



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Elizabeth Soethe Alves

Determinação das citocinas IL-10 e IFN- γ no leite materno e revisão da literatura para elucidação dos aspectos do sistema imune no recém-nascido

Florianópolis - SC
2023

Elizabeth Soethe Alves

Determinação das citocinas IL-10 e IFN- γ no leite materno e revisão da literatura para elucidação dos aspectos do sistema imune no recém-nascido

Projeto de pesquisa submetido ao curso de graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Florianópolis, apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Fabíola Branco Filippin Monteiro

Coorientadora: Ma. Carolina Dumke de Siqueira

Florianópolis - SC

2023

Alves, Elizabeth Soethe

Determinação das citocinas IL-10 e IFN- γ no leite materno e revisão da literatura para elucidação dos aspectos do sistema imune no recém-nascido / Elizabeth Soethe Alves ; orientadora, Fabíola Branco Filippin Monteiro, coorientadora, Carolina Dumke de Siqueira, 2023.

50 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Aleitamento Materno. 3. Citocinas. 4. Sistema Imune. I. Monteiro, Fabíola Branco Filippin . II. Siqueira, Carolina Dumke de. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. IV. Título.

Elizabeth Soethe Alves

**Determinação das citocinas IL-10 e IFN- γ no leite materno e revisão da literatura para
elucidação dos aspectos do sistema imune no recém-nascido**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de
Farmacêutico generalista e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 27 de junho de 2023



Coordenação do Curso

Banca examinadora



Prof^a. Fabíola Branco Filippin

Monteiro, Dra.

Orientadora



Prof^a. Jussara Kasuko Palmeiro, Dra.

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina



Prof^a. Ziliani da Silva Buss, Dra.

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023

RESUMO

A OMS, após certificar-se dos benefícios que o leite materno fornece para a mãe e o bebê, estipulou que a amamentação deve ser exclusiva até os seis meses. Os benefícios da amamentação podem ser principalmente atribuídos a composição do leite materno, que é produzido conforme a necessidade de cada fase de desenvolvimento do recém-nascido. A composição do leite humano geralmente varia entre proteínas, gorduras, lactose, imunoglobulinas, hormônios, vitaminas, microrganismos e citocinas. As citocinas são responsáveis por promover uma proteção passiva e auxiliar na resposta imune no neonato. Neste sentido, este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar as concentrações de IFN- γ e IL-10, citocinas importantes no processo de maturação do sistema imunológico. A partir de amostras de colostro humano coletadas em até 48 horas após o parto. Após a obtenção dos resultados das análises, buscar dados da literatura para corroborar uma possível modulação do sistema imune no neonato. Além disso, através de pesquisas na bibliografia, apurar os fatores que possivelmente influenciam os níveis dessas citocinas no colostro. As mães internadas no alojamento conjunto do HU/UFSC/EBSERH, ao serem convidadas e aceitarem participar da pesquisa, forneceram as amostras de colostro e responderam questionários sobre condições da mãe e do bebê. As análises propostas, foram realizadas pela técnica de ELISA do tipo sanduíche e o procedimento feito de acordo com as instruções do fabricante BD Biosciences. Os cálculos das concentrações também foram feitos conforme as instruções do fabricante. O nível de significância foi estabelecido em $P \leq 0,05$ para todas as análises. Nas amostras de colostro, ambas as citocinas analisadas foram detectadas e uma maior concentração de IFN- γ , uma citocina pró-inflamatória, quando comparada a IL-10, citocina anti-inflamatória. As correlações estudadas de idade, estado nutricional, intercorrências gestacionais e tipo de parto não influenciaram estatisticamente nas concentrações das citocinas estudadas. Dessa maneira, este trabalho evidencia a importância das citocinas para a modulação do sistema imune no recém-nascido. Assim como, caracteriza uma maior entrega de atividade pró-inflamatória, com ativação de macrófagos M1. No qual, aponta uma maior necessidade em auxiliar na proteção as infecções enquanto o sistema imune ainda se encontra imaturo.

Palavras-chave: leite materno, amamentação, IL-10, IFN- γ , sistema imune.

ABSTRACT

The WHO, after verifying the benefits that breast milk provides for the mother and the baby, stipulated that breastfeeding should be exclusive up to six months. The benefits of breastfeeding can be mainly attributed to the composition of breast milk, which is produced according to the needs of each stage of development of the newborn. The composition of human milk generally varies between proteins, fats, lactose, immunoglobulins, hormones, vitamins, microorganisms and cytokines. Cytokines are responsible for promoting passive protection and helping the immune response in the neonate. In this sense, this work was carried out with the objective of determining the concentrations of IFN- γ and IL-10, important cytokines in the process of maturation of the immune system. From human colostrum samples, collected within 48 hours after delivery. After obtaining the analysis results, search for data from the literature to corroborate a possible modulation of the immune system in the neonate. In addition, through research in the literature, to determine the factors that possibly influence the levels of these cytokines in colostrum. The mothers hospitalized in the HU/UFSC/EBSEH, when invited and accepting to participate in the research, provided colostrum samples and answered questionnaires about the conditions of the mother and the baby. The proposed analyzes were performed using the sandwich-type ELISA technique, and the procedure was carried out in accordance with the instructions from the manufacturer BD Biosciences. Concentration calculations were also performed according to the manufacturer's instructions. The significance level was set at $P \leq 0.05$ for all analyses. In the colostrum samples, both cytokines analyzed were found, and a higher concentration of IFN- γ , a pro-inflammatory cytokine, when compared to IL-10, an anti-inflammatory cytokine. The studied correlations of age, nutritional status, gestational interurrences and type of delivery did not statistically influence the concentrations of the studied cytokines. Thus, this work highlights the importance of cytokines for the modulation of the immune system in newborns. As well as, it characterizes a greater delivery of pro-inflammatory activity, with activation of M1 macrophages. In which, it points to a greater need to help protect against infections while the immune system is still immature.

Keywords: breast milk, breastfeeding, IL-10, IFN- γ , immune system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de feedback positivo durante a amamentação	14
Figura 2 -Hipótese da pesquisa	22
Figura 3 – Intercorrências Gestacionais	29
Figura 4 – Concentração de IFN- γ e IL-10 no leite materno.....	30
Figura 5 – Razão de IFN- γ por IL-10	30
Figura 6 – Concentrações de citocinas IFN- γ e IL-10.....	31
Figura 7 - Concentrações de IFN- γ e IL-10 com a Idade, em anos	32
Figura 8 – Concentração de IFN- γ e IL-10 com o Estado Nutricional pelo ganho de peso.....	33
Figura 9 – Concentração de IFN- γ e IL-10 com o tipo de parto.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Características das participantes (N=48)	28
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	ALEITAMENTO MATERNO E HISTÓRICO NO BRASIL	11
1.2	BENEFÍCIOS DA AMAMENTAÇÃO PARA MÃE E LACTENTE	13
1.3	FISIOLOGIA DA AMAMENTAÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE MATERNO	14
2	JUSTIFICATIVA	21
2.1	HIPÓTESE	22
3	OBJETIVO GERAL	23
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4	METODOLOGIA	24
4.1	DETERMINAÇÃO DOS MARCADORES EM AMOSTRAS DE LEITE MATERNO	24
4.1.1	Caracterização do Hospital Universitário da UFSC/EBSERH	24
4.1.2	Crítérios de Inclusão e Exclusão de pacientes	24
4.1.3	Coleta de Informações	25
4.1.4	Informações coletadas	25
4.1.5	Coleta das Amostras	25
4.1.6	Escolha das amostras	25
4.1.7	Análise das concentrações de IL-10 e INF- γ	25
4.1.8	Análise estatística	26
4.2	REALIZAÇÃO DAS CORRELAÇÕES	26
4.2.1	IDADE	26
4.2.2	ESTADO NUTRICIONAL	26
4.3	BUSCAS NA LITERATURA	27
5	RESULTADOS	28
5.1	DADOS CLÍNICOS DAS PARTICIPANTES DO ESTUDO	28
5.2	ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DAS CITOCINAS	29
5.2.1	Concentração de IFN- γ e IL-10 nas amostras de leite materno	29
5.2.2	Razão de IFN- γ por IL-10 nas amostras de leite materno	30
5.3	CORRELAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DE CITOCINAS NAS AMOSTRAS DE LEITE MATERNO	31
5.3.1	Concentrações de IFN- γ X Concentração de IL-10	31
5.3.2	Concentrações de IFN- γ e IL-10 nas amostras de leite materno X Idade	32
5.3.3	Concentrações de IFN- γ , IL-10 X Estado nutricional pelo ganho de peso	33

5.3.4	Concentrações de IFN- γ e IL-10 X Tipo de parto.....	33
6	DISCUSSÃO	35
7	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS.....	40
	Anexos.....	44

1 INTRODUÇÃO

1.1 ALEITAMENTO MATERNO E HISTÓRICO NO BRASIL

A amamentação consiste no ato da mãe produzir e fornecer o leite para o seu filho através da sucção da mama, e/ou através do fornecimento do leite da mãe por meio de um recipiente. Essa prática pode ser influenciada pelo ambiente e pelas pessoas no qual cercam a nutriz. A fim de se garantir o sucesso no aleitamento materno, é necessário que a lactante tenha o devido suporte de seus familiares, como também dos profissionais de saúde (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

O profissional de saúde possui algumas responsabilidades e atribuições, tal como promover o bem-estar dos pacientes. Dessa maneira, este profissional deve ser capacitado acerca do tema amamentação para, através do diálogo, auxiliar a paciente na tomada de decisões (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). O farmacêutico deve ser incluído dentro da equipe multiprofissional, na promoção do aleitamento materno e auxilia para o êxito da amamentação, visto que é o profissional mais capacitado para se tratar sobre os aspectos relacionados à utilização segura de fármacos durante a gestação e lactação (MENDES, 2014).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza que o aleitamento materno deve ser realizado até os dois anos ou mais, sendo de forma exclusiva até os seis meses de idade (WHO, 2001). Desde 1989, a OMS também dispõe sobre recomendações acerca da importância de se iniciar o aleitamento materno já na primeira hora de vida do recém-nascido, entretanto o cenário global de 2013 retratou que apesar de cerca de 80% dos recém-nascidos receberem leite materno na maior parte dos países, somente em torno da metade inicia na primeira hora de vida (VICTORA *et al.*, 2016; WHO, 2013). Frequentemente nos países, a taxa de amamentação exclusiva é menor que 50%, sendo que nos países subdesenvolvidos a maior problemática, além de uma menor taxa de amamentação exclusiva, está atribuída também ao seu início tardio, já nos países mais desenvolvidos, o desafio é maior quando se trata de prolongar o tempo da amamentação (VICTORA *et al.*, 2016).

No Brasil, o Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil (ENANI), realizado de fevereiro de 2019 a março de 2020, constatou que 96,2% das crianças com menos de dois anos de idade, em algum momento foram amamentadas, enquanto que 62,4% tiveram o aleitamento materno iniciado na primeira hora de vida. Ademais, a prevalência do aleitamento materno exclusivo até os quatro meses foi de

59,7%, enquanto que em menores de seis meses foi de 45,8%. Já o aleitamento materno em crianças com menos de dois anos foi de 60,3% e para o aleitamento materno continuado já no segundo ano (12 a 23 meses) foi de 43,6%. A mediana do tempo do aleitamento materno exclusivo foi cerca de 3 meses e do aleitamento materno foi de 15,9 meses. A partir dos dados coletados naquele ano, concluiu-se que ainda havia alguns resultados que não estavam de acordo com o preconizado pela OMS e assim evidenciou-se a necessidade de fortalecer ações que visassem a promoção do aleitamento materno no país (ENANI, 2021). Atualmente, ressalta-se a falta de promoções mais inovadoras, implementadas pelo Ministério da Saúde, e também de atualizações contínuas sobre o status da amamentação no país.

O sucesso do aleitamento materno é multifatorial e os determinantes que influenciam na continuidade da amamentação variam de acordo com a população pesquisada (VIEIRA *et al.*, 2014). Existem algumas condições que podem influenciar diretamente a amamentação e ocasionar o desmame precoce. O desmame precoce é caracterizado pela introdução de alimentos de forma precoce na dieta do bebê e pode levar a interrupção completa do aleitamento materno antes do tempo preconizado pelas diretrizes de saúde (ARAÚJO *et al.*, 2008).

A interrupção da amamentação precocemente pode ser causada por diversos fatores relacionados a aspectos demográficos, socioeconômicos e assistência pré e pós-natal (ARAÚJO *et al.*, 2008; CALDEIRA; GOULART, 2000). Alguns dos fatores já relatados como mais comuns são idade da mãe, nível de escolaridade, tipo de parto, situação de trabalho e também o serviço de saúde disponível (VIEIRA *et al.*, 2014). O estudo de Rimes e colaboradores (2019) analisou uma possível associação entre a licença maternidade e o aleitamento materno exclusivo, estimando a prevalência de aleitamento materno exclusivo nas crianças com menos de seis meses, nas mães usuárias das unidades básicas no município do Rio de Janeiro. Neste estudo, menos de um quarto das mães estavam em licença maternidade durante o período da pesquisa e ainda assim essas mães apresentaram uma prevalência de aleitamento materno exclusivo 91% maior do que as mães que trabalhavam sem licença maternidade (RIMES, 2019).

A fim de se promover o aleitamento materno, foram elaboradas no país diversas formas de abordagens para a sua promoção. Mesmo anteriormente ao ENANI, em 1979, uma reunião com a OMS denominada “Alimentação de lactentes e crianças pequenas” foi o marco inicial. Após alguns anos, em 1981, teve origem a Portaria nº42

e 198, em que se estipulou o Grupo Técnico Executivo do Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno (PNIAM) e após isso foram elaboradas cada vez mais ações com esse propósito, como a Semana Mundial do Aleitamento Materno - SMAM (2006), rede Amamenta Brasil (2008), Amamenta e Alimenta Brasil e a proposta mais atual corresponde a do Agosto Dourado como o mês da promoção do aleitamento materno (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

1.2 BENEFÍCIOS DA AMAMENTAÇÃO PARA MÃE E LACTENTE

De acordo com o Ministério da Saúde (2009), já se obteve diversas comprovações científicas sobre os benefícios da amamentação a curto e longo prazo para a saúde do filho e da mãe. Benefícios como, a prevenção de doenças gastrointestinais, diminuição de alergias, diminuição do risco de desenvolver obesidade, hipertensão e hipercolesterolemia no bebê, efeito protetor contra o câncer de mama para a lactante, entre outros (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

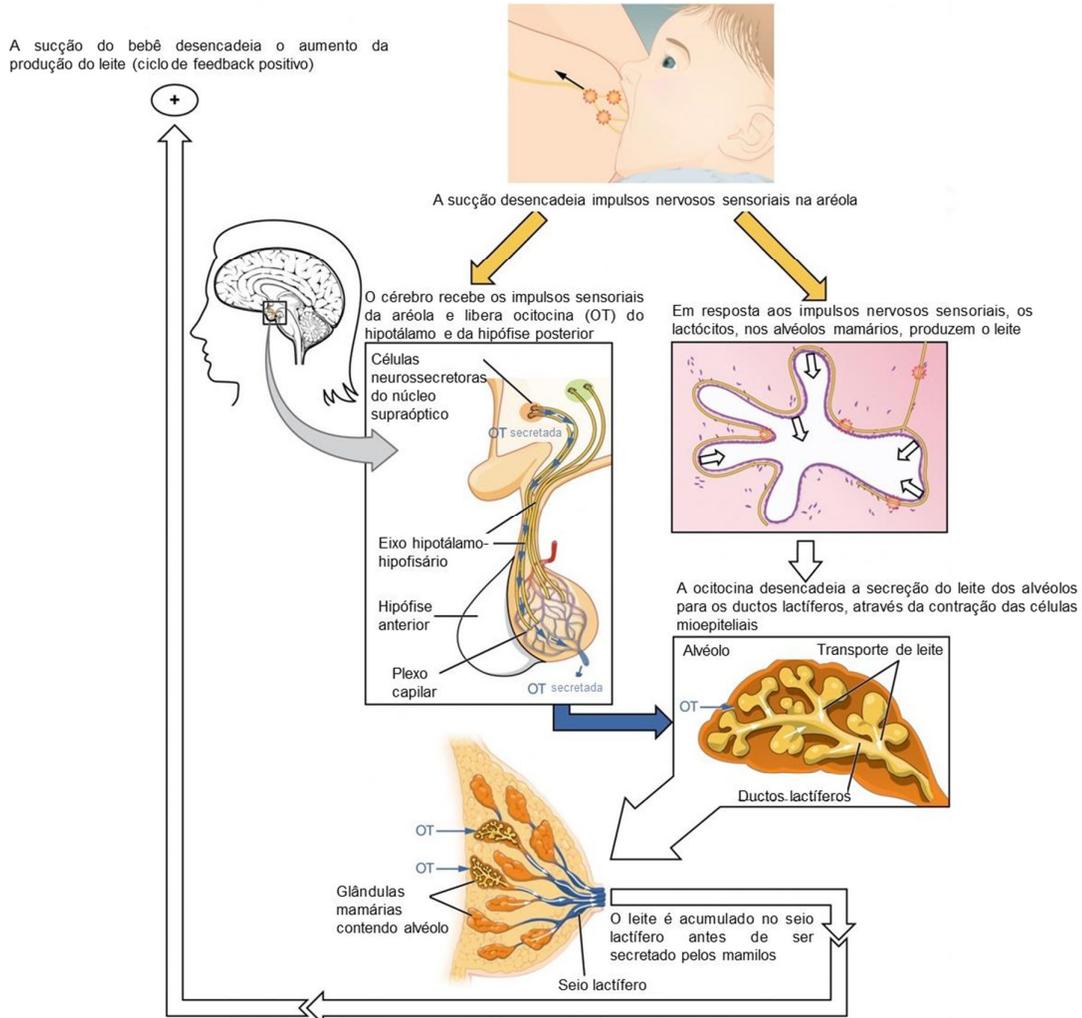
No estudo de Krol e Grossmann (2018), o aleitamento materno foi associado a uma melhora no desempenho cognitivo e da resposta socioafetiva da criança e na mãe foi associado a uma redução significativa do estresse, além de favorecer o elo com a sensibilidade e responsabilidades maternas (KROL; GROSSMANN, 2018). O estudo de Anderson e colaboradores (1999) indicou que o desenvolvimento cognitivo de crianças amamentadas tiveram melhores resultados do que quando comparadas com crianças que foram alimentadas com fórmulas, repercutindo desde o início do desenvolvimento até a adolescência. O desempenho cognitivo também obteve uma melhora gradual conforme aumentava o período de tempo da amamentação (ANDERSON *et al.*, 1999). Na pesquisa de Oddy (2013), a prática de amamentação nas primeiras horas de vida demonstrou ser um fator protetivo contra a mortalidade neonatal, tendo em vista a composição do leite materno ser crucial para suprir as necessidades do recém-nascido (ODDY, 2013). Já o estudo de Horta (2019), apontou que há cada vez mais incorporações de pesquisas nas bases bibliográficas que comprovam a relação de proteção da amamentação com o desenvolvimento de diabetes do tipo 2 (HORTA; DE LIMA, 2019).

1.3 FISILOGIA DA AMAMENTAÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE MATERNO

Do ponto de vista fisiológico, a fim de que a amamentação seja possível, o corpo passa por algumas mudanças. O início do desenvolvimento das mamas ocorre durante a puberdade, através do estímulo do estrogênio, o qual é responsável por promover o crescimento das glândulas mamárias e também pelos depósitos de gordura. Entretanto, somente durante a gestação, quando os níveis de estrogênio aumentam, é que as mamas se encontram totalmente desenvolvidas, permitindo a produção do leite. A secreção do leite ocorre pela secreção da prolactina pela hipófise anterior, que aumenta gradativamente na corrente sanguínea da gestante a partir da quinta semana de gravidez até o parto (HALL; GUYTON, 2011) (Figura 1).

Figura 1 - Ciclo de *feedback*¹ positivo durante a amamentação

¹ Resposta a um estímulo



O leite humano pode sofrer influências de acordo com características relacionadas a mãe, ao ambiente e a fatores como idade gestacional, gênero do recém-nascido, modo de parto e nível assistencial de saúde (MANTZIARI; RAUTAVA, 2021). Este fluido é secretado no momento em que possui uma quantidade adequada de glicose, aminoácidos, ácidos graxos e cálcio, através do estímulo de alguns hormônios como a insulina, o cortisol, o paratormônio e o hormônio do crescimento (HALL; GUYTON, 2011). A composição do leite humano varia entre macronutrientes, como as proteínas, gorduras e lactose, os micronutrientes como as vitaminas e alguns componentes bioativos como as imunoglobulinas, citocinas e hormônios (BALLARD; MORROW, 2013).

O colostro é o leite secretado nos primeiros dias de vida do recém-nascido, possui maiores concentrações de proteínas e menores concentrações de gorduras e carboidratos (GOPALAKRISHNA; HAND, 2020). O teor de proteína diminui ao longo

da lactação, enquanto que o teor de gordura aumenta. Tal como, possui fatores imunomoduladores e anti-inflamatórios, essenciais para cada fase de crescimento do bebê (SAARELA *et al.*, 2005).

O leite produzido após o colostro pode ser denominado como o leite de transição, geralmente é secretado entre 5 dias a duas semanas após o parto, no qual a sua produção é mais rápida para atender as necessidades fisiológicas do recém-nascido. Após esse período, o leite materno é considerado maduro e apesar de sofrer pequenas alterações na sua composição ao decorrer da lactação, ele permanece consideravelmente similar ao longo do tempo. O leite maduro é composto por gordura, carboidratos, proteínas e também de minerais como cálcio e fósforo. Além disso, apesar de haver diversos estudos já realizados sobre o assunto, tendo em vista a grande variabilidade populacional, ainda são necessárias mais pesquisas que consigam ser padronizadas e multipopulacionais, a fim de conseguir identificar mais componentes presentes no leite materno. (BALLARD; MORROW, 2013; LYONS *et al.*, 2020).

O leite humano também possui um papel fundamental no desenvolvimento da microbiota intestinal infantil, visto que contém microrganismos comensais, com a capacidade de moldar a colonização microbiana do intestino, e assim auxiliar na maturação do sistema imune (MANTZIARI; RAUTAVA, 2021). Ademais, dado que os microrganismos presentes no leite materno são um dos primeiros a entrar em contato com o organismo do recém-nascido, a exposição pré e pós-natal tem efeitos significativos na colonização microbiana do intestino infantil. Há alguns fatores relacionados a mãe que interferem também na composição da microbiota do leite, tal como a fase de lactação e a obesidade. No estudo de Cabrera-Rubio (2012) foi constatado que a composição do leite humano é predominada por lactobacilos (>76%), e no colostro os gêneros mais comuns foram *Weisella* e *Leuconostoc*, bactérias lácticas da ordem lactobacillales, das quais também foram os gêneros mais abundantes no leite em amostras de 1 a 6 meses. Nessa mesma pesquisa, viu-se também que o índice de massa corporal (IMC) materno foi um dos aspectos considerados como possível fator influenciador na composição da microbiota do leite e foi constatado que nas mulheres obesas há uma composição de bactérias mais homogênea do que em mulheres com peso normal, que se encontra mais variada. (CABRERA-RUBIO *et al.*, 2012).

1.3 MODULAÇÃO DO SISTEMA IMUNE DO RECÉM-NASCIDO PELO LEITE MATERNO

O desenvolvimento da imunidade infantil é modulado pela composição do leite materno, tendo em vista que este possui diversos componentes como oligossacarídeos, anticorpos e citocinas (GOPALAKRISHNA; HAND, 2020). Ademais, o sistema imunológico imaturo dos neonatos estabelece o papel vital que o leite materno possui na prevenção de infecções, propiciando que o sistema imunológico do bebê amadureça mais facilmente (DAWOD *et al.*, 2021). O sistema imunológico desempenha um papel fundamental para a vida do ser humano, pois além de combater bactérias, fungos, parasitas e vírus, também é importante para o reparo de tecidos, cicatrização de feridas, para uma microbiota intestinal saudável e também eliminar células mortas e cancerígenas (SIMON *et al.*, 2015).

Após o nascimento, a proteção imunológica do recém-nascido contra patógenos depende de dois principais mecanismos de defesa, a imunidade passiva e a imunidade inata. A imunidade passiva é caracterizada pela passagem de anticorpos maternos para a criança através da placenta e do leite materno e a imunidade inata é a primeira linha de defesa do organismo contra os patógenos. Porém, de maneira geral, o sistema imunológico inato no nascimento está inativo, muito provavelmente para a criança tolerar os antígenos maternos, como também para conseguir passar pelo processo de estresse e modulação que ocorrem após o nascimento (MAGGINI *et al.*, 2018; SIMON *et al.*, 2015).

No recém-nascido o sistema imune é caracterizado, na maior parte, por ter uma resposta prejudicada, dos macrófagos, neutrófilos, linfócitos, e de antígenos pelas células dendríticas. Assim como uma diminuição da morte das células *natural killer* (NK) (SIMON *et al.*, 2015). Igualmente, as bactérias presentes no trato gastrointestinal são extremamente importantes para direcionar o desenvolvimento e o funcionamento do sistema imunológico, visto que, a ausência de microrganismos benéficos na flora intestinal pode gerar respostas inflamatórias adjacentes e diversas doenças imunológicas (ROUND; MAZMANIAN, 2014).

Há estudos que indicam que há uma “janela de oportunidade” no início da vida, da qual as influências ambientais podem ter efeitos permanentes na modulação da microbiota e no desenvolvimento do sistema imunológico (SIEGFRIED *et al.*, 2021). A primeira linha de defesa contra patógenos entéricos é o intestino, porém, nos recém-

nascidos, o epitélio intestinal é ainda imaturo e assim a sua permeabilidade é maior, possibilitando que patógenos alcancem à corrente sanguínea mais facilmente. As células epiteliais intestinais atuam como uma barreira fisiológica contra os microrganismos invasores, e a partir da infecção, essas células secretam as citocinas inflamatórias (QUIN, 2019).

As citocinas são polipeptídeos, no qual são gerados como resposta a partir de microrganismos que ativam as reações imunológicas e inflamatórias, podendo ser de ação local e sistêmica. As ocasiões em que ocorre a secreção de citocinas são caracterizadas por serem de forma breve e autolimitadas, por serem sintetizadas de forma transitória e também regularem a sua síntese. Além disso, são geralmente pleiotrópicas e redundantes dada a capacidade da citocina em atuar em diversos tipos celulares e há também diversas citocinas que podem ter a mesma atribuição fisiológica (ABBAS *et al.*, 2007).

Dessa maneira, pode-se constatar que as citocinas são responsáveis por gerir a diferenciação e a proliferação dos linfócitos, na fase em que ocorre o estímulo das respostas imunes adquiridas, após o reconhecimento do antígeno. Ademais, também possui como atribuição mediar a ativação das células efetoras especializadas, na fase efetora da imunidade adquirida. No reconhecimento antigênico, uma das principais respostas dos linfócitos T é a síntese de citocinas. A proporção da ação da citocina depende da regulação da expressão das células-alvo às citocinas, sendo que alterações na sua expressão gênica pode gerar a expressão de uma nova função e em determinados momentos, até a proliferação das células-alvo (ABBAS *et al.*, 2007).

As citocinas podem ser atribuídas ao desencadeamento e inibição das respostas inflamatórias. Tal como, são responsáveis pela comunicação entre células, alterações nas funções cognitivas, nas respostas a fatores infecciosos e inflamatórios e respostas específicas a antígenos. São produzidas pelos monócitos, macrófagos, linfócitos, neutrófilos, células B, células T e as pesquisas já conduzidas corroboram para a existência de mecanismos inibidores por feedback que conseguem controlar e diminuir a sua resposta (KIELBASA; GADZALA, 2021).

No leite materno, as citocinas presentes são importantes para o desenvolvimento saudável do recém-nascido e o leite é também a principal fonte de citocinas pró e anti-inflamatórias. Apesar das variações da composição do leite materno ao longo da lactação, a maior parte das citocinas são encontradas em maior concentração no colostro do que quando comparado ao leite maduro (USTUNDAG *et al.* 2005 e

ZAMBRUNI et al. 2017). O papel principal das citocinas nos recém-nascidos consiste em regular os processos inflamatórios, prevenir alergias e sepses, promover a hematopoiese, estimular a cicatrização e auxiliar no desenvolvimento saudável do intestino e do timo (KIELBASA; GADZALA, 2021). A existência das citocinas no leite materno proporciona uma proteção passiva e auxilia no desenvolvimento do sistema imune infantil. Há uma ampla gama de citocinas presentes no leite materno, tal como IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, Interferon (IFN)- γ e TNF- α (DAWOD *et al.*, 2021; NOLAN *et al.*, 2020).

A Interleucina-10 (IL-10) é uma importante citocina na imunidade natural e é reconhecida por ser um importante inibidor das respostas imunes no hospedeiro, principalmente por mediar a inibição dos macrófagos e das células dendríticas ativadas. Os macrófagos ativados, M2 e as células T reguladoras são responsáveis por produzi-la e a regulação que realiza é através de *feedback* negativo. A IL-10 ao inibir as funções dos macrófagos ativados resulta por inibir a produção de interleucina-12 (IL-12), que é um estímulo para a secreção de Interferon- γ (ABBAS *et al.*, 2007; DAWOD *et al.*, 2021; HASSAN *et al.*, 1996).

O interferon- γ (IFN- γ) é uma citocina determinante para a ativação dos macrófagos do tipo M1 e desempenha atividades importantes na imunidade inata e adquirida. Porém, a sua principal ação é como uma citocina efetora das respostas imunes. É produzida por células NK, linfócitos Th1 CD4+ e TCD8+ (ABBAS *et al.*, 2007). É pró-inflamatória, resulta na ativação dos macrófagos no intestino e também está relacionado com as vias de sinalização que fortalecem a permeabilidade da barreira epitelial intestinal, no qual, apesar de ser encontrado em pequenas concentrações no leite humano, com concentrações decrescentes com o passar do tempo, é relevante para a modulação do sistema imunológico, tendo em vista uma melhor resposta a infecções nos primeiros anos de vida (BEAUREPAIRE *et al.*, 2009; NOLAN *et al.*, 2020).

Dessa forma, pode-se demonstrar que as citocinas IL-10 e IFN- γ desempenham um papel importante no leite materno. A IL-10 por perpetuar os mecanismos anti-inflamatórios responsáveis por impedir a produção de citocinas inflamatórias e impulsionar a síntese de imunoglobulina. O IFN- γ pela sua ação pró-inflamatória, ser responsável por auxiliar na resposta imune, quando ocorrer infecção. Por conseguinte, tendo em vista que o neonato possui um sistema imune imaturo, a sua capacidade de produzir as citocinas em concentrações adequadas e ter uma resposta imune eficiente

é incipiente, então é de grande relevância que essa necessidade seja suprida pelo leite materno nos primeiros meses de vida (DAWOD *et al.*, 2021; HASSAN *et al.*, 1996; NOLAN *et al.*, 2020).

2 JUSTIFICATIVA

Segundo o Ministério da Saúde (2009), a amamentação tem grande relevância na prevenção da mortalidade infantil, tal como na diminuição de alergias, intercorrências gastrointestinais, como também contribui para o fortalecimento da saúde. Visto que, o leite materno além de fornecer os nutrientes necessários para o crescimento saudável do bebê, é composto também de inúmeros componentes imunológicos que irão contribuir significativamente como agentes de proteção e também para o seu desenvolvimento e maturação do sistema imunológico (BORBA *et al.*, 2017).

A resposta imune imatura, encontrada no recém-nascido, aumenta a probabilidade de infecções, como também podem diminuir as respostas imunológicas e aumentarem os riscos de desenvolvimento de doenças imunomediadas. Dessa forma, a amamentação desempenha um papel fundamental no desenvolvimento do sistema imunológico no início da vida, pois além de auxiliar na proteção inicial contra infecções e alergias, impulsiona a maturação imunológica. Uma parte importante da composição do leite materno para o sistema imune dos recém-nascidos são as citocinas, que são produzidas a partir das células T ativadas e regulam a ação da imunidade inata (MILES; CHILDS, 2021).

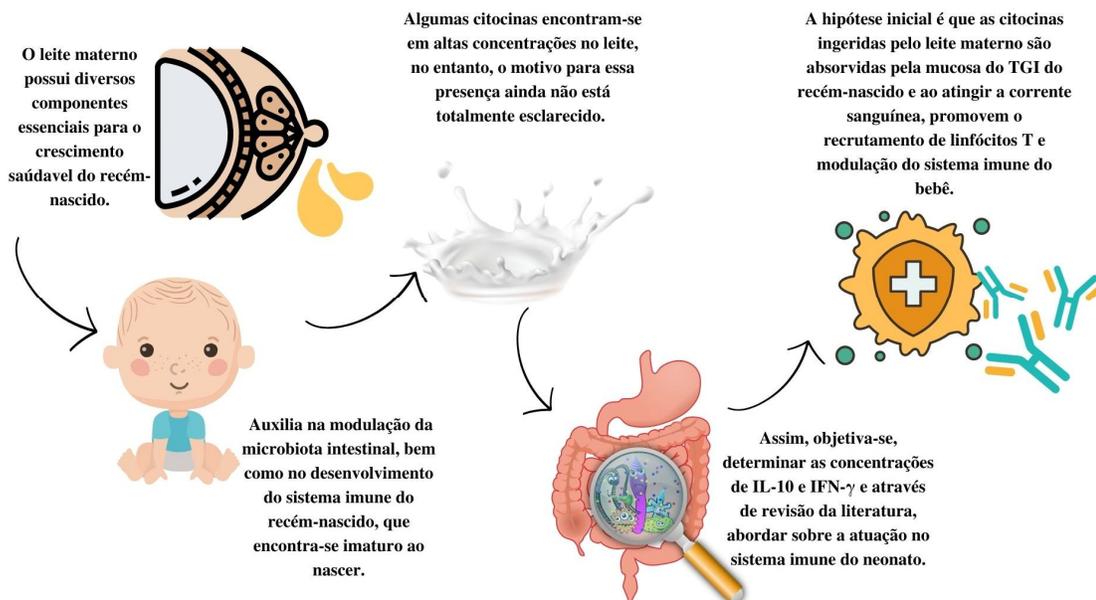
As citocinas presentes no leite materno desempenham um papel fundamental no início da vida do ser humano, para a evolução do sistema imunológico. Seja através do fortalecimento das barreiras mucosas, dos quais impedem a passagem dos microrganismos, ou atuando diretamente na resposta imune, como é visto para as citocinas IL-10 e IFN- γ . Citocinas importantes na resposta imunológica, visto a suas atividades anti e pró-inflamatória, respectivamente. (BEAUREPAIRE *et al.*, 2009; DAWOD *et al.*, 2021; HASSAN *et al.*, 1996; NOLAN *et al.*, 2020).

Dessa maneira, nesta pesquisa, buscou-se determinar as concentrações e enfatizar a presença das citocinas INF- γ e IL-10, nas amostras de colostro. Visto que, a presença no leite se relaciona com as necessidades imunológicas do ser humano no início da sua vida. Além disso, contribui para enfatizar a relevância da amamentação, demonstrando a importância dos constituintes do leite materno e assim promover o incentivo ao aleitamento materno.

2.1 HIPÓTESE

Nesta pesquisa supõe-se que quando o leite materno é ingerido pelo neonato, as citocinas presentes no leite, ao passarem pelo trato gastrointestinal, são absorvidas pela mucosa e ao atingirem a corrente sanguínea, impulsionam o recrutamento de linfócitos T e assim modulam o desenvolvimento do sistema imune do recém-nascido (Figura 2).

Figura 2 -Hipótese da pesquisa



Fonte: A autora, 2023.

3 OBJETIVO GERAL

Determinar as concentrações de IL-10 e INF- γ no leite materno de mães atendidas no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU-UFSC/EBSERH) e ressaltar a sua relevância para o desenvolvimento da imunidade no recém-nascido por meio de revisão de literatura.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar as citocinas IL-10 e INF- γ , presentes no leite materno das mães atendidas no HU-UFSC/EBSERH, através da técnica de ELISA do tipo sanduíche;
- Analisar o questionário aplicado nas nutrizes, com as informações da mãe e do recém-nascido e correlacionar as concentrações das citocinas analisadas com os dados retirados do questionário;
- Buscar pesquisas da literatura referente a citocinas e a atribuição nos aspectos imunológicos do RN.

4 METODOLOGIA

4.1 DETERMINAÇÃO DOS MARCADORES EM AMOSTRAS DE LEITE MATERNO

4.1.1 Caracterização do Hospital Universitário da UFSC/EBSERH

O Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU/UFSC) foi fundado no ano de 1980, atendendo exclusivamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS). É o único hospital federal do estado de SC, e é um hospital de referência. No ano de 2016, a UFSC assinou contrato com Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (Ebserh), e a partir disso passou a ser administrada de forma conjunta entre a Universidade e a Ebserh (HOSPITAL UNIVERSITÁRIO, 2023). O HU conta com uma equipe de saúde, denominada como Central de Incentivo ao Aleitamento Materno (CIAM), no qual é capacitada para promover o aleitamento materno. Para isso, se utiliza algumas Normas e Portarias, como a Portaria 1.153/2014 no qual consta preceitos, com dez passos para o sucesso do aleitamento materno, a Norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes-NBCAL, decreto N° 9.579/2018, tal como a Portaria 930/2012, Cuidado Amigo da Mulher e Atenção Integral e Humanizada ao Recém-nascido Grave ou Potencialmente Grave. Logo, todas essas ações visam favorecerem um ambiente adequado propiciando a amamentação exclusiva mesmo em casos de recém-nascidos prematuros ou com complicações médicas (MALISKA; BOHN, 2020).

4.1.2 Critérios de Inclusão e Exclusão de pacientes

Neste estudo, foram convidadas a participar da pesquisa, as mães que foram atendidas no HU-UFSC/EBSERH, na ocasião do parto entre janeiro a abril de 2019. Inicialmente os profissionais do CIAM acolheram as pacientes internadas no Alojamento Conjunto do HU-UFSC/EBSERH e após isso, as mães foram convidadas a participar da pesquisa e assinarem o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Anexo I). Logo, o critério de inclusão foi mães que estiveram internadas no HU-UFSC/EBSERH devido ao parto. Os critérios de exclusão foram mães que possuíam infecção pelo vírus HIV 1-2, HTLV ou as que não estavam amamentando por algum impedimento clínico descrito pela equipe médica. O projeto foi aprovado pelo Comitê

de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CAAE 68008317.4.0000.0121, Anexo II)

4.1.3 Coleta de Informações

A equipe da Central do Incentivo ao Aleitamento Materno (CIAM) propôs o momento ideal para convidar as mães para o projeto. Foi aplicado um questionário impresso, do qual foram coletadas informações pré-gestacionais, aspectos clínicos, socioculturais e socioeconômicos.

4.1.4 Informações coletadas

No questionário elaborado, foram coletadas algumas informações como:

- Peso pré-gestacional e pós-gestacional;
- Altura;
- Aspectos socioeconômicos;
- Tipo de parto;
- Número de filhos;
- Peso do RN;
- Complicações na gravidez;

4.1.5 Coleta das Amostras

Foram coletadas no mínimo 2 mL da amostra de leite materno por ordenha manual, em que os profissionais do CIAM recomendam e auxiliam. As amostras foram armazenadas em criotubos de 1,5 mL a -80°C para análise posterior.

4.1.6 Escolha das amostras

Inicialmente foram retiradas as amostras do freezer -80°C , até que alcançassem a temperatura ambiente, para permitir a triagem das amostras a partir do volume de leite. Dessa forma, o critério para a exclusão de amostras foi volume insuficiente para o estudo, resultando em um total de 48 amostras selecionadas para análise.

4.1.7 Análise das concentrações de IL-10 e INF- γ

As determinações das citocinas foram realizadas por meio de kits diagnósticos, da BD Biosciences, atendendo as orientações de cada fabricante. As análises foram

realizadas no Laboratório de Imunobiologia do Tecido Adiposo (LAITA) localizado no HU-UFSC/EBSERH. Previamente a realização das análises, as amostras de leite materno, colostro, foram centrifugadas a 11.200 g (10.000 rpm) por 30 minutos a 4°C, para permitir a retirada da gordura do leite, procedimento sugerido pelo fabricante tendo em vista a diminuição de interferentes. As concentrações das citocinas foram determinadas por ensaio imunoenzimático, do tipo sanduíche, com limites de detecção de 0,4 pg/mL e 0,173 pg/mL para IL-10 e INF- γ , respectivamente. No ELISA sanduíche o anticorpo é impregnado à placa, o antígeno se liga à ele, após isso é adicionado anticorpo já ligado à enzima, a fim de ligar em outro epítipo do antígeno e formar o complexo.

4.1.8 Análise estatística

Os cálculos das concentrações finais das citocinas IL-10 e IFN- γ foram feitos conforme instruções do fabricante. A simetria dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. O nível de significância foi estabelecido em $P \leq 0,05$ para todas as análises. O teste T com pós-teste de Mann-Whitney U foi utilizado quando havia 2 variáveis, enquanto o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado quando havia 3 ou mais variáveis. Todos os resultados foram expressos em mediana e intervalos. Os gráficos e a suas análises correspondentes foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism8 (GraphPad Software, San Diego, CA,USA).

4.2 REALIZAÇÃO DAS CORRELAÇÕES

4.2.1 IDADE

Para avaliar se as concentrações das citocinas variavam conforme a idade, foi dividido as idades das participantes tendo em vista a mediana corresponde, de 26. Assim, determinou-se ≤ 26 e > 26 .

4.2.2 ESTADO NUTRICIONAL

Para avaliar se as concentrações das citocinas variavam conforme as diferenças de ganhos de peso nas gestantes foi feito uma avaliação do estado nutricional, pelo ganho de peso. A avaliação do estado nutricional da gestante foi realizada de acordo com a idade gestacional, através da tabela desenvolvida por Atalah e colaboradores em 1997 (Anexo III). Baseado nisso, as participantes foram divididas em quatro

grupos de estado nutricional, sendo: baixo peso, peso adequado, sobrepeso e obesidade.

4.3 BUSCAS NA LITERATURA

A busca da literatura foi realizada, a partir de artigos nas principais plataformas, como PUBMED (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). A fim de se esclarecer e comparar as atribuições das citocinas pesquisadas, com a modulação do sistema imune no neonato. Como também, correlacionar com a literatura os principais aspectos, relacionados a mãe e ao neonato, influenciadores nas concentrações finais das citocinas no leite.

5 RESULTADOS

5.1 DADOS CLÍNICOS DAS PARTICIPANTES DO ESTUDO

As mães internadas no alojamento conjunto do HU-UFSC/EBSERH para o parto foram convidadas a participar o estudo e após a assinatura do TCLE, permitiram a coleta de uma amostra de colostro e responderam a um questionário previamente elaborado, a fim de se conhecer o perfil das mães participantes (Tabela 1). Esse procedimento auxiliou no delineamento do perfil da população pesquisada e também a correlacionar alguns dados.

Tabela 1– Características das participantes (N=48)

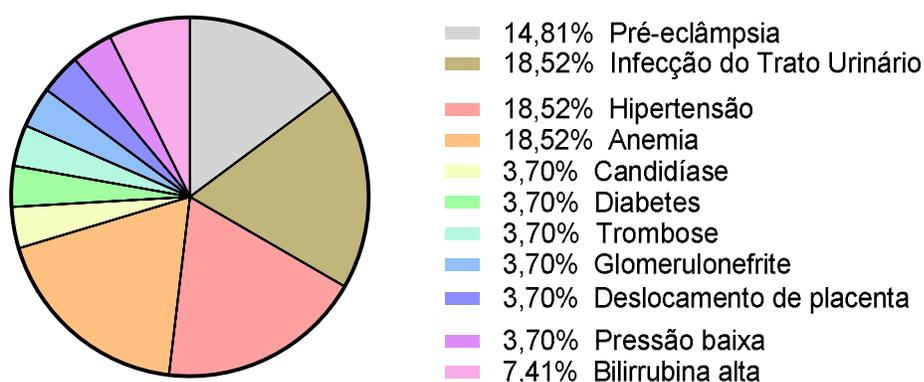
Variáveis	
Idade (anos)	26 (16 – 39)
Peso pré-gestacional (kg)	60 (41 – 119)
Peso pós-gestacional (kg)	72,5 (55 – 121)
Idade gestacional (semanas)	39 (35 – 40)
Peso do recém-nascido (kg)	3,162 (2,16 – 4,165)
Tipo de parto (%)	
- Normal	68,75
- Cesárea	31,25
Número de filhos (%)	
- 1	54
- 2	21
- 3	12
- >4	12
Escolaridade (%)	
- Ensino superior	25
- Ensino médio	31
- Ensino fundamental	44

Estado nutricional (%)	
- Baixo peso	15
- Adequado	31
- Sobrepeso	29
- Obesidade	25

Resultados expressos em mediana (menor e maior valor) ou em frequência relativa. Fonte: a autora, 2023.

As 48 participantes responderam o questionário, e apenas 27 relataram pelo menos uma intercorrência gestacional (Figura 3).

Figura 3 – Intercorrências Gestacionais



Total= 27

Fonte: a autora, 2023.

5.2 ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DAS CITOCINAS

5.2.1 Concentração de IFN- γ e IL-10 nas amostras de leite materno

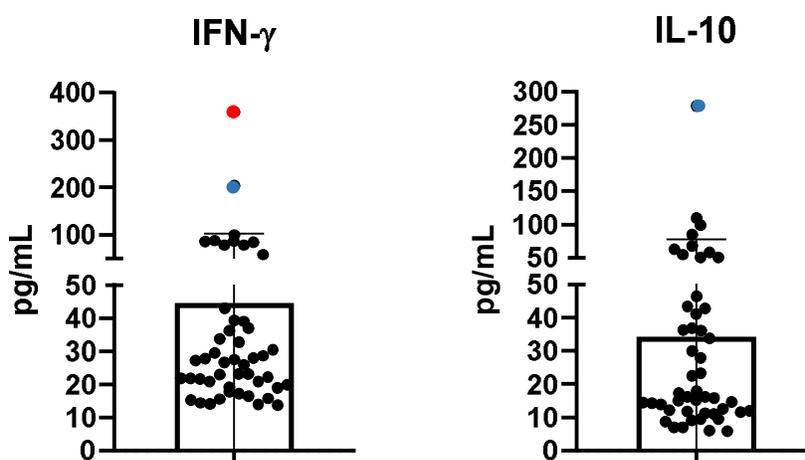
Ao analisar a concentração de IFN- γ (Figura 4), as amostras testadas apresentaram concentrações que variaram entre 10 e 100 pg/mL, com mediana de 26,95 pg/mL. Sendo dois *outliers*² mais evidentes. A amostra demonstrada como ponto vermelho apresentou uma concentração de 359,26 pg/mL, corresponde a uma participante de 23 anos, com 1,59m, considerada com obesidade de acordo com o seu estado nutricional, teve parto normal e é o seu primeiro filho. A amostra demonstrada como ponto azul, apresentou uma concentração de 203,54 pg/mL e corresponde a uma participante de 25 anos, com 1,57m, com peso adequado segundo

² Valor que se destaca da média, Ponto fora da curva

o seu estado nutricional, teve parto do tipo cesárea, é o seu segundo filho, e a participante teve como complicações pré-eclâmpsia e infecção urinária.

A análise da concentração de IL-10 presente no leite materno (Figura 4) nas amostras analisadas variaram entre 10 e 150 pg/mL, com mediana de 16,81 pg/mL. Sendo, apenas um *outlier*. A amostra, evidenciada como ponto azul, mostra uma concentração de IL-10 de 278,55 pg/mL, sendo atribuída a mesma amostra evidenciada em azul no gráfico de IFN- γ .

Figura 4 – Concentração de IFN- γ e IL-10 no leite materno

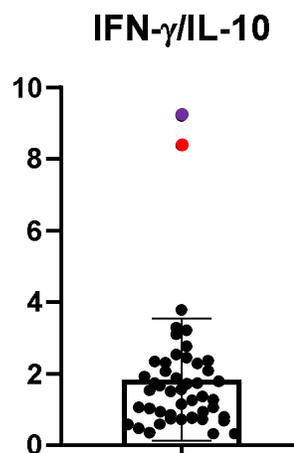


IFN- γ , Interferon gamma. Limite de detecção: 0,173 pg/mL IL-10, interleucina 10. Limite de detecção: 0,4 pg/mL Resultados expressos em pg/mL. Fonte: a autora, 2023.

5.2.2 Razão de IFN - γ por IL-10 nas amostras de leite materno

A análise entre a razão de IFN- γ e a IL-10 (Figura 5), nas amostras, uma variação entre 0 e 4, com uma mediana de 1,52. Sendo que há dois *outliers* mais evidentes. A amostra correspondente a razão de IFN- γ /IL-10 de 9,21, destacada como ponto roxo, corresponde a uma mãe com 22 anos, 1,65 m, com sobrepeso, segundo o seu estado nutricional, parto do tipo normal e é o seu segundo filho. A amostra correspondente a razão de IFN- γ /IL-10 de 8,38 evidenciada pelo ponto em vermelho, corresponde a mesma mãe também destacada como ponto vermelho no gráfico de concentração de IFN- γ .

Figura 5 – Razão de IFN- γ por IL-10



IFN- γ , Interferon gamma e IL-10, Interleucina 10. Fonte: a autora, 2023.

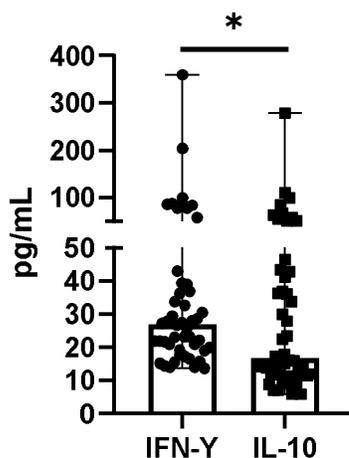
5.3 CORRELAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DE CITOCINAS NAS AMOSTRAS DE LEITE MATERNO

5.3.1 Concentrações de IFN- γ X Concentração de IL-10

Ao relacionar os valores de IFN- γ e IL-10 (Figura 6), pode-se perceber que há concentrações mais altas de IFN- γ , do que quando comparadas com os níveis de IL-10 ($p < 0,05$), corroborando os resultados da Figura 5, que mostra um *fold change*³ de aproximadamente 1,5 entre IFN- γ e IL-10.

Figura 6 – Concentrações de citocinas IFN- γ e IL-10

³ Razão da expressão

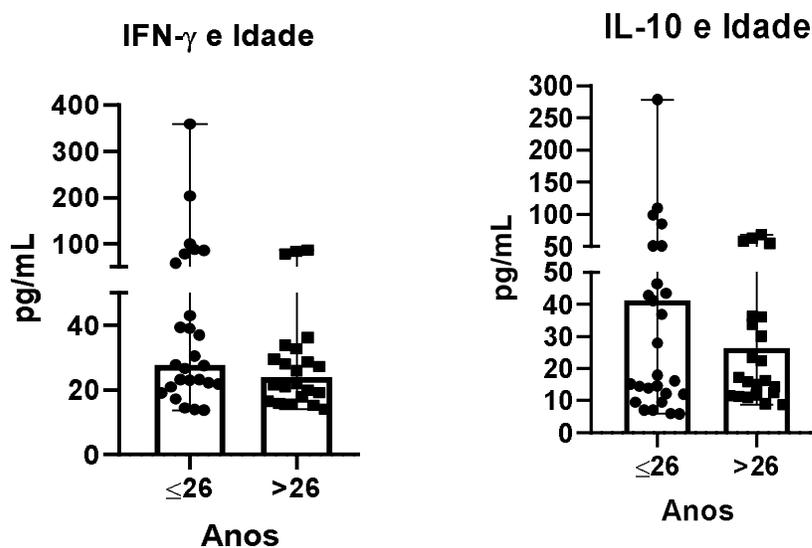


IFN- γ , Interferon gamma e IL-10, Interleucina 10. Teste T com pós teste de Mann-Whitney U.
* $p < 0,05$. Fonte: a autora, 2023.

5.3.2 Concentrações de IFN- γ e IL-10 nas amostras de leite materno X Idade

Ao relacionar os valores da concentração de IFN- γ e IL-10 com idade (Figura 7), pode-se perceber uma tendência de diminuição das concentrações, em relação ao aumento da idade. Visto que as concentrações de IFN- γ e IL-10 são maiores nas participantes mais jovens, menores de 26 anos, do que quando comparadas as participantes em idade mais avançada, maiores de 26 anos, no entanto, não houve diferença estatisticamente significativa.

Figura 7 - Concentrações de IFN- γ e IL-10 com a Idade, em anos

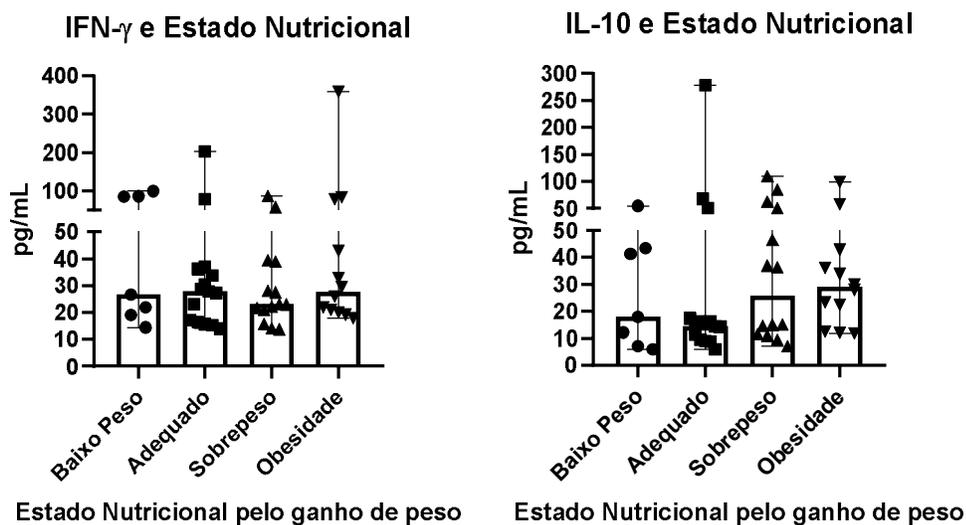


IFN- γ , Interferon gamma e IL-10, Interleucina 10. Teste T com pós teste de Mann. Fonte: a autora, 2023.

5.3.3 Concentrações de IFN- γ , IL-10 X Estado nutricional pelo ganho de peso

Ao relacionar os valores da concentração de IFN- γ e IL-10 com o estado nutricional por ganho de peso (Figura 8), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos baixo peso, peso adequado, sobrepeso e obesidade.

Figura 8 – Concentração de IFN- γ e IL-10 com o Estado Nutricional pelo ganho de peso

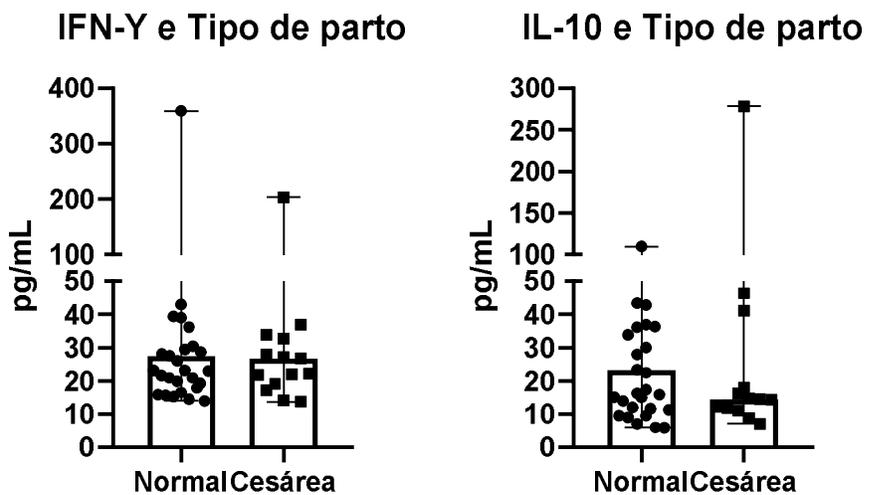


IFN- γ , Interferon gamma. IL-10, Interleucina 10. Teste de Kruskal-wallis. Fonte: a autora, 2023

5.3.4 Concentrações de IFN- γ e IL-10 X Tipo de parto

Ao relacionar os valores da concentração de IFN- γ e IL-10 com o tipo de parto (Figura 12), pode-se perceber que as concentrações das citocinas entre as participantes de parto normal e cesárea foram similares, e não houve diferença estatisticamente significativa.

Figura 9 – Concentração de IFN- γ e IL-10 com o tipo de parto



IFN- γ , Interferon gamma. IL-10, Interleucina 10 Teste T com pós teste de Mann-Whitney U. Fonte: a autora, 2023.

6 DISCUSSÃO

Na pesquisa realizada buscou-se determinar as concentrações das citocinas IFN- γ e IL-10 encontradas no colostro e com o auxílio da literatura, abordar os efeitos na modulação do sistema imune no neonato. Tal como, visualizar os aspectos maternos e neonatais de influência nas concentrações finais de citocinas no leite. Foram encontradas as citocinas estudadas, IFN- γ e IL-10, em todas as amostras de colostro. Há cerca de 1,5 vezes mais IFN- γ do que quando comparado aos níveis de IL-10, no colostro, o que ocasiona uma resposta maior na ativação de macrófagos do tipo M1. As correlações estudadas com idade, estado nutricional (por ganho de peso), intercorrência gestacional e tipo de parto não influenciaram significativamente nas concentrações das citocinas analisadas.

Nesta pesquisa as concentrações de IFN- γ nas amostras de colostro, variaram entre 10 e 100 pg/mL, com uma mediana de 26,95 pg/mL. Apresentou dois *outliers*, com valores de 359,26 pg/mL e 203,54 pg/mL. As concentrações de IL-10, nas amostras de colostro, variaram entre 10 e 150 pg/mL, com uma mediana de 16,81 pg/mL. Sendo, somente um outlier com valor de 278,55 pg/mL. Ao analisar os valores entre a razão de IFN- γ e a IL-10, os valores em sua maioria variaram entre 0 e 4 com um *fold change* de aproximadamente 1,5 entre IFN- γ e IL-10. Obteve-se dois valores de *outliers*, 9,21 e 8,38.

Devido a uma grande variabilidade dos níveis de citocinas entre as lactantes, não se há um consenso sobre os seus níveis (DG *et al.*, 2010; GILA-DIAZ *et al.*, 2019). Na revisão de Agarwal e Colaboradores (2010), a partir de buscas na base de dados Pubmed, sobre análises de concentrações de marcadores imunológicos humanos em diferentes amostras, elencou que foram encontradas concentrações bem variadas. A menor concentração encontrada de IFN- γ no colostro foi 8 pg/mL e a maior foi de 2228 pg/mL. A IL-10 no colostro teve concentrações menores de <5 pg/mL e maiores de 321 pg/mL, sendo todas as análises realizadas pelo método de ELISA (AGARWAL *et al.*, 2011). Nas citocinas anti-inflamatórias, como o TGF- β , os níveis variam entre 0,1 e 13,3 pg/mL nas amostras de colostro, e nas citocinas pró-inflamatórias, como o IL-6, os níveis variam entre 4,4 e 340 pg/mL nas amostras de colostro (GILA-DIAZ *et al.*, 2019). A ingestão de citocinas pelo leite materno auxilia na maturação do sistema imune, e a existência de citocinas pró e anti-inflamatórias, como IL-6 e IL-10, possuem

relação com a modulação e diferenciação das células que produzem imunoglobulina A (ANDRADE et al., 2014).

Logo, dado os resultados das análises realizadas, pode-se dizer que os valores encontrados ficaram dentro das faixas já mencionadas pela literatura. Ademais, uma maior presença de citocina pró-inflamatória significaria ao recém-nascido uma maior ativação de macrófagos do tipo M2. No qual, pode indicar que a resposta imune do recém-nascido é o foco nos seus primeiros dias de vida.

Ao encontrar os resultados das concentrações das citocinas, realizou-se algumas correlações, com as informações respondidas pelas participantes no questionário, previamente elaborado. Ao correlacionar as citocinas IFN- γ e IL-10 com a idade, pode-se constatar que há uma tendência na diminuição dos níveis de citocinas em idades mais avançadas. Visto que, as maiores concentrações encontradas foram em mães mais novas, com idades ≤ 26 anos, quando em comparação com as mães com > 26 anos. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa. Na pesquisa de Ferrari (2020) o objetivo era visualizar o perfil de algumas citocinas pró-inflamatórias no colostro, de nutrízes que estivessem nos extremos da idade reprodutiva. Nessa busca evidenciou-se que havia um aumento dos níveis de IL-1 β e IL-6 no colostro de mães com idade materna mais avançada (> 35 anos), do que quando comparado a mães mais jovens, entre 10 e 24 anos (FERRARI *et al.*, 2020).

Ao analisar as concentrações das citocinas com os estados nutricionais das mães, pode-se constatar que não houve nenhuma diferença estatística entre os diferentes estados nutricionais, de baixo peso, adequado, sobrepeso e obesidade. O estado nutricional também é um importante fator para visualizar as diferenças nas concentrações de citocinas, principalmente por ser determinante para ocorrência de intercorrências gestacionais, como pré-eclâmpsia (FREITAS, 2017). No estudo de Freitas (2017) foi realizada análise de algumas citocinas pelo método ELISA, para se determinar o efeito da pré-eclâmpsia no leite materno, assim, para IL-10 no colostro, foi verificado uma média de 13,5 pg/mL para mães normotensas e de 11,0 pg/mL para mães com pré-eclâmpsia (FREITAS, 2017). O estudo de Zambruni (2017) destacou alguns fatores maternos que poderiam afetar as citocinas do leite humano entre mães peruanas com recém-nascidos de baixo peso, entre esses fatores destaca-se os distúrbios hipertensivos, dos quais mães com qualquer distúrbio hipertensivo apresentaram concentrações mais elevadas de citocinas pró-inflamatórias, tal como

IFN- γ , IL-4 e TGF- β 3 do que quando comparado com mulheres sem distúrbios hipertensivos. Além disso, outro fator importante destacado foi que mães de recém-nascidos com baixo peso, apresentavam valores mais altos de citocinas do que quando comparados a mães de recém-nascidos com peso maior. Logo, conclui-se nesse estudo que há fatores maternos e gestacionais que interferem na concentração final de citocinas do leite materno (ZAMBRUNI *et al.*, 2017).

Ao correlacionar as concentrações das citocinas com os tipos de parto realizados nas participantes, pode-se perceber que os níveis de IFN- γ e IL-10 ficaram próximos, sem diferença estatística. Segundo a literatura, os níveis de citocinas no leite podem mudar de mãe para mãe, devido a características maternas como alergias (BOTTCHER *et al.*, 2000), intercorrências gestacionais como pré-eclâmpsia (FREITAS, 2017), idade (FERRARI *et al.*, 2020) e características neonatais como baixo peso ao nascer (ZAMBRUNI *et al.*, 2017). Na pesquisa de Bottcher et al (2000), estudou-se a correlação das citocinas encontradas no leite materno em mães alérgicas e não alérgicas, logo, segundo o estudo, a concentração para IFN- γ no colostro foi entre 67 - 113 pg/mL para mães não alérgicas e de 67 – 69 pg/mL para mães alérgicas e a concentração para IL-10 no colostro foi entre 19 - 202 pg/mL de mães não alérgicas e de 19 – 139 pg/mL para mães alérgicas, o método utilizado também foi ELISA (BOTTCHER *et al.*, 2000).

Além disso, também há a relação a ser pesquisada entre microrganismos presente no leite e a sua relevância para a modulação da microbiota intestinal infantil (RATSIKA *et al.*, 2021). Posto isto, a literatura apresenta fatores maternos e neonatais que influenciam nas concentrações das citocinas, todavia, as correlações estudadas nesta pesquisa não apresentaram diferenças estatísticas.

Ademais, o desenvolvimento do microbioma intestinal do recém-nascido também é um importante fator para a modulação do seu sistema imunológico, tendo em vista que o trato gastrointestinal é a primeira linha de defesa contra patógenos. O trato gastrointestinal compreende a camada de muco de células epiteliais intestinais e as células imunológicas hematopoiéticas que se comunicam com a microbiota. Dessa forma, visto que o leite materno também possui sua própria microbiota, com microorganismos comensais, ele é também importante para a maturação do sistema imune no recém-nascido. O conjunto microbiano constituinte do leite materno é extremamente influenciado por aspectos do lactante e lactente, tal como IMC pré-gestacional da mãe, dieta, estágio da lactação, tipo de parto, exposição a antibióticos,

sexo do recém-nascido e método de extração do leite. Por conseguinte, ressalta-se a dieta materna, que pode interferir na constituição taxonômica bacteriana do leite produzido, à medida que os nutrientes consumidos são utilizados pelas bactérias no seu próprio trato gastrointestinal (MANTZIARI; RAUTAVA, 2021; RATSIKA *et al.*, 2021; SIEGFRIED *et al.*, 2021).

Segundo a pesquisa de Padilha (2019), no qual tinha como objetivo determinar se a microbiota do leite humano é modulada pela dieta materna, evidenciou que a dieta materna durante a gestação tem uma influência maior sobre a conformação da população bacteriana, do que quando comparado a dieta durante o primeiro mês da lactação. Entretanto, no primeiro mês de lactação, o consumo de nutrientes específicos afeta diretamente alguns determinados gêneros bacterianos. Um exemplo é que, a curto prazo, durante a lactação, o ácido graxo linoleico correlaciona-se positivamente com o gênero *Bifidobacterium* no leite materno. Nas amostras desta pesquisa, destacou-se a microbiota do leite sendo majoritariamente composta por *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Corynebacterium*, abundância média relativa de 42%, 22% e 7% respectivamente. Além disso, os dez gêneros presentes em no mínimo 90% das amostras foram *Rothia*, *Veilonella*, *Rubrobacter*, *Pseudomonas*, *Halomanas*, *Trabulsiella*, *Chelonobacter*, *Acinetobacter*, *Actinomces* e *Lactobacillus* (PADILHA *et al.*, 2019).

As pesquisas científicas atuais demonstram que os marcadores microbianos modulam aspectos do Sistema Nervoso Central e o sistema imunológico, auxiliando na manutenção da saúde. Todavia, mais pesquisas são necessárias para avaliar os impactos da nutrição na conformação da microbiota intestinal e também no neurodesenvolvimento, principalmente buscando minimizar, prevenir e diagnosticar possíveis intercursos que perturbem a homeostase intestinal e interação saudável da microbiana do hospedeiro (RATSIKA *et al.*, 2021).

A partir das pesquisas nas literaturas, percebe-se que há mais variáveis que poderiam ser importantes e influenciar nas concentrações das citocinas analisadas e as correlações realizadas não apresentarem diferença estatística, dessa forma, esses pontos podem ser atribuídos a limitações dessa pesquisa. As limitações de pesquisa, são devido ao número de amostras, informações disponíveis sobre as mães e os neonatos e metodologias disponíveis.

7 CONCLUSÃO

- Houve presença das citocinas nas amostras de colostro, IFN- γ obteve uma mediana de 26,95 pg/mL e IL-10 uma mediana de 16,81 pg/mL;
- Há em média 1,5 vezes mais IFN- γ do que quando compara a IL-10, no colostro, no qual caracteriza uma entrega maior de atividade pró-inflamatória;
- As correlações realizadas com as citocinas IFN- γ e IL-10 com algumas variáveis como idade, estado nutricional, intercorrências gestacionais e tipo de parto não possuíram diferença estatística. Logo, as concentrações das citocinas não sofreram influência pelas variáveis analisadas;
- A literatura apresenta amplas faixas de concentrações para as citocinas estudadas e aborda diferentes correlações entre aspectos maternos/neonatais com citocinas, que influenciaram as concentrações das citocinas. Ademais, demonstra a importância das citocinas para o sistema imune do recém-nascido, no qual se encontra imaturo e ainda não as produz em quantidade adequada, que garanta a sua defesa contra infecções;

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. [S. l.: s. n.], 2007. 2007.
- AGARWAL, S.; KARMAUS, W.; DAVIS, S.; GANGUR, V. Immune Markers in Breast Milk and Fetal and Maternal Body Fluids: A Systematic Review of Perinatal Concentrations. **J Hum Lact** **27**, [s. l.], 2011.
- ANDERSON, J. W.; JOHNSTONE, B. M.; REMLEY, D. T. Breast-feeding and cognitive development : a meta-analysis 1 – 3. [s. l.], 1999.
- ARAÚJO, O. D.; CUNHA, A. L.; LUSTOSA, L. R.; NERY, I. S.; MENDONÇA, R. de C. M.; CAMPELO, S. M. de A. Aleitamento materno: fatores que levam ao desmame precoce. **Revista Brasileira de Enfermagem**, [s. l.], v. 61, n. 4, p. 488–92, 2008.
- BALLARD, O.; MORROW, A. L. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors Olívia. **Boreal Environment Research**, [s. l.], 2013.
- BEAUREPAIRE, C.; SMYTH, D.; MCKAY, D. M. Interferon- γ Regulation of Intestinal Epithelial Permeability. [s. l.], v. 29, n. 3, 2009.
- BORBA, V. V.; SHARIF, K.; SHOENFELD, Y. Breastfeeding and autoimmunity : Progaming health from the beginning. [s. l.], n. October, p. 1–11, 2017.
- BOTTCHER, M. F.; JENMALM, M. C.; GAROFALO, R. P.; BJORKSTÉN, B. Cytokines in Breast Milk from Allergic and Nonallergic Mothers. **Pediatric Research**, [s. l.], 2000. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/pr200026#citeas>.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **MINISTÉRIO DA SAÚDE SAÚDE DA CRIANÇA : Nutrição Infantil**. [S. l.: s. n.], 2009. 2009.
- CABRERA-RUBIO, R.; COLLADO, M. C.; LAITINEN, K.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E.; MIRA, A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery 1 – 4. [s. l.], p. 544–551, 2012.
- CALDEIRA, A. P.; GOULART, E. M. a. A situação do aleitamento materno em Montes Claros , Minas Gerais : estudo de uma amostra representativa. **Jornal de pediatria**, [s. l.], v. 76, n. 1, p. 65–72, 2000.
- DAWOD, B.; MARSHALL, J. S.; AZAD, M. B. Breastfeeding and the developmental origins of mucosal immunity : how human milk shapes the innate and adaptive mucosal immune systems. [s. l.], p. 547–556, 2021.
- DG, P.; PESCOLLDERUNGG, L.; GL, P.; RIGOTTI, E.; MASELLI, M.; GIORGIO, L. Immune regulatory cytokines in the milk of lactating women from farming and urban environments. **Pediatric Allergy and Immunology**, [s. l.], 2010.
- ENANI. Prevalência e práticas de aleitamento materno em crianças brasileiras menores de 2 anos. [s. l.], 2021.

FERRARI, D. V. de J.; POLETTINI, J.; DE MORAES, L. L.; DE CAMPOS, L. A.; DA SILVA, M. G.; SAEKI, E. K.; MORCELLI, G. Profile of pro-inflammatory cytokines in colostrum of nursing mothers at the extremes of reproductive age. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 1–10, 2020.

FREITAS, N. A. Efeito da pré-eclâmpsia nos níveis de citocinas. **Repositório UNESP**, [s. l.], 2017. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/150692/freitas_na_me_bot.pdf?sequence=8&isAllowed=y.

GILA-DIAZ, A.; ARRIBAS, S. M.; ALGARA, A.; MARTÍN-CABREJAS, M. A.; PABLO, Á. L. L. de; PIPAÓN, M. S. de; RAMIRO-CORTIJO, D. A review of bioactive factors in human breastmilk: A focus on prematurity. **Nutrients**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 1–23, 2019.

GOPALAKRISHNA, K. P.; HAND, T. W. Influence of maternal milk on the neonatal intestinal microbiome. **Nutrients**, v. 12, n. 3, 2020. Influence of maternal milk on the neonatal intestinal microbiome. **Nutrients**, [s. l.], v. 12, n. 3, 2020.

HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Tratado de Fisiologia médica**. [S. l.: s. n.], 2011. 2011.

HASSAN, J.; CHILDREN, D. J. R.; LADY, O.; CHILDREN, S. Reduced primary antigen-specific T-cell precursor frequencies in neonates is associated with deficient interleukin-2 production. [s. l.], p. 604–608, 1996.

HORTA, B. L.; DE LIMA, N. P. Breastfeeding and Type 2 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis. **Current Diabetes Reports**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 1–6, 2019.

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO, H. U. **No Title**. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: http://www.hu.ufsc.br/antigo/?page_id=12.

KIEBASA, A.; GADZALA-KOPCIUCH, R.; BUSZEWSKI, B. Cytokines-Biogenesis and Their Role in Human Breast Milk Cytokines-Biogenesis and Their Role in Human Breast Milk and and Determination Determination. [s. l.], 2021.

KROL, K. M.; GROSSMANN, T. Psychological effects of breastfeeding on children and mothers. **Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz**, [s. l.], v. 61, n. 8, p. 977–985, 2018.

LYONS, E.; RYAN, C. A.; DEMPSEY, E. M.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Breast Milk , a Source of Beneficial Microbes and Associated Benefits for Infant Health. [s. l.], p. 1–30, 2020.

MAGGINI, S.; PIERRE, A.; CALDER, P. C. Immune Function and Micronutrient Requirements Change over the Life Course. [s. l.], n. Figure 1, 2018.

MALISKA, I. C. A.; BOHN, I. E. **POLÍTICAS DE ALEITAMENTO MATERNO DA MATERNIDADE DO HU/UFSC**. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/ebserh/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-sul/hu-ufsc/saude/maternidade/central-de-incentivo-ao-aleitamento-materno/PoliticasalementomaternoHUUFSC1.pdf>.

MANTZIARI, A.; RAUTAVA, S. Factors influencing the microbial composition of human milk. **Seminars in Perinatology**, [s. l.], v. 45, n. 8, p. 151507, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2021.151507>.

MENDES, G. J. de A. F. M. Concurso “Prêmio Farmacêutico Augusto Stellfeld – CRF-PR 2014” Tema: “A ética na prática farmacêutica”. [s. l.], 2014.

MILES, E. A.; CHILDS, C. E. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids (LCPUFAs) and the Developing Immune System : A Narrative Review. [s. l.], p. 1–21, 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Bases para a discussão da Política Nacional de Promoção, Proteção e Apoio ao Aleitamento Materno**. [S. l.: s. n.], 2017. 2017. Disponível em: www.saude.gov.br/bvswww.saude.gov.br/bvs.

NOLAN, L. S.; PARKS, O. B.; GOOD, M. A Review of the Immunomodulating Components of Maternal Breast Milk and Protection Against Necrotizing Enterocolitis. [s. l.], 2020.

ODDY, W. H. Breastfeeding in the first hour of life protects against neonatal mortality. **Jornal de Pediatria**, [s. l.], v. 89, n. 2, p. 109–111, 2013.

PADILHA, M.; DANNESKIOLD-SAMSØE, N. B.; BREJNROD, A.; HO, C.; CABRAL, V. P.; IAUCCI, J. D. M.; SALES, C. H.; FISBERG, R. M.; CORTEZ, R. V.; BRIX, S.; TADDEI, C. R.; KRISTIANSEN, K.; MARTA, S.; SAAD, I. The Human Milk Microbiota is Modulated by Maternal Diet. **Microorganisms**, [s. l.], 2019.

QUIN, C. Dietary Fatty Acids and Host – Microbial Crosstalk in Neonatal Enteric Infection. [s. l.], p. 1–20, 2019.

RATSIKA, A.; CODAGNONE, M. C.; O’ MAHONY, S.; STANTON, C.; CRYAN, J. E. . Priming for Life : Early Life Nutrition and the Microbiota-Gut-Brain Axis. **Nutrients**, [s. l.], p. 1–33, 2021.

RIMES, K. A. Licença maternidade e amamentação exclusiva. [s. l.], p. 1–16, 2019.

ROUND, J. L.; MAZMANIAN, S. K. The gut microbiome shapes intestinal immune responses during health and disease. [s. l.], v. 9, n. 5, p. 313–323, 2014.

SAARELA, T.; KOKKONEN, J.; KOIVISTO, M. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. **Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics**, [s. l.], v. 94, n. 9, p. 1176–1181, 2005.

SIEGFRIED, C.; KLOSE, N.; CONSTANTINIDES, M. G.; STEIN-THOERINGER, C.; GANAL-VONARBURG, S. C.; KALBERMATTER, C.; TRIGO, N. F.; CHRISTENSEN, S. Maternal Microbiota , Early Life Colonization and Breast Milk Drive Immune Development in the Newborn. [s. l.], v. 12, n. May, p. 1–22, 2021.

SIMON, A. K.; HOLLANDER, G. A.; MCMICHAEL, A.; MCMICHAEL, A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. [s. l.], 2015.

USTUNDAG, B.; YILMAZ, E.; DOGAN, Y.; AKARSU, S.; CANATAN, H.; HALIFEOGLU, I.; CIKIM, G.; DENIZMEN AYGUN, A. Levels of cytokines (IL-1 β , IL-2,

IL-6, IL-8, TNF- α) and trace elements (Zn, Cu) in breast milk from mothers of preterm and term infants. **Mediators of Inflammation**, [s. l.], v. 2005, n. 6, p. 331–336, 2005.

VICTORA, C. G.; BARROS, A. J. D.; FRANÇA, G. V. A.; BAHL, R.; ROLLINS, N. C.; HORTON, S.; KRASEVEC, J.; MURCH, S.; SANKAR, M. J.; WALKER, N. INTRO Amamentação no século 21: epidemiologia, mecanismos, e efeitos ao longo da vida. **Epidemiol. Serv. Saúde**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 1–24, 2016. Disponível em: <http://www.>

VIEIRA, T. O.; VIEIRA, G. O.; DE OLIVEIRA, N. F.; MENDES, C. M. C.; GIUGLIANI, E. R. J.; SILVA, L. R. Duration of exclusive breastfeeding in a Brazilian population: New determinants in a cohort study. **BMC Pregnancy and Childbirth**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1–9, 2014.

WHO. Essential Nutrition Actions: Improving maternal, newborn, infant and young child health and nutrition. *In*: GENEVA: WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013, [s. l.], . **Anais [...]**. [S. l.: s. n.], 2013. p. 144.

WHO. **Infanti and Young child nutrition**. [S. l.: s. n.], 2001.

ZAMBRUNI, M.; VILLALOBOS, A.; SOMASUNDERAM, A.; WESTERGAARD, S.; NIGALYE, M.; TURIN, C. G.; ZEGARRA, J.; BELLOMO, S.; MERCADO, E.; OCHOA, T. J.; UTAY, N. S. Maternal and pregnancy-related factors affecting human milk cytokines among Peruvian mothers bearing low-birth-weight neonates. **Journal of Reproductive Immunology**, [s. l.], v. 120, n. 409, p. 20–26, 2017.

Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Análises Clínicas
Campus Universitário - Florianópolis, SC, 88049-000, Brasil
Tel: (048) 3721 8148 / 3721 4562

Titulo da pesquisa: Citocinas pró-inflamatórias no leite materno: associação com o estado metabólico da mãe

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A Senhora está sendo convidada a participar de uma pesquisa. Antes de decidir se deseja participar, é importante entender porque esta pesquisa está sendo realizada. Por favor, leia com atenção todas as informações e se desejar, discuta com sua família, para que a sua participação possa ser uma decisão bem informada. Este termo de consentimento livre e esclarecido cumpre as exigências contidas nos itens IV. 3 da Resolução CNS nº466/12.

Este impresso contém informações para a participação voluntária da Senhora neste estudo, que servirá para avaliar os melhores se o peso antes e depois da gravidez influencia na amamentação, desde o nascimento até os 6 meses de idade. O excesso de peso é comum durante e depois da gestação e isso pode influenciar na quantidade de leite disponível para o bebê. Existem algumas proteínas que são produzidas no tecido gorduroso que podem alterar a formação e secreção do leite materno.

Qual objetivo deste estudo?

Nós esperamos que este estudo ajude a entender quais as proteínas podem alterar a produção e secreção de leite em até 6 meses após o nascimento do bebê.

Eu tenho que participar?

Cabe a Senhora decidir se irá ou não participar. Mesmo que a Senhora não queira participar do estudo, a Senhora não terá nenhuma desvantagem em relação ao tratamento médico e aos cuidados que tenha direito a receber. Se decidir participar, a Senhora irá assinar este Termo de Consentimento. Mesmo após ter assinado, é garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento no HU/UFSC. Caso aceite participar, será coletada uma amostra de sangue da Senhora e uma amostra de leite materno no HU/UFSC para avaliação no laboratório. Ainda, faremos algumas perguntas com relação à gravidez e faremos contato telefônico mensal até o 6º mês para acompanhar a gravidez. Além disso, seus dados de prontuário serão utilizados para a pesquisa.

Existem riscos ou desconfortos associados com a participação?

Sim, existem os riscos de procedimentos de coleta de sangue, possíveis constrangimentos durante a entrevista e/ou quebra de confidencialidade dos dados coletados. No entanto, estes riscos serão potencialmente reduzidos pelos pesquisadores: A coleta de sangue será realizada em ambiente adequado e pela equipe da pesquisa que tomará todos os cuidados necessários para que o a Senhora tenha o mínimo de desconforto. Apesar disto, poderá haver a possibilidade de formação de hematoma (manchas escuras) e sensação dolorosa no local da coleta. Se isso acontecer, a equipe da pesquisa tomará as medidas necessárias para diminuir este desconforto. A coleta de leite materno será feita após a ordenha manual que acontece junto com as enfermeiras. O leite descartado será utilizado para a pesquisa. A entrevista para a coleta de algumas informações será realizada em ambiente tranquilo e discreto, sempre respeitando a individualidade e as necessidades de cada paciente. Será assegurado o direito a não responder a qualquer pergunta se achar que ela é muito pessoal ou se sentir desconfortável em falar. Os dados retirados do prontuário médico serão armazenados e manuseados com todo cuidado somente pelos pesquisadores para reduzir o risco de quebra de sigilo. Os dados telefônicos serão guardados em sigilo e somente os a equipe da pesquisa (01 professor e 01 aluno) terão acesso.

Meus dados serão divulgados?

Se a Senhora estiver de acordo em participar do estudo, as informações fornecidas serão confidenciais e só serão utilizadas neste trabalho com a finalidade de gerar conhecimento em saúde. Apenas o pesquisador e os colaboradores terão acesso aos dados. Não serão tiradas fotos, nem realizadas filmagens ou qualquer tipo de gravação. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

Quais são os benefícios esperados com a pesquisa para o participante?

Mesmo que a senhora não se beneficie diretamente com os resultados da pesquisa, informo-lhe que estes resultados poderão contribuir futuramente para melhor compreensão da formação do leite materno. Ainda, todos os resultados dos exames que iremos realizar serão disponibilizados a Senhora.

Terei custos se participar?

Não há despesas pessoais para a Senhora em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação na pesquisa. Caso algum gasto eventual pela participação na pesquisa seja detectado, o mesmo será ressarcido pelo orçamento da pesquisa conforme a legislação vigente.

Eu possuo algum direito à indenização?

Caso o senhora tenha algum prejuízo material ou imaterial em decorrência da pesquisa poderá solicitar indenização, de acordo com a legislação vigente e amplamente consubstanciada em juízo.

Com quem devo entrar em contato se necessitar de mais informações?

Este estudo está sendo realizado no HU/UFSC, situado no bairro Trindade, município de Florianópolis - SC. A pesquisadora principal é farmacêutica e professora do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). A professora Fabíola Monteiro, que pode ser encontrada no Departamento de Análises Clínicas do Centro de Ciências da Saúde da UFSC, pelos telefones (48) 3721-2200 e 99911-4480, ou através do email: fabiola.monteiro@ufsc.br.

Ainda, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC encontra-se Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário, Trindade, ou pelo contato telefônico (48)3721-6094, ou e-mail cep.propesq@contato.ufsc.br.

Segue os termos da declaração para poder participar do estudo:

Eu, _____ confirmo que:

Recebi informações sobre o estudo acima, além disso, li e entendi todas as informações fornecidas sobre minha participação nesta pesquisa. Tive a oportunidade de discutí-las e fazer perguntas. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas satisfatoriamente e eu voluntariamente concordo em participar deste estudo. Estou ciente de que doarei uma amostra de sangue, a qual será destinada para a pesquisa. Entendo que receberei uma cópia assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Concordo em participar deste estudo.

Paciente ou representante legal

Data

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Fabíola Branco Filippin Monteiro

Data

Responsável pelo estudo

CPF 027.645.219-44

Anexo 2 - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Citocinas pró-inflamatórias no leite materno: associação com o estado metabólico da mãe

Pesquisador: Fabiola Branco Filippin

Monteiro Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 68008317.4.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.081.185

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto da pesquisadora do departamento de Análises Clínicas que pretende investigar, junto a mulheres que amamentam a presença de citocinas pró-inflamatórias no leite materno correlacionado a situação do peso antes e depois de parto. Serão acompanhadas as mulheres que forem atendidas no hospital universitário. estas serão acompanhadas até seis meses após o parto. Devem fazer parte 400 mulheres.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Determinar o perfil de citocinas pró-inflamatórias no leite materno e no soro de mães atendidas no HU-UFSC a fim de se estabelecer associações entre a lactogênese, o estado metabólico da mãe e as citocinas presentes no leite materno.

Objetivo Secundário:

- Determinar as concentrações séricas de marcadores de adiposidade (leptina, adiponectina), de inflamação (SAA e PCR), hormônios (prolactina e progesterona) e citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF- α , IL1-b e MCP-1) em mães atendidas no HU-UFSC por ocasião do parto;- Determinar as concentrações de citocinas pró- inflamatórias (IL-6, TNF- α , IL1-b e MCP-1) no leite materno de mães atendidas no HU-UFSC por ocasião do parto;- Determinar os constituintes do leite materno (%gordura, proteínas

totais);- Analisar dados clínicos da mãe e do RN e aspectos relacionados ao aleitamento materno (escore de amamentação) em até 6 meses após o parto

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Benefícios:

As mães que aceitarem participar do estudo serão acompanhadas por 6 meses na tentativa de incentivo ao aleitamento materno exclusivo. Ainda, serão incentivadas e instruídas a comparecerem nas consultas mensais ao pediatra em sua Unidade Básica de Saúde ou pediatra de escolha na rede privada. As mães e acompanhantes serão acolhidos.

Riscos:

Existem os riscos de procedimentos de coleta de sangue, possíveis constrangimentos durante a entrevista e/ou quebra de confidencialidade dos dados coletados. No entanto, estes riscos serão potencialmente reduzidos pelos pesquisadores: A coleta de sangue será realizada em ambiente adequado e pela equipe da pesquisa que tomará todos os cuidados necessários para o mínimo de desconforto. Apesar disto, poderá haver a possibilidade de formação de hematoma e sensação dolorosa no local da coleta. Se isso acontecer, a equipe da pesquisa tomará as medidas necessárias para diminuir este desconforto. A coleta de leite materno será feita após a ordenha manual que acontece junto com as enfermeiras. O leite descartado será utilizado para a pesquisa. A entrevista para a coleta de algumas informações será realizada em ambiente tranquilo e discreto, sempre respeitando a individualidade e as necessidades de cada paciente. Será assegurado o direito a não responder a qualquer pergunta se achar que ela é muito pessoal ou se sentir desconfortável em falar. Os dados retirados do prontuário médico serão armazenados e manuseados com todo cuidado somente pelos pesquisadores para reduzir o risco de quebra de sigilo. Os dados telefônicos serão guardados em sigilo e somente os a equipe da pesquisa (01 professor e 01 aluno) terão acesso.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa encontra-se adequadamente fundamentada e documentada. Traz a documentação necessária para a tramitação. Apresenta um TCLE estruturado de acordo com as orientações da Resolução 466/2012.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE adequado às orientações da Resolução 466/2012. Contudo é necessário corrigir no endereço do CEPESH o prédio no qual este Comitê se localiza.

Recomendações:

corrigir o prédio de localização do CEPESH/UFSC no TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Conclusão: aprovado.

Considerações Finais a

critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_878555.pdf	05/05/2017 17:43:24		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	05/05/2017 17:42:54	Fabiola Branco Filippin Monteiro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_assinada.pdf	05/05/2017 12:14:48	Fabiola Branco Filippin Monteiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_leite_materno.pdf	05/05/2017 12:12:51	Fabiola Branco Filippin Monteiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Leite_materno.pdf	05/05/2017 12:12:37	Fabiola Branco Filippin Monteiro	Aceito

Situação do

Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANOPOLIS, 25 de Maio de 2017

Assinado por:
Ylmar Correa Neto
(Coordenador)

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222,

Bairro: Trindade

CEP: 88.040-400

UF: SC

Município:

Telefone: (48)3721-6094

E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

Anexo 3 – Tabela utilizada para a divisão em estados nutricionais das participantes

Tabela 3. Diagnóstico nutricional da gestante conforme o índice de massa corporal (IMC) e a idade gestacional

Semana gestacional	Baixo peso IMC ≤	Peso adequado IMC entre		Sobrepeso IMC entre		Obesidade IMC ≥
6	19,9	20,0	24,9	25,0	30,0	30,1
8	20,1	20,2	25,0	25,1	30,1	30,2
10	20,2	20,3	25,2	25,3	30,2	30,3
11	20,3	20,4	25,3	25,4	30,3	30,4
12	20,4	20,5	25,4	25,5	30,3	30,4
13	20,6	20,7	25,6	25,7	30,4	30,5
14	20,7	20,8	25,7	25,8	30,5	30,6
15	20,8	20,9	25,8	25,9	30,6	30,7
16	21,0	21,1	25,9	26,0	30,7	30,8
17	21,1	21,2	26,0	26,1	30,8	30,9
18	21,2	21,3	26,1	26,2	30,9	31,0
19	21,4	21,5	26,2	26,3	30,9	31,0
20	21,5	21,6	26,3	26,4	31,0	31,1
21	21,7	21,8	26,4	26,5	31,1	31,2
22	21,8	21,9	26,6	26,7	31,2	31,3
23	22,0	22,1	26,8	26,9	31,3	31,4
24	22,2	22,3	26,9	27,0	31,5	31,6
25	22,4	22,	27,0	27,1	31,6	31,7
26	22,	22,7	27,2	27,3	31,7	31,8
27	22,7	22,8	27,3	27,4	31,8	31,9
28	22,9	23,0	27,5	27,6	31,9	32,0
29	23,1	23,2	27,6	27,7	32,0	32,1
30	23,3	23,4	27,8	27,9	32,1	32,2
31	23,4	23,5	27,9	28,0	32,2	32,3
32	23,6	23,7	28,0	28,1	32,3	32,4
33	23,8	23,9	28,1	28,2	32,4	32,5
34	23,9	24,0	28,3	28,4	32,5	32,6
35	24,1	24,2	28,4	28,5	32,6	32,7
36	24,2	24,3	28,5	28,6	32,7	32,8
37	24,4	24,5	28,7	28,8	32,8	32,9
38	24,5	24,6	28,8	28,9	32,9	33,0
39	24,7	24,8	28,9	29,0	33,0	33,1
40	24,9	25,0	29,1	29,2	33,1	33,2

41	25,0	25,1	29,2	29,3	33,2	33,3
42	25,0	25,1	29,2	29,3	33,2	33,3

Fonte: Atalah *et al.* Revista Médica de Chile, 1997.