



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Aleitamento materno e aspetos imunológicos

Joana Paula Bernardo da Silva Cebola

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrado)

Orientadora: Dra. Celina Pires Rosa

Covilhã, maio de 2015

Agradecimentos

À minha orientadora, a Dra. Celina Pires Rosa, sem a qual este trabalho não teria sido possível. Muito obrigada por todo o auxílio, pela disponibilidade, por toda a determinação e amizade que me transmitiu durante este percurso.

A toda a minha família e a todos os meus amigos, que de uma forma ou de outra me ajudaram a ultrapassar momentos difíceis, por acreditarem em mim e me motivarem quando mais precisava e por todo o apoio incondicional.

A todas as pessoas que tornaram possível a realização deste estudo, um bem-haja!

Prefácio

“When we trust the makers of baby formula more than we do our own ability to nourish our babies, we lose a chance to claim an aspect of our power as women. Thinking that baby formula is as good as breast milk is believing that thirty years of technology is superior to three million years of nature’s evolution. Countless women have regained trust in their bodies through nursing their children, even if they weren’t sure at first that they could do it. It is an act of female power, and I think of it as feminism in its purest form.”

Christine Northrup M.D.

Resumo

Introdução: O leite materno é constituído por numerosos componentes com funções imunomoduladoras que não podem ser sintetizados industrialmente e incorporados no leite artificial. Para além das moléculas, existem no leite materno muitas células vivas, tais como macrófagos, linfócitos e células estaminais. Os efeitos imunológicos do aleitamento materno fazem sentir-se não só na infância mas também na idade adulta e observam-se não só no lactente mas também na mulher que amamenta.

Objetivos: Revisão da evidência científica sobre os aspetos imunológicos inerentes ao aleitamento materno e sua relevância para a saúde do lactente e da mulher que amamenta.

Metodologia: Utilizando as palavras-chave “breastmilk”, “immunology”, “breastfeeding” e “immunity”, foram pesquisados artigos científicos nas bases de dados PubMed, UpToDate, NHS e ResearchGate. Foi também efetuada pesquisa em livros de texto sobre o tema. Revisão efetuada de outubro de 2014 a fevereiro de 2015.

Resultados e Discussão: O leite materno é recomendado por várias entidades como a *American Academy of Pediatrics* durante os primeiros seis meses de vida do lactente, em exclusivo, e por pelo menos até aos doze meses de vida ou mais. Do leite materno fazem parte elementos bioativos que, comprovadamente, protegem contra infeções e inflamação e contribuem para a maturação do sistema imunológico, para o desenvolvimento dos órgãos e para a saudável colonização microbiana do lactente. Existem evidências científicas que sustentam os benefícios a curto e longo prazo do aleitamento, nomeadamente ao nível da redução de incidência de doenças gastrointestinais, infeções do trato respiratório superior e inferior, doenças alérgicas, neoplasias infantis e doenças crónicas. Verifica-se uma menor incidência, na idade adulta, de doenças imunologicamente mediadas tais como a asma, *diabetes mellitus* tipo 1 e a esclerose múltipla, em crianças que foram amamentadas. Para a mulher que amamenta, o aleitamento materno confere também proteção para doenças mediadas imunologicamente, tais como a artrite reumatoide, bem como benefícios de saúde, ao diminuir o risco de osteoporose, *diabetes mellitus* tipo 2, doenças cardiovasculares, hipertensão, hiperlipidémia e neoplasias da mama e do ovário.

Palavras-chave

Breastmilk; Immunology; Breastfeeding; Immunity.

Abstract

Introduction: Breast milk is composed of numerous components with immunomodulatory functions that cannot be industrially synthesized and incorporated into formula milk. In addition to the molecules, there are in breast milk many living cells, such as macrophages, lymphocytes and stem cells. The immunological effects of breastfeeding are felt not only in childhood but also in adulthood and are observed not only in infants but also in breastfeeding woman.

Objetives: To review the scientific evidence on the immunological aspects of breastfeeding and its relevance on the health of infants and breastfeeding woman.

Methodology: Using the keywords "breastmilk", "Immunology", "breastfeeding" and "immunity", were searched scientific articles in the databases PubMed, UpToDate, NHS and ResearchGate. It was also made a review in text books about the subject. The review was carried out from October 2014 to February 2015.

Results and Discussion: Breast milk is recommended by several organizations such as the American Academy of Pediatrics for the first six months of life the infant, as exclusive breastfeeding, and at least until the twelve months of age or older. Breast milk contains bioactive elements that are proven to protect against infection and inflammation and contribute to the maturation of the immune system, for the development of organs and healthy microbial colonization of the infant. There is scientific evidence supporting the benefits in the short and long-term breastfeeding, particularly in terms of reduction of incidence of gastrointestinal diseases, upper and lower respiratory tract infections, allergic diseases, children's cancers and chronic diseases. There is a lower incidence in adulthood, in immune-mediated diseases such as asthma, type 1 diabetes and multiple sclerosis in children who were breastfed. For the breastfeeding woman, breastfeeding also provides protection for immunologically-mediated diseases, such as rheumatoid arthritis, as well as health benefits by reducing the risk of osteoporosis, type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease, hypertension, hyperlipidemia and neoplasms Breast and ovarian cancer.

Keywords

Breastmilk; Immunology; Breastfeeding; Immunity.

Índice

1. Introdução.....	1
2. Breve introdução à Imunologia: nomenclatura, propriedades gerais, elementos constituintes e mecanismos de ação.....	2
2.1 Imunidade Inata ou Natural.....	3
2.2 Imunidade Adaptativa ou Adquirida.....	6
3. Constituintes do Leite Materno.....	9
3.1 Componente Nutricional.....	10
3.2 Componentes Bioativos.....	10
4. Doenças na Infância e Aleitamento Materno.....	18
4.1 Infecções do Trato Gastro-Intestinal.....	18
4.2 Infecções do Trato Respiratório e Otite Média.....	19
4.3 Infecções do Trato Urinário.....	20
4.4 Doenças Alérgicas.....	20
4.5 Síndrome da morte súbita infantil.....	21
4.6 Leucemia.....	21
4.7 Neurodesenvolvimento.....	22
5. Aleitamento Materno e doenças autoimunes.....	23
5.1 Doença Celíaca.....	23
5.2 Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1.....	24
5.3 Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2.....	24
5.4 Obesidade e Doenças Cardiovasculares.....	25
5.5 Esclerose Múltipla e Neuromielite Ótica.....	26
5.6 Artrite Reumatoide.....	26
6. Os efeitos do Aleitamento Materno na mulher que amamenta.....	27
7. Conclusão.....	29
8. Bibliografia.....	30

Lista de Acrónimos

AM	Aleitamento Materno
CMH	Complexo Major de Histocompatibilidade
DM	Diabetes mellitus
EGF	<i>Epidermal Growth Fator</i>
GI	Gastro-Intestinal
GM-CSF	<i>Granulocyte colony-stimulating fator</i>
Ig	Imunoglobulina
INF	<i>Ínterferon</i>
INF- γ	<i>Interferon gama</i>
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
ITU	Infeções do Trato Urinário
LLA	Leucemia Linfocítica Aguda
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
LMC	Leucemia Mieloide Crónica
M-CSF	<i>Macrophage colony-stimulating fator</i>
QI	Quociente de Inteligência
SI	Sistema Imunológico
SIDS	<i>Sudden Infant Death Syndrome</i>
slgA	<i>secretory immunoglobulin A</i>
SIDS	Sudden infant death syndrome
TGF- α	<i>Transforming Growth Fator Alfa</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Fator Beta</i>
UPEC	<i>E.coli uropatogénicas</i>

Introdução

O leite materno constitui a melhor fonte nutricional para a maioria dos recém-nascidos e lactentes, para além de conferir uma proteção imunológica contra muitas infeções durante a infância (1, 2). Por isso, o aleitamento materno (AM) é recomendado por várias entidades a American Academy of Pediatrics durante os primeiros 6 meses de vida, em exclusivo, e por pelo menos até aos 12 meses ou mais, desde que mutuamente desejado pela mãe e pelo lactente (3-8).

A composição do leite materno é única, e não pode ser mimetizada por nenhuma fórmula de leite artificial (9). São seus constituintes elementos nutricionais e fatores bioativos não-nutricionais, que promovem a sobrevivência, o crescimento e um desenvolvimento adequado da criança. De facto, dele fazem parte centenas de moléculas bioativas diferentes, que protegem contra infeções e inflamação e contribuem para a maturação do sistema imunitário, para o desenvolvimento dos órgãos e para a saudável colonização microbiana (10).

Efetivamente, embora ainda haja muita pesquisa a realizar no sentido de descobrir todos os elementos e seus mecanismos de atuação (11), vários estudos longitudinais, que examinaram os lactentes desde o nascimento até à vida adulta, sustentam os benefícios a curto e a longo prazo do aleitamento materno (8).

Algumas doenças e condições em que se provou este benefício incluem doenças gastrointestinais (diarreia (12, 13), enterocolite necrotizante (3, 14, 15), doença inflamatória intestinal (16, 17)), infeções do trato respiratório inferior e superior (14, 18), otite média (19, 20), síndrome da morte súbita infantil (21, 22), doenças alérgicas, (como asma, dermatite atópica e eczema (23, 24)), neoplasias em idade pediátrica, como leucemia (25, 26), e doenças crónicas de etiologia autoimune (como doença celíaca (27, 28), obesidade e doenças cardiovasculares (21, 29, 30), diabetes *mellitus* tipo 1 e 2 (31, 32), artrite reumatoide (24, 33) e esclerose múltipla(34, 35)).

Para a mulher que amamenta o AM revela também benefícios de saúde a curto e a longo prazo, nomeadamente diminuição da hemorragia pós-parto e uma involução uterina mais rápida, assim como diminuição da incidência de depressão pós-parto e evidência de menor risco de vir a desenvolver cancro da mama e do ovário antes da menopausa (14), artrite reumatoide, osteoporose e *diabetes mellitus* tipo 2 (3, 36) É também reconhecido que o ato de amamentar permite o desenvolvimento de uma relação física confortável, envolvente e próxima entre o bebé e a mãe, o que aumenta o vínculo afetivo (12).

Com esta revisão bibliográfica pretendo expor de forma clara, abrangente e concisa o conhecimento que existe atualmente acerca dos aspetos de imunologia relacionados com o AM. É objetivo principal deste estudo demonstrar as evidências científicas que se têm vindo a acumular no que concerne a este tema, e elucidar sobre a sua relevância em termos de saúde para o lactente e para a mulher que amamenta.

Breve introdução à Imunologia: nomenclatura, propriedades gerais, elementos constituintes e mecanismos de ação

De um ponto de vista evolutivo, todos os animais multicelulares que existem atualmente tiveram de se adaptar a mudanças ambientais, ao longo de milhares de anos, no sentido de manterem também a sua própria integridade biológica (37, 38). É um facto que durante e após o desenvolvimento intrauterino, um amplo conjunto de fatores ambientais e do hospedeiro interagem no sentido de determinar os padrões de resposta imune (39). Especialmente desde o nascimento, somos permanentemente confrontados com antigénios estranhos ao organismo, e embora muitos desses sejam inofensivos para o ser humano, outros são agentes microbianos (bactérias, vírus, fungos e protozoários), os quais devem ser reconhecidos pelo **sistema imunológico (S.I.)** (40).

O S.I. é formado pelo conjunto de células, tecidos e moléculas que medeiam a resistência às infeções, sendo a reação coordenada dessas células e moléculas aos microrganismos denominada **resposta imunológica** (41). Assim, a função fisiológica mais importante do S.I. é reconhecer estes agentes e gerar mecanismos adequados de resposta que se oponham ao seu estabelecimento local e à sua disseminação sistémica, prevenindo infeções e erradicando aquelas que já estão estabelecidas (42).

A Imunidade é assim definida, como a resistência a doenças, nomeadamente as infecciosas, e a sua importância é ilustrada pelo simples facto de que os indivíduos com resposta imunológica defeituosa são suscetíveis a infeções sérias, que não poucas vezes podem por em risco as suas vidas (41).

O S.I. representa o somatório dos mecanismos de defesa de que o nosso organismo dispõe para nos proteger das agressões que o ameaçam, e sistematicamente é constituído por dois tipos de respostas funcionalmente definidas e que atuam de modo sinérgico (43). São elas a **imunidade inata ou natural**, que é responsável pela proteção inicial contra as infeções, e a **imunidade adaptativa ou adquirida**, que oferece uma defesa mais especializada e mais eficaz contra as infeções (38, 41). Sobre estas, são definidos a seguir alguns aspetos gerais:

Imunidade Inata ou Natural:

É aquela que se diz natural ou nativa, não-específica, não-antecipatória, é filogeneticamente mais antiga (44). Está sempre presente nos indivíduos saudáveis e está preparada para bloquear a entrada dos microrganismos e eliminar rapidamente aqueles que conseguem entrar nos tecidos do hospedeiro (41). Consiste numa resposta imediata a um estímulo agressor, é a primeira linha de defesa (45), uma vez que os mecanismos de reconhecimento têm uma especificidade de largo espectro, (reconhecem estruturas moleculares conservadas produzidas pelos diferentes agentes patogénicos) (38, 46). Ou seja, não possui especificidade para microrganismos nem guarda memória imunológica (40, 44). Dela fazem parte os seguintes elementos: fatores mecânicos, químicos e fisiológicos; células fagocíticas; fatores humorais; e outras células como as células dendríticas, mastócitos, basófilos e eosinófilos (37, 42, 43).

Imunidade Adaptativa ou Adquirida:

É específica, antecipatória e somática (37), os mecanismos de defesa envolvem linfócitos B e T, a resposta imunológica tem um caráter específico, e não somente padrões moleculares conservados, e garantem proteção ao organismo contra uma reinfecção (42). A **especificidade** é a capacidade de reconhecer e reagir rapidamente a uma molécula, e a **memória imunológica** é a capacidade de voltar a reconhecer e reagir rapidamente a esse mesmo antígeno quando este for reintroduzido no organismo (38, 44). Estes mecanismos de defesa têm o potencial para distinguir entre milhões de antígenos ou parte de antígenos diferentes (41, 42).

Consiste numa resposta mais tardia, dois a cinco dias, que requer expansão e diferenciação de linfócitos T e B em resposta à presença dos invasores microbianos, cujos antígenos vão ativar diretamente estes linfócitos com recetores específicos (44). Como tem especificidade mais restrita, os recetores dos linfócitos T e B reconhecem antígenos particulares (45): o recetor dos linfócitos B reconhece antígenos nativos, enquanto que os linfócitos T reconhecem antígenos apresentados no contexto do complexo major de histocompatibilidade (43).

Imunidade Inata ou Natural

a) Fatores mecânicos, químicos e fisiológicos:

A pele e as mucosas constituem uma barreira física, impenetrável a grande número de microrganismos (38, 40, 44). A descamação do epitélio facilita a remoção dos agentes que aderem às superfícies epiteliais (42), e o muco que as recobre impede o contacto destas células com microrganismos, aglutinando-os (43).

Ao nível do trato respiratório, fatores mecânicos como o reflexo da tosse, os espirros e o movimentos dos cílios vibráteis das células epiteliais ajudam a expelir, através da

expetoração, células infetadas e secreções mucosas contendo agentes infecciosos ou partículas poluentes (40, 43).

Os ácidos gordos produzidos pelas glândulas sebáceas da pele, o suor, a saliva, as lágrimas, a urina e outros fluidos corporais são fatores químicos muito importantes, pois contêm substâncias com ação bactericida e bacteriostática (40, 42, 43).

Além destes mecanismos, o pH ácido da maior parte das secreções e da flora normal da pele (40), do trato gastrointestinal e genitourinário evita a colonização de microrganismos, ao mesmo tempo que permite o crescimento de algumas bactérias não-patogénicas (43).

Apesar destes fatores de defesa, os agentes infecciosos podem suplantá-los, pelo que o organismo ativa outras linhas de defesa, como os mecanismos celulares e humorais (42).

b) Células fagocíticas:

A fagocitose refere-se ao processo pelo qual o material particulado, como bactérias, parasitas, células mortas e restos celulares é ingerido pelas células fagocíticas e depois destruído ou neutralizado e eliminado (40, 43). Os principais tipos de células fagocíticas são os neutrófilos, os monócitos e os macrófagos (38, 41). Os neutrófilos circulam no sangue periférico e podem migrar rapidamente para os espaços extravasculares, alcançando os tecidos quando surge um foco de inflamação ou infeção (38). Os monócitos, que também circulam no sangue periférico embora em muito menor número que os neutrófilos, quando migram para os tecidos transformam-se em macrófagos (42, 43).

Os fagócitos são atraídos por estímulos químicos desencadeados pelas quimiocinas. Alguns dos agentes de ação quimiotática mais importantes são o componente C5a do complemento, o leucotrieno B4 e a IL-8 (42, 43).

Existem mecanismos de reconhecimento que facilitam o mecanismo de fagocitose, que pode ser mediada por recetores que se ligam diretamente aos agentes patogénicos ou por opsoninas (opsonização) (10, 42, 43). Relativamente à opsonização, esta consiste na facilitação da fagocitose através de vários mediadores, como fragmentos do complemento, anticorpos, fibronectina, entre outros (38).

c) Fatores Humorais:

Os fatores humorais são os fatores presentes na circulação, por exemplo as proteínas do sistema do complemento, citocinas, interferões ou as proteínas de fase aguda (41).

O sistema do complemento consiste numa cascata de proteínas enzimaticamente ativas que libertam moléculas que funcionam imunologicamente (40, 47). Embora tenha mecanismos de ação inespecíficos, consiste num elo de ligação fundamental para o estabelecimento da imunidade adquirida, complementando assim as respostas mediadas por anticorpos (44, 45). São nove os componentes do complemento, e habitualmente estão presentes no plasma numa forma inativa (zimogénios), mas quando o sistema é ativado, as

moléculas inativas são convertidas em enzimas ativas, e estabelece-se uma cascata de ativação (42).

Existem três vias de ativação do complemento:

Via clássica: inicia-se quando anticorpos IgM ou IgG se ligam a antígenos (bactérias maioritariamente, mas também vírus ou autoantígenos) e formam complexos antígeno-anticorpo (45).

Via alternativa: é ativada por produtos e componentes bacterianos, alguns vírus e enzimas proteolíticas, e não requer a intervenção de anticorpos (40).

Via da lectina: inicia-se de modo idêntico à via clássica, mas em vez de anticorpos existe uma lectina, nomeadamente a lectina de ligação à manose (a manose corresponde a estruturas de carboidratos das paredes de vários microrganismos). Quando este complexo se liga à superfície de um agente patogénico, há ativação do complemento (38).

Independentemente da via considerada, verificam-se sempre três fases (Iniciação, Amplificação e Ataque à membrana), sendo o objetivo principal a deposição do fragmento C3b no alvo celular, de modo a que se verifique a aderência imune e a ingestão pelas células fagocíticas (42, 45).

d) Células linfocíticas:

As células linfocíticas são determinados tipos de células, nomeadamente linfócitos, não B e não T, que são capazes de desempenhar funções citotóxicas contra células-alvo, independentemente de qualquer exposição prévia (42). Algumas subpopulações de linfócitos T e B, como não entram em processo de expansão clonal para desencadarem uma resposta imunológica, são considerados elementos da imunidade inata, designadamente linfócitos T $\gamma\delta$, subpopulação de linfócitos NKT, linfócitos B-1 nas cavidades peritoneal e pleural e linfócitos B da zona marginal do baço. Outro exemplo são as células *Natural Killer* (NK) (40, 44).

e) Outras células: células dendríticas, mastócitos, basófilos e eosinófilos:

As células dendríticas têm a capacidade de fagocitar microrganismos, de produzir óxido nítrico (tem atividade antimicrobiana), e a sua estimulação constitui um passo essencial para a iniciação de respostas adaptativas (38, 42).

Os mastócitos também fagocitam microrganismos invasores e produzem grandes quantidades de mediadores inflamatórios (como por exemplo o TNF- α e o leucotrieno B₄), os quais recrutam leucócitos para o foco inflamatório. Também intervêm nos mecanismos de alergia (45).

Os basófilos, através do seu processo de desgranulação e libertação de histamina e de síntese e libertação dos produtos da cascata do ácido araquidónico, são igualmente mediadores dos fenómenos alérgicos (42).

Os eosinófilos, tal como os mastócitos, produzem um conjunto variado de citocinas e mediadores lipídicos do processo inflamatório, e têm potencial tóxico contra parasitas (40, 42).

Imunidade Adaptativa ou Adquirida

A imunidade adaptativa tem capacidade de discriminação antigénica para vários microrganismos, o que lhe confere um carácter específico à resposta imune e a geração de uma memória imunológica (40). A sua natureza implica mecanismos de amplificação clonal, pelo que são necessários dias ou até mesmo semanas para que o número de linfócitos específicos atinja a magnitude necessária para eliminar determinado agente (42). As respostas imunológicas podem ocorrer via produção de anticorpos (**imunidade humoral**) ou de células efectoras com atividade citolítica/citotóxica e de citocinas (**imunidade celular**) (46).

a) Linfócitos T e B:

As respostas imunes adaptativas são iniciadas pelo reconhecimento de antígenos pelos recetores específicos de membrana dos linfócitos(44), sendo que os linfócitos B e T diferem em relação aos antígenos que reconhecem (41, 46).

Os **linfócitos B** diferenciam-se em plasmócitos para que ocorra a produção de anticorpos (40) e portanto são os mediadores da imunidade humoral, através da neutralização, opsonização/fagocitose, ativação do complemento, citotoxicidade dependente de anticorpos, desgranulação de mastócitos e basófilos e/ou eosinófilos (42). Os anticorpos são produzidos pelos linfócitos B e seus derivados e funcionam como recetores de antígenos ligados à membrana dos linfócitos B (44). Podem reconhecer uma grande variedade de macromoléculas (proteínas, polissacarídeos, lípidos e ácidos nucleicos) quer na forma solúvel ou associadas à superfície celular, mas também pequenas substâncias químicas (41). Assim, as respostas humorais mediadas pelas células B podem ser geradas contra vários tipos de antígenos da membrana celular dos microrganismos e antígenos solúveis (45).

Os **linfócitos T** promovem a regulação das respostas celulares e humorais, têm atividade citotóxica importante e em termos funcionais dividem-se em três subtipos, com características particulares (42, 45):

Linfócitos T auxiliares/helper (Th): ajudam outras células a desempenharem as suas funções, são identificados pela expressão da molécula CD4, e distribuem-se em duas grandes subpopulações, os Th1 e os Th2, consoante o padrão de citocinas que produzem, o que determina substancialmente a sua função.

Linfócitos T citotóxicos (Tc): promovem a destruição celular (nomeadamente das células infetadas por vírus e neoplásicas), e são identificados pela molécula CD8.

Linfócitos T reguladores/supressores (Treg/Ts): promovem a regulação/supressão de respostas imunológicas específicas, e podem expressar na sua superfície as moléculas CD4 ou CD8.

Ao contrário do que se passa com os linfócitos B, os recetores de antígenos da maioria dos linfócitos T só podem identificar fragmentos peptídeos de antígenos proteicos, e apenas quando estes são apresentados por células especializadas, denominadas células apresentadoras de antígenos (APC) (41, 42). As APC (que podem ser células dendríticas, macrófagos e linfócitos B) estão associadas aos antígenos do Complexo Major de Histocompatibilidade (MHC), que pode ser de classe I (identificado pelos linfócitos TCD8+) ou II (reconhecido pelos linfócitos T CD4+) (44).

Além destes existe ainda um terceiro grupo de linfócitos, os linfócitos NK, com citotoxicidade direta e capacidade de produção de fatores solúveis (quimiocinas e citocinas) com efeitos microbicidas ou de ativação de outras células do sistema imunológico (42).

b) Imunoglobulinas:

As Ig existem sob 2 formas, a membranar, essencial para o reconhecimento de antígenos pelos linfócitos B, e uma forma solúvel também denominada anticorpo, responsável pelas respostas humorais (38). As suas funções fisiológicas consistem no reconhecimento, neutralização e eliminação dos antígenos ou microrganismos que induziram a sua formação, através de vários mecanismos, como a opsonização e ativação do complemento, entre outros (42).

Nos humanos existem 5 classes ou isotipos de imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgE e IgD) (38, 40, 46):

A **IgG** é a principal classe de Igs (44), com maior concentração na circulação sanguínea, 75% das Igs totais, e como atravessa a barreira placentária é a única que garante proteção ao recém-nascido nos primeiros meses de vida (40). É importantíssima na defesa contra a invasão microbiana, nomeadamente através da ativação do complemento, ligação aos macrófagos e outras células fagocíticas e divide-se em quatro subclasses, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 (42).

As IgG1, IgG3 e IgG4 medeiam a resposta imunológica contra antígenos proteicos, e quando o estímulo antigénico é polissacárido (como por exemplo as cápsulas de bactérias), os anticorpos produzidos são maioritariamente do tipo IgG2. Concentrações séricas diminuídas de IgG3, mas principalmente de IgG2, estão associadas a infeções recorrentes das vias aéreas, enquanto que a deficiência de IgG1 está associada a infeções pelo vírus Epstein-Barr, difteria e tétano, para além de outros. A IgG4 tem uma menor representação no total de IgG sérica e intervém principalmente na doença alérgica, sendo frequentemente encontrada em elevados níveis em parasitoses (42).

A **IgM** é um ativador importante do complemento e da fagocitose, intervindo na eliminação de patogénicos nos estádios iniciais da imunidade mediada pelas células B (44), quando o nível de IgG sérica ainda não é suficiente. Ainda que em menor grau do que a IgA, também participa na imunidade associada às mucosas (42).

A **IgA** é o anticorpo produzido em maior número no corpo humano, e a segunda classe mais frequente na circulação sanguínea (38). Das suas duas subclasses (IgA1 e IgA2), a IgA2 é a

principal imunoglobulina das secreções (44), e é primordial na defesa contra a penetração de alergénios, vírus e partículas microbianas ao nível das mucosas do sistema respiratório, gastrointestinal e genitourinário (40). A IgA1 é principalmente encontrada no soro (42).

A IgA participa ainda na remoção de complexos imunes, o que implica uma predisposição aumentada para alergias e doenças autoimunes nos indivíduos com défice de IgA (42). O leite materno contém níveis elevados de sIgA (38).

A IgE é, de todos os anticorpos, a menos abundante no sangue e a que tem um tempo de semivida menor (40, 44), sendo produzida maioritariamente pelos plasmócitos dos pulmões e da pele. É extremamente importante no combate às alergias, e quando em contacto com alergénios desencadeia a libertação de substâncias como a histamina, leucotrienos e citocinas, mediadores nas reações alérgicas e anafiláticas (40, 42). Nas infeções parasitárias também é usual encontrar títulos elevados de IgE sérica(44).

A IgD está normalmente presente em níveis reduzidos na circulação sanguínea (44), e na sua forma de membrana faz parte de um conjunto de recetores de linfócitos, que participam no reconhecimento específico de antigénios e na ativação celular (42).

Resumidamente, o S.I. inato é o responsável pelo primeiro encontro com o patogéneo mas pode ativar a imunidade adaptativa no caso da reposta inicial ser ineficaz. Assim, ambos os sistemas interatuam um com o outro, via interações célula-célula e fatores solúveis, no sentido de manter um estado fisiológico estável (37).

Constituintes do Leite Materno

Tal como já foi referido anteriormente, foi comprovado por muitos estudos que a composição do leite materno é o *gold-standard* para a nutrição infantil (6, 10, 36, 47-53). Não constitui apenas o melhor alimento como pode ser mesmo visto como um sistema biológico funcional e dinâmico, já que proporciona nutrientes, componentes bioativos e fatores imunológicos (54, 55). De facto, trata-se de um fluido biológico muito complexo que facultava fatores nutricionais e não-nutricionais (56, 57), promovendo assim o crescimento saudável dos recém-nascidos e lactentes (50).

Além de, comprovadamente, proteger contra doenças infecciosas na infância (50), os seus benefícios estendem-se até à idade adulta, como sugerem estudos epidemiológicos que demonstram uma proteção contra doenças crónicas e alérgicas, de mediação imune (8).

Do leite materno fazem parte mais de duzentos tipos diferentes de moléculas, algumas das quais ainda não foram descritas e a sua função está por determinar (1). O leite contém nutrientes em quantidades próximas do nível ótimo, mas também fatores que facilitam a absorção de nutrientes vitais no intestino do lactente, como o cálcio, o ferro e a vitamina B12 (7, 58).

Ao contrário das fórmulas artificiais, que obedecem a padrões e variam muito pouco no que refere à sua composição (10), a do leite materno não é homogénea e sofre alterações ao longo das semanas em que decorre o aleitamento e até ao longo do próprio dia (52), variando também entre as mulheres que amamentam (50).

O período de amamentação é dividido em três fases diferentes: **coloostro**, **leite de transição** e **leite maduro**, sendo que as principais alterações nos constituintes do leite ocorrem durante a primeira semana (50). O colostro é produzido apenas durante os primeiros dias após o parto, é rico em componentes imunológicos como IgA secretória, lactoferrina e leucócitos e em fatores promotores do desenvolvimento como o EGF (10). Tem um elevado conteúdo proteico e um teor de gordura mais baixo, e apesar do seu valor nutricional as suas principais propriedades são imunológicas (12). O leite de transição, presente normalmente cinco a quinze dias após o parto, representa um período de aumento na produção de leite para suprir as necessidades nutricionais e de desenvolvimento do lactente em crescimento rápido. Cerca de quatro a seis semanas após o parto, o leite maduro mantém uma composição semelhante à do período anterior (10).

Embora se saiba que a composição do leite materno está sujeita a alterações durante o aleitamento, pouco se sabe ainda sobre as mudanças ao nível dos seus componentes imunológicos (59).

Componente Nutricional

Os elementos nutricionais do leite permanecem muito constantes entre as diferentes mulheres que amamentam, no entanto a dieta materna é um fator decisivo na presença de determinadas vitaminas e ácidos gordos presentes no leite (60). Muitos destes elementos têm mais do que uma função para além da de nutrição, como a proteção contra infeções e outros mecanismos de mediação imunológica, entre outros efeitos muito distintos (1).

Dos principais macronutrientes presentes no leite materno, proteínas, lípidos e hidratos de carbono, numa gravidez de termo fazem parte aproximadamente 0.9 a 1.2 g/dL de proteínas, 3.2 a 3.6 g/dL de gordura e 6.7 a 7.8 g/dL de lactose (57).

O leite materno contém vários tipos de proteínas, com atividades biológicas distintas, capazes de facilitar a absorção de nutrientes no intestino, de fornecerem elas mesmas quantidades adequadas de aminoácidos essenciais para o crescimento do lactente tendo também propriedades antimicrobianas e imunoestimuladoras (61). As proteínas mais abundantes são a caseína, a α -lactalbumina, a lactoferrina, a sIgA, lisozima e albumina sérica (10).

O seu valor energético é cerca de 65 a 70 kcal/dL, e está diretamente relacionado com o conteúdo de gordura presente no leite, que é muito variável e depende em grande parte da dieta materna (1, 62). Os principais ácidos gordos presentes são os ácidos palmítico e oleico (10).

Embora a lactose, que é um dissacarídeo, seja o principal açúcar do leite, outros hidratos de carbono importantes são os oligossacarídeos, que também são fatores bioativos e não apenas elementos nutricionais (10). Os oligossacarídeos são o terceiro componente mais abundante do leite e perfazem 8% do conteúdo total de nutrientes (63, 64). O conteúdo de oligossacarídeos do leite materno é um dos principais componentes que determina a colonização bacteriana do trato gastro-intestinal do lactente (33).

É de referir que apesar de estes valores representarem uma estimativa adequada, há que ter em conta a variabilidade individual, e outros fatores como se a gravidez é de termo ou pré-termo (48). Essa variabilidade é ainda mais notória relativamente aos micronutrientes, como as vitaminas A, B1, B2, B6, B12 e D e iodo, os quais dependem da dieta materna e das reservas corporais, que nem sempre estão num nível ótimo (1). Isto é particularmente verdade no caso das vitaminas D e K, que normalmente estão presentes no leite materno em quantidades muito baixas (10).

Componentes Bioativos

Além dos componentes nutricionais, o leite materno é uma fonte de moléculas biologicamente ativas (59), responsáveis por atividades biológicas específicas, essenciais para o crescimento e desenvolvimento dos recém-nascidos (65, 66). Estes elementos também protegem os lactentes de infeções e da inflamação e contribuem para a maturação do seu S.I. (67), além de que constituem um importante aspeto na defesa da glândula mamária da

mulher que amamenta (68). Exemplos desses componentes são Igs, fatores de crescimento, citocinas, proteínas de fase aguda e proteínas antivirais e antibacterianas (65).

O A.M. exclusivo é especialmente importante durante os primeiros seis meses de vida do lactente, uma vez que ao nascimento o seu S.I. é imaturo e inadequado (8). Como o S.I. da criança continua em desenvolvimento ao longo de pelo menos os dois primeiros anos de vida, durante este período a criança tem uma capacidade limitada para responder efetiva e rapidamente a agentes infecciosos, dado a sua imaturidade imunológica, o que explica a sua suscetibilidade para infeções (47, 68). Acredita-se que após o término do A.M. há uma proteção prolongada contra infeções, uma vez que o S.I. da criança só está completamente funcional por volta dos três ou quatro anos de idade (69).

Estes elementos são tão importantes que apesar de ainda não se conhecerem todos os seus mecanismos de ação, as investigações prosseguem para compreender e aplicar esse conhecimento na melhoria das fórmulas de leite artificial (67) .

De modo a facilitar a exposição dos mesmos, os componentes bioativos podem ser divididos em 2 grandes grupos, fatores celulares e fatores humorais, embora *in vivo* esta divisão é fictícia já que eles estão intimamente relacionados (68).

Componentes Celulares

As células presentes no leite materno incluem macrófagos, linfócitos, neutrófilos, células estaminais e células epiteliais, entre outras, perfazendo um total de aproximadamente 4000 células /mm³ de leite (10).

Estas células “vivas” do leite atacam diretamente os patogéneos, mobilizam outras defesas e ativam componentes solúveis, a maioria alcança o trato gastro-intestinal onde continua as suas funções, e podem classificar-se como (8, 68):

- a) Células com especificidade imunológica: linfócitos T e B
- b) Células acessórias: neutrófilos, macrófagos e células epiteliais

Embora o preciso papel dos leucócitos presentes no leite materno ainda não tenha sido determinado (70), estes são os principais componentes celulares presentes no início do A.M. (71). O recém-nascido ingere em média 10⁸ leucócitos por dia, dos quais aproximadamente 90% são macrófagos e cerca de 5 a 10% são linfócitos (70). A maior concentração de células ocorre nos primeiros dias de aleitamento, e após 2 a 3 meses o número de células diminui, no caso dos leucócitos para níveis indetetáveis (68, 72). Relativamente aos leucócitos polimorfonucleares, acredita-se que a sua principal função é a defesa do tecido mamário e em menor grau a imunocompetência do lactente, através da fagocitose ao nível da mucosa do trato G.I. pelos neutrófilos (11). Os linfócitos T perfazem aproximadamente 80% do total, igualmente distribuídos entre subpopulações CD4+ e CD8+, enquanto que os linfócitos B são identificados pela presença de Igs de superfície (73). As células B proliferam e há formação de anticorpos, (o que não se verifica nas fórmulas de leite artificial). Ambos os linfócitos T e B são reativos contra organismos que invadem o trato G.I. (68).

Componentes Solúveis

Estes elementos têm múltiplas funções protetoras incluindo a ligação a patógenos, a secreção de marcadores químicos e a ligação a nutrientes necessários à sobrevivência dos patógenos, e incluem (8, 10, 74):

- a) Imunoglobulinas: sIgA, IgE, IgG, IgM e IgD
- b) Fatores não-específicos: complemento, INF, fator bifido, fatores antivirais.
- c) Proteínas transportadoras: lactoferrina, transferrina, proteína ligação-vitamina B12, proteína ligação-corticoide.
- d) Enzimas: lisozima, lipase lipoproteica, enzimas leucocitárias.
- e) Citocinas: INF, ILs
- f) Hormonas e substâncias *hormone-like*: prostaglandinas, relaxina, somatostatina, gonadotrofinas e esteroides ovarianos, prolactina, adiponectina, leptina, insulina, cortisol, tiroxina, calcitonina, eritropoietina e fatores de crescimento.
- g) Mucinas: MUC1 e MUC4

a) Imunoglobulinas

Todas as classes de Igs fazem parte da constituição do leite materno, sendo que as suas concentrações são maiores no colostro e alteram-se à medida que o aleitamento prossegue (1). A IgA é a Ig presente mais importante, quer em termos de concentração (perfaz 90% de todas as Igs no colostro e no leite), quer ao nível de atividade biológica constituindo o principal mediador da primeira linha de defesa local do S.I. (59).

A atividade das Igs, principalmente a IgA, ao nível da mucosa gastrointestinal e respiratória, promove proteção contra os microrganismos que a possa infetar ou entrar no corpo através desta via. Os anticorpos sIgA presentes no leite materno reconhecem uma grande variedade de microrganismos, incluindo bactérias (nomeadamente *E.coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *V. cholerae*, *Haemophilus influenza*, *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium botulinum*, *Klebsiela pneumoniae*), fungos (como *Candida albicans*) e parasitas (por exemplo, a *Giardia*) (38, 68).

As restantes Igs existem no leite em concentrações muito menores que a IgA. Acredita-se que as Igs D e E presentes no leite têm a mesma especificidade antigénica da IgA, enquanto que as Igs G e M têm funções complementares a esta na defesa das mucosas respiratória e gastrointestinal do lactente, para além de que participam na fixação do complemento e têm atividade bactericida (75).

b) Fatores não-específicos

b1) Sistema do Complemento:

Os estudos sugerem que o colostro e o leite contêm todos os elementos da cascata do complemento, embora haja algumas deficiências na sua ativação nos recém-nascidos (75).

Nas maioria das crianças com menos de dezoito meses de idade, os níveis plasmáticos das proteínas do complemento são menores que nos adultos, exceto no caso de C5 e C7 (47). Em particular, os elementos C3 e C4 do complemento são capazes de facilitar a ligação de bactérias a anticorpos específicos, e o fragmento C3b tem propriedades opsónicas, anafiláticas e quimiotáticas (47, 68).

b2) Interferon (INF):

O INF é produzido pelas células NK e linfócitos T ativados e está presente em quantidades reduzidas no colostro, no leite de transição e maduro (75, 76).

O INF- γ que tem atividade proinflamatória, amplificando a resposta inflamatória das células Th1 e suprimindo a resposta alérgica das células Th2 (10). Apesar da sua função precisa no leite ainda não ter sido determinada, acredita-se que os seus níveis reduzidos são ainda assim adequados para proteger contra infeções sem ocorrer uma hiperactivação das células T (68).

b3) Fator Bífido:

É um fator de crescimento específico para bactérias do género *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, bacilos que estão normalmente presentes no leite materno e que são denominados **probióticos** (75).

As bactérias probióticas estabelecem uma proteção imunológica para o seu hospedeiro, estimulando a produção de anticorpos ou a fagocitose pelos leucócitos sanguíneos, por exemplo (68). De facto, o leite humano não é estéril e dele fazem parte vários tipos de bactérias que funcionam de modo comensal, simbiótico e probiótico no intestino do lactente (77).

c) **Proteínas transportadoras**

c1) Lactoferrina:

A lactoferrina é uma importante proteína de ligação ao ferro e constitui cerca de 10 a 15% do conteúdo proteico total do leite materno (51). Esta glicoproteína tem propriedades antimicrobianas (75, 78), (devido à sua capacidade de se ligar ao ferro, compete com bactérias e fungos pelo ferro necessário à sua proliferação (11)) e probióticas, uma vez que serve como fator de crescimento para espécies bacterianas intestinais, como as *Bifidobacterium* e os *Lactobacillus* (47, 51). É assim um agente protetor de amplo espectro (9), que também reduz a produção de citocinas inflamatórias nos monócitos, e interfere com a adesão de patógenos entéricos como a *E.coli* e *Shigella spp* (47, 51).

c2) Proteína de ligação-vitamina B12:

Esta proteína, encontrada em elevadas concentrações no leite materno, liga-se à vitamina B12 e torna-a indisponível para o crescimento de bactérias como as *Bacterioides* e a *E. coli* (68, 75).

c3) α-Lactalbumina:

É uma proteína transportadora de cálcio, parte essencial do complexo enzimático que sintetiza a lactose, e promove o crescimento das *Bifidobacterium* (47). É capaz de destruir o *Streptococcus pneumoniae* e está presente na glândula mamária apenas durante o período de aleitamento (11).

d) **Enzimas**

d1) Lisozima:

Esta enzima é uma glicoproteína ácido- e termo-estável, que é encontrada em grandes concentrações nas fezes dos bebés alimentados com leite humano, mas não nos alimentados com fórmulas de leite adaptado (68). A lisozima é capaz de provocar a lise da parede celular bacteriana (47), liga-se a endotoxinas (limitando o seu efeito), aumenta a produção de IgA e contribui para a ativação de macrófagos (10).

d2) Caseína:

A caseína inibe a adesão de várias bactérias em diferentes sítios epiteliais, e promove o crescimento das *Bifidobacterium* (47).

e) **Citocinas**

As citocinas, um dos mais importantes componentes biológicos presentes no leite humano (51), são polipéptidos pluripotentes (79), solúveis (80), multifuncionais (10), que atuam como mensageiros químicos entre as células (51) via ações autócrinas, parácrinas e endócrinas (68). Já foram identificadas mais de dez tipos de citocinas no leite (68), as quais operam em associações complexas produzindo uma cascata de efeitos que contribuem para o desenvolvimento e função do S.I. (51). As citocinas são produzidas por vários tipos de células (79), nomeadamente pelos leucócitos presentes no leite e pelo epitélio da glândula mamária (81, 82) e têm a capacidade de atuar em diferentes tipos de células (pleiotropismo) (79). Entre as suas funções incluem-se iniciação e estimulação das respostas de defesa do hospedeiro, prevenção da autoimunidade, efeitos anti-inflamatórios no trato respiratório superior e GI e estimulação do desenvolvimento do sistema digestivo e respiratório superior, especialmente ao nível do S.I. da mucosa (68).

A lista de citocinas presentes no leite materno inclui as interleucinas 1,3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13; *Interferon gama* (INF-γ); *Epidermal Growth Fator* (EGF); *Transforming Growth Fator Alfa* (TGF-α); *Transforming Growth Fator Beta* (TGF-β); *Granulocyte colony-*

stimulating fator (GM-CSF); *Macrophage colony-stimulating fator* (M-CSF) e *monocytes chemotactic protein* (47, 53, 66, 73, 76, 81).

Podemos fazer uma divisão das citocinas em **anti-inflamatórias** (IL-10, IL-6, TGF- β) e **pró-inflamatórias** (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) (81).

As **quimiocinas** são uma classe de pequenas citocinas quimiotáticas que induzem o movimento de outras células (10), capazes de ativar leucócitos e com potencial papel como mediadoras da inflamação (79).

A família **TGF- β** constitui a classe mais abundante de citocinas do leite materno (83), e ocorre sob três isoformas, das quais a TGF- β 2 é a predominante (10). É um fator de crescimento que limita a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF) e também é sugerido que limita a adesão dos leucócitos a células endoteliais e diminui a produção de óxido nítrico por macrófagos ativados (47). As suas funções principais consistem na regulação da proliferação e diferenciação celular, estimulação da síntese e deposição da matriz extracelular e na modulação dos mecanismos da inflamação e alergia (66).

As **ILs** são um subgrupo de citocinas que incluem, entre outras, a TNF- α , IL-6, IL-8 e INF- γ (10, 68), um conjunto de citocinas pró-inflamatórias, em níveis que diminuem ao longo do aleitamento e que também dependem da idade gestacional ao nascimento (10).

A **IL-6** é uma citocina com funções quer pró- quer anti-inflamatórias (10, 78), e tem um papel muito importante ao estimular a diferenciação de células produtoras de IgA (51, 81), para além de também ativar linfócitos T, aumentar a fagocitose e a produção de α 1-antitripsina (75). Além disso, a sua presença no leite também pode afetar o S.I. da glândula mamária (53).

A **IL-8** é uma quimiocina, um mediador inflamatório e é capaz de promover o movimento de neutrófilos, monócitos e linfócitos da circulação materna para o leite (53, 68, 75). Este movimento de leucócitos alcança a parede intestinal do lactente, e possivelmente atravessa-a, o que contribui para a defesa da mucosa e desenvolvimento do S.I. (53).

A **IL-10** tem atividade anti-inflamatória, diminuindo a produção de INF- γ , IL-12 e outras citocinas pró-inflamatórias (75), e a ativação de macrófagos, células T e células NK (47). Também aumenta a síntese de IgA, IgM e IgG (47, 68, 75, 78).

A **IL-7** atravessa a parede intestinal e influencia o desenvolvimento tímico (10).

Os *Colony-stimulating factors*, como **M-CSF** e **GM-CSF**, têm papéis importantes na proliferação, diferenciação e sobrevivência dos macrófagos presentes no leite (79). O G-CSF tem efeitos benéficos no desenvolvimento intestinal, promovendo o aumento do número de *villi*, criptas e proliferação celular (10).

A concentração de citocinas é máxima no colostro, diminuindo depois ao longo do aleitamento, o que sugere que estas potenciam a função imunológica do recém-nascido durante os primeiros dias de vida, período de imaturidade imunológica, no qual o lactente ainda não é totalmente capaz de produzir as suas próprias citocinas (51, 68, 75).

f) Hormonas e substâncias *hormone-like*

Este conjunto de hormonas e substâncias semelhantes a hormonas presentes no leite materno inclui as prostaglandinas, relaxina, somatostatina, gonadotrofinas e esteroides ovarianos, prolactina, insulina, cortisol, tiroxina, eritropoietina e fatores de crescimento (8, 9).

A **prolactina** estimula o desenvolvimento dos linfócitos T e B e a diferenciação do tecido linfóide intestinal (9).

A **adiponectina** é uma hormona proteica produzida pelo tecido adiposo que regula ativamente o metabolismo e suprime a inflamação (84). É encontrada em elevadas quantidades no leite materno, e crê-se que os seus níveis no leite correlacionam-se inversamente com o peso do lactente e o seu IMC (10).

A **leptina** é também uma hormona-reguladora do metabolismo presente no leite materno, que parece ser importante para o crescimento pós-natal (30, 85).

A **calcitonina** e a **somatostatina** são hormonas com funções reguladoras do crescimento, embora no caso da somatostatina o seu papel no leite materno ainda permaneça pouco claro, pois normalmente esta inibe os fatores de crescimento (10).

O **cortisol**, a **tiroxina** e a **insulina** promovem a maturação da mucosa do trato GI do recém-nascido e o desenvolvimento dos mecanismos de defesa intestinal do hospedeiro (9, 75), tal como muitos dos fatores de crescimento, como veremos em seguida.

O leite materno contém um número vasto de **fatores de crescimento** (86), com efeitos comprovados na estimulação do crescimento, desenvolvimento e proteção do trato GI do recém-nascido, aumentando a eficácia da barreira epitelial (56, 68, 86). Além disso, os seus efeitos também se verificam ao nível do sistema vascular, nervoso e endócrino (10) sendo impossível replicar estes elementos nas fórmulas de leite de vaca comercializadas (56).

Entre estes, encontram-se 3 muito importantes: *Vascular Endothelial Growth Fator (VEGF)*, que regula a angiogénese e a vasculogénese, atuando principalmente nas células endoteliais (10, 56); *Hepatic Growth Fator (HGF)*, que estimula o crescimento, motilidade e morfogénese nas células epiteliais e em outros tipos celulares, além de ter propriedades angiogénicas (56); **EGF**, fator crítico para a maturação e regeneração da mucosa intestinal, (promove a divisão celular, a absorção de água e de glicose e a síntese proteica, entre outros mecanismos protetores da mucosa) (87).

Outros fatores importantes presentes no leite materno são o *Brain-Derived Neurotrophic Fator (BNDF)*, e o *Glial cell-line Derived Neurotrophic Fator (GNDF)*, essenciais para o desenvolvimento do sistema nervoso imaturo do recém-nascido (10).

O leite inclui ainda quantidades significativas de **Eritropoietina**, a principal hormona responsável por aumentar o número de glóbulos vermelhos, além de ser um importante fator trófico (10).

A superfamília de **IGF**, *insulin-like growth fator*, nas formas IGF-I e IGF-II, também está presente, estimulando a eritropoiese e o incremento do hematócrito, entre outras funções (88).

g) Mucinas

As mucinas presentes no leite materno, MUC1 e MUC4, são glicoproteínas capazes de inibir a invasão das células epiteliais do intestino por bactérias como a *Salmonella* e por alguns vírus (73, 89).

Embora as fórmulas de leite artificial tenham sido melhoradas progressivamente de modo a se assemelhem cada vez mais ao leite materno, é impossível replicar a composição nutricional e imunológica do leite humano (36). De facto, continuam a ser identificados elementos novos no leite materno, e muito há ainda por descobrir, conferindo-lhe assim uma excelência única, insubstituível por qualquer outra fórmula artificial, dadas as diferenças de importância fisiológica entre os dois tipos de leite (36).

Doenças na Infância e A.M.

Ao longo dos anos têm-se realizado vários estudos que comprovam o impacto positivo do A.M. em termos de saúde pública (5, 90). A menor incidência de doenças nos lactentes alimentados com leite humano traduz-se por uma redução dos custos em cuidados de saúde e por um impacto social positivo porque possibilita uma redução nos dias de trabalho perdidos para cuidar dos lactentes doentes (12, 91).

De facto, os sistemas biológicos em desenvolvimento são especialmente vulneráveis aos efeitos de exposições adversas, de que são exemplo as mudanças ambientais modernas (39), daí que a promoção do A.M. seja tão importante como medida protetora do S.I. imaturo do recém-nascido e lactente. Nas últimas décadas assistiu-se a uma mudança de paradigma relativamente à “carga de doenças” nos países desenvolvidos, de doenças predominantemente infecciosas para doenças de mediação imune (63). Assim, o leite materno, constituindo a primeira exposição nutricional na infância (92), tem um papel determinante na composição microbiana da colonização inicial do lactente, conferindo proteção imunológica relativamente às fórmulas artificiais (63).

Infeções do Trato Gastro-Intestinal (GI)

As infeções gastrointestinais são muito prevalentes, em todo o mundo, em lactentes e crianças (14, 54).

Esta prevalência global elevada foi alvo de investigação, no sentido de determinar como é que a composição do leite humano afeta o funcionamento da barreira GI e o desenvolvimento de uma mucosa imunologicamente competente (54).

Estudos demonstraram que o A.M., principalmente o A.M. exclusivo, durante os primeiros quatro meses de vida, mas idealmente por seis meses, está associado a diminuição da incidência de infeções do trato GI não-específicas (3, 14, 19, 93). Também diminui a incidência de diarreia, de todas as causas, comparativamente com os lactentes alimentados com fórmulas de leite artificial (12, 94).

No momento do nascimento, o trato gastrointestinal do lactente é estéril (95), sendo depois rapidamente colonizado por um grande número de diversas bactérias comensais (17, 96), que residem no intestino numa relação simbiótica com o hospedeiro (7). Esta simbiose é determinante para a homeostasia imunológica intestinal (2, 63).

O leite materno desenvolve a competência imunológica normal da mucosa intestinal, prevenindo a adesão e penetração de bactérias, vírus e proteínas estranhas, que poderiam comprometer a integridade da mucosa e desencadear respostas inflamatórias (8).

Os glicanos presentes no leite materno, do qual fazem parte os oligossacarídeos livres, as glicoproteínas e os glicolípidos, protegem contra infeções gastrointestinais e também atuam

como pré-bióticos, estimulando o crescimento das bactérias benéficas para a flora intestinal(7).

Os oligossacarídeos inibem a adesão de bactérias e vírus à mucosa GI, conferindo assim proteção contra diarreias provocadas por *Campylobacter*, toxina estável de *E. coli* enterotoxigénica, vírus Norwalk e vírus relacionados (13, 52, 90, 97, 98). Os oligossacarídeos também previnem infeções por parasitas protozoários, como a *Entamoeba histolytica* (99).

Alguns estudos estabeleceram ainda a associação entre a proteção conferida pelo leite humano, através da glicoproteína lactaderina, contra o rotavírus (97, 100).

As propriedades do leite materno promovem o crescimento das bactérias probióticas (101), estabelecendo-se uma microflora intestinal que impede a colonização por microrganismos enteropatogénicos (102). A flora intestinal dos lactentes alimentados com leite materno é rica em bifidobactérias e lactobacilos, ao contrário da flora dos lactentes alimentados com fórmula artificial (96).

Muitas doenças intestinais crónicas, como a enterocolite necrotizante e a doença inflamatória intestinal estão associadas a colonização intestinal inadequada, fenómeno denominado disbiose (17, 63).

A enterocolite necrotizante afeta principalmente os recém-nascidos pré-termo (103, 104), e demonstrou-se que o A.M. diminui a sua incidência (14, 48, 96), principalmente nos com muito baixo peso. (105) O A.M. também está associado a um menor risco de vir a desenvolver doença inflamatória intestinal durante a infância (16), incluindo a doença de Crohn e a colite ulcerosa (17).

A importância de uma colonização intestinal adequada do recém-nascido revelou-se essencial para prevenir doenças imuno-mediadas, como asma, doença inflamatória intestinal e diabetes tipo 1, mais tarde durante a adolescência e vida adulta (2, 95, 106).

Infeções do Trato Respiratório e Otite Média

Relativamente às infeções do trato respiratório, foram estudadas a relação entre a duração do A.M. e a incidência das mesmas.

Os lactentes amamentados com leite materno em exclusivo por mais de quatro meses têm um risco menor de hospitalização por infeções do trato respiratório inferior durante o primeiro ano de vida (14, 18). Comparativamente, os lactentes que foram alimentados com leite humano, em exclusivo, durante os primeiros seis meses de vida apresentaram uma menor incidência de infeções do trato respiratório inferior, incluindo pneumonia, e otite média recorrente do que aqueles que foram alimentados com A.M. exclusivo durante apenas quatro meses (19, 20). Estas diferenças entre o A.M. exclusivo por quatro meses e por seis meses vinculam a recomendação de que o lactente deve ser alimentado com leite materno em exclusivo por pelo menos seis meses (107-109).

Mais, a probabilidade de ocorrer uma doença respiratória em qualquer momento durante a infância, está significativamente reduzida se o lactente for amamentado com leite

materno em exclusivo por quinze semanas e não forem introduzidos outros alimentos durante este período (110).

O vírus sincial respiratório é a causa mais comum de infeções do trato respiratório inferior durante a infância, e a principal causa de hospitalização por bronquiolite e pneumonia (111, 112). O leite materno tem atividade antiviral direta contra o vírus, nomeadamente através da sIgA e da lactoferrina (113, 114), e demonstrou-se que diminui a ativação imunológica induzida pela infeção provocada pelo VSR (115). Os estudos afirmam que o A.M. diminui a severidade da infeção pelo VSR e o risco de insuficiência respiratória (111), e diminui o risco de hospitalizações por bronquiolite durante o primeiro ano de vida (116).

Qualquer grau de A.M. em comparação com alimentação exclusiva com fórmula de leite comercial está associado a uma redução da incidência de otite média, sendo esta diminuição do risco superior se o A.M. exclusivo for mantido por mais de três meses (14, 93). Verificou-se também que os lactentes alimentados com leite materno em exclusivo têm uma menor prevalência de otite média, pneumonia, bacteriemia e meningite durante o primeiro ano de vida que aqueles alimentados com fórmula de leite comercial durante os primeiros quatro meses de vida (12).

Observa-se uma diminuição do risco de rinofaringite, otite média aguda e infeções graves do trato respiratório inferior se o A.M. se mantiver como exclusivo pelos primeiros seis meses de vida do lactente. (93, 117)

Um estudo também revelou que qualquer quantidade de A.M. por três a quatro meses diminui o risco de desenvolver otite média até aos três anos de idade (118).

Infeções do Trato Urinário

Os oligossacarídeos presentes no leite materno protegem as células epiteliais da bexiga do recém-nascido da invasão por estirpes de *E. coli* uropatogénicas (UPEC) (119, 120). A *E. coli* é o agente microbiológico mais frequentemente identificado nas infeções do trato urinário (ITU) da infância (121).

Alguns estudos sugerem que os lactentes sob A.M. têm um risco significativamente menor de ITU enquanto ocorre o aleitamento (21, 122), comparativamente com aqueles alimentados com leite-não materno, sendo que este efeito protetor se mantém até aos dois anos de idade (123), e é ainda mais evidente nos lactentes pré-termo (124).

Doenças alérgicas

O surgimento de doenças alérgicas na infância é fortemente influenciado pelas primeiras exposições ambientais no início da vida (125, 126), pelo que é cada vez mais

consensual que o contacto com alergénios é necessário para promover o desenvolvimento de tolerância imunológica (39, 127).

Nas últimas décadas, a incidência de doenças atópicas como a asma, a dermatite atópica e as alergias alimentares têm aumentado dramaticamente, principalmente nos países ocidentais (127, 128). Embora estas doenças alérgicas tenham claramente uma base genética, fatores ambientais como a nutrição infantil no início de vida tem fortes implicações no risco de atopia, e explicam as variações na sua prevalência (23, 129).

O leite materno é rico em citocinas, como a IL-6, IL-10 e TGF- β (66), as quais estimulam a síntese de IgA, essencial na defesa das mucosas, ao impedir a penetração de alergénios e ao remover complexos imunes (42). Além disso o TGF- β tem funções imunossupressoras, e no seu conjunto acredita-se que são estas citocinas envolvidas nas reações alérgicas as responsáveis pelo efeito protetor do leite materno na prevenção de doenças atópicas (76, 80).

De facto, foi demonstrado que a associação entre A.M. exclusivo por três a quatro meses e a diminuição da incidência de doenças alérgicas, como asma, dermatite atópica, rinite alérgica e eczema (14, 23, 24).

Síndrome da morte súbita infantil (SIDS)

A SIDS é a uma síndrome rara de morte súbita de um lactente com menos de um ano de idade, de causa inexplicável, diagnóstico de exclusão (130), para a qual ao A.M. é atribuível como fator protetor (131).

Vários estudos foram realizados no sentido de determinar se o A.M. reduz especificamente o risco de SIDS (14, 130), e embora tendo os resultados sido controversos, estabeleceu-se o efeito protetor do leite materno contra SIDS (21, 132, 133). De facto, o A.M. está associado a uma diminuição do risco de morte pós-natal (134), de aproximadamente 50% do risco de SIDS durante toda a infância (130, 135), sendo este benefício mais evidente se o A.M. for exclusivo (136).

Leucemia

A leucemia é o cancro mais comum na infância(137, 138) , e inclui múltiplas doenças, nomeadamente os tipos leucemia linfocítica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia mieloide crónica (LMC) (14).

Embora a sua etiologia não esteja completamente esclarecida (139), e nem se saiba de que forma o leite materno é protetor, verifica-se que os lactentes com história de A.M. exibem uma menor incidência de leucemia infantil (18). Acredita-se que fatores relacionados com a estimulação precoce do S.I., como por exemplo a exposição a agentes infecciosos, nascimento por parto eutócico, exposição a animais na infância e o A.M., contribuem para a maturação do S.I. na infância e têm um papel protetor em algumas formas de leucemia, nomeadamente a LLA (25, 140).

A redução do risco correlaciona-se com a duração do aleitamento(18, 141), sendo que se este se mantiver por seis meses ou mais, ocorre uma redução de 20% no risco de LLA e de 15% no risco de LMA (26, 138).

Neuro desenvolvimento

Alguns ensaios analisaram a relação entre o A.M. e o desenvolvimento cognitivo dos lactentes, tendo os resultados sido discordantes, devido à existência de variáveis de confundimento, como o status socioeconómico (14, 142).

É no entanto de destacar o estudo realizado por Kramer *et al*, em 2008, que acompanhou, até cerca dos 6 anos e meio de idade, mais de 17000 lactentes alimentados com leite materno (143). Este foi o maior estudo randomizado publicado até à data sobre AM, tendo os resultados obtidos estabelecido evidências consistentes de que história de AM exclusivo por pelo menos três meses promove o desenvolvimento cognitivo, avaliado pelos resultados obtidos nos testes de QI e pelas classificações académicas aos 6,5 anos de idade das crianças (143).

Foram ainda demonstrados resultados muito significativos entre A.M. e o desenvolvimento cognitivo a longo-prazo em recém-nascidos prematuros (49, 144), particularmente ao nível do crescimento da matéria branca do cérebro (145).

A.M. e doenças autoimunes

Ao percebermos a correlação entre A.M. e o desenvolvimento de doenças autoimunes é importante compreender o conceito de *Imprinting metabólico*. De acordo com esta teoria, as exposições ambientais no início da vida, em particular a experiência nutricional precoce do lactente pode ter efeitos a longo prazo na sua suscetibilidade para desenvolver um amplo espectro de doenças durante a adolescência e vida adulta (146, 147). Vários estudos epidemiológicos demonstraram evidências de que as condições ambientais que experienciamos no início da vida influenciam profundamente a regulação do genoma (148, 149) e que existem mecanismos biológicos que memorizam os efeitos metabólicos das primeiras experiências nutricionais (150). O risco genético de desenvolver determinada doença é, à partida, inalterável, mas os fatores ambientais a que precocemente estamos expostos são variáveis e uma nutrição adequada é vital para assegurar um crescimento saudável e funcionamento eficiente do S.I. (151).

Assim, acredita-se que a composição do leite materno está envolvida no processo de programação metabólica dos primeiros anos de vida (30, 152), determinando um padrão metabólico na criança que influencia a sua predisposição para um conjunto de doenças crónicas na vida adulta, como a obesidade, doenças cardiovasculares, *diabetes mellitus*, artrite reumatoide e esclerose múltipla (30, 34, 146, 150, 151).

De facto, sabe-se que o leite materno exerce um efeito protetor contra doenças infecciosas na infância, tal como foi exposto no capítulo anterior, contudo o seu papel na patogénese de doenças crónicas de mediação imune, como as doenças autoimunes, é ainda pouco conhecido (153). No entanto, a crescente investigação sugere que existe uma grande sobreposição entre a dieta no início da vida e os mecanismos de autoimunidade (154), sendo essas evidências abordadas neste capítulo.

Doença Celíaca

A doença celíaca, também conhecida como enteropatia sensível ao glúten, caracteriza-se por uma intolerância permanente ao glúten, e embora a sua etiologia não seja completamente conhecida, trata-se de uma doença imunologicamente mediada, também dependente de fatores genéticos e ambientais (155, 156). É uma doença autoimune, crónica, multiorgânica (157) que ocorre em crianças com predisposição genética (158) quando é introduzida na sua dieta o glúten e proteínas semelhantes, presentes na farinha de trigo e de outros cereais (159, 160). A gliadina, o autoantígeno responsável por desencadear uma resposta específica de células T no intestino delgado (52), e a consequente reação imunológica.

O risco de desenvolver doença celíaca está significativamente reduzido nos lactentes que foram alimentados com leite materno no momento das primeiras exposições ao glúten (27), comparativamente com aqueles que não estiveram sob A.M. em nenhum período (28).

De facto, estar a ser alimentado com leite materno no momento da introdução do glúten na dieta parece ser o fator protetor, e não a idade do lactente aquando da exposição (159, 161).

Diabetes *mellitus* tipo 1

A DM tipo 1 é uma doença inflamatória mediada imunologicamente (2, 21), na qual há destruição autoimune das células B pancreáticas, secretoras de insulina (162, 163). A etiologia do processo autoimune que desencadeia a doença ainda não está totalmente esclarecida, mas está estabelecido que existe uma predisposição genética assim como exposição a fatores ambientais desencadeantes (163, 164).

O A.M. confere proteção contra o surgimento da DM tipo 1, presumivelmente, por pelo menos dois mecanismos: o aumento da proliferação das células B pancreáticas verificado nos lactentes alimentados com leite materno (14) e a presença de sIgA no leite materno, que tem a capacidade de prevenir estados pró-inflamatórios, ao diminuir a ativação de citocinas pró-inflamatórias, por exemplo (21).

Além disso, a exposição precoce ao leite de vaca pode determinar um importante risco de DM tipo 1, uma vez que o leite de vaca contém proteínas como a α -lactalbumina, β -lactalbumina e a albumina sérica bovina, que podem funcionar como alérgenos (165). De facto, o leite de vaca é um alimento altamente alérgico (166), tendo sido estudado as reações autoimunes provocadas pela introdução destas proteínas na dieta do lactente. Nomeadamente, a albumina bovina sérica é uma proteína que apresenta semelhanças com outra proteína presente na superfície das células B pancreáticas (167). Ao ser introduzida precocemente na dieta do lactente, a albumina bovina sérica induz uma reação imunológica, sendo produzidos anticorpos contra esta, que reagem de maneira cruzada com a referida proteína humana da superfície das células B pancreáticas, levando à sua destruição (168).

Os lactentes alimentados com leite materno exclusivamente por pelo menos três meses apresentam uma diminuição de até 30% nas taxas de incidência de DM tipo 1 (31). Outros estudos revelaram que o A.M. por cinco meses ou mais é um fator protetor contra o aparecimento da doença, e que portanto a prevenção da exposição a outros tipos de leite, em parte, explica a diminuição do risco de diabetes nesses lactentes (162, 168).

Diabetes *mellitus* tipo 2

A DM tipo 2 inicia-se quando o corpo desenvolve resistência à ação da insulina e não consegue utilizar apropriadamente (14). É reconhecido o impacto da nutrição pós-natal e durante a infância a longo prazo, comprovado pelo facto de que crianças e adultos que foram alimentados com leite materno têm menor prevalência de DM tipo 2 e de excesso de peso e

obesidade (169, 170). Estes resultados são atribuídos aos muitos componentes do leite materno já referidos, nomeadamente leptina, grelina e IGF (21) , que afetam a regulação do apetite e do metabolismo (162) , Verifica-se assim uma diminuição das concentrações de glicose e de insulina séricas nos lactentes sob A.M., comparativamente com os mantidos com fórmulas de leite comerciais (32, 169).

Foi relatada uma redução de até 40% na incidência de DM tipo 2 em lactentes alimentados com leite materno (32), e confirmado o seu efeito protetor contra o aparecimento de ambos os tipos da doença (18, 24, 133). Este efeito é proporcional à duração do A.M. (171) e a ausência de A.M. é um possível fator de risco modificável para a D.M. tipo 1 e 2 (162, 172).

Obesidade e Doenças Cardiovasculares

Nas últimas décadas a prevalência de obesidade continua a aumentar a um ritmo alarmante em todo o mundo (146).

A relação entre o tipo de alimentação pós-natal, leite humano versus formula artificial e amamentar ao peito versus biberon foi estudada, tendo sido demonstrado que os lactentes alimentados com fórmulas comerciais de leite tinham maior ganho de peso e de comprimento comparativamente com aqueles sob A.M. (14, 173). Estas diferenças podem ser explicadas pelos níveis circulantes de hormonas, como a leptina, grelina e IGF, que estão envolvidos no metabolismo energético, e cujas concentrações são influenciadas pelo tipo de dieta do lactente (86, 174). Outra diferença importante reside no facto de que os lactentes amamentados ao peito têm um maior grau de controlo sobre a quantidade de leite ingerido e o intervalo entre as refeições (88, 175, 176).

O A.M. tem um efeito protetor contra a obesidade na infância e na vida adulta (21, 29), sendo estimada uma redução de 15 a 30% nas taxas de obesidade em adolescentes e adultos alimentados com leite materno, comparativamente com aqueles sem qualquer história de A.M. (14, 177). A duração do A.M. é importante, estimando-se que por cada mês sob leite materno em exclusivo existe uma redução de cerca de 4% no risco de ter excesso de peso durante a infância (18, 29). De facto, história de A.M. na infância está inversamente relacionado com o IMC e positivamente associado com a concentração de colesterol HDL, na idade adulta (174), sendo este efeito protetor dose-dependente (21, 178).

A obesidade, a hipertensão arterial, as dislipidémias e a diabetes são fatores de risco bem estabelecidos e modificáveis para doenças cardiovasculares (14, 150). Embora ainda sujeito a maior investigação, os efeitos do leite materno sobre o colesterol HDL e na redução do risco de diabetes *mellitus* tipos 1 e 2, acima referidos, assim como na diminuição da pressão sanguínea na idade adulta (179) influenciam o perfil metabólico e presumivelmente determinam um menor risco cardiovascular mais tarde na vida (30, 180).

Esclerose Múltipla e Neuromielite Ótica

A esclerose múltipla é uma doença neurodegenerativa, progressiva, provocada por uma resposta autoimune associada a fatores de suscetibilidade genéticos e ambientais (34, 181).

Embora a sua etiologia seja multifatorial e ainda não completamente conhecida, tem-se estabelecido que o tipo de dieta está associado ao processo inflamatório subjacente (182, 183).

A suscetibilidade genética explica os *clusters* de casos de EM numa mesma família (184), mas a exposição ambiental e associada ao estilo de vida parece ter um impacto predominante (185). De entre os fatores de risco potenciais, a infecção pelo vírus *Epstein-Barr* parece ser um importante *trigger* da doença (186), a par de outros modificáveis como a obesidade infantil e o tabagismo (184).

Sendo a EM desencadeada por fatores ambientais em indivíduos com complexos perfis genéticos de risco (187), as últimas investigações sugerem que o A.M. parece exercer um efeito protetor no surgimento da doença (34, 35).

A Neuromielite Ótica é também uma doença inflamatória do SNC de caráter autoimune (188). Antecedentes pessoais de A.M. na infância estão associados a uma menor probabilidade de desenvolver esta doença (189).

Em ambas as patologias, é necessária uma maior investigação para obter evidências mais fortes acerca do efeito protetor do leite materno.

Artrite Reumatoide

A artrite reumatoide é uma doença inflamatória crónica, multissistémica, autoimune, em cuja etiologia participam fatores de risco genéticos e ambientais (33, 190). A presença de autoanticorpos, como o fator reumatoide (151), ajuda a estabelecer o diagnóstico, e estes podem surgir vários anos antes do início da doença clinicamente evidente (191).

Apesar de ter uma complexa componente genética, apenas foi identificado um gene que claramente está envolvido na patogénese da doença (192). A investigação tem procurado determinar o papel dos eventos de exposição ambiental no início da vida, tendo sido estabelecida uma forte associação entre o elevado peso ao nascer e tabagismo materno durante a gravidez, como fatores de risco para o surgimento da doença (193, 194).

Quanto ao papel do A.M., não foi estabelecida nenhuma associação entre a duração do A.M. exclusivo ou o momento da introdução de outros alimentos, dois fatores que influenciavam o risco de outras doenças autoimunes durante a infância, como a doença celíaca e a diabetes. Os estudos sugerem um efeito positivo do A.M. na artrite reumatoide (21, 24, 33, 191), devendo-se às características imuno-modeladores do leite humano, que facultam IgA em grandes quantidades e a capacidade de tolerância antigénica (151).

Os efeitos do A.M. na mulher que amamenta

O epitélio da glândula mamária sofre muitas alterações morfo-genéticas durante o tempo de vida de um mamífero fêmea (195). O crescimento da glândula mamária é estimulado pela hormona do crescimento e pela prolactina, esteroides adrenocorticais, estrogénios e progesterona, e a redistribuição dos nutrientes para a glândula mamária a partir dos sítios de armazenamento corporais é também regulada por hormonas (196).

A glândula mamária é composta por grupos de alvéolos, células secretoras de glândulas, dispostas em círculos em volta de ductos, estando os alvéolos rodeados por células mioepiteliais que contraem para expulsar o leite através do sistema de ductos até ao poro mamilar (197). A lactação baseia-se na ocorrência de dois reflexos em simultâneo, o reflexo da secreção do leite, promovido pela prolactina e o reflexo de ejeção de leite. O primeiro deve-se à ação da prolactina que atua nos alvéolos da glândula mamária para produzirem leite, e o segundo ocorre com a sucção do lactente na mama, que leva, sob a ação da oxitocina, as células mioepiteliais a contraírem (117).

O termo lactogénese refere-se ao início da secreção de leite e inclui todas as mudanças necessárias da glândula mamária indiferenciada no início da gravidez para a lactação completa após o parto (198). Pode-se dividir em duas fases:

A fase 1 ocorre normalmente a meio da gravidez, quando a glândula mamária se torna suficientemente diferenciada para secretar pequenas quantidades de componentes específicos do leite, como a caseína, a lactose e a α -lactalbumina (198). Após esta fase a glândula encontra-se suficientemente diferenciada para secretar leite e a fase II corresponde ao início da secreção copiosa de leite durante os primeiros quatro dias pós-parto (199). A diminuição aguda dos níveis de progesterona no plasma é responsável pelo seu início e durante esta fase a composição e o volume do leite materno vão sofrendo alterações (200).

Esta transformação requer a modificação de vários processos, nomeadamente alterações na permeabilidade da via paracelular entre as células epiteliais, e na secreção de substâncias protetoras como as Igs, lactoferrina e hidratos de carbono complexos, assim como um aumento de secreção de todos os componentes do leite (198).

A glândula mamária durante o aleitamento faz parte de um sistema integrado de tecidos com funções imunológicas, o MALT, *mucosa-associated lymphoid tissue*, da qual fazem parte também, o intestino, os pulmões e as glândulas lacrimais e salivares (38, 75). Através deste, a glândula mamária age como uma extensão do tecido linfoide associado ao intestino, GALT, *gut-associated lymphoid tissue*, e aos brônquios, *broncho-associated lymphoid tissue*, de tal modo que os anticorpos presentes no leite materno refletem a estimulação antigénica do MALT presente no trato gastro-intestinal e nas vias aéreas (201).

De facto, demonstrou-se que a sIgA presente no leite materno exibe especificidade para um conjunto de patogéneos intestinais e respiratórios presentes no ambiente materno, e que provavelmente seriam aqueles apresentados ao lactente durante as suas primeiras semanas de vida (74, 75).

Como já foi referido, o leite materno supre uma ampla gama de componentes imunológicos, tais como anticorpos, fatores de crescimento, citocinas e células imunológicas específicas, protegendo o recém-nascido do risco de infeções durante o período pós-natal, em que o seu S.I. é ainda imaturo (52, 202). Os fatores presentes no leite que estimulam a maturação ativa do S.I. das mucosas do lactente também podem reduzir a incidência de doenças autoimunes, presumivelmente por ativarem os mecanismos de tolerância oral e pelos seus efeitos anti-inflamatórios em resposta a estímulos no trato gastro-intestinal do recém-nascido (52).

O efeito protetor do A.M. na saúde da mulher ainda está a ser estudado, mas cada vez mais se têm demonstrado os benefícios a curto e a longo prazo da sua prática para as mulheres que o fazem.

O A.M. promove a perda de peso pós-parto, a amenorreia lactacional, uma involução uterina mais rápida e a diminuição da hemorragia pós-parto (14, 179)

Foi demonstrada uma associação entre história de A.M. exclusivo e prolongado e diminuição de incidência de doenças cardiovasculares em mulheres na pós-menopausa, assim como reduções nos índices de HTA, hiperlipidémia, e diabetes mellitus tipo 2 e menor prevalência de síndrome metabólico (203). Não foi demonstrado o efeito benéfico do A.M. no risco de diabetes mellitus tipo 2 relativamente às mulheres diagnosticadas com diabetes gestacional. Verificou-se que quanto maior o número de gestações a termo maiores índices de síndrome metabólico e história de A.M. está associada a uma menor prevalência deste síndrome nessas mulheres (204).

Em mulheres com passado de aleitamento superior a doze meses verifica-se uma redução de cerca de 28% no risco de cancro da mama e do ovário (14, 18), sendo que por cada ano de A.M. calcula-se que ocorra uma diminuição de 4,3% no cancro da mama, principalmente na pré-menopausa (205).

Alguns estudos demonstram ainda que a prática de A.M. protege contra a perda de massa óssea (206), e que portanto está associada a uma diminuição do risco de osteoporose no período pós-menopausa (207).

Sabe-se que fatores hormonais e reprodutivos estão implicados na etiologia da artrite reumatoide (208), e foi estudada a relação inversa entre a duração prolongada do A.M. e o surgimento de artrite reumatoide na mulher (209). Alguns estudos apontam para um efeito dose-dependente, em que a permanência de A.M. por pelo menos doze meses, traduz-se numa diminuição significativa no risco de desenvolver a doença (210, 211).

Conclusão

Depois de realizada esta revisão sobre a relação entre o AM e Imunidade, as evidências científicas são perentórias relativamente aos mecanismos protetores do A.M., e os seus efeitos benéficos a curto e a longo prazo na saúde do lactente e da mulher que amamenta. De facto, é inegável que o leite materno, com a sua composição nutricional e imunológica tão complexa, tem em si um potencial enorme de promoção do crescimento e de defesa para o SI imaturo do recém-nascido.

O leite materno adapta-se às necessidades de cada lactente, a sua composição é distinta entre as diferentes mulheres que amamentam, e não consegue ser mimetizada em nenhuma fórmula artificial. Sendo único e impossível de substituir, o leite materno tem sido objeto de análise de muitas investigações desde há décadas atrás, tendo-se comprovado o seu papel protetor, nomeadamente em muitas doenças infecciosas durante a infância e doenças crónicas de mediação imune. No entanto, há ainda muitos aspetos a determinar, como fatores imunológicos por descobrir e associações a estabelecer entre muitos fatores e os mecanismos de defesa pelos quais conferem proteção contra a infeção e inflamação.

Assim, no futuro e sendo-lhe dedicado mais estudos, será possível determinar novos potenciais do AM na epidemiologia das doenças. Esse conhecimento poderá ser decisivo em termos de saúde pública, para a diminuição da incidência e da prevalência de doenças crónicas, potencialmente modificáveis pelo tipo de nutrição no início de vida.

Bibliografia

1. Lawrence RA, Lawrence RM. Breastfeeding: A Guide for the Medical Professional. 7 th ed. Maryland Heights, Missouri: Elsevier - Mosby; 2011. p. 98-101.
2. Walker WA, Iyengar RS. Breast milk, microbiota, and intestinal immune homeostasis. *Pediatr Res.* 772015. p. 220-8.
3. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics.* 2012;129(3):e827-41.
4. Li R, Dee D, Li CM, Hoffman HJ, Grummer-Strawn LM. Breastfeeding and risk of infections at 6 years. *Pediatrics.* 2014;134 Suppl 1:S13-20.
5. Lawrence RA. Breastfeeding triumphs. *Birth.* 2012;39(4):311-4.
6. Nutrition for healthy term infants: recommendations from birth to six months. *Can J Diet Pract Res.* 2012;73(4):204.
7. Pacheco AR, Barile D, Underwood MA, Mills DA. The Impact of the Milk Glycobiome on the Neonate Gut Microbiota. *Annu Rev Anim Biosci.* 2014.
8. Mannel R, Martens PJ, Walker M. Core curriculum for lactation consultant practice / International Lactation Consultant Association. 2nd ed. Sudbury, Massachusetts, United States of America: Jones and Bartlett Publishers International Lactation Consultant Association; 2008.
9. Walker M. Breastfeeding management for the clinician: using the evidence. Sudbury, Massachusetts, United States of America: Jones and Bartlett Publishers; 2006.
10. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60(1):49-74.
11. Goldman AS. The immune system in human milk and the developing infant. *Breastfeed Med.* 2007;2(4):195-204.
12. Kliegman RM, Nelson WE. Nelson Textbook of Pediatrics. 18 th ed. Philadelphia, United States of America: Saunders Elsevier; 2007.
13. Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Jiang X, Guerrero ML, Meinzen-Derr JK, et al. Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants. *J Pediatr.* 2004;145(3):297-303.
14. Ip S, Chung M, Raman G, Chew P, Magula N, DeVine D, et al. Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep).* 2007(153):1-186.
15. Bertino E, Peila C, Giuliani F, Martano C, Cresi F, Di Nicola P, et al. Metabolism and biological functions of human milk oligosaccharides. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2012;26(3 Suppl):35-8.
16. Barclay AR, Russell RK, Wilson ML, Gilmour WH, Satsangi J, Wilson DC. Systematic review: the role of breastfeeding in the development of pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr.* 2009;155(3):421-6.

17. Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*. 2008;453(7195):620-5.
18. Ip S, Chung M, Raman G, Trikalinos TA, Lau J. A summary of the Agency for Healthcare Research and Quality's evidence report on breastfeeding in developed countries. *Breastfeed Med*. 2009;4 Suppl 1:S17-30.
19. Quigley MA, Kelly YJ, Sacker A. Breastfeeding and hospitalization for diarrheal and respiratory infection in the United Kingdom Millennium Cohort Study. *Pediatrics*. 2007;119(4):e837-42.
20. Chantry CJ, Howard CR, Auinger P. Full breastfeeding duration and associated decrease in respiratory tract infection in US children. *Pediatrics*. 2006;117(2):425-32.
21. Hanson LA. Session 1: Feeding and infant development breast-feeding and immune function. *Proc Nutr Soc*. 2007;66(3):384-96.
22. Moon RY, Fu L. Sudden infant death syndrome: an update. *Pediatr Rev*. 33. United States 2012. p. 314-20.
23. Greer FR, Sicherer SH, Burks AW. Effects of early nutritional interventions on the development of atopic disease in infants and children: the role of maternal dietary restriction, breastfeeding, timing of introduction of complementary foods, and hydrolyzed formulas. *Pediatrics*. 2008;121(1):183-91.
24. Plagens-Rotman K, Kubiak S, Pieta B, Wszolek K, Iwanowicz-Palus G, Opala T. Maternal awareness on natural feeding. *Ann Agric Environ Med*. 2014;21(2):440-4.
25. Ajrouche R, Rudant J, Orsi L, Petit A, Baruchel A, Lambilliotte A, et al. Childhood acute lymphoblastic leukaemia and indicators of early immune stimulation: the Estelle study (SFCE). *Br J Cancer* 2015.
26. Kwan ML, Buffler PA, Abrams B, Kiley VA. Breastfeeding and the risk of childhood leukemia: a meta-analysis. *Public Health Rep*. 119. United States 2004. p. 521-35.
27. Selimoglu MA, Karabiber H. Celiac disease: prevention and treatment. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44(1):4-8.
28. Akobeng AK, Heller RF. Assessing the population impact of low rates of breast feeding on asthma, coeliac disease and obesity: the use of a new statistical method. *Arch Dis Child*. 2007;92(6):483-5.
29. Metzger MW, McDade TW. Breastfeeding as obesity prevention in the United States: a sibling difference model. *Am J Hum Biol*. 2010;22(3):291-6.
30. Guilloteau P, Zabielski R, Hammon HM, Metges CC. Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60 Suppl 3:17-35.
31. Rosenbauer J, Herzig P, Giani G. Early infant feeding and risk of type 1 diabetes mellitus-a nationwide population-based case-control study in preschool children. *Diabetes Metab Res Rev*. 2008;24(3):211-22.
32. Das UN. Breastfeeding prevents type 2 diabetes mellitus: but, how and why? *Am J Clin Nutr*. 85. United States 2007. p. 1436-7.

33. Jacobsson LT, Jacobsson ME, Askling J, Knowler WC. Perinatal characteristics and risk of rheumatoid arthritis. *BMJ*. 326. England2003. p. 1068-9.
34. Conradi S, Malzahn U, Paul F, Quill S, Harms L, Then Bergh F, et al. Breastfeeding is associated with lower risk for multiple sclerosis. *Mult Scler*. 19. England2013. p. 553-8.
35. Golding J, Emmett PM, Rogers IS. Does breast feeding have any impact on non-infectious, non-allergic disorders? *Early Hum Dev*. 1997;49 Suppl:S131-42.
36. Hay WWJ, Levin MJ, Sondheimer JM, Deterding RR. *Current Pediatric Diagnosis & Treatment*. 18 th ed. United States of America: The McGraw-Hill Companies; 2007.
37. Kvell K, Cooper EL, Engelmann P, Bovari J, Nemeth P. Blurring borders: innate immunity with adaptive features. *Clin Dev Immunol*. 2007;2007:83671.
38. Goldsby RA, Osborne BA, Kindt TJ. *Kuby Immunology*. 6 th ed. New York, United States of America: W.H. Freeman and Company; 2007.
39. Prescott S, Nowak-Wegrzyn A. Strategies to prevent or reduce allergic disease. *Ann Nutr Metab*. 2011;59 Suppl 1:28-42.
40. Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology*. 9 th ed. London: Blackwell Science; 1997.
41. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia Básica. Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico*. 4 th ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda.; 2014.
42. Vieira T, Leblanc A, Santos N, Costa JT. *Imunodeficiências primárias [da suspeita clínica ao tratamento]*. Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar de São João, EPE, Porto2013.
43. Arosa FA, Cardoso EM, Pacheco FC. *Fundamentos de Imunologia*. Porto: Lidel - edições técnicas, lda; 2007.
44. Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder Jr HW. *Clinical Immunology. Principles and Practice*. 2 nd ed. Bromage M, editor. England: Mosby International Limited; 2001.
45. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. *Immunobiology. The Immune System in Health and Disease*. 5 th ed. New York: Garland Publishing; 2001.
46. Clancy Jr J. *Basic Concepts in Immunology: a Student's Survival Guide*. 1 st ed. Gilbert HF, editor. United States of America: The McGraw-Hill Companies; 1998.
47. Lawrence RM, Pane CA. Human breast milk: current concepts of immunology and infectious diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2007;37(1):7-36.
48. Bertino E, Arslanoglu S, Martano C, Di Nicola P, Giuliani F, Peila C, et al. Biological, nutritional and clinical aspects of feeding preterm infants with human milk. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2012;26(3 Suppl):9-13.
49. Bhatia J. Human milk and the premature infant. *Ann Nutr Metab*. 2013;62 Suppl 3:8-14.
50. Sousa SG, Delgadillo I, Saraiva JA. *Human Milk Composition and Preservation: Evaluation of High-Pressure Processing as a Non-Thermal Pasteurisation Technology*. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2014:0.

51. Gregory KE, Walker WA. Immunologic Factors in Human Milk and Disease Prevention in the Preterm Infant. *Curr Pediatr Rep.* 2013;1(4).
52. Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *J Pediatr.* 2010;156(2 Suppl):S3-7.
53. Ustundag B, Yilmaz E, Dogan Y, Akarsu S, Canatan H, Halifeoglu I, 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;2005(6):331-6.
54. Jacobi SK, Odle J. Nutritional factors influencing intestinal health of the neonate. *Adv Nutr.* 2012;3(5):687-96.
55. Hassiotou F, Hartmann PE. At the dawn of a new discovery: the potential of breast milk stem cells. *Adv Nutr.* 2014;5(6):770-8.
56. Kobata R, Tsukahara H, Ohshima Y, Ohta N, Tokuriki S, Tamura S, et al. High levels of growth factors in human breast milk. *Early Hum Dev.* 2008;84(1):67-9.
57. Tackoen M. [Breast milk: its nutritional composition and functional properties]. *Rev Med Brux.* 2012;33(4):309-17.
58. Rautava S, Walker WA. Academy of Breastfeeding Medicine founder's lecture 2008: breastfeeding--an extrauterine link between mother and child. *Breastfeed Med.* 2009;4(1):3-10.
59. Castellote C, Casillas R, Ramirez-Santana C, Perez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG, et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *J Nutr.* 2011;141(6):1181-7.
60. Yang T, Zhang Y, Ning Y, You L, Ma D, Zheng Y, et al. Breast milk macronutrient composition and the associated factors in urban Chinese mothers. *Chin Med J (Engl).* 2014;127(9):1721-5.
61. Lonnerdal B. Human milk proteins: key components for the biological activity of human milk. *Adv Exp Med Biol.* 2004;554:11-25.
62. Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. *Ata Paediatr.* 94. Norway2005. p. 1176-81.
63. Walker WA. Initial intestinal colonization in the human infant and immune homeostasis. *Ann Nutr Metab.* 2013;63 Suppl 2:8-15.
64. Chichlowski M, De Lartigue G, German JB, Raybould HE, Mills DA. Bifidobacteria isolated from infants and cultured on human milk oligosaccharides affect intestinal epithelial function. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;55(3):321-7.
65. Lis J, Orczyk-Pawilowicz M, Katnik-Prastowska I. [Proteins of human milk involved in immunological processes]. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2013;67:529-47.
66. Marek A, Zagierski M, Liberek A, Aleksandrowicz E, Korzon M, Krzykowski G, et al. TGF-beta(1), IL-10 and IL-4 in colostrum of allergic and nonallergic mothers. *Ata Biochim Pol.* 2009;56(3):411-4.
67. Civardi E, Garofoli F, Mazzucchelli I, Angelini M, Manzoni P, Stronati M. Enteral nutrition and infections: the role of human milk. *Early Hum Dev.* 2014;90 Suppl 1:S57-9.

68. Lawrence R, Lawrence R. Breastfeeding: A Guide for the Medical Professional. 6 th ed. Maryland Heights, Missouri, United States of America: Elsevier - Mosby; 2005. 1128 p.
69. Oddy WH. Breastfeeding protects against illness and infection in infants and children: a review of the evidence. *Breastfeed Rev.* 2001;9(2):11-8.
70. Jarvinen KM, Suomalainen H. Leucocytes in human milk and lymphocyte subsets in cow's milk-allergic infants. *Pediatr Allergy Immunol.* 2002;13(4):243-54.
71. Chirico G, Marzollo R, Cortinovis S, Fonte C, Gasparoni A. Antiinfective properties of human milk. *J Nutr.* 2008;138(9):1801s-6s.
72. Peroni DG, Chirumbolo S, Veneri D, Piacentini GL, Tenero L, Vella A, et al. Colostrum-derived B and T cells as an extralymphoid compartment of effector cell populations in humans. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013;26(2):137-42.
73. Goldman AS, Chheda S, Garofalo R, Schmalstieg FC. Cytokines in human milk: properties and potential effects upon the mammary gland and the neonate. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 1996;1(3):251-8.
74. Brandtzaeg P. The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *J Pediatr.* 156. United States: 2010 Mosby, Inc; 2010. p. S8-15.
75. Carvalho MRd. Amamentação: bases científicas. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
76. Bottcher MF, Jenmalm MC, Garofalo RP, Bjorksten B. Cytokines in breast milk from allergic and nonallergic mothers. *Pediatr Res.* 2000;47(1):157-62.
77. Fernandez L, Langa S, Martin V, Maldonado A, Jimenez E, Martin R, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res.* 2013;69(1):1-10.
78. Reeves AA, Johnson MC, Vasquez MM, Maheshwari A, Blanco CL. TGF-beta2, a protective intestinal cytokine, is abundant in maternal human milk and human-derived fortifiers but not in donor human milk. *Breastfeed Med.* 2013;8(6):496-502.
79. Garofalo R. Cytokines in human milk. *J Pediatr.* 2010;156(2 Suppl):S36-40.
80. Oddy WH, Halonen M, Martinez FD, Lohman IC, Stern DA, Kurzius-Spencer M, et al. TGF-beta in human milk is associated with wheeze in infancy. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112(4):723-8.
81. Field CJ. The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J Nutr.* 2005;135(1):1-4.
82. Kverka M, Burianova J, Lodinova-Zadnikova R, Kocourkova I, Cinova J, Tuckova L, et al. Cytokine profiling in human colostrum and milk by protein array. *Clin Chem.* 2007;53(5):955-62.
83. Penttila IA. Milk-derived transforming growth factor-beta and the infant immune response. *J Pediatr.* 2010;156(2 Suppl):S21-5.
84. Newburg DS, Woo JG, Morrow AL. Characteristics and potential functions of human milk adiponectin. *J Pediatr.* 2010;156(2 Suppl):S41-6.

85. Underwood MA. Human milk for the premature infant. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60(1):189-207.
86. Fields DA, Demerath EW. Relationship of insulin, glucose, leptin, IL-6 and TNF-alpha in human breast milk with infant growth and body composition. *Pediatr Obes.* 2012;7(4):304-12.
87. Buts JP. -Bioactive factors in milk. *Arch Pediatr.* 1998;5(3):298-306.
88. Savino F, Lupica MM. [Breast milk: biological constituents for health and well-being in infancy]. *Recenti Prog Med.* 2006;97(10):519-27.
89. Liu B, Yu Z, Chen C, Kling DE, Newburg DS. Human milk mucin 1 and mucin 4 inhibit *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion of human intestinal epithelial cells in vitro. *J Nutr.* 142. United States 2012. p. 1504-9.
90. Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Jiang X, Newburg DS. Human-milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast-feeding infants against infectious diarrhea. *J Nutr.* 2005;135(5):1304-7.
91. Ball TM, Wright AL. Health care costs of formula-feeding in the first year of life. *Pediatrics.* 1999;103(4 Pt 2):870-6.
92. Verhasselt V, Milcent V, Cazareth J, Kanda A, Fleury S, Dombrowicz D, et al. Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma. *Nat Med.* 2008;14(2):170-5.
93. Duijts L, Jaddoe VW, Hofman A, Moll HA. Prolonged and exclusive breastfeeding reduces the risk of infectious diseases in infancy. *Pediatrics.* 2010;126(1):e18-25.
94. Newburg DS, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Chaturvedi P, Meinzen-Derr J, Guerrero Mde L, et al. Innate protection conferred by fucosylated oligosaccharides of human milk against diarrhea in breastfed infants. *Glycobiology.* 2004;14(3):253-63.
95. Weng M, Walker WA. The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. *J Dev Orig Health Dis.* 2013;4(3):203-14.
96. Caicedo RA, Schanler RJ, Li N, Neu J. The developing intestinal ecosystem: implications for the neonate. *Pediatr Res.* 2005;58(4):625-8.
97. Newburg DS, Peterson JA, Ruiz-Palacios GM, Matson DO, Morrow AL, Shults J, et al. Role of human-milk lactadherin in protection against symptomatic rotavirus infection. *Lancet.* 1998;351(9110):1160-4.
98. Ruvoen-Clouet N, Mas E, Marionneau S, Guillon P, Lombardo D, Le Pendu J. Bile-salt-stimulated lipase and mucins from milk of 'secretor' mothers inhibit the binding of Norwalk virus capsids to their carbohydrate ligands. *Biochem J.* 393. England 2006. p. 627-34.
99. Jantscher-Krenn E, Lauwaet T, Bliss LA, Reed SL, Gillin FD, Bode L. Human milk oligosaccharides reduce *Entamoeba histolytica* attachment and cytotoxicity in vitro. *Br J Nutr.* 2012;108(10):1839-46.
100. Smith DF, Prieto PA, McCrumb DK, Wang WC. A novel sialylfucopentaose in human milk. Presence of this oligosaccharide is not dependent on expression of the secretor or Lewis fucosyltransferases. *J Biol Chem.* 1987;262(25):12040-7.

101. .
102. Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium "The Intelligent Intestine," held in Paris, June 14, 2002. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(4):675-83.
103. AlFaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;4:Cd005496.
104. Noerr B. Current controversies in the understanding of necrotizing enterocolitis. Part 1. *Adv Neonatal Care.* 2003;3(3):107-20.
105. Furman L, Taylor G, Minich N, Hack M. The effect of maternal milk on neonatal morbidity of very low-birth-weight infants. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2003;157(1):66-71.
106. Isolauri E. Development of healthy gut microbiota early in life. *J Paediatr Child Health.* 2012;48 Suppl 3:1-6.
107. Kramer MS, Kakuma R. Optimal duration of exclusive breastfeeding. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;8:Cd003517.
108. Krawinkel MB. Benefits from longer breastfeeding: do we need to revise the recommendations? *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* 2011;41(9):240-3.
109. McGuire S. Institute of Medicine (IOM) Early Childhood Obesity Prevention Policies. Washington, DC: The National Academies Press; 2011. *Adv Nutr.* 2012;3(1):56-7.
110. Wilson AC, Forsyth JS, Greene SA, Irvine L, Hau C, Howie PW. Relation of infant diet to childhood health: seven year follow up of cohort of children in Dundee infant feeding study. *Bmj.* 1998;316(7124):21-5.
111. Nishimura T, Suzue J, Kaji H. Breastfeeding reduces the severity of respiratory syncytial virus infection among young infants: a multicenter prospective study. *Pediatr Int.* 2009;51(6):812-6.
112. Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2010;375(9725):1545-55.
113. van der Strate BW, Beljaars L, Molema G, Harmsen MC, Meijer DK. Antiviral activities of lactoferrin. *Antiviral Res.* 2001;52(3):225-39.
114. Tsutsumi H, Honjo T, Nagai K, Chiba Y, Chiba S, Tsugawa S. Immunoglobulin A antibody response to respiratory syncytial virus structural proteins in colostrum and milk. *J Clin Microbiol.* 1989;27(9):1949-51.
115. Roine I, Fernandez JA, Vasquez A, Caneo M. Breastfeeding reduces immune activation in primary respiratory syncytial virus infection. *Eur Cytokine Netw.* 2005;16(3):206-10.
116. Lanari M, Prinelli F, Adorni F, Di Santo S, Faldella G, Silvestri M, et al. Maternal milk protects infants against bronchiolitis during the first year of life. Results from an Italian cohort of newborns. *Early Hum Dev.* 2013;89 Suppl 1:S51-7.
117. Hoekelman RA, Adam HM, Nelson NM, Weitzman ML, Wilson MH. *Primary Pediatric Care.* 4th ed: Mosby; 2001. 2199 p.

118. Saarinen UM. Prolonged breast feeding as prophylaxis for recurrent otitis media. *Ata Paediatr Scand.* 1982;71(4):567-71.
119. Phillips R. Paediatric urology: the milky way to prevent neonatal bladder infection. *Nat Rev Urol.* 2013;10(11):617.
120. Lin AE, Autran CA, Espanola SD, Bode L, Nizet V. Human milk oligosaccharides protect bladder epithelial cells against uropathogenic *Escherichia coli* invasion and cytotoxicity. *J Infect Dis.* 2014;209(3):389-98.
121. Park HK, Jung YJ, Chae HC, Shin YJ, Woo SY, Park HS, et al. Comparison of *Escherichia coli* uropathogenic genes (*kps*, *usp* and *ireA*) and enteroaggregative genes (*aggR* and *aap*) via multiplex polymerase chain reaction from suprapubic urine specimens of young children with fever. *Scand J Urol Nephrol.* 2009;43(1):51-7.
122. Loland BF, Baerug AB, Nylander G. [Human milk, immune responses and health effects]. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2007;127(18):2395-8.
123. Marild S, Hansson S, Jodal U, Oden A, Svedberg K. Protective effect of breastfeeding against urinary tract infection. *Ata Paediatr.* 2004;93(2):164-8.
124. Levy I, Comarsca J, Davidovits M, Klinger G, Sirota L, Linder N. Urinary tract infection in preterm infants: the protective role of breastfeeding. *Pediatr Nephrol.* 2009;24(3):527-31.
125. Wegienka G, Zoratti E, Johnson CC. The role of the early-life environment in the development of allergic disease. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2015;35(1):1-17.
126. van't Land B, Schijf MA, Martin R, Garssen J, van Bleek GM. Influencing mucosal homeostasis and immune responsiveness: the impact of nutrition and pharmaceuticals. *Eur J Pharmacol.* 2011;668 Suppl 1:S101-7.
127. Haahtela T, von Hertzen L, Makela M, Hannuksela M. Finnish Allergy Programme 2008-2018--time to act and change the course. *Allergy.* 2008;63(6):634-45.
128. Passariello A, Terrin G, Baldassarre ME, Bisceglia M, Ruotolo S, Berni Canani R. Adherence to recommendations for primary prevention of atopic disease in neonatology clinical practice. *Pediatr Allergy Immunol.* 21. England2010. p. 889-91.
129. Misak Z. Infant nutrition and allergy. *Proc Nutr Soc.* 2011;70(4):465-71.
130. McVea KL, Turner PD, Pepler DK. The role of breastfeeding in sudden infant death syndrome. *J Hum Lact.* 2000;16(1):13-20.
131. Mitchell EA, Krous HF. Sudden unexpected death in infancy: A historical perspective. *J Paediatr Child Health.* 2015;51(1):108-12.
132. Moon RY. SIDS and other sleep-related infant deaths: expansion of recommendations for a safe infant sleeping environment. *Pediatrics.* 128. United States2011. p. 1030-9.
133. Bartick M, Reinhold A. The burden of suboptimal breastfeeding in the United States: a pediatric cost analysis. *Pediatrics.* 125. United States2010. p. e1048-56.
134. Chen A, Rogan WJ. Breastfeeding and the risk of postneonatal death in the United States. *Pediatrics.* 2004;113(5):e435-9.

135. Vennemann MM, Bajanowski T, Brinkmann B, Jorch G, Yucesan K, Sauerland C, et al. Does breastfeeding reduce the risk of sudden infant death syndrome? *Pediatrics*. 123. United States 2009. p. e406-10.
136. Hauck FR, Thompson JM, Tanabe KO, Moon RY, Vennemann MM. Breastfeeding and reduced risk of sudden infant death syndrome: a meta-analysis. *Pediatrics*. 128. United States: 2011 by the American Academy of Pediatrics.; 2011. p. 103-10.
137. Belson M, Kingsley B, Holmes A. Risk factors for acute leukemia in children: a review. *Environ Health Perspect*. 2007;115(1):138-45.
138. Rudant J, Orsi L, Menegaux F, Petit A, Baruchel A, Bertrand Y, et al. Childhood acute leukemia, early common infections, and allergy: The ESCALE Study. *Am J Epidemiol*. 172. United States 2010. p. 1015-27.
139. Amitay E, Keinan-Boker L. [Breastfeeding and childhood leukemia and lymphoma]. *Harefuah*. 2014;153(5):273-9, 305, 4.
140. Greenop KR, Bailey HD, Miller M, Scott RJ, Attia J, Ashton LJ, et al. Breastfeeding and Nutrition to 2 Years of Age and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Brain Tumors. *Nutr Cancer*. 2015:1-11.
141. Bener A, Hoffmann GF, Afify Z, Rasul K, Tewfik I. Does prolonged breastfeeding reduce the risk for childhood leukemia and lymphomas? *Minerva Pediatr*. 2008;60(2):155-61.
142. Der G, Batty GD, Deary IJ. Effect of breast feeding on intelligence in children: prospective study, sibling pairs analysis, and meta-analysis. *BMJ*. 333. England 2006. p. 945.
143. Kramer MS, Aboud F, Mironova E, Vanilovich I, Platt RW, Matush L, et al. Breastfeeding and child cognitive development: new evidence from a large randomized trial. *Arch Gen Psychiatry*. 65. United States 2008. p. 578-84.
144. Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, McKinley LT, Wright LL, Langer JC, et al. Beneficial effects of breast milk in the neonatal intensive care unit on the developmental outcome of extremely low birth weight infants at 18 months of age. *Pediatrics*. 118. United States 2006. p. e115-23.
145. Isaacs EB, Fischl BR, Quinn BT, Chong WK, Gadian DG, Lucas A. Impact of breast milk on intelligence quotient, brain size, and white matter development. *Pediatr Res*. 2010;67(4):357-62.
146. Martin-Gronert MS, Ozanne SE. Early life programming of obesity. *Med Wieku Rozwoj*. 2013;17(1):7-12.
147. Balaban G, Silva GA. [Protective effect of breastfeeding against childhood obesity]. *J Pediatr (Rio J)*. 2004;80(1):7-16.
148. Portha B, Fournier A, Kioon MD, Mezger V, Movassat J. Early environmental factors, alteration of epigenetic marks and metabolic disease susceptibility. *Biochimie*. 2014;97:1-15.
149. Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG, Bateson P. Environmental influences during development and their later consequences for health and disease: implications for the interpretation of empirical studies. *Proc Biol Sci*. 272. England 2005. p. 671-7.

150. Waterland RA, Garza C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(2):179-97.
151. Colebatch AN, Edwards CJ. The influence of early life factors on the risk of developing rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol.* 2011;163(1):11-6.
152. Simon VG, Souza JM, Souza SB. Breastfeeding, complementary feeding, overweight and obesity in preschool children. *Rev Saude Publica.* 2009;43(1):60-9.
153. Jackson KM, Nazar AM. Breastfeeding, the immune response, and long-term health. *J Am Osteopath Assoc.* 106. United States2006. p. 203-7.
154. Cerf-Bensussan N. Autoimmunity and diet. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 64. Switzerland: 2009 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel.; 2009. p. 91-9; discussion 9-104, 251-7.
155. Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child.* 2006;91(1):39-43.
156. Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(5):914-21.
157. Schaart MW, Mearin ML. Early nutrition: prevention of celiac disease? *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 59 Suppl 1. United States2014. p. S18-20.
158. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Tonutti E, Amarri S, et al. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N Engl J Med.* 2014;371(14):1295-303.
159. Aronsson CA, Lee HS, Liu E, Uusitalo U, Hummel S, Yang J, et al. Age at gluten introduction and risk of celiac disease. *Pediatrics.* 2015;135(2):239-45.
160. Farrell RJ. Infant gluten and celiac disease: too early, too late, too much, too many questions. *Jama.* 293. United States2005. p. 2410-2.
161. Vriezinga SL, Mearin ML. [Gluten tolerance as a result of earlier exposure?]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2013;157(23):A6349.
162. Pereira PF, Alfenas Rde C, Araujo RM. Does breastfeeding influence the risk of developing diabetes mellitus in children? A review of current evidence. *J Pediatr (Rio J).* 2014;90(1):7-15.
163. Philips JC, Radermecker RP. [Type 1 diabetes: from genetic predisposition to hypothetical environmental triggers]. *Rev Med Liege.* 2012;67(5-6):319-25.
164. Virtanen SM, Knip M. Nutritional risk predictors of beta cell autoimmunity and type 1 diabetes at a young age. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(6):1053-67.
165. Tsabouri S, Douros K, Priftis KN. Cow's milk allergenicity. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 14. United Arab Emirates2014. p. 16-26.
166. Correa FF, Vieira MC, Yamamoto DR, Speridiao Pda G, de Morais MB. Open challenge for the diagnosis of cow's milk protein allergy. *J Pediatr (Rio J).* 2010;86(2):163-6.

167. Macedo CLD, Ferreira MC, Naujorks AA, Tercziany A, Costa FJBd, David HCd, et al. Aleitamento materno e diabetes Mellitus do tipo 1. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 1999;43:360-5.
168. Leal DT, Fialho FA, Dias IMÁV, Nascimento Ld, Arruda WC. O perfil de portadores de diabetes tipo 1 considerando seu histórico de aleitamento materno. *Escola Anna Nery*. 2011;15:68-74.
169. Owen CG, Martin RM, Whincup PH, Smith GD, Cook DG. Does breastfeeding influence risk of type 2 diabetes in later life? A quantitative analysis of published evidence. *Am J Clin Nutr*. 84. United States2006. p. 1043-54.
170. Cope MB, Allison DB. Critical review of the World Health Organization's (WHO) 2007 report on 'evidence of the long-term effects of breastfeeding: systematic reviews and meta-analysis' with respect to obesity. *Obes Rev*. 9. England2008. p. 594-605.
171. Lawlor DA, Riddoch CJ, Page AS, Andersen LB, Wedderkopp N, Harro M, et al. Infant feeding and components of the metabolic syndrome: findings from the European Youth Heart Study. *Arch Dis Child*. 90. England2005. p. 582-8.
172. Gouveri E, Papanas N, Hatzitolios AI, Maltezos E. Breastfeeding and diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 7. United Arab Emirates2011. p. 135-42.
173. Agostoni C. Ghrelin, leptin and the neurometabolic axis of breastfed and formula-fed infants. *Ata Paediatr*. 94. Norway2005. p. 523-5.
174. Parikh NI, Hwang SJ, Ingelsson E, Benjamin EJ, Fox CS, Vasan RS, et al. Breastfeeding in infancy and adult cardiovascular disease risk factors. *Am J Med*. 122. United States2009. p. 656-63 e1.
175. Demmelmair H, von Rosen J, Koletzko B. Long-term consequences of early nutrition. *Early Hum Dev*. 82. Ireland2006. p. 567-74.
176. Li R, Fein SB, Grummer-Strawn LM. Do infants fed from bottles lack self-regulation of milk intake compared with directly breastfed infants? *Pediatrics*. 125. United States2010. p. e1386-93.
177. Owen CG, Martin RM, Whincup PH, Smith GD, Cook DG. Effect of infant feeding on the risk of obesity across the life course: a quantitative review of published evidence. *Pediatrics*. 115. United States2005. p. 1367-77.
178. Carling SJ, Demment MM, Kjolhede CL, Olson CM. Breastfeeding duration and weight gain trajectory in infancy. *Pediatrics*. 135. United States: 2015 by the American Academy of Pediatrics.; 2015. p. 111-9.
179. Dieterich CM, Felice JP, O'Sullivan E, Rasmussen KM. Breastfeeding and health outcomes for the mother-infant dyad. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60(1):31-48.
180. Owen CG, Whincup PH, Cook DG. Breast-feeding and cardiovascular risk factors and outcomes in later life: evidence from epidemiological studies. *Proc Nutr Soc*. 70. England2011. p. 478-84.
181. Rio J, Montalban X. [Current description of multiple sclerosis]. *Med Clin (Barc)*. 2014;143 Suppl 3:3-6.

182. Pozuelo-Moyano B, Benito-Leon J. [Diet and multiple sclerosis]. *Rev Neurol*. 58. Spain2014. p. 455-64.
183. Riccio P, Rossano R. Nutrition facts in multiple sclerosis. *ASN Neuro*. 2015;7(1).
184. Ascherio A. Environmental factors in multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother*. 2013;13(12 Suppl):3-9.
185. Hedstrom AK, Olsson T, Alfredsson L. The Role of Environment and Lifestyle in Determining the Risk of Multiple Sclerosis. *Curr Top Behav Neurosci*. 2015.
186. Yoshimura S. [Environmental factors: the contribution of infectious agents]. *Nihon Rinsho*. 2014;72(11):1930-4.
187. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 372. England2008. p. 1502-17.
188. Vaknin-Dembinsky A, Karussis D, Avichzer J, Abramsky O. NMO spectrum of disorders: a paradigm for astrocyte-targeting autoimmunity and its implications for MS and other CNS inflammatory diseases. *J Autoimmun*. 2014;54:93-9.
189. Graves J, Grandhe S, Weinfurter K, Krupp L, Belman A, Chitnis T, et al. Protective environmental factors for neuromyelitis optica. *Neurology*. 83. United States: 2014 American Academy of Neurology.; 2014. p. 1923-9.
190. Laurindo IMM, Ximenes AC, Lima FAC, Pinheiro GRC, Batistella LR, Bertolo MB, et al. Artrite reumatoide: diagnóstico e tratamento. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2004;44:435-42.
191. Young KA, Parrish LA, Zerbe GO, Rewers M, Deane KD, Michael Holers V, et al. Perinatal and early childhood risk factors associated with rheumatoid factor positivity in a healthy paediatric population. *Ann Rheum Dis*. 66. England2007. p. 179-83.
192. Newton JL, Harney SM, Wordsworth BP, Brown MA. A review of the MHC genetics of rheumatoid arthritis. *Genes Immun*. 5. England2004. p. 151-7.
193. Mandl LA, Costenbader KH, Simard JF, Karlson EW. Is birthweight associated with risk of rheumatoid arthritis? Data from a large cohort study. *Ann Rheum Dis*. 68. England2009. p. 514-8.
194. Jaakkola JJ, Gissler M. Maternal smoking in pregnancy as a determinant of rheumatoid arthritis and other inflammatory polyarthropathies during the first 7 years of life. *Int J Epidemiol*. 34. England2005. p. 664-71.
195. Fu N, Lindeman GJ, Visvader JE. The mammary stem cell hierarchy. *Curr Top Dev Biol*. 2014;107:133-60.
196. Svennersten-Sjaunja K, Olsson K. Endocrinology of milk production. *Domest Anim Endocrinol*. 29. United States2005. p. 241-58.
197. Hovey RC, Trott JF, Vonderhaar BK. Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2002;7(1):17-38.
198. Neville MC, Morton J, Umemura S. Lactogenesis. The transition from pregnancy to lactation. *Pediatr Clin North Am*. 2001;48(1):35-52.

199. Neville MC, Morton J. Physiology and endocrine changes underlying human lactogenesis II. *J Nutr.* 2001;131(11):3005S-8S.
200. Kent JC. How breastfeeding works. *J Midwifery Womens Health.* 52. United States 2007. p. 564-70.
201. Brandtzaeg P. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. *Vaccine.* 21. Netherlands 2003. p. 3382-8.
202. Paramasivam K, Michie C, Opara E, Jewell AP. Human breast milk immunology: a review. *Int J Fertil Womens Med.* 2006;51(5):208-17.
203. Schwarz EB, Ray RM, Stuebe AM, Allison MA, Ness RB, Freiberg MS, et al. Duration of lactation and risk factors for maternal cardiovascular disease. *Obstet Gynecol.* 113. United States 2009. p. 974-82.
204. Cohen A, Pieper CF, Brown AJ, Bastian LA. Number of children and risk of metabolic syndrome in women. *J Womens Health (Larchmt).* 2006;15(6):763-73.
205. Stuebe AM, Willett WC, Xue F, Michels KB. Lactation and incidence of premenopausal breast cancer: a longitudinal study. *Arch Intern Med.* 169. United States 2009. p. 1364-71.
206. Mikiel-Kostyra K. [Breast feeding as a component of reproductive health]. *Ginekol Pol.* 2000;71(7):641-7.
207. Turck D, Vidailhet M, Bocquet A, Bresson JL, Briend A, Chouraqui JP, et al. [Breastfeeding: health benefits for child and mother]. *Arch Pediatr.* 2013;20 Suppl 2:S29-48.
208. Oliver JE, Silman AJ. Risk factors for the development of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 35. Norway 2006. p. 169-74.
209. Adab P, Jiang CQ, Rankin E, Tsang YW, Lam TH, Barlow J, et al. Breastfeeding practice, oral contraceptive use and risk of rheumatoid arthritis among Chinese women: the Guangzhou Biobank Cohort Study. *Rheumatology (Oxford).* 53. England 2014. p. 860-6.
210. Karlson EW, Mandl LA, Hankinson SE, Grodstein F. Do breast-feeding and other reproductive factors influence future risk of rheumatoid arthritis? Results from the Nurses' Health Study. *Arthritis Rheum.* 2004;50(11):3458-67.
211. Pikwer M, Bergstrom U, Nilsson JA, Jacobsson L, Berglund G, Turesson C. Breast feeding, but not use of oral contraceptives, is associated with a reduced risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 68. England 2009. p. 526-30.