o ácido Docosaheptaenóico (DHA) é extremamente importante para o desenvolvimento visual e cerebral do bebê (AGOSTONI et al., 2003).

Os resultados de estudos que mostram o efeito do tabagismo na produção de citocinas do leite, ainda permanecem obscuros. No entanto, Zanardo et al. (2005) mostraram que as concentrações de citocina IL-1 α pró-inflamatória são muito mais baixas em fumantes do que no colostro de não fumantes. Em contraponto, Szlagatys-Sidorkiewicz et al. (2013), descobriram que as concentrações no leite maduro de mães fumantes são significativamente maiores do que em não fumantes.

Um estudo de Bachour et al. (2012), observaram que o leite de mulheres fumantes continha menos lipídios e proteínas. Além disso, observaram que a concentração de IgA era menor entre os fumantes.

Os níveis de TNF- α foram encontrados para ser muito mais baixos no leite materno de mulheres fumantes (ERMIS et al., 2009). Além disso, níveis mais baixos de IL-1 β , IL-8 no colostro e IL-6 no leite maduro foram encontrados entre as mulheres que fumaram durante a lactação. Por desempenharem um papel importante na regulação do crescimento celular normal, sistema imunológico e regulação e no processo inflamatório, mais estudos são necessários para elucidar os principais mecanismo de ação e repercussões sobre a saúde infantil. (ERMIS et al., 2012; NAPIERALA et al., 2016).

6.2 Etilismo

O consumo de álcool por puérperas ainda é uma realidade. Por ser uma droga que é transferida ao leite humano, pode ocorrer algumas implicações na saúde do recém-nascido. Uma repercussão bem estabelecida na literatura, consiste no seu impacto sobre a redução da descida do leite, secundário à supressão da liberação de ocitocina e com efeito dose dependente (MENNELLA, 2001; HO, et al., 2001). Outros efeitos adversos observados em outros estudos são: sonolência, fraqueza e ganho de peso fora do padrão recomendado em lactentes (CHAVES et. al., 2018).

No entanto, alguns estudos revelam que possivelmente pode haver consequências sobre a composição do leite materno. É o que mostra um estudo observacional com lactantes que consumiram uma sopa alcoólica e outra não alcoólica. Nesta comparação, foi possível observar que entre as mães que consumiram álcool, os níveis de triacilglicerol estavam aumentados no leite. Esse efeito, foi possivelmente associado ao maior aporte de lipídeos e calorias presentes em relação a sopa não alcoólica (CHIEN et al., 2008).

Entretanto, outro estudo, com delineamento longitudinal, acompanhou mulheres que consumiram suco de laranja com e sem álcool durante 1 semana e constatou resultados controversos, não havendo diferença no teor de gordura e calorias do leite materno. Ademais, corroborando com outros achados, houve produção de leite, suprimida pelo consumo de álcool, supostamente pelo mecanismo de supressão pelo bloqueio da prolactina (MENNELLA, 1998).

Mais estudos são necessários para elucidar os reais mecanismos envolvidos na possível interferência do álcool na composição do leite humano, porém os estudos ainda são escassos no estabelecimento dessa associação (MELO, 2020).

6.3 Dieta materna

A dieta materna é um componente que possui impacto bem definido em uma série de estudos. Destaca-se, principalmente, sua influência na modulação do perfil lipídico do leite materno, no entanto os resultados dos estudos são controversos (KEIKHA, et. al., 2017). Existe uma série de estudos que mostram uma associação positiva da composição de Ácidos Graxos (AGS) em relação a dieta da lactante (HELDENBERG, et al., 1983; JONSSON, et al., 2016). Em contraste, existem alguns que não demonstraram essa associação (KELISHADI, 2012; IRANPOUR, et al. 2013).

Um estudo de TIANGSON, et al., (2003), demonstrou que a ingestão média de proteínas de mulheres filipinas foi um fator determinante sobre os níveis de DHA no leite materno. Outro estudo realizado no Irã, não encontrou associação entre o consumo diário de energia, carboidratos, proteínas, ácido linoleico (LA), ácido linolênico, ácido graxos poli-insaturados (PUFA), ácido graxo saturado (SFA), ácido graxo monoinsaturado (MUFA) e colesterol da dieta materna com o teor de gordura no leite materno. Neste mesmo estudo, somente os aminoácidos (AA) e teor de

gordura foram associados positivamente com ácido eicosapentaenoico (EPA) e DHA (KELISHADI, et al., 2012).

Foi demonstrado que a dieta materna modula uma série de nutrientes importantes para o recém-nascido. Especialmente, destaca-se: O consumo de peixe, que guarda relação com o conteúdo de DHA. Um estudo de INNIS, (2014), analisou o impacto da dieta materna na composição do leite humano e no desenvolvimento neurológico de bebês. Esse trabalho revelou que os ácidos graxos do leite humano: AGM, n-6 e n-3, possuem concentração dinâmica, de acordo com o consumo de lipídeos na dieta materna.

Em relação ao conteúdo de proteína do leite, um estudo demonstrou que a qualidade e quantidade da proteína ingerida na dieta materna, se associou positivamente com a relação caseína: proteína do soro de leite (DE FERRER; SAMBUCETTI, 1993).

MATERIAL E MÉTODOS

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 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.

6.2 Critérios de inclusão

Participaram da pesquisa as puérperas na faixa etária de 20 – 40 anos, que apresentaram gestação de feto único vivo, nascido com idade gestacional ≥ 37 semanas, sem enfermidades infectocontagiosas ou intercorrências clínicas gestacionais e que tinham registro de peso no cartão da gestante, datado com menos de 30 dias em relação ao parto. Estas foram recrutadas na Maternidade Nossa Senhora da Guia, por ocasião do trabalho de parto, e aceitando participar da pesquisa, após leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Apêndice A) realizada por um dos integrantes da equipe.

6.3 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, 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.

¹ DESSI, A. et al. Metabolomics of Breast Milk: The Importance of Phenotypes. *Metabolites* 2018, 8, 79.

6.4 Coleta de dados

Para coleta de dados, foi realizada uma abordagem inicial da paciente por um dos colaboradores (alunos de graduação em Nutrição), com supervisão direta de um Nutricionista ou da Coordenadora da Pesquisa, entre 24 - 48 horas após o parto. Nesta ocasião, foi verificado se a puérpera atendia os pressupostos para participar da pesquisa. Atendendo aos critérios, a paciente respondeu se aceita participar do estudo ou não, dando o seu consentimento por escrito ou através de impressão datiloscópica no TCLE (APÊNDICE A).

Após autorização da sua participação, a puérpera respondeu às perguntas feitas por um de nossos colaboradores, de acordo com um questionário previamente estabelecido (APÊNDICE B), e ao fim desta entrevista foi coletado o colostro, conforme descrito a seguir, desde que fosse possível. Diante de alguma impossibilidade, a equipe retornou em outro horário ou no dia seguinte para coleta do material.

6.5 Delineamento do estudo

6.5.1 Avaliação do estado nutricional materno e do recém-nascido

Para monitorização do estado nutricional da gestante, os dados foram obtidos por meio do cartão de acompanhamento do pré-natal/e ou prontuário, com a utilização do índice de massa corporal pré-gestacional, segundo as recomendações da World Health Organization (1998) e o IMC por semana de gestação pela Curva de Atalah et al. (1997).

Para análise e classificação do estado nutricional materno, com base nos pontos de corte para o IMC estabelecidos para o período pré-gestacional e durante a gestação, as mulheres tiveram seu estado nutricional classificado em baixo peso, eutrofia, sobrepeso e obesidade. Através dessas variáveis também foi possível quantificar o ganho de peso ao longo da gestação e verificar se o mesmo se encontra dentro do esperado segundo as recomendações do Institute of medicine (2009), como demonstrado no quadro 2.

Quadro 2 - Ganho de peso (kg) recomendado durante a gestação segundo EN inicial.

Estado Nutricional (EN) Pré-gestacional (IMC)	Ganho de peso semanal médio no 2º e 3º trim	Ganho de peso total na gestação*
Baixo Peso < 18,5Kg/m ²	0,510 (440 - 580)	12,5 - 18,0

Adequado > 18,5 ≤ 24,9Kg/m ²	0,420 (350 - 500)	11,5 - 16,0
Sobrepeso > 24,9 Kg/m ²	0,280 (230 - 330)	7,0 - 11,5
Obesidade > 30,0 Kg/m ²	0,220 (170 - 270)	5,0 - 9,0

Institute of medicine (2009)

Para avaliação do estado nutricional do recém-nascido serão utilizadas as informações da Declaração de Nascido Vivo e do prontuário da mãe ou do neonato quando esse estiver disponível isoladamente, sendo essas crianças classificadas quanto ao peso do nascimento, segundo a classificação de Villar et al (2014):

- Pequeno para a idade gestacional (PIG) - peso para idade < Percentil 3
- Adequado para a idade gestacional (AIG) - peso para idade entre percentil 3 e 97
- Grande para a idade gestacional (GIG) - peso para idade > Percentil 97

6.5.2 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.

6.5.3 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).

6.6 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.

6.7 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 (D₂O) 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 metabólica dos biofluido. Para a identificação dos metabólitos foram utilizados experimentos de RMN bidimensionais, tais como, J-resolvido COSY ¹H-¹H, TOCSY ¹H-¹H, HMBC ¹H-¹³C e HSQC EDITADO ¹H-¹³C com o auxílio do programa Chenomx e Human Metabolome Data Base (HMDB).

6.8 Análise Estatística Multivariada

Os espectros de RMN¹H 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. A 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.

6.9 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.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

A idade média das puérperas foi de $25,3 \pm 3,8$ anos, com a maior parte delas (81,0%) informando morar com o companheiro e 78,7% residindo em Maceió. Apenas 6,0% das avaliadas possuíam o ensino superior completo e a renda média familiar era menor que 2 salários mínimos. É possível observar que maior parte das puérperas possuem de 4 a 6 membros na família, tem acesso a água encanada e à serviços de saúde (Tabela 1).

Tabela 1. Características demográficas e socioeconômicas de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió-AL, 2021.

Variável de interesse	n (80)	%	Média ± DP
20-29 anos	68	85	25,82 ± 3,8
30-40 anos	12	15	
Situação Conjugal			
Reside com companheiro	65	81,2	-
Não reside com companheiro	15	18,7	
2 a 3 membros	19	23,7	4,48 ± 1,5
4 a 6 membros	53	66,2	
≥ 7 membros	8	10	
Anos de estudo			
1 a 3 anos	1	1,25	-
4 a 7 anos	16	20	
8 a 10 anos	17	21,25	
11 a 14 anos	46	57,5	
15 ou mais	0	0	
Renda média mensal			
≤ 2 salários mínimos (Classe D)	51	63,7	-
> 2 salários mínimos (Classe C)	11	13,7	
≥ 4 salários mínimos (Classe B)	3	3,8	
≥ 10 salários mínimos (Classe A)	0	0	
Não possui renda	3	3,8	
Não sabe informar	12	15	
Acesso a serviço de saúde			
Sim	74	92,5	-
Não	6	7,5	
Fornecimento de água			
Sim	77	96,2	-
Não sabe ou não tem	3	3,75	

Fonte: Autor, 2021.

A maior parte das entrevistadas (70,0%) apresentaram parto vaginal, 42,5% são secundigesta e 20,0% relataram aborto prévio. Ainda sobre os hábitos de vida, cerca de 18,7% relataram consumir bebidas alcoólicas e 8,7% relataram fumar durante a gestação. Apenas 16,2% praticavam exercícios físicos (Tabela 2).

Tabela 2. Características clínicas, hábitos de vida e história reprodutiva de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió-AL, 2021.

Variável de interesse	n (80)	%	Média ± DP
Nº de gestações			
1 gestação	20	25	2,3 ± 1,16
2 gestações	34	42,5	
≥ 3 gestações	26	32,5	
Teve aborto			
Sim	16	20	
Não	64	80	
Intercorrência na gestação atual			
Sim	13	16,2	
Não	67	83,7	
Estilo de vida			
Tabagista	7	8,7	
Consome bebidas alcoólicas	15	18,7	
Usuária de drogas	4	5	
Pratica exercícios físicos	13	16,2	
Medicamentos			
Utilizou medicamentos durante a gestação	38	47,5	
Não utilizou	42	52,5	

Fonte: Autor, 2021.

No que se refere ao estado nutricional pré-gestacional e a quantificação do ganho de peso durante a gestação, podemos observar na tabela 3 que há maior percentual de puérperas com eutrofia no período anterior à gestação. Porém, não podemos deixar de observar que muitas gestantes apresentavam excesso de peso de acordo com o IMC pré-gestacional. Vale ressaltar que três puérperas não sabiam referir seu peso pré-gestacional, e em seu cartão de gestante não constava tal informação.

Ao observar o ganho de peso na gestação, vimos que a maior parte das puérperas com baixo peso e eutrofia, possuíam ganho de peso abaixo do que deveriam, de modo que supostamente não houve o ganho de peso recomendado para o adequado desenvolvimento do bebê. Enquanto isso, a maioria das as mulheres que apresentaram sobrepeso ganharam peso acima da recomendação para o período gestacional. Por outro lado, dentre as obesas, a maior parte ganhou peso conforme a recomendação.

Tabela 3 - Distribuição das gestantes segundo classificação do IMC inicial e ganho de peso gestacional total em uma maternidade de Maceió-AL, 2021.

Estado nutricional pré-gestacional	Ganho de peso gestacional						Total
	Abaixo do recomendado		Recomendado		Acima do recomendado		
	N	%	N	%	N	%	
Baixo Peso	6	42,8	5	35,7	3	21,4	14
Eutrofia	12	41,4	6	20,7	11	38	29
Sobrepeso	4	16	8	32	13	52	25
Obesidade	3	33,3	4	44,4	2	22,3	9
Total de puérperas							77*

* 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.

Fonte: Autor, 2021.

O estado nutricional do recém-nascido, de acordo com a *World Health Organization* (WHO, 2006) está demonstrado no Tabela 4, onde podemos observar que 95,0% das puérperas geraram bebês adequados para idade gestacional e nenhum recém-nascido pequeno para idade gestacional foi gerado, o que pode ter acontecido em virtude de ser uma maternidade que atende gestantes de baixo e médio risco obstétrico.

Observando o estado nutricional do RN e o IMC materno, observamos que 4 crianças estavam grandes para idade gestacional (GIG), sendo duas provenientes de mães eutróficas e duas de mães obesas. Não foi observado nenhum recém-nascido pequeno para idade gestacional, independente do IMC materno.

Tabela 4. Estado nutricional do recém-nascido e índice de massa corporal materno de puérperas internadas em uma maternidade de Maceió-AL, 2021.

Índice de massa corporal materno	Pequeno para idade gestacional		Adequado para idade gestacional		Grande para idade gestacional	
	N	%	N	%	N	%
Baixo peso	0	0	20	100,0	0	0
Eutrofia	0	0	18	90,0	2	10
Sobrepeso	0	0	20	100,0	0	0
Obesidade	0	0	18	90,0	2	10
Total	0	0	76	95,0	4	5,0

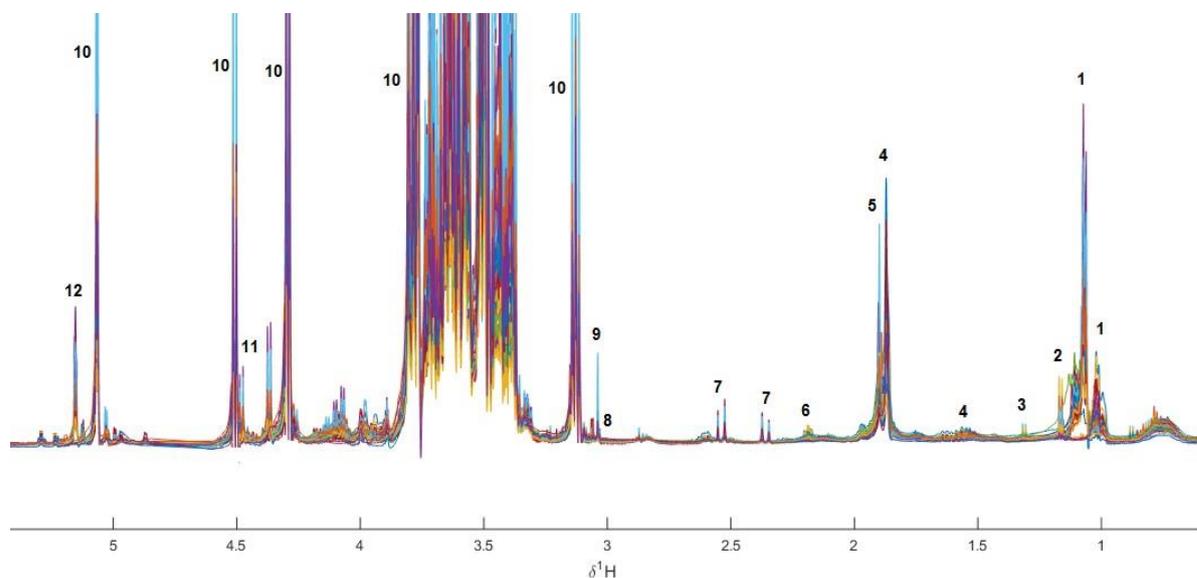
Fonte: Autor, 2021.

Diante do exposto, não foi evidenciado associação entre o IMC gestacional e ganho de peso materno com o peso ao nascer, visto que do total da amostra, apenas 5% dos neonatos nasceram GIG, sendo 2,5% provenientes de mães eutróficas e 2,5% de mães obesas. Em virtude do N ser pequeno para os casos de peso ao nascer fora do padrão esperado, a análise estatística não apresentou associação significativa, ficando esta com $p > 0,05$.

Ao analisar o colostro materno, na fase aquosa, identificamos a presença de açúcares e aminoácidos. Neste estudo, após a realização da análise multivariada das amostras, foram encontrados um total de 22 metabólitos, nas duas frações. Sendo 12 deles na fase aquosa.

Interessados em analisar os compostos bioativos presentes na fase aquosa, efetuou-se uma análise de componentes principais (PCA). Esta foi realizada para identificação de *outliers* e tendências de agrupamentos. A matriz de dados para a PCA foi formada com um total de 40 espectros de RMN referentes as frações aquosa do leite materno de 10 amostras de mães com obesidade (O); 10 amostras de mães com sobrepeso (S); 10 amostras de mães com Baixo Peso (B); 10 amostras de mães com Eutrofia (E). A figura 4 apresenta todos os 40 espectros sobrepostos alinhados e escalonados pelo método de única variância (UV), totalizando 14.153 variáveis, e também, mostra dos sinais numerados referindo-se aos metabólitos identificados nessas frações.

Figura 4 – Dados processados para análise multivariada da fase aquosa do leite materno.



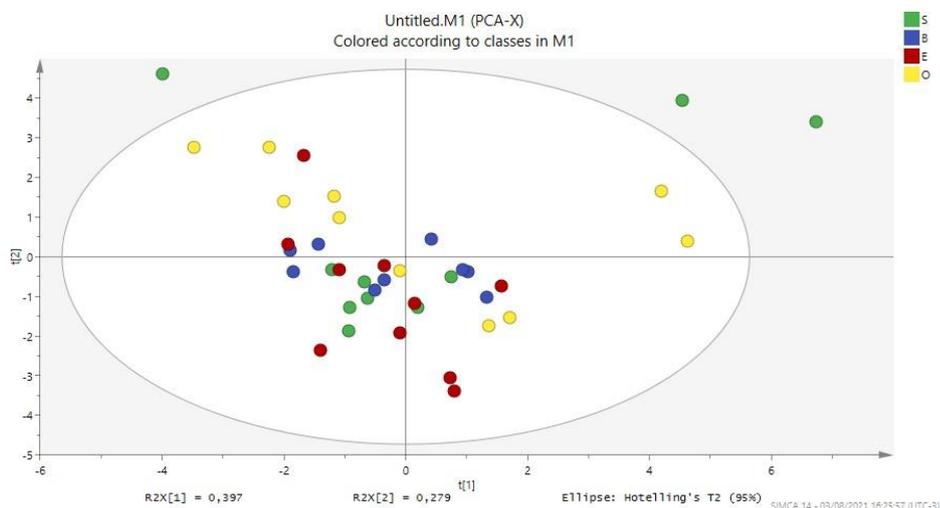
Os metabólitos identificados na fase aquosa (sinais numerados na Figura 4), estão dispostos no quadro 3 abaixo.

Quadro 3. Metabólitos identificados na fase aquosa de amostras de leite materno.

Nº	Deslocamento Químico (ppm)	Multiplicidade	Sinal Característico
1	1.07	Multiplete	Fucose
2	1.16	Dupleto	Ácido Láctico
3	1.31	Dupleto	Alanina
4	1.87	Simpleto	N-Acetil Glutamina
5	1.90	Simpleto	Ácido N-Acetil Neuramínico
6	2.18	Multiplete	Ácido Glutâmico
7	2.52	Multiplete	Ácido Cítrico
8	3.03	Simpleto	Colina
9	3.04	Simpleto	Glicerofosfocolina
10	3.13	Tripleto	Lactose
11	4.48	Dupleto	Glicose
12	5.15	Multiplete	Galactose

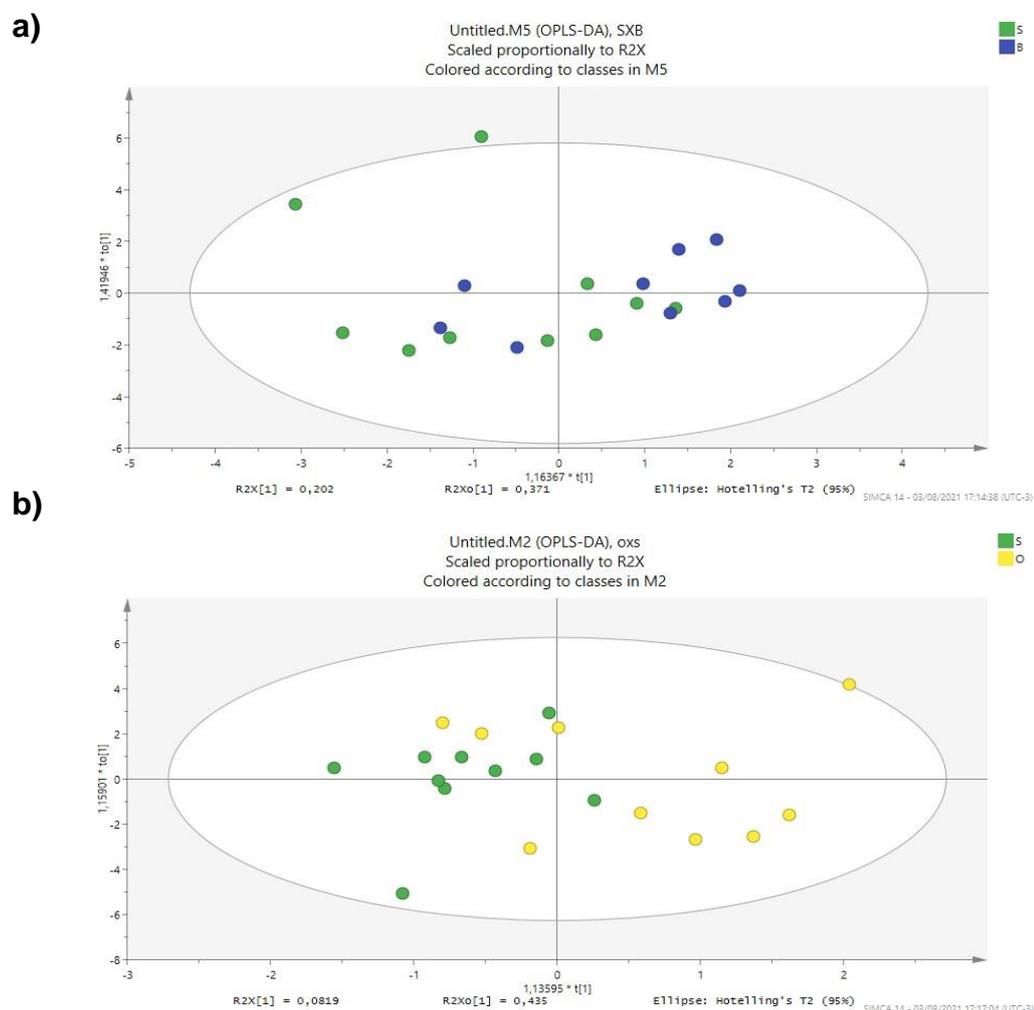
A Figura 5 mostra os escores da PCA, que foram formados por 4 grupos diferentes de acordo com o estado nutricional materno, sendo: 10 amostras de mães com obesidade (caracterizado pela letra O - cor amarela); 10 amostras de mães com sobrepeso (caracterizado pela letra S - cor verde); 10 amostras de mães com Baixo Peso (caracterizado pela letra B - cor azul); 10 amostras de mães com Eutrofia (caracterizado pela letra E - cor vermelho). Conforme apresentado nos escores da PCA, os escores dos grupos apresentaram-se de forma aleatória, não sendo possível a formação de agrupamentos entre os grupos das amostras de leite materno. No entanto, foram observados a presença de 3 outliers (pontos fora), representado pelas amostras de sobrepeso (escores em verde).

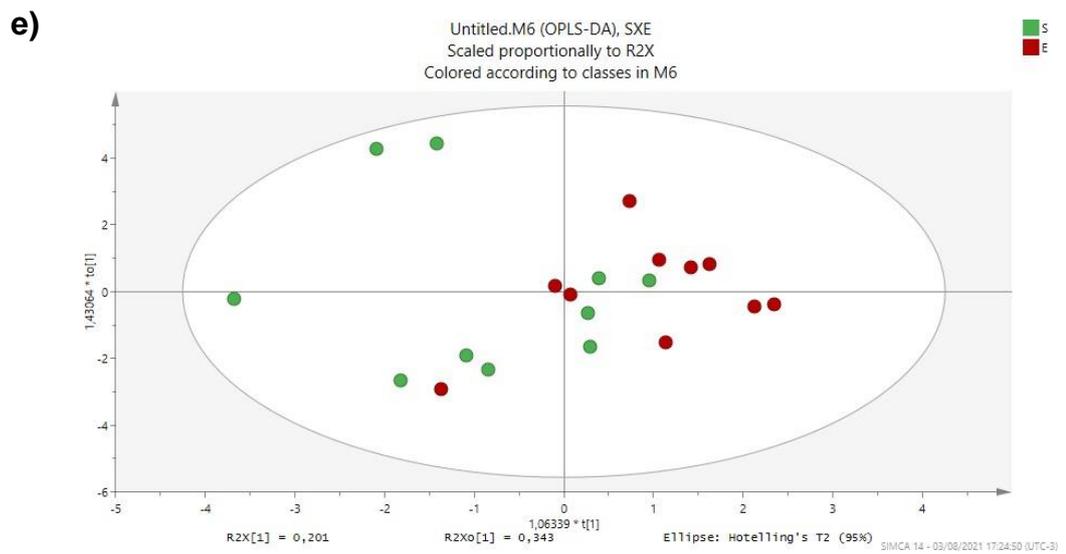
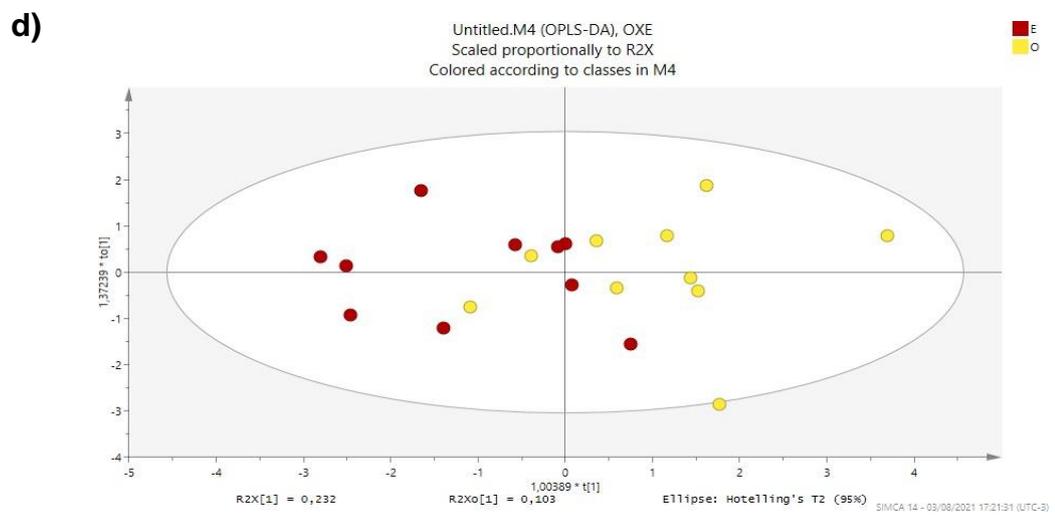
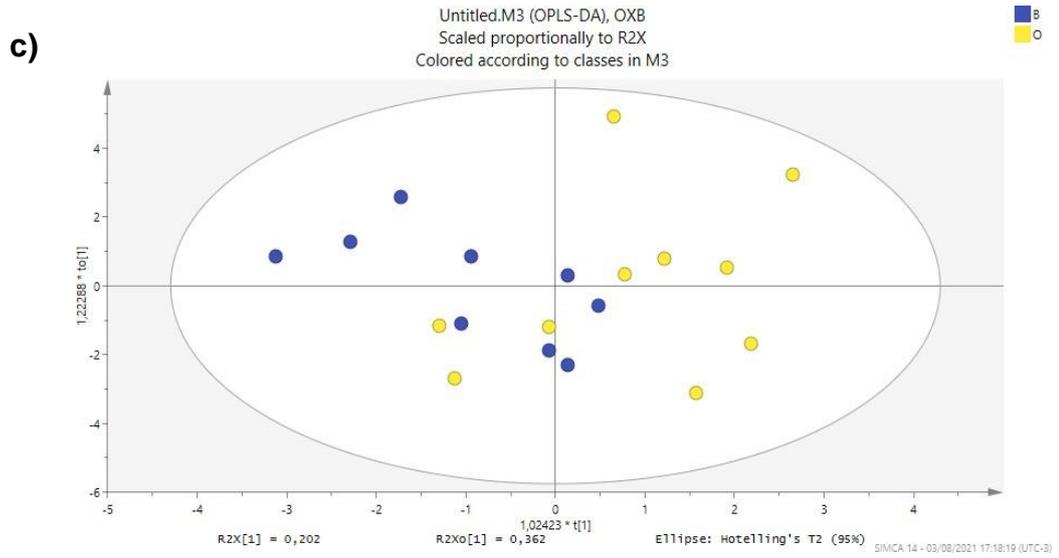
Figura 5 - Escores da PCA das amostras de leite materno em diferentes faixas de IMC.

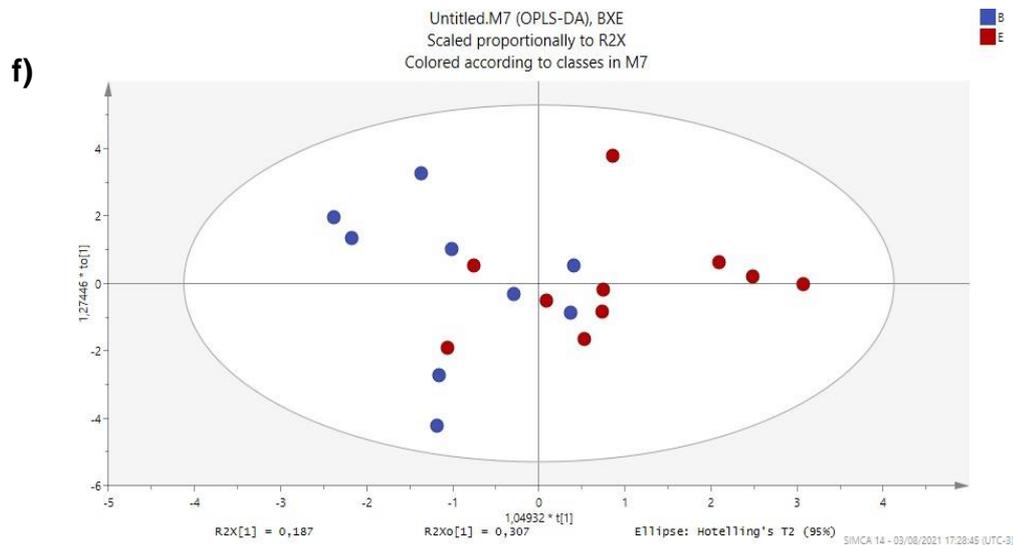


Com a finalidade de identificar diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, foram realizadas séries pareadas de análises discriminantes ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) pareando os grupos de amostras de leite materno das frações aquosas. Essa análise foi realizada para identificar possíveis metabólitos relacionados a comparação entre os grupos pareados. 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 (BxE). 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 significativas, 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. A figura abaixo mostra as séries pareadas OPLS-DA entre os grupos de amostras estudadas:

Figura 6 - Séries OPLS-DA pareadas entre os grupos estudados da fase aquosa.

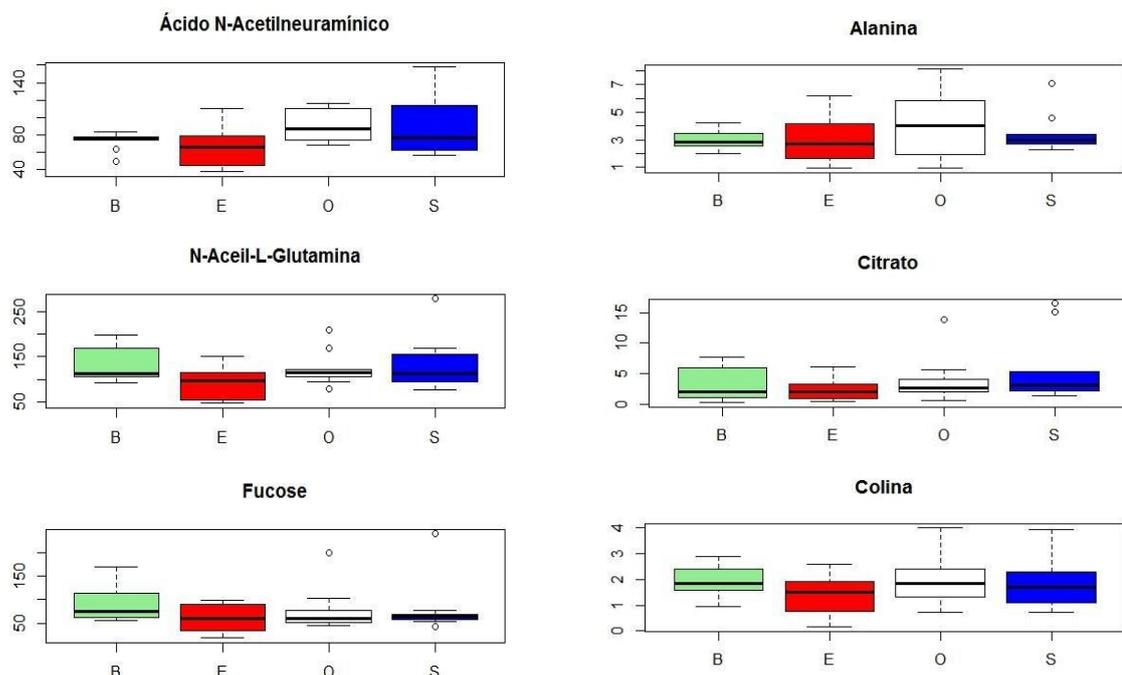


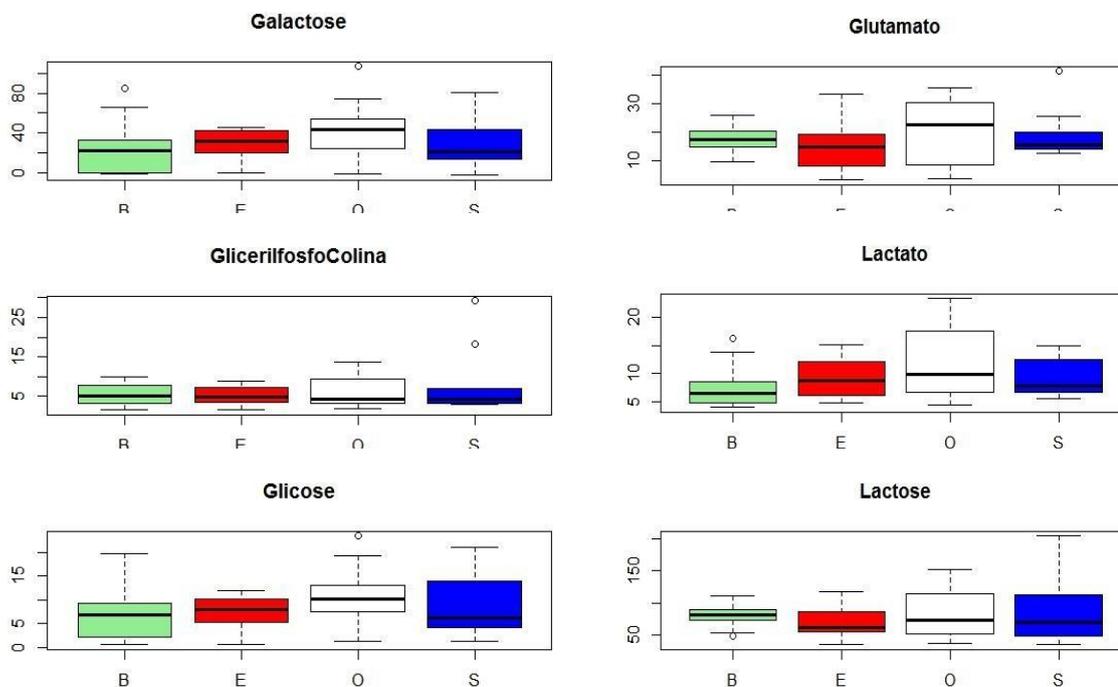




Diante do exposto, o resultado das análises multivariadas explicitados através da PCA e OPLS-DA, não demonstrou diferenças significativas nos metabólitos encontrados nas amostras de leite materno em função dos diferentes grupos de IMC estudados. Considerando isto, decidiu-se avaliar o comportamento dos níveis dos 12 metabólitos identificados por meio dos gráficos boxplots (figura 7), que foram construídos através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no programa matlab. O teste-T pareado ($p < 0,05$) foi aplicado para verificar possíveis diferenças significativas entre o pareamento dos grupos (B = baixo peso/ E = eutrofia / S = sobrepeso / O = obesidade) em relação a cada metabólito (figura 7).

Figura 7 – Gráficos Boxplots das concentrações relativas dos 12 metabólitos identificados da fase aquosa de leite materno de mães com diferentes categorias de IMC.





Ao analisar os gráficos boxplots (Figura 7) foi possível observar diferenças significantes com relação ao Ácido N-Acetilneuramínico, N-Acetil-L-Glutamina e Fucose. Foi observado 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 N-Acetil-L-Glutamina apenas apresentou diferença significativa na comparação entre mães com baixo peso e mães com eutrofia (BxE, $p = 0,021$), sendo as mães com baixo peso com maior quantidade deste metabólito. Resultado semelhante foi observado para a fucose, que mostrou-se elevada em mães com baixo peso em relação as mães com eutrofia (BxE, $p = 0,044$).

DISCUSSÃO

No presente estudo, as puérperas apresentaram idade média de $25,3 \pm 3,8$ anos, com a maior parte delas (81,0%) informando morar com o companheiro. Apenas 6,0% das mães avaliadas possuíam o ensino superior completo e a renda média familiar relatada foi menor que 2 salários mínimos. Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo de Domingues et al. (2020), onde a idade média das mães foi de 25,7 anos, apenas 9,0% com ensino superior completo e 80% vivendo com o companheiro.

As variáveis socioeconômicas ainda mostram que a maior parte das puérperas possuem de 4 a 6 membros na família, acesso a água encanada e à serviços de saúde. A respeito dos desfechos gestacionais, maior parte das entrevistadas (70,0%) apresentaram parto vaginal, 42,5% são secundigesta e 20,0% relataram aborto prévio. Esses resultados corroboram com o estudo de ALVARENGA, et al. (2021), no qual 46,3% das mães estão na sua segunda gestação e apenas 21,9% apresentaram antecedente obstétricos de aborto.

Na análise relacionada ao estilo de vida das mães, revelou-se que boa parte (18,7%) ingerem bebidas alcólicas, seguido de 8,7% que são tabagistas e 5% que usam drogas ilícitas. Um estudo avaliou o perfil de gestantes em uso de substâncias psicoativas na gestação e revelou que a substância psicoativa mais utilizada foi o álcool (81,0%), seguido do tabaco (40,1%) e maconha (12,8%). O uso do tabaco, destaca-se como a droga mais utilizada no terceiro trimestre gestacional pelas gestantes (TAVARES et al., 2021).

Vale ressaltar, que o uso de drogas de abuso pode ocasionar danos à saúde materno e infantil, tais como: hipertensão materna, placenta prévia ou seu descolamento prematuro, trabalho de parto pré-termo, bebês pequenos para a idade gestacional, o transtorno do espectro alcóolico fetal (TEAF), prematuridade entre outros danos (SILVA, 2021).

A prática de atividade física foi relatada por apenas 16,2% das puérperas. Um estudo avaliou está prática antes e durante a gestação, foi observado que mais da metade não realizava alguma atividade física antes da gestação (66,7%). Outro dado relevante, mostrou que durante a gestação houve ainda redução de 18,5% desta prática.

Desde que não haja contraindicações que coloquem em risco a saúde do binômio mãe-filho, os benefícios da realização de atividade física regular são de suma importância para manutenção de uma gestação saudável. É o que destaca, RODRIGUES et al., (2008), mostrando que dentre os principais benefícios estão:

diminuição dos sintomas de desconforto da gravidez, controle da ansiedade e depressão, menor tempo de evolução do trabalho de parto, e ao menor índice de parto cesáreo. Ademais, auxilia na redução do inchaço, melhoramento da circulação sanguínea, ampliação do equilíbrio muscular, alívio nos desconfortos intestinais, diminuição de câimbras, fortalecimento da musculatura abdominal, e facilita na recuperação pós-parto.

Avaliando as puérperas, quanto ao seu estado nutricional pré-gestacional materno e a quantificação do ganho de peso durante a gestação foi possível identificar que embora boa parte tenha iniciado a gestação com peso adequado, entre as mães eutróficas e com baixo peso, houve ganho de peso insuficiente na gestação.

Esse achado é crítico, uma vez que está associado a desfechos perinatais desfavoráveis, tais como: riscos aumentados de baixo peso ao nascer (BPN), deficiências de micronutrientes e restrição do crescimento intrauterino (RCIU), levando a alterações na evolução da gestação e no crescimento fetal (SANTOS, et al., 2012).

Como destaca GONÇALVES, et al., (2012), o ganho de peso excessivo na gestação, está associado a maior risco para complicações são para as gestantes obesas, que estão suscetíveis a diabetes, hipertensão, parto cirúrgico, enquanto seus filhos são mais propensos a apresentarem macrossomia, riscos de malformação fetal e maior mortalidade perinatal.

Outro ponto de análise do estudo, consistiu na avaliação do estado nutricional dos recém-nascidos, classificando-os quanto o seu peso ao nascer. Os resultados revelaram que 95,0% das puérperas geraram bebês AIG e nenhum FIG. Ainda a respeito do peso ao nascer, observou-se, que do total da amostra, apenas 5% dos neonatos nasceram GIG, sendo 2,5% provenientes de mães eutróficas e 2,5% de mães obesas. Não sendo possível estabelecer associação entre o IMC gestacional e ganho de peso materno com o peso ao nascer. Vale ressaltar, que os dados do presente estudo chamam atenção, uma vez que a maternidade atende a gestantes de baixo e médio risco obstétrico, o que pode ter influenciado no atual desfecho.

Apesar disso, o trabalho desenvolvido por MELO, et al. (2007), encontrou um maior percentual de crianças com baixo peso ao nascer (BPN) e peso insuficiente (PIN), entre as gestantes desnutridas, mostrando uma associação estatisticamente significativa.

Uma coorte populacional com mães e filhos de um município do Rio de Janeiro, mostrou que a incidência de macrossomia foi de 4,8%, sendo de 10,4% para os filhos

de mulheres com ganho de peso gestacional excessivo e de 2,5% para os filhos de mulheres com ganho de peso gestacional normal (KAC; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, 2005).

Diante dos desfechos gestacionais desfavoráveis que acometem mães e seus neonatos, amplia-se o olhar para a necessidade da captação precocemente das puérperas pelos serviços de saúde para realização do pré-natal em momento oportuno. Uma vez, que estudos mostram que os profissionais de saúde agem sobre esses fatores modificáveis tardiamente, sendo uma realidade nos países em desenvolvimento. Vale ressaltar, que o papel da equipe multiprofissional e a referência e contrarreferência, é essencial para ampliar o poder de resolutividade das ações voltadas para esse grupo (SILVA, 2013).

Embora, não seja encontrada diferença estatisticamente significativa no atual estudo, ao longo dos anos, o interesse é crescente em relação ao papel fisiológico dos aminoácidos (AA) no leite humano. Uma coorte de BALDEÓN, et al. (2019), analisou associações entre as concentrações desses aminoácidos no leite materno em função do gênero e padrões de crescimentos dos recém-nascidos.

Nesse estudo, foram encontradas concentrações mais elevadas do aminoácido alanina (ALA) no leite destinado as crianças do sexo masculino, quando comparado ao sexo feminino. Ademais, houve abundância significativamente maior de Glutamato e ALA nos bebês que apresentaram crescimento mais rápido em comparação aos com velocidade de crescimento moderado e rápido.

Outro componente bioativo identificado no nosso estudo, foi a colina (COL). Embora não tenha sido encontrado diferenças estatisticamente significantes na sua concentração em função do estado nutricional materno no presente estudo e a literatura ainda permeneça escassa neste sentido, é importante destacar que a colina é crítica para o desenvolvimento infantil e o leite materno é a única fonte para bebês totalmente amamentados até os seis meses de idade. A colina do leite humano consiste em 85% de formas solúveis em água de colina, incluindo colina livre, fosfocolina e glicerofosfocolina (MOUKARZEL, 2019).

Uma análise por BRIANA, et. al, (2020), investigou o perfil metabólico do colostro em condições extremas de crescimento fetal e sua influência no valor nutricional. Esse estudo identificou concentrações elevadas no conteúdo de lactose, ácido cítrico, colina, fosfocolina e N-acetilglutamina no colostro materno. Esses metabólitos apresentaram correlação positiva com casos de RCIU.

A exposição a esses compostos bioativos do colostro nas primeiras semanas de

vida, repercute sobre o futuro do recém-nascido. Estudos mostram, o seu papel na proteção de bebês nascidos em extremos de crescimento fetal, proporcionando crescimento rápido durante a primeira infância e reduzindo o risco de sobrepeso/obesidade, diabetes e hipertensão arterial na vida adulta (SINGHAL; LANIGAN, 2007).

Em nosso estudo, foi possível observar diferenças significantes com relação as concentrações do Ácido N-Acetilneuramínico, N-Acetil-L-Glutamina e Fucose após análise das séries pareadas OPLS-DA entre os grupos.

O Neu5AC, é um composto derivado do ácido neuraminico. É um ácido siálico que possui papel determinante no processo de neurotransmissão no RN, visto que auxilia na ligação das moléculas transmissoras à membrana sináptica. Alguns estudos relatam que sua suplementação está associada a melhora do desenvolvimento cerebral e cognitivo dos RN (SILVA, 2021).

O ácido siálico está presente em altas concentrações no sistema nervoso central e na massa cinzenta do cérebro, geralmente como um componente dos gangliosídeos. Estudos revelam que bebês amamentados com níveis maiores de ácido siálico no leite materno, quando comparado aqueles alimentados com fórmula, possuem melhor desempenho em testes cognitivos. Ademais, o ácido siálico está presente em altas concentrações no colostro, reduzindo seus níveis ao longo da lactação (WANG, 2001; WANG; BRAND-MILLER, 2003).

Uma coorte investigou a concentração de metabólicos que constituem os OLH em função do estado nutricional materno. Os achados encontrados, revelam que mulheres com sobrepeso apresentaram concentrações significativamente maiores de 3'SL, 6'GL e DSLNT no colostro, quando comparado a mulheres com peso normal.

Vale ressaltar, que esses OLH possuem em sua estrutura o Neu5AC, que compõe o ácido siálico. Em nosso estudo, o fato de mães obesas apresentarem maiores concentrações, possivelmente pode ter repercussões na saúde infantil, embora estudos mais profundos sejam necessários para elucidar os possíveis mecanismos envolvidos (SAMUEL, et al, 2019).

Esses achados, também corroboram com os estudos de Mc Guire, et al. (2017), que analisando a composição dos OLH, encontrou maiores concentrações de 6'SL no leite de mães obesas.

Algumas investigações, apontam uma possível relação dos açúcares terminais ligados a glicoproteína ácida α -1 (AGP) com processos anti-inflamatórios e imunomoduladores, e suposta repercussão sobre o adequado funcionamento do sistema imunológico de neonatos.

Diante disso, ORCZYK-PAWIŁOWICZ, et al. (2014), analisou a expressão de fucose ligada ao terminal α 1,3 da AGP, encontrando baixas concentrações no colostro e significativamente maior no leite de transição e maduro de mães saudáveis.

Um estudo encontrou associações positivas entre as concentrações de OLH total e fucose com o índice de massa gorda (IMG) e velocidade de peso de 0 a 5 meses de neonatos. A 2'-fucosilactose (2'-FL) foi positivamente associada com velocidade de peso de 0 a 5 meses e IMG em 5 meses. Esses achados, abrem um olhar para mais investigações a respeito do impacto desses fatores bioativos no ganho de peso infantil (LARSSON, 2019).

Ao avaliar o IMC pré-gestacional e o peso corporal materno, Samuel et al. (2019), descobriram que um maior IMC foi associado a menores concentrações de LNT e LNFP V.

Uma coorte brasileira, avaliou as concentrações do volume total de OLH e OLH ligado a fucose. O IMC pré-gestacional e IMC pós-parto foi inversamente correlacionado com 3'FL, LNFP III e DFLNH e diretamente correlacionado com LNnT no colostro. Nesse trabalho, os autores identificam também que o 3'SL foi o OLH que apresentou maiores concentrações em mulheres com baixo peso pré-gestacional, enquanto o LSTc predominou em mulheres eutróficas. A 2'FL, foi identificada em maiores concentrações no leite de mães com sobrepeso e obesas (FERREIRA, 2020).

Em virtude de os achados acima sofrerem interferência de alguns fatores relacionados ao binômio mãe-filho, mais estudos são necessários para elucidar a possível influência do estado nutricional materno na concentração dos metabolitos que compõem os OLH fucosilados e sialilados.

Diante dos resultados apresentados no presente estudo, espera-se que os níveis de OLH sialilados sejam maiores no colostro de mães obesas. Em relação aos OLH fucosilados, pode haver níveis maiores em mães com baixo peso. Esses achados, incitam novas investigações a respeito do impacto desses compostos bioativos na saúde infantil.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ATALAH S.E. et al. Propuesta de un nuevo estándar de evaluación nutricional en embarazadas. **Rev Med Chil**, v. 125, n. 12, p.1429-1436, 1997

ALDEN, N. R. Nutrição e Alimentação do Recém-nascido. In: LOWDERMILK, L.D.; PERRY, S.E.; CASHION, K; ALDEN, K.R. **Saúde da Mulher e Enfermagem Obstétrica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p. 1024

AGOSTONI, C. et al. Earlier smoking habits are associated with higher serum lipids and lower milk fat and polyunsaturated fatty acid content in the first 6 months of lactation. **European journal of clinical nutrition**, v. 57, n. 11, p. 1466-1472, 2003.

ALVARENGA, Laiane Cristine Silva et al. Caracterização e perspectivas de gestantes em um serviço especializado de pré-natal. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e38310918295-e38310918295, 2021.

AMARAL, Y. et al. What Are the Maternal Factors that Potentially Intervenes in the Nutritional Composition of Human Milk?. **Nutrients**, v. 13, n. 5, p. 1587, 2021.

ANDREAS, N.J.; KAMPMANN, B.; MEHRING LE-DOARE, K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. **Early Hum Dev**, v. 91, n.11, p.629-35, Nov 2015.

ANDREAS, N.J et al. Multiplatform characterization of dynamic changes in breast milk during lactation. **Electrophoresis**, v.36, n.18, p.2269-2285, 2015.

ASSUNÇÃO, M.L. *Gestantes com Excesso de Peso: Qualidade do pré-natal e efetividade da assistência nutricional sobre a duração do aleitamento materno*. Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, p.187, 2015.

AYDIN, S. et al. Presence of obestatin in breast milk: relationship among obestatin, ghrelin, and leptin in lactating women. **Nutrition**, v. 24, n. 7-8, p. 689-693, 2008.

BADILLO-SUÁREZ, P.A.; RODRÍGUEZ-CRUZ, M.; NIEVES-MORALES, X. Impact of metabolic hormones secreted in human breast milk on nutritional programming in childhood obesity. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 22, n. 3, p. 171-191, 2017.

BACHOUR, P. et al. Effects of smoking, mother's age, body mass index, and parity number on lipid, protein, and secretory immunoglobulin A concentrations of human milk. **Breastfeeding Medicine**, v. 7, n. 3, p. 179-188, 2012.

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

BALDEÓN, M. E. et al. Free amino acid content in human milk is associated with infant gender and weight gain during the first four months of lactation. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 2239, 2019.

BARDANZELLU F. Peroni D.G., Fanos V. Human Breast Milk: Bioactive Components, from Stem Cells to Health Outcomes. **Curr Nutr Rep**, 2020.

BASU, S. et al. Pregravid obesity associates with increased maternal endotoxemia and metabolic inflammation. **Obesity**, v.19, n.3, p. 476-482, Mar 2011.

BATISTA FILHO, M.; BATISTA, L.V. Transição alimentar/nutricional ou mutação antropológica? **Ciência e Cultura**, v. 62, n. 4, p. 26-30, 2010.

BODE, L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. **Glycobiology**, v. 22, n. 9, p. 1147-1162, 2012.

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

BOEHM, Gunther; STAHL, Bernd. Oligosaccharides from milk. **The Journal of nutrition**, v. 137, n. 3, p. 847S-849S, 2007.

BIDDULPH, C. et al. Human Milk Oligosaccharide Profiles and Associations with Maternal Nutritional Factors: A Scoping Review. **Nutrients**, v. 13, n. 3, p. 965, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Saúde da criança: Aleitamento materno e alimentação complementar / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRAUN, O. H.; SANDKÜHLER, H. Relationships between lysozyme concentration of human milk, bacteriologic content, and weight gain of premature infants. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 4, n. 4, p. 583-586, 1985.

BRENMOEHL, J. et al. Cytokines in milk and the role of TGF-beta. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 32, n. 1, p. 47-56, 2018.

BREZINOVA, M. et al. Levels of palmitic acid ester of hydroxystearic acid (PAHSA) are reduced in the breast milk of obese mothers. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1863, n. 2, p. 126-131, 2018.

BRIANA, D. D. et al. Early Human-Milk Metabolome in Cases of Intrauterine Growth-Restricted and Macrosomic Infants. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 44, n. 8, p. 1510-1518, 2020.

CASAVALE, K. O. et al. NIH workshop on human milk composition: summary and visions, 2019.

CASTELLOTE, C. et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. **The Journal of nutrition**, v. 141, n. 6, p. 1181-1187, 2011.

CERIANI CERNADAS, J. M. El calostro y la leche materna en el periodo neonatal: Sus beneficios siguen aumentando. **Archivos argentinos de pediatría**, v. 116, n. 4, p. 234-235, 2018.

COURSODON, C. F.; DVORAK, B. Epidermal growth factor and necrotizing enterocolitis. **Current opinion in pediatrics**, v. 24, n. 2, p. 160-164, 2012.

COLLADO, M. et al. Maternal weight and excessive weight gain during pregnancy modify the immunomodulatory potential of breast milk. **Pediatric research**, v. 72, n. 1, p.77-85, Mar, 2012.

COPPA G.V et al. Oligosaccharides in human milk during different phases of lactation. **Acta Paediatr Suppl** 1999;88(430): 89-94.

CUBERO, J. et al. The circadian rhythm of tryptophan in breast milk affects the rhythms of 6-sulfatoxymelatonin and sleep in newborn. **Neuroendocrinology Letters**, v. 26, n. 6, p. 657-662, 2005.

CHAVES A.C.M et, al. Uso de álcool durante a amamentação: um estudo de revisão. - **Revista de Pediatria SOPERJ**. 2018;18(1):16-22

CHEN X. Human Milk Oligosaccharides (HMOS): Structure, Function, and EnzymeCatalyzed Synthesis. 1st ed. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. **Elsevier Inc.**; 2015. 113-190 p.

CHENG, YJ. et al. Recent advance in infant nutrition: Human milk oligosaccharides. **Pediatrics & Neonatology**, 2021.

CHIEN, YC. et al. Maternal lactation characteristics after consumption of an alcoholic soup during the postpartum 'doing-the-month'ritual. **Public health nutrition**, v. 12, n. 3, p. 382-388, 2009.

CHOOI, Y.C.; DING, C.; MAGKOS, F. The epidemiology of obesity. **Metabolism**, [s.l.], v. 92, p.6-10, Mar, 2019.

CZOSNYKOWSKA-ŁUKACKA, M. et al. Lactoferrin in human milk of prolonged lactation. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2350, 2019.

DE FERRER, P. A. R; SAMBUCETTI, M. E.. Casein to whey protein ratio in rat and human milks: effects of maternal protein intake. **Journal of dairy science**, v. 76, n. 6, p. 1645-1653, 1993.

DVORAK, B. et al. Increased epidermal growth factor levels in human milk of mothers with extremely premature infants. **Pediatric research**, v. 54, n. 1, p. 15-19, 2003.

DONOVAN, S. M. Role of human milk components in gastrointestinal development: current knowledge and future needs. **The Journal of pediatrics**, v. 149, n. 5, p. S49-S61, 2006.

DOMINGUES, R. M. S. M. et al. Utilização de serviços de saúde ambulatoriais no pós-parto por puérperas e recém-nascidos: dados do estudo Nascer no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, n. 36, 2020.

ERMIS, B. et al. Influence of smoking on human milk tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and soluble vascular cell adhesion molecule-1 levels at postpartum seventh day. **Pediatrics International**, v. 51, n. 6, p. 821-824, 2009.

ERLIANA, U. D.; FLY, A.D. The function and alteration of immunological properties in human milk of obese mothers. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1284, 2019.

EILERS, E. et al. Leptin determination in colostrum and early human milk from mothers of preterm and term infants. **Early human development**, v. 87, n. 6, p. 415-419, 2011.

ELNIK, B.C.; SCHMITZ, G. MicroRNAs: Milk's epigenetic regulators. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 31, n. 4, p. 427-442, 2017.

ERMIŞ, B. Effect of maternal smoking on colostrum and breast milk cytokines. **Eur Cytokine Netw**, 2012.

FEELEY, R. M. et al. Copper, iron, and zinc contents of human milk at early stages of lactation. **The American journal of clinical nutrition**, v. 37, n. 3, p. 443-448, 1983.

FERREIRA, A. L. 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.

FERRARI, D. V. J. Perfil de citocinas inflamatórias no colostro em nutrizes nos extremos da idade reprodutiva. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, 2019.

FERRO, N. G. et al. Factors related to or lack of lactogênese-literature review. **Online Brazilian Journal of Nursing**, v. 8, n. 3, 2009.

FUJIMORI, M. et al. Changes in the biochemical and immunological components of serum and colostrum of overweight and obese mothers. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 15, n. 1, p. 166, 2015.

FREITAS R. T; SOUSA C. D; MENEZES, A. P. S. Roda de conversa: Mitos e verdades sobre o colostro. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 1, p. 24-33, 2016.

FRIEL, J. K. et al. Evidence of oxidative stress in relation to feeding type during early life in premature infants. **Pediatric research**, v. 69, n. 2, p. 160-164, 2011.

GEDDES, D.; PERRELLA, S. Breastfeeding and Human Lactation. **Nutrients**, v. 11, n.4, p.802, Apr. 2019.

GILA-DIAZ, A. et al. Uma revisão dos fatores bioativos no leite materno humano: um foco na prematuridade. **Nutrients**, v. 11, n.6, p.1307. Jun, 2019.

GONÇALVES, C. V. et al. Índice de massa corporal e ganho de peso gestacional como fatores preditores de complicações e do desfecho da gravidez. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 34, p. 304-309, 2012.

GRIFFITHS, James et al. Enteral lactoferrin supplementation for very preterm infants: a randomised placebo-controlled trial. **The Lancet**, v. 393, n. 10170, p. 423-433, 2019.

GRASSI, M.S.; COSTA, M.T.Z.; VAZ, F.A.C. Fatores imunológicos do leite humano. **Rev.pediatria**.v.23 n.3 p.258-263, 2001.

HANISCH, F.G. et al. Avidity of α -fucose on human milk oligosaccharides and blood group-unrelated oligo/polyfucoses is essential for potent norovirus-binding targets. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 30, p. 11955-11965, 2018.

HEGAR, B. et al. The role of two human milk oligosaccharides, 2'-fucosyllactose and lacto-N-neotetraose, in infant nutrition. **Pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition**, v. 22, n. 4, p. 330-340, 2019.

HENNART, P. F. et al. Lysozyme, lactoferrin, and secretory immunoglobulin A content in breast milk: influence of duration of lactation, nutrition status, prolactin status, and parity of mother. **The American journal of clinical nutrition**, v. 53, n. 1, p. 32-39, 1991.

HENNET, T; WEISS, A; BORSIG, L. Decoding breast milk oligosaccharides. **Swiss medical weekly**, v. 144, p. w13927, 2014.

HELDENBERG, D. et al. Breast milk and adipose tissue fatty acid composition in relation to maternal dietary intake. **Clinical Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 73-77, 1983.

HERNELL O. Human milk vs cow's milk and the evolution of infant formulas. **Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program**, 2011;67:17- 28.

HILL, D. R.; NEWBURG, D. S. Clinical applications of bioactive milk components. **Nutrition reviews**, v. 73, n. 7, p. 463-476, 2015.

HOUGHTON, M. R. et al. Breast milk lactoferrin levels in relation to maternal nutritional status. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 4, n. 2, p. 230-233, 1985.

HORTA B. et al. Maternal anthropometry: trends and inequalities in four population-based birth cohorts in Pelotas, Brazil, 1982-2015. **Int J Epidemiol**, 2019; 48 Suppl 1:i26-36.

- HO, E. et al. Alcohol and breast feeding: calculation of time to zero level in milk. **Neonatology**, v. 80, n. 3, p. 219-222, 2001.
- HU, L. et al. Cell attachment protein VP8* of a human rotavirus specifically interacts with A-type histo-blood group antigen. **Nature**, v. 485, n. 7397, p. 256-259, 2012.
- HUA, M.C et al. Role of maternal allergy on immune markers in colostrum and secretory immunoglobulin a in stools of breastfed infants. **Journal of Human Lactation**, v. 32, n. 1, p. 160-167, 2016.
- INGVORSEN LINDAHL, I.E. et al. Quantification of human milk phospholipids: the effect of gestational and lactational age on phospholipid composition. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 222, 2019.
- IRANPOUR, R. et al. Comparison of long chain polyunsaturated fatty acid content in human milk in preterm and term deliveries and its correlation with mothers' diet. **Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences**, v. 18, n. 1, p. 1, 2013.
- ISLAM, S.N. et al. Immune components (IgA, IgM, IgG, immune cells) of colostrum of Bangladeshi mothers. **Pediatrics international**, v. 48, n. 6, p. 543-548, 2006.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa Nacional de Saúde 2019: Atenção primária à saúde e informações antropométricas**. Rio de Janeiro: IBGE; 2020. 66 p.
- ITALIANER, M. F. et al. Circadian variation in human milk composition, a systematic review. **Nutrients**, v. 12, n. 8, p. 2328, 2020.
- Jantscher-Krenn E. et al. O oligossacarídeo dissialilacto-N-tetraose do leite humano previne a enterocolite necrosante em ratos neonatos. **Intestino**. 2012; 61: 1417-25.
- JM, C. C. Colostrum and breast milk in the neonatal period: The benefits keep adding up. **Archivos argentinos de pediatría**, v. 116, n. 4, p. 234-235, 2018.
- JONSSON, K. et al. Fat intake and breast milk fatty acid composition in farming and nonfarming women and allergy development in the offspring. **Pediatric research**, v. 79, n. 1, p. 114-123, 2016.
- JØRGENSEN, M. H. et al. Is there a relation between docosahexaenoic acid concentration in mothers' milk and visual development in term infants?. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 32, n. 3, p. 293-296, 2001.
- KAC, G; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. Ganho de peso gestacional e macrossomia em uma coorte de mães e filhos. **Jornal de pediatría**, v. 81, p. 47-53, 2005.
- KEIKHA, M. et al. Macro-and micronutrients of human milk composition: are they related to maternal diet? **A comprehensive systematic review**.

Breastfeeding Medicine, v. 12, n. 9, p. 517-527, 2017.

KELISHADI, R. et al. A study on lipid content and fatty acid of breast milk and its association with mother's diet composition. **Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences**, v. 17, n. 9, p. 824, 2012.

KHODABAKHSHI, A. et al. Comparative measurement of ghrelin, leptin, adiponectin, EGF and IGF-1 in breast milk of mothers with overweight/obese and normal-weight infants. **European journal of clinical nutrition**, v. 69, n. 5, p. 614-618, 2015.

KOSAKA, N. et al. microRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk. **Silence**, v. 1, n. 1, p. 7, 2010.

LARSSON, M. W. et al. Excessive weight gain followed by catch-down in exclusively breastfed infants: an exploratory study. **Nutrients**, v. 10, n. 9, p. 1290, 2018.

LARSSON, M. W. et al. Human milk oligosaccharide composition is associated with excessive weight gain during exclusive breastfeeding—an explorative study. **Frontiers in pediatrics**, v. 7, p. 297, 2019.

LEE, S.; KELLEHER, S.L. Biological underpinnings of breastfeeding challenges: the role of genetics, diet, and environment on lactation physiology. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 311, n.2, p. E405-E422, 2016.

LIN, P.W.; STOLL, B.J. Necrotising enterocolitis. **The Lancet**, v. 368, n. 9543, p. 1271-1283, 2006.

LIU, Y. et al. Nondigestible Oligosaccharides with Anti-Obesity Effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 1, p. 4-16, 2019.

LOUI, A. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and soluble VEGF Receptor 1 (Sflt-1) levels in early and mature human milk from mothers of preterm versus term infants. **Journal of Human Lactation**, v. 28, n. 4, p. 522-528, 2012.

LÖNNERDAL, B. Bioactive proteins in human milk: health, nutrition, and implications for infant formulas. **The Journal of pediatrics**, v. 173, p. S4-S9, 2016.

LÖNNERDAL, B. et al. Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. II. Lactose, nitrogen, and protein contents. **The American journal of clinical nutrition**, v. 29, n. 10, p. 1134-1141, 1976.

LUCAS, A.; COLE, T. J. Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. **The Lancet**, v. 336, n. 8730-8731, p. 1519-1523, 1990.

MAESSEN, S. et al. Perspective: Human Milk Oligosaccharides: Fuel for Childhood Obesity Prevention? **Adv Nutr**, 5, n. 5561598, 2019.

MMENNELLA, J. A. Regulation of milk intake after exposure to alcohol in mothers' milk. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 25, n. 4, p. 590-593, 2001.

MENNELLA, J. A. Short-term effects of maternal alcohol consumption on lactational performance. **Alcoholism: clinical and experimental research**, v. 22, n. 7, p. 1389-1392, 1998.

MELO, R. X. et al. Fatores maternos e perinatais associados à composição nutricional do leite humano de doadoras de Banco de Leite Humano. Tese de Doutorado, 2020.

MELO, A. S. O. et al. Estado nutricional materno, ganho de peso gestacional e peso ao nascer. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 10, p. 249-257, 2007.

MENCHETTI, L. et al. Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases. **Frontiers in Bioscience**, v. 8, n. 1, p. 331-351, 2016.

MENNELLA, J.A. Regulation of milk intake after exposure to alcohol in mothers' milk. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 25, n. 4, p. 590-593, 2001.

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.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Saúde da criança: aleitamento materno e alimentação complementar. **Caderno de Atenção Básica nº 23**, 2ª edição. Brasília-DF, 2015.

MOLTÓ-PUIGMARTÍ, C. et al. FADS1 FADS2 gene variants modify the association between fish intake and the docosahexaenoic acid proportions in human milk. **The American journal of clinical nutrition**, v. 91, n. 5, p. 1368-1376, 2010.

MOUKARZEL, Sara et al. Variability of water-soluble forms of choline concentrations in human milk during storage, after pasteurization, and among women. **Nutrients**, v. 11, n. 12, p. 3024, 2019.

MCGUIRE, M. K. et al. What's normal? Oligosaccharide concentrations and profiles in milk produced by healthy women vary geographically. **The American journal of clinical nutrition**, v. 105, n. 5, p. 1086-1100, 2017.

MACPHERSON, A.J. et al. Immune responses that adapt the intestinal mucosa to commensal intestinal bacteria. **Immunology**, v. 115, n. 2, p. 153-162, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. **National Academies Press**, 2010

NAPIERALA, M. et al. Tobacco smoking and breastfeeding: effect on the lactation process, breast milk composition and infant development. A critical review. **Environmental research**, v. 151, p. 321-338, 2016.

NEVILLE, M. C. et al. Studies in human lactation: milk volumes in lactating women during the onset of lactation and full lactation. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, n. 6, p. 1375-1386, 1988

NEWBURG, D. S.; RUIZ-PALACIOS, G.M.; MORROW, A. L. Human milk glycans protect infants against enteric pathogens. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 25, p. 37-58, 2005.

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

NOGUEIRA, A.I.; CARREIRO, M.P. Obesidade e gravidez. **Rev. Med. Minas Gerais**, v. 23, n. 1, p. 88-98, 2013.

NOLAN, L. S.; PARKS, O. B.; GOOD, M. A Review of the Immunomodulating Components of Maternal Breast Milk and Protection Against Necrotizing Enterocolitis. **Nutrients**, v.12, n. 1, p Dec 2019.

NUNES, L.M. Importância do aleitamento materno na atualidade. **Boletim científico de pediatria**. Porto Alegre. Vol. 4, n. 3, p. 55-58, dez 2015.

OGRA, P.L. Immunology of human milk and lactation: Historical overview. **Milk, Mucosal Immunity and the Microbiome: Impact on the Neonate**, v. 94, p. 11-26, 2020.

ORCZYK-PAWIŁOWICZ, M. et al. Lactation stage-related expression of sialylated and fucosylated glycotopes of human milk α -1-acid glycoprotein. **Breastfeeding Medicine**, v. 9, n. 6, p. 313-319, 2014.

OZGURTAS, T. et al. Vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, insulin-like growth factor-I and platelet-derived growth factor levels in human milk of mothers with term and preterm neonates. **Cytokine**, v. 50, n. 2, p. 192-194, 2010.

PĂDURARU, L. et al. Total antioxidant status in fresh and stored human milk from mothers of term and preterm neonates. **Pediatrics & Neonatology**, v. 59, n. 6, p. 600-605, 2018.

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

PICKERING, L. K. et al. (Ed.). Protecting infants through human milk: Advancing the scientific evidence. **Springer Science & Business Media**, 2013.

PLAZA-DÍAZ, J. et al. Human milk oligosaccharides and immune system development. **Nutrients**, v. 10, n. 8, p. 1038, 2018.

QUILES, J. L. et al. Coenzyme Q concentration and total antioxidant capacity of human milk at different stages of lactation in mothers of preterm and full-term infants. **Free radical research**, v. 40, n. 2, p. 199-206, 2006.

RAUTAVA, S. et al. Breast milk-transforming growth factor- β 2 specifically

attenuates IL-1 β -induced inflammatory responses in the immature human intestine via an SMAD6- and ERK-dependent mechanism. **Neonatology**, 2011.

READ, L. C. et al. Changes in the growth-promoting activity of human milk during lactation. **Pediatric research**, v. 18, n. 2, p. 133-139, 1984.

RESTO, M. et al. Leptin levels in preterm human breast milk and infant formula. **Pediatrics**, v. 108, n. 1, p. e15-e15, 2001.

REZENDE F.J.; MONTENEGRO C.A.R. **Obstetrícia**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2014.

RODRIGUES, B.B. et al. Aleitamento materno na primeira hora de vida e a pretensão de amamentar por tempo prolongado. **Revista Educação em Saúde**, v. 6, n.1, p. 1-9, 2018

RODRIGUES, V. D. et al. Prática de exercício físico na gestação. **Revista Digital, Buenos Aires**, v. 13, n. 126, p. 1-9, nov. 2008.

SADR DADRES, G. et al. Relationship of maternal weight status before, during, and after pregnancy with breast milk hormone concentrations. **Obesity**, v. 27, n. 4, p. 621-628, 2019.

SANTOS, M. M. A. S. et al. Estado nutricional pré-gestacional, ganho de peso materno, condições da assistência pré-natal e desfechos perinatais adversos entre puérperas adolescentes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 15, p. 143-154, 2012.

SAMUEL, T. M. et al. Impact of maternal characteristics on human milk oligosaccharide composition over the first 4 months of lactation in a cohort of healthy European mothers. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2019.

SANTIAGO, L. T. C. Perfil de citocinas no colostro em função da idade gestacional e do crescimento fetal, 2016.

SALTIEL, A. R. et al. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 127, n. 1, p. 1-4, 2017.

SEABRA, G. et al. Sobrepeso e obesidade pré-gestacionais: prevalência e desfechos associados à gestação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 33, p. 348-353, 2011.

SINGHAL, A. LANIGAN, J. Breastfeeding, early growth and later obesity. **Obesity reviews**, v. 8, p. 51-54, 2007

SINGHAL, et al. Early nutrition and leptin concentrations in later life. **The American journal of clinical nutrition**, v. 75, n. 6, p. 993-999, 2002.

SILVA, C. B. M. et al. Análise da interferência das diferentes técnicas de expressão do seio materno nas concentrações dos macronutrientes do colostro humano, 2019

SILVA, F. T. R. et al. Prevalência e fatores associados ao uso de drogas de abuso por gestantes. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 20, p. 1101-1107, 2021.

SILVA, E. P. da et al. Pré-natal na atenção primária do município de João Pessoa-PB: caracterização de serviços e usuárias. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 13, p. 29-37, 2013.

SHAMIR, R. The Benefits of Breast Feeding. **Nestle Nutrition Institute workshop series**, v. 86, p.67-76, Jun 2016.

SHILS, M E et al. **Nutrição moderna de Shils na saúde e na doença**. Barueri: Manole; 2016. 1672p.

SMILOWITZ, J.T. et al. Breast milk oligosaccharides: structure-function relationships in the neonate. **Annual review of nutrition**, v. 34, p. 143-169, 2014.

SRIRAMAN, N.K. The nuts and bolts of breastfeeding: anatomy and physiology of lactation. **Current problems in pediatric and adolescent health care**, v. 47, n. 12, p. 305-310, 2017.

STAHL, Bernd et al. Oligosaccharides from human milk as revealed by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. **Analytical biochemistry**, v. 223, n. 2, p. 218-226, 1994.

STOPA, S.R. et al. Pesquisa Nacional de Saúde 2019: histórico, métodos e perspectivas. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v.29, n.5, Oct 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO (SBAN). **Nutrição & imunidade**. São Paulo: SBAN; 2021. 15 p.

SINANOGLOU, V. J. et al. Factors affecting human colostrum fatty acid profile: A case study. **PLoS One**, v. 12, n. 4, p. e0175817, 2017.

SZLAGATYS-SIDORKIEWICZ, A. et al. Cytokine profile of mature milk from smoking and nonsmoking mothers. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 56, n. 4, p. 382-384, 2013.

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

SCHANLER, R.J. Em tempo: leite humano é a estratégia alimentar para prevenir a enterocolite necrosante. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, p. 131-133, 2015.

TAVARES A. R. et al. Perfil das gestantes atendidas em um ambulatório no Rio Grande do Sul e o uso de substâncias psicoativas. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 1, p. e5848, 31 jan. 2021.

THAI, J. D.; GREGORY, K. E. Bioactive factors in human breast milk attenuate intestinal inflammation during early life. **Nutrients**, v. 12, n. 2, p. 581, 2020.

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.

TIANGSON, C. L. P. et al. Docosahexaenoic acid level of the breast milk of some Filipino women. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 54, n. 5, p. 379-386, 2003.

UDIPI, S. A.; KIRKSEY, A.; ROEPKE, J. L. Diurnal variations in folacin levels of human milk: use of a single sample to represent folacin concentration in milk during a 24-h period. **The American journal of clinical nutrition**, v. 45, n. 4, p. 770-779, 1987.

UFRJ. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil – ENANI-2019: Resultados preliminares – Indicadores de aleitamento materno no Brasil. UFRJ: Rio de Janeiro, 2020.

USTUNDAG, B. et al. Levels of cytokines (IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha) and trace elements (Zn, Cu) in breast milk from mothers of preterm and term infants. **Mediators Inflamm**, 2005; 6: 331-6.

VIEIRA, A.P.B. et al. Avaliação da capacidade antioxidante do colostro de puérperas internadas em uma maternidade de alto risco. 2018.

VILLAVICENCIO, A. et al. Factors affecting lactoferrin concentration in human milk: how much do we know? **Biochemistry and Cell Biology**, v. 95, n. 1, p. 12-21, 2017.

VITOLLO, M.R. **Nutrição: Da Gestação ao Envelhecimento**. Ed. Rubio, 2008. 648p.

WANG, B. et al. Concentration and distribution of sialic acid in human milk and infant formulas. **The American journal of clinical nutrition**, v. 74, n. 4, p. 510-515, 2001.

WANG, B; BRAND-MILLER, J. The role and potential of sialic acid in human nutrition. **European journal of clinical nutrition**, v. 57, n. 11, p. 1351-1369, 2003.

World Health Organization (WHO). Breastfeeding. Health topics. Disponível em: < https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab_1>. Acesso em: 01 Dez. 2020.

World Health Organization (WHO). Obesity and overweight. Fact sheet, n.311, Updated April 2020. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheet/fs311/en/index.html>>. Acesso em: 01 Dez. 2020.

WU, F. et al. Exploration of microRNA profiles in human colostrum. **Annals of Translational Medicine**, v. 8, n. 18, 2020.

WU, J. et al. NMR-based metabolite profiling of human milk: A pilot study of methods for investigating compositional changes during lactation. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 469, n. 3, p. 626-632, 2016.

WHITE, R. D. Circadian variation of breast milk components and implications for care. **Breastfeeding Medicine**, v. 12, n. 7, p. 398-400, 2017.

ZAMANILLO, R. et al. Breast Milk Supply of MicroRNA Associated with Leptin and Adiponectin Is Affected by Maternal Overweight/Obesity and Influences Infancy BMI. **Nutrients**, v. 11, n. 11, p. 2589, 2019.

ZANARDO, V. et al. Effect of maternal smoking on breast milk interleukin-1 α , β -endorphin, and leptin concentrations. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 10, p. 1410-1413, 2005.

ZIMMERMANN, P.; NIGEL, C. Breast milk microbiota: A review of the factors that influence composition. **The Journal of infection**, v. 81, n.1, p.17-47, Jul 2020

APÊNDICES

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 microorganismos 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 microorganismos 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 leito, 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 ultrafreezer(-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 ultrafreezer (-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 leito.
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 implica, concordo em participar dele e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Ponto de referência:

Endereço d(os,as) responsável(eis) pela pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituição:

Endereço:

Complemento:

Cidade/CEP:

Telefone:

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 de

--	--

Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal e rubricar as demais folhas	Nome e Assinatura do Pesquisador pelo estudo (Rubricar as demais páginas)
--	---

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 e 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: _____

5.1 Anamnese Alimentar

5. DADOS DIETÉTICOS

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 ()

5.1.7.1 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 () Diarréia

5.2 - DIA ALIMENTAR HABITUAL

Café da Manhã	<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
Lanche	<hr/> <hr/> <hr/>

Almoço	_____

Lanche	_____

Jantar	_____

Ceia	_____

5.4 – Frequência alimentar – Ingestão alimentar em casa

Alimentos	Diário	2 a 3x sem	1 x sem	Raro	Nunca	Alimentos	Diário	2 a 3x sem	1x sem	Raro	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: _____

APÊNDICE C - DECLARAÇÃO DE ISENÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Título: Efeito do índice corporal materno sobre a concentração de macronutrientes e compostos bioativos no colostro e metabólitos produzidos pela microbiota intestinal do recém-nascido.

Eu, **Mônica Lopes de Assunção**, pesquisadora principal responsável pelo presente projeto de pesquisa a ser conduzido no Hospital Nossa Senhora da Guia, localizado à Rua Comendador Calaça, 1244, Poço, a qual terá como colaboradores: Adilson Rodrigues Sabino (coorientador), Nidyanne Patrícia de Mesquita Chagas (mestranda), Liliane, Elizabeth, declaro que não tenho nenhum conflito de interesse que possa influenciar o resultado da pesquisa, tais como:

- Interesse administrativo em utilizar o resultado da pesquisa para coagir, admitir ou demitir funcionários onde será realizada a pesquisa;
- Pagamentos significativos de quaisquer tipos, excluindo os custos de condução do estudo ou outros estudos clínicos;

Maceió, 13 de setembro de 2019.

Mônica Lopes de Assunção
 Pesquisador principal/
 028.343.144-03
 Faculdade de Nutrição
 Número da matrícula na IES/
 UFAL

Nidyanne Patrícia de
 Mesquita Chagas
 Pesquisador Assistente/
 054.761.904-90
 Faculdade de Nutrição
 2019101638/UFAL

Tiago Emanuel Vieira da Silva
 Pesquisador Colaborador/
 117.780.824-24
 Faculdade de Nutrição
 16211333/ UFAL

APÊNDICE D - TERMO DE RESPONSABILIDADE E COMPROMISSO DO PESQUISADOR

Protocolo de pesquisa: Efeito do índice corporal materno sobre a concentração de macronutrientes e compostos bioativos no colostro e metabólitos produzidos pela microbiota intestinal do recém-nascido.

Declaramos que conhecemos e cumprimos os requisitos da Resolução CNS 466/12, 510/16 e suas complementares. Aceitamos as responsabilidades pela condução científica do projeto acima como pesquisador principal e pesquisadores associados de modo a:

1. Realizar a pesquisa somente após a aprovação do protocolo pelo sistema CEP/CONEP em atendimento a Carta Circular nº. 061/2012/CONEP/CNS/GB/MS (Brasília-DF, 04 de maio de 2012);
2. Coletar dados após a aprovação do protocolo de pesquisa pelo sistema CEP/CONEP;
3. Assumir o compromisso de zelar pela privacidade e sigilo das informações auferidas pelo pesquisador protegendo o pesquisado sem jamais causar-lhes malefícios;
4. Comprometemo-nos a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não.
5. Informar ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas-UFAL acerca de qualquer tipo de ocorrência e ou irregulares que venham a incidir negativamente sobre os pesquisados.

Temos ciência que esse termo será anexado ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.

Maceió, 13 de Setembro de 2019.

Mônica Lopes de Assunção
Pesquisador principal/
028.343.144-03
Faculdade de Nutrição
Número da matrícula na IES/ UFAL

Nidyanne Patrícia de Mesquita
Chagas Pesquisador Assistente/
054.761.904-90
Faculdade de Nutrição
2019101638/UFAL

Tiago Emanuel Vieira da Silva
Pesquisador Colaborador/
117.780.824-24
Faculdade de Nutrição
16211333/ UFAL

APÊNDICE E - TERMO DE CONFIDENCIALIDADE

Eu, **Mônica Lopes de Assunção**, comprometo-me a manter confidencialidade com relação a toda documentação e toda informação obtidas nas atividades e pesquisas a serem desenvolvidas no projeto de pesquisa **“Efeito do índice corporal materno sobre a concentração de macronutrientes e compostos bioativos no colostro e metabólitos produzidos pela microbiota intestinal do recém-nascido”**, coordenado por mim, vinculado à Faculdade de Nutrição, realizado no âmbito UFAL-AL; ou ainda informações de qualquer pessoa física ou jurídica vinculada de alguma forma a este projeto, concordando em:

- Não divulgar a terceiros a natureza e o conteúdo de qualquer informação que componha ou tenha resultado de atividades técnicas do projeto de pesquisa;
- Não permitir a terceiros o manuseio de qualquer documentação que componha ou tenha resultado de atividades do projeto de pesquisa;
- Não explorar, em benefício próprio, informações e documentos adquiridos através da participação em atividades do projeto de pesquisa;
- Não permitir o uso por outrem de informações e documentos adquiridos através da participação em atividades do projeto de pesquisa.

Declaro ter conhecimento de que as informações e os documentos pertinentes às atividades técnicas do projeto de pesquisa somente podem ser acessados por aqueles que assinaram o Termo de Confidencialidade, excetuando-se os casos em que a quebra de confidencialidade é inerente à atividade ou em que a informação e/ou documentação já for de domínio público.

Maceió, 13 de setembro de
2019.

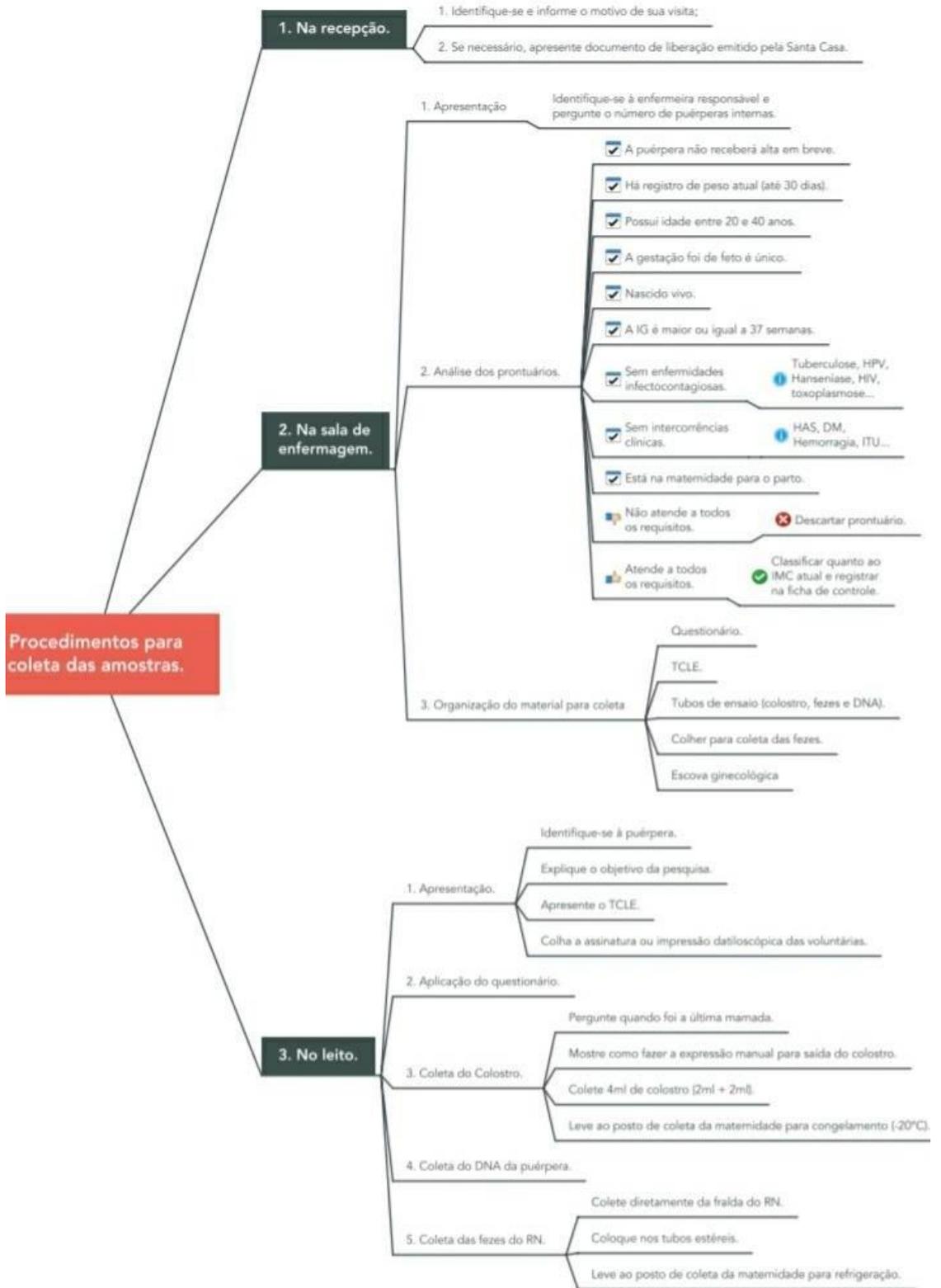
Mônica Lopes de Assunção
Pesquisador principal/
028.343.144-03
Faculdade de Nutrição
Número da matrícula na IES/ UFAL

Nidyanne Patrícia de Mesquita
Chagas Pesquisador Assistente/
054.761.904-90
Faculdade de Nutrição
2019101638/UFAL

Tiago Emanuel Vieira da Silva
Pesquisador Colaborador/
117.780.824-24
Faculdade de Nutrição
16211333/ UFAL

ANEXOS

ANEXO A – PROCEDIMENTOS PARA COLETA



Procedimentos para coleta das amostras.

1. 1. Na recepção.

1.1. 1. Identifique-se e informe o motivo de sua visita;

1.2. 2. Se necessário, apresente documento de liberação emitido pela Santa Casa.

2. 2. Na sala de enfermagem.

2.1. 1. Apresentação

2.1.1. Identifique-se à enfermeira responsável e pergunte o número de puérperas internas.

2.2. 2. Análise dos prontuários.

2.2.1. A puérpera não receberá alta em breve.

2.2.2. Há registro de peso atual (até 30 dias).

2.2.3. Possui idade entre 20 e 40 anos.

2.2.4. A gestação foi de feto é único.

2.2.5. Nascido vivo.

2.2.6. A IG é maior ou igual a 37 semanas.

2.2.7. Sem enfermidades infectocontagiosas.

2.2.7.1. Tuberculose, HPV, Hanseníase, HIV, toxoplasmose...

2.2.8. Sem intercorrências clínicas.

2.2.8.1. HAS, DM, Hemorragia, ITU...

2.2.9. Está na maternidade para o parto.

2.2.10. Não atende a todos os requisitos.

2.2.10.1. Descartar prontuário.

2.2.11. Atende a todos os requisitos.

2.2.11.1. Classificar quanto ao IMC atual e registrar na ficha de controle.

2.3. 3. Organização do material para coleta

2.3.1. Questionário.

2.3.2. TCLE.

2.3.3. Tubos de ensaio (colostro, fezes e DNA).

2.3.4. Colher para coleta das fezes.

2.3.5. Escova ginecológica

3. 3. No leito.

3.1. 1. Apresentação.

3.1.1. Identifique-se à puérpera.

3.1.2. Explique o objetivo da pesquisa.

3.1.3. Apresente o TCLE.

3.1.4. Colha a assinatura ou impressão datiloscópica das voluntárias.

3.2. 2. Aplicação do questionário.

3.3. 3. Coleta do Colostro.

3.3.1. Pergunte quando foi a última mamada.

3.3.2. Mostre como fazer a expressão manual para saída do colostro.

3.3.3. Colete 4ml de colostro (2ml + 2ml).

3.3.4. Leve ao posto de coleta da maternidade para congelamento (-20°C).

3.4. 4. Coleta do DNA da puérpera.

3.5. 5. Coleta das fezes do RN.

3.5.1. Colete diretamente da fralda do RN.

3.5.2. Coloque nos tubos estéreis.

3.5.3. Leve ao posto de coleta da maternidade para refrigeração.