

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

NÍVEIS DE ÁCIDOS SIÁLICOS NO COLOSTRO DE MÃES
PRIMÍPARAS ADOLESCENTES E ADULTAS.

*Este exemplar corresponde a edição final da tese defendida por Nélida Eladia
Vicente Vicente e aprovada pela Comissão julgadora em 05.04.94*
T. C. Cavalcanti

NÉLIDA ELADIA [VICENTE VICENTE ^{n.} 662]
Bióloga

Orientador : Profa. Dra. Tereza Cristina Samico [Cavalcanti]

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Ciência da Nutrição da Faculdade de Engenharia de
Alimentos (FEA) para obtenção do título de Mestre
em Ciência da Nutrição.

CAMPINAS

1994

BANCA EXAMINADORA

T.C. Cavalcanti

Profa. Dra. Teresa Cristina Samico Cavalcanti
(Orientadora)

A. Barros Filho

Prof. Antonio de Azevedo Barros Filho
(Membro)

Suplente

Profa. Dra. Débora de Queiroz Tavares
(Membro)

J. Amaya Farfan

Prof. Dr. Jaime Amaya Farfan
(Membro)

Campinas, 05 de Junho de 1994

A minha pequena Cibele Priscila
pelo carinho e pelas privações
de meus cuidados durante a realização
deste trabalho.

Aos meus pais e irmãos pelas
renúncias e sacrifícios em
benefícios da minha formação
profissional.

Aos meus sobrinhos pela alegria
e esperança que derramaram sobre
mim.

AGRADECIMENTOS

- A Profa. Dra. Tereza Cristina Samico Calvacanti, pela orientação deste trabalho, apoio e bem como pela amizade que me dedicou.
- Ao Prof. Dr. José Garrofe Doria, pela orientação na fase inicial deste trabalho.
- Ao Prof. Fernando Guimarães, pelo apoio técnico durante o desenvolvimento da parte experimental deste trabalho, pela colaboração nos desenhos e pelas sugestões dadas durante a redação da tese bem como pela amizade.
- Ao Prof. Dr. Achilles Eugênico Piedrabuena pela competente orientação na análise estatística.
- Aos Profs. Drs. Ovidio Rettori Mangold e Ana Neuza Vieira Matos, pelo apoio e estímulo durante o desenvolvimento deste trabalho e Dra. Ana Neuza pela tradução do resumo.
- Aos Profs. Drs. Antonio de Azevedo Barros Filho, Débora de Queiroz Tavares e Jaime Amaya Farfan pelas correções, críticas e sugestões na redação final da tese.
- Aos Departamentos de Tocoginecologia e Neonatologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP pela permissão da realização deste estudo.

- As puérperas do CAISM-UNICAMP, pela participação e receptividade que mostraram durante a coleta do colostro.

- As funcionárias do Alojamento Conjunto do CAISM-UNICAMP pela colaboração e amizade durante a fase de coleta do colostro.

- A Lúcia Maria Fagian de Carvalho, Denise da Rocha Pitta Lima de Moraes, Glaúcia Beatriz de Freitas Lorenzetti, Isildinha Machado e Márcia Iório Pereira do Laboratório de Cultura de Tecidos/CAISM pela amizade, apoio e estímulo durante a realização deste trabalho.

- As Sras. Zélia Faria e Maria Isabel Moreira dos Santos pelo auxílio e estímulo prestado na realização deste trabalho.

- A Maria Inés Scarpone do Apoio ao Usuário do Centro de Computação da UNICAMP e Afrânio Gomes da Silva do CPD do CAISM pelo auxílio dado na utilização do microcomputador.

- A amiga Rosana Prado Arruda pelo carinho, amizade e estímulo no decorrer deste trabalho.

- À Universidade Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú, por ter-me dado a licença para meu aperfeiçoamento e aos amigos e colegas do Centro de Investigación de Bioquímica e Nutrición desta Universidade especialmente a Inés Arnao de Nué.

S U M Á R I O

ÍNDICE GERAL	i
ÍNDICE DE TABELAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS	53
4. RESULTADOS	63
5. DISCUSSÃO	87
6. CONCLUSÕES	95
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
8. ANEXOS	

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	
2.1. Ácidos siálicos: Generalidades.....	5
Biossíntese dos ácidos siálicos.....	12
Funções dos ácidos siálicos.....	17
2.2. Ácidos siálicos no leite.....	20
Glicoproteínas.....	24
Oligossacarídeos.....	26
2.3. Bases Fisiológicas da secreção do leite	29
Anatomia e histologia da glândula	
mamária humana.....	29
Desenvolvimento da glândula mamária.....	30
Fisiologia da lactação.....	31
2.4. O leite materno.....	37
2.5. Gravidez e lactação na adolescência.....	44

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais.....	50
3.2. Método.....	51
3.2.1. Identificação da nutriz.....	51
3.2.2. Coleta do colostro.....	52
3.2.3. Determinação dos ácidos siálicos do colostro	53
3.2.3.1. Extração dos ácidos siálicos ligados às proteínas e oligossacarídeos do colostro.....	53
3.2.3.2. Liberação e determinação dos ácidos siálicos da fração protéica.....	55
3.2.3.3. Determinação dos ácidos siálicos da fração oligossacarídica.....	57
3.2.4. Análise estatística.....	60

4. RESULTADOS

4.1. Descrição das variáveis obtidas.....	61
4.1.1. Variáveis biológicas.....	61
4.1.1.1. Idade cronológica.....	61
4.1.1.2. Idade da menarca e ginecológica.....	64
4.1.1.3. Estatura materna.....	66
4.1.1.4. Raça.....	67
4.1.1.5. Ganho ponderal.....	69
4.1.1.6. Peso do recém-nascido.....	70

4.1.2. Variáveis sociais.....	71
4.1.2.1. Estado civil.....	71
4.1.2.2. Escolaridade.....	72
4.1.2.3. Renda per-capita.....	73
4.2. Análises bioquímica.....	75
4.2.1. Concentração de ácidos siálicos nas diferentes frações do colostro de nutizes adolescentes e adultas.....	76
4.2.2. Concentração de ácidos siálicos nas diferentes frações do colostro de nutrizes adolescentes (ADO1 e ADO2).....	80
4.2.3. Concentração de ácidos siálicos nas diferentes frações do colostro de nutrizes adolescentes (ADO1 e ADO2) e adultas.....	84
5. DISCUSSÃO.....	88
6. CONCLUSÕES.....	96
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
8. ANEXOS	

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição da idade nas mães adolescentes	61
Tabela 2. Distribuição da idade nas mães adultas.....	62
Tabela 3. Raça: distribuição percentual das nutrizes.....	67
Tabela 4. Distribuição percentual dos pesos dos recém-nascidos.....	70
Tabela 5. Distribuição percentual das mães adolescen- tes e adultas segundo o estado civil.....	71
Tabela 6. Distribuição percentual do grau de escolari- dade.....	72
Tabela 7. Distribuição dos níveis de renda per-cápita.....	73
Tabela 8. Comparação das concentrações médias dos áci- dos siálicos nas diferentes frações do colostro das nutrizes adolescentes e adultas.....	76
Tabela 9. Comparação das médias de concentração dos ácidos siálicos nas frações do colostro das nutrizes adolescentes (ADO1 e ADO2).....	80
Tabela 10. Comparação da concentração de ácidos siálicos das diferentes frações do colostro considerando a idade ginecológica (ADO1, ADO2 e adultas)	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do ácido N-acetilneuramínico (NANA)	6
Figura 2. Estrutura do ácido N-glicolilneuramínico (NGNA)	6
Figura 3. Esquema da secreção do leite.....	33
Figura 4. Esquema da extração dos ácidos siálicos do colostro.....	54
Figura 5. Esquema de dosagem de ácidos siálicos pelo método do ácido tiobarbitúrico.....	56
Figura 6. Esquema de dosagem de ácidos siálicos pelo método do periodato/resorcinol.....	59
Figura 7. Distribuição de Idades nas mães adolescentes e adultas.....	63
Figura 8. Idade da menarca das mães adolescentes e adultas.....	64
Figura 9. Distribuição das adolescentes pela idade ginecológica.....	65
Figura 10. Distribuição das mães adolescentes e adultas pela estatura.....	66
Figura 11. Distribuição das mães adolescentes e adultas pela raça.....	68

Figura 12. Distribuição das mães adolescentes e adultas pelo ganho ponderal durante a gravidez.....	69
Figura 13. Distribuição por intervalos de classe da renda per-capita nas mães adolescentes e adultas.....	74
Figura 14. Distribuição da concentração de ácido siálico da fração glicoproteica do colostro de mães adolescentes e adultas.....	77
Figura 15. Distribuição da concentração de ácido siálico da fração oligossacarídica do colostro de mães adolescentes e adultas....	78
Figura 16. Distribuição da concentração de ácido siálico total no colostro de mães adolescente e adultas.....	79
Figura 17. Distribuição da concentração de ácido siálico da fração proteica do colostro das mães adolescentes (ADO1 e ADO2).....	81
Figura 18. Distribuição da concentração de ácido siálico da fração oligossacarídica do colostro das mães adolescentes (ADO1 e ADO2).....	82
Figura 19. Distribuição da concentração de ácido siálico total no colostro de mães adolescentes (ADO1 e ADO2).....	83
Figura 20. Distribuição da concentração de ácidos siálicos da fração proteica do colostro de mães adolescentes (ADO1 e ADO2) e adultas.....	85

Figura 21. Distribuição da concentração de ácidos siálicos da fração oligossacarídica do colostro de mães adolescentes (ADO1 e ADO2) e adultas.....	86
Figura 22. Distribuição da concentração de ácido siálico total no colostro de mães adolescentes (ADO1 e ADO2) e adultas.....	87

RESUMO

O leite humano contém uma variedade de oligossacarídeos e glicoproteínas ligados aos ácidos N-acetilneuramínico (NANA) e N-glicolilneuramínico (NGNA), cuja concentração diminui com o decurso da lactação. Estes compostos podem servir como fatores de crescimento do *Lactobacillus bifidus* no estabelecimento da flora normal no intestino do neonato, como de substrato para a glicosilação e maturação do epitélio gastrointestinal e contribuírem na sialização dos gangliosídeos e glicoproteínas das regiões sinaptosomais do cérebro e cerebelo.

Há indicações controversas sobre as diferenças da composição do leite de mães adolescentes e adultas e o relacionamento destas diferenças com a maturidade da glândula mamária das mães adolescente. O objetivo deste trabalho foi estudar a influência da idade materna sobre a concentração do ácido siálico total e dos ácidos siálicos presentes nas frações oligossacarídica e glicoprotéica do colostro de mães primíparas adolescentes (ADO1 com idade ginecológica $\leq$ 3 anos e ADO2 com idade ginecológica $>$ 3 anos) e adultas primíparas (20 - 29 anos), levando em consideração outras variáveis biológicas e sociais para caracterizar a população.

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada na concentração dos ácidos siálicos das frações estudadas do colostro em relação a idade cronológica das mães, nem mesmo quando se considerou diferentes idades ginecológicas entre as mães adolescentes. No entanto, foi observada uma alta variação interindividual na concentração destes ácidos siálicos nas frações de colostro estudado, que foi muito semelhante entre os grupos de nutrízes. Provavelmente estas variações dependem de outras variáveis biológicas e sociais não consideradas no presente trabalho.

ABSTRACT

Human milk contains a variety of oligosaccharides and glycoproteins, linked to N-acetyl neuraminic acid (NANA) and N-glycolylneuraminic acid (NGNA), whose concentration decrease gradually from the first days after delivery. These components may function as growth factors for *Lactobacillus bifidus* in the establishment of the normal flora in the human newborn gut, as substrates for glycosylation and maturation of the gut epithelia and may also contribute in the sialylation of ganglyosides and glycoproteins in the synaptosomal regions of brain and cerebellum.

Several differences have been reported on milk composition of the adolescent and adult woman. These differences have frequently been interpreted as indicative of immaturity of the adolescent mammary gland. The subject is controversial and has not been extensively studied. The objective of present work was to study the influence of maternal age on the concentration of total sialic acid and of the sialic acid present in the oligosaccharide and glycoprotein fractions from human colostrum. Adolescent primiparas with gynecologic age ≤ 3 years (ADO1) and > 3 years (ADO2) and adults primiparas (20 - 29 years old) were studied. In the characterization of the population, others biological and social variables were also considered.

No statistical differences were observed between the two adolescent groups or between adolescent and adult mothers, in any of the parameters measured. However, a high interindividual variation was found in the concentration of sialic acid from all colostrum fractions and such variation was very similar in all groups studied. It is likely that these variations depend on social and biological variables not taken into consideration in this work.

1 . INTRODUÇÃO

O leite humano é um fluido biológico complexo e único, que no recém-nascido supre as necessidades nutricionais de forma completa, modulando a flora intestinal e transmitindo imunidade passiva ajudando-o a protegê-lo contra os perigos do novo meio ambiente, o qual por sua imaturidade bioquímica e fisiológica é susceptível a diferentes agentes nocivos (BLANC, 1981).

O crescimento, que é mais intenso durante os primeiros seis meses de vida, requer um acesso ótimo de nutrientes essenciais específicos, visto que a má nutrição durante as fases pré-natal e neonatal pode provocar problemas severos no desenvolvimento corporal e no cérebro do neonato (CRAVIOTO, et alii., citado por BLANC, 1981).

Com o advento de novas tecnologias ficou estabelecido que o leite humano é composto por uma série de nutrientes, enzimas, hormônios, fatores do crescimento e agentes de defesa, a maioria dos quais mostram alterações dinâmicas durante a lactação e muitos estão pobremente representados nos leites de outras espécies (GOLDMAN & GARZA, 1987). Não obstante, sua composição varia entre as mães, dias de lactação e nas diferentes horas do dia e da noite em uma mesma mãe (HARZER et alii, 1986). Muitos compostos identificados no leite humano, não tiveram até agora esclarecidos seu significado fisiológico para o infante (HARZER et alii, 1986).

O leite humano contém os ácidos siálicos, N-glicolilneuramínico (NGNA) e N-acetilneuramínico (NANA), que nos primeiros dias de lactação representam até 284 mg de nitrogênio/litro e contribuem significativamente no incremento do "pool" de nitrogênio não protéico do leite humano, fato particularmente importante durante as primeiras cinco semanas de lactação (HARZER et alii, 1986; CARLSON, 1985b).

O conteúdo de ácido siálico é máximo no primeiro dia após o parto e decresce gradualmente no decurso da lactação e, em quaisquer das fases de lactação, sua concentração no leite humano é superior a encontrada no leite de vaca (HIRANO et alii, 1966). Estes ácidos encontram-se no colostro, quase que totalmente na forma combinada, com as glicoproteínas ou oligossacarídeos e não na forma livre (HIRANO et alii, 1966).

O papel destes compostos no leite materno não está completamente esclarecido, embora existam muitos estudos que afirmem que os ácidos siálicos servem como fatores essenciais para o crescimento do *Lactobacillus bifidus*, presente na microflora normal do trato digestivo da criança amamentada com leite materno, visto que, a criança amamentada com leite de vaca desenvolve uma microflora muito parecida com a do adulto (SHEARD & WALKER, 1988).

A alta produção de ácido acético, láctico, traços de ácido fórmico e ácido succínico produzido pelo *Lactobacillus bifidus*, faz com que o pH do trato digestivo do infante, amamentado com leite humano, seja mais baixo do que o dos alimentados com leite bovino e nessas condições, o pH inibiria o crescimento de *Shigella sp*, *E. coli* e leveduras (GOLDMAN & SMITH, 1973). Além disso, existe a possibilidade que o fator de crescimento do *Lactobacillus bifidus* do leite humano, conhecido como fator bífidus, possa interferir com a atividade do vírus da influenza (GYORGY, 1971). A lactoferrina e transferrina, compostos que contêm ácido acetilneuramínico (NANA) em sua molécula (PETRÉN & VESTERBERG, 1989) seriam os responsáveis pela resistência do infante amamentado ao seio às infecções gastrointestinais provocadas pela *E. coli* (BULLEN et alii, 1972).

Os oligossacarídeos ligados às proteínas do leite humano são incorporados intactos, pelo intestino através de receptores ou por endocitose de fase fluída, mas não ocorrerá endocitose se os oligossacarídeos livres não estiverem associados às proteínas (CICHOWICZ-EMMANUELLI e TORRES-PINEDO citado por CARLSON, 1985a). A

retenção de oligossacarídeos pelo intestino poderia produzir diarreia no neonato e a ausência deste processo significa que este digeriu e absorveu diretamente estes compostos ficando os mesmos disponíveis para o neonato (CARLSON, 1985a). Os oligossacarídeos comparados com quantidades equivalentes de lactose têm baixa carga osmótica (CARLSON, 1985a).

O NGNA e o NANA são importantes constituintes dos carboidratos que estão ligados aos gangliosídeos e glicoproteínas da superfície das membranas celulares, podendo ser absorvidos e utilizados no desenvolvimento pós-natal do infante, como substrato para a síntese de proteínas e lipídios das superfícies celulares (CARLSON, 1985a), estes aminoaçúcares também participam como substrato para a glicosilação e maturação do epitélio gastrointestinal (COLONY citado por CARLSON, 1985a)

Administrando oral ou intraperitonealmente o NANA em ratos foi observado que estes contribuíam na sialização dos gangliosídeos e glicoproteínas das regiões sinaptossomais do cérebro e cerebelo com modificações favoráveis de comportamento (MORGAN & WINICK, 1979 e 1980).

O leite maduro tem sido investigado em seus diferentes aspectos, porém o colostro continua sendo pouco conhecido, apesar de conter fatores tróficos, que não estão presentes no leite maduro, que fornecem moduladores específicos para o crescimento do recém-nascido (BERSETH citado por SHEARD & WALKER, 1988).

Foram observadas algumas diferenças na composição química do leite de mães adolescentes em relação ao das adultas. Os valores de lactose são significativamente mais baixos no leite de mães adolescentes (6,7 g/100ml) do que no leite de mães adultas (7,0 - 7,1 g/100ml) (LIPSMAN et alii, 1985). A possível explicação para a baixa concentração de lactose no leite das mães adolescentes é que a glândula mamária, ainda imatura, apresenta grande transferência

intra-tissular, por vazamento nas junções dos ductos com a consequente diminuição da concentração de lactose neste fluido biológico (NEVILLE & NEIFERT citado por LIPSMAN et alii, 1985). Outra possibilidade é que a glicose seja desviada para outros tecidos, diminuindo assim sua disponibilidade e limitando consequentemente a biossíntese da lactose pelo leite (JONES citado por LIPSMAN et alii, 1985). Por outro lado, não se achou nenhuma diferença na concentração das proteínas antimicrobianas no colostro segundo a idade, paridade e tempo de gravidez da mulher (LEWIS-JONES et alii, 1985).

Nos últimos anos, tem crescido o número de mães adolescentes e isto gerou o aumento de estudos sobre o papel que isto representa em termos físicos, psicológicos e sociais na adolescente como também suas consequências econômicas para uma determinada sociedade (WHO, 1989 e HENRIQUES et alii, 1989). No entanto, pouco se sabe sobre o aleitamento e a composição do leite de mães adolescentes (BRASIL et alii, 1991).

Mais de 40% de crianças de mães adolescentes morrem durante o primeiro ano de vida e, com relação às crianças de mães adultas, elas são as de maior risco durante o segundo ano pós-parto (WHO, 1989).

Considerando-se as muitas e importantes funções que os ácidos siálicos têm no desenvolvimento pós-natal e, na tentativa de contribuir ao estudo da composição química do colostro de mães adolescentes, o objetivo deste trabalho foi o de comparar os níveis de ácidos siálicos no colostro de mães adolescentes e adultas primíparas.

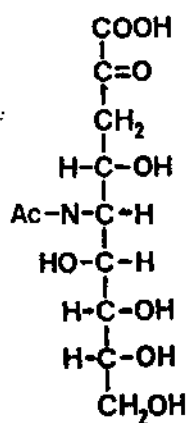
2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - ÁCIDOS SIÁLICOS

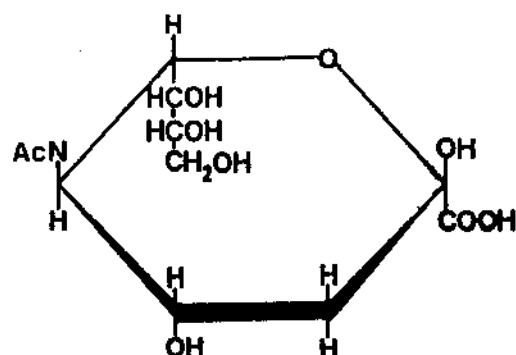
O termo ácido siálico apareceu pela primeira vez na literatura, quando BLIX et alii, em 1952 descreveram um aminoaçúcar raro presente nos gangliosídios e na mucina submaxilar. Embora o nome fosse novo, a substância já tinha sido isolada pelos mesmos autores em 1936 e suas propriedades gerais já eram amplamente conhecidas (LEDEEN & YU, 1976).

Outros nomes foram usados para designar este ácido: ácido lactâmico por KUNH & ROSSNER em 1956; ácido hemamatínico por YANAKAWA & SUZUKI em 1952; ácido ginâmico por ZILLIKEN et alii, em 1955, mas a nomenclatura proposta por BLIX et alii em 1957 foi adotada consensualmente (Citados por LEDEEN & YU, 1976). Esta nomenclatura designaria o ácido neuramínico como a estrutura principal não substituída e o ácido siálico como o termo genérico para a família dos derivados relacionados que tinham um grupo acila ligado ao nitrogênio amino e frequentemente outro substituinte em outra parte da molécula (LEDEEN & YU, 1976).

O ácido neuramínico **per se** não foi isolado devido à sua instabilidade intrínseca e porque as formas N-acetiladas que são encontradas naturalmente (isto é, ácido siálico) são estabilizadas através da conversão do grupo amina em amida, sendo que o mais comum dos ácidos siálicos é o ácido N-acetilneuramínico (NANA) que tem como nome sistemático ácido nonulônico 5-acetamido-3,5-dideoxi-D-glicero-D-galacto, quando está na forma de cadeia aberta (Figura 1).



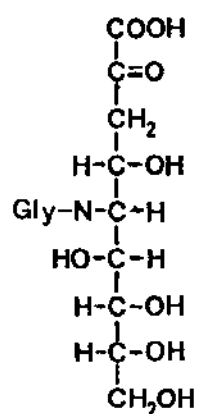
(Cadeia aberta)



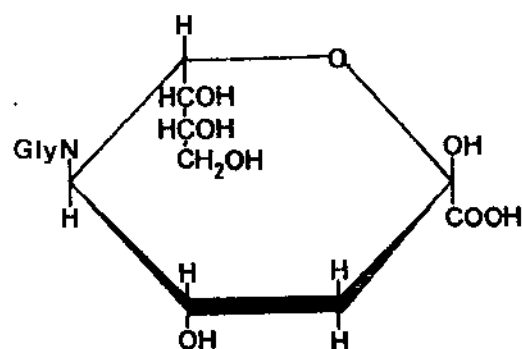
(Anel piranosílico)

FIGURA 1 Estrutura do Ácido N-acetilneuramínico (NANA)

O ácido N-glicolilneuramínico (NGNA) (Figura 2) e o ácido N-acetilneuramínico (NANA) são compostos amplamente distribuído entre as espécies e formam a espinha dorsal da estrutura da maioria dos ácidos siálicos conhecidos; estes se encontram na forma de anel piranosílico quando estão ligados a outros açúcares ou quando estão na forma de ácido siálico livre (LEDEEN & YU, 1976).



(Cadeia aberta)



(anel piranosílico)

FIGURA 2 Estrutura do Ácido N-glicolilneuramínico (NGNA)

Nos numerosos tipos de carboidratos complexos que estão na natureza os ácidos siálicos frequentemente estão ligados a galactose por ligações $\alpha(2\rightarrow3)$ ou $\alpha(2\rightarrow6)$, também estão ligados aos resíduos de GalNac (2-acetamido-2-deoxi-D-galactose) no O-6 (GOTTSCHALK & DRZENIEK, 1972). Na sua grande maioria os ácidos siálicos ligados a GalNac se apresentam nas glicoproteínas por exemplo, no gangliosídeo do eritrócito humano que tem uma ligação α -Neu5Ac(2 $\rightarrow$ 3)-GalNac (NG & DAIN; HOROWITZ & PIGMAN, citados por SCHAUER, 1982). Os ácidos siálicos estão geralmente ligados na posição terminal da cadeia dos oligossacarídeos, e nos gangliosídeos uma variedade de glicoproteínas e oligossacarídeos podem estar ligadas lateralmente à cadeia dos oligossacarídeos formando uma ramificação (SCHAUER, 1982).

Um fato importante na determinação da estrutura básica dos ácidos siálicos foi a identificação dos grupos funcionais ceto e amino, depois que NANA passou por um tratamento levemente alcalino, como produto desta reação obteve-se ácido carboxílico 2 pirrol, indicando com isto que os grupos ceto e amino estão respectivamente localizados nos carbonos alfa e gama em relação ao grupo carboxílico (GOTTSCHALK; KLENK & FAILLARD citados por LEEDEN & YU, 1976).

A presença de um grupo metileno (desoxi) na molécula do ácido siálico, próximo à unidade redutora, explica sua alta vulnerabilidade aos ácidos e a fácil descarboxilação provocada pelo calor e ácidos fortes, sugerem que este é um um alfa ceto ácido (LEEDEN & YU, 1976). Estes fatos levaram os autores a proporem uma estrutura básica para os ácidos siálicos, que foi considerada como um produto de condensação aldólica da N-acetilhexosamina e do ácido pirúvico (GOTTSCHALK; citado por LEEDEN & YU, 1976). Os ácidos siálicos em sua forma cíclica têm seis centros de assimetria e duas possíveis conformações em cadeira para o anel piranosídico (BENTLEY, 1972). A maioria dos ácidos siálicos da natureza são derivados O-acetilados do NANA e do NGNA, os quais são convertidos um no outro por tratamento ligeiramente alcalino, a degradação alcalina só acontece com os ácidos siálicos livres, já que os derivados cetosídicos são relativa-

mente estáveis e os tratamentos alcalinos mais severos resultam na N-acilação das ligações cetosídicas assim como dos ácidos siálicos livres (LEDEEN & YU, 1976).

Os ácidos siálicos são altamente reativos a muitos reagentes e a diversidade dos produtos formados pode ser compreendida em termo da natureza e orientação dos vários grupos funcionais, sendo que os grupos carboxilo, carbonilo, hemiacetal, amida e o grupo hidroxila são os mais comuns em todos os ácidos siálicos, entretanto os grupos éster e éter estão distribuídos mais seletivamente (LEDEEN & YU, 1976).

O valor do pKa está na faixa de 2,6 a 2,75 o que significa que os ácidos siálicos são consideravelmente mais ácidos do que os ácidos alifáticos comuns, isto indubitavelmente é o resultado do forte agrupamento eletronegativo adjacente ao grupo carboxila, este grupo fica assim completamente ionizado a pH fisiológico e esta forte acidificação explicaria a capacidade que tem os compostos que contém ácido siálico de sofrer hidrólise espontânea quando são aquecidos em soluções aquosas (SVENNERHOLM, 1956; BLIX et alii citado por LEDEEN & YU, 1976).

Os ácidos siálicos sofrem uma série de reações complexas em meio ácido e quente, e o grau de alteração depende do grau da acidez, temperatura e do período da reação. Assim o aquecimento a 100° C por 1 hora em pH 3,0 parece ter pouco efeito sobre o ácido siálico, entretanto quando a acidez é aumentada com HCl 0,1N se observa perda considerável da cor da reação na prova do ácido tiobarbitúrico, esta sensibilidade ao tratamento ligeiramente ácido concorda com o comportamento da 2-desoxihexose cuja capacidade de se converter da forma cíclica à cadeia aberta está aumentada, sendo esta a principal causa de sua sensibilidade ácida (KARKAS & CHARGAFF, 1964). Presume-se que a degradação seja mais rápida quando a desoxihexose está na conformação de cadeia aberta do que quando está na forma cíclica (TUPPY & GOTTSCHALK, 1972). A destruição por ácido vem a ser uma

importante consideração nos ensaios quantitativos, os quais dependem da hidrólise prévia (LEEDEN & YU, 1976).

O mecanismo de degradação ácida e a formação da humina é sem dúvida complexa (LEEDEN & YU, 1976). Acreditava-se que se tratava de um derivado da Δ' -pirrolina como um produto de ciclização, que foi confirmado depois pela identificação de 4-hidroxi-5-(1,2,3,4,-tetraidroxibutil)- Δ' ácido carboxílico-2-pirrolina (GOTTSCHALK; GIELEN citados por LEEDEN & YU, 1976). A formação da humina, que acontece por exemplo, quando os ácidos siálicos são aquecidos em HCl 1N a 100° C é o resultado da condensação dos produtos de degradação dos compostos insaturados com esses derivados pirrólicos, sendo que tratamentos mais vigorosos, como os que usam o refluxo com HCl 12% produzem descarboxilação, enquanto que o H₂SO₄ concentrado libera monóxido de carbono (BLIX et alii. citado por LEEDEN & YU, 1976). O grupo carboxila por sua vez sofre esterificação, comprovada pelo fato que a simples cristalização do ácido siálico pelo metanol anidro precede a formação do éster do ácido (BLIX et alii citado por LEEDEN & YU, 1976).

Estes ácidos também apresentam alguma das características dos açúcares redutores, como se observa nos testes positivos com as soluções de Fehling e Benedict, todavia, eles não são o suficientemente potentes para reduzir o nitrato de prata amoniacal (GOTTSCHALK & LIND; BLIX et alii. citados por LEEDEN & YU, 1976). Como é de se esperar, os ácidos siálicos unidos por ligações cetosídicas não são redutores e devido a presença dos múltiplos grupos hidroxilas e outros agrupamentos, estes ácidos reagem com uma variedade de agentes oxidantes, sendo a oxidação do periodato a mais estudada das reações oxidativas e esta tem sido aplicada a numerosos ácidos siálicos e seus derivados, contudo a quantidade de periodato consumido e os produtos formados dependem do substrato e das condições da reação (GOTTSCHALK, citado por LEEDEN & YU, 1976).

A oxidação do NANA e do NGNA em pH 4,4 resulta em rápida

incorporação de 2 moles de periodato com formação de 1 mol de ácido fórmico e formaldeído que é resultado da clivagem entre C₇-C₈ e C₈-C₉ (BLIX et alii. citado por LEDEEN & YU, 1976). Um terceiro mol de periodato é incorporado lentamente, produzindo outra molécula de ácido fórmico (KARKAS & CHARGAFF, 1964). Quando a reação se realiza em meio neutro ou fortemente ácido, são rapidamente consumidas 3 moles de periodato, resultando na formação do ácido 2-acetamido-4-deoxi-hexo-5-ulurônico. Este produto é rapidamente convertido a ácido β-formilpirúvico, o cromógeno responsável pela reação do ácido tiobarbitúrico (PAERELS & SCHUT, 1965).

Os ácidos siálicos estão amplamente distribuídos na natureza, seja na forma livre ou como componentes dos oligossacarídeos, heterossacarídeos e dos glicoconjugados como glicoproteínas e glicolipídios (TUPPY & GOTTSCHALK, 1972). Embora haja considerável literatura sobre os ácidos siálicos e os sialocompostos, não existe um conceito unificado sobre sua função biológica devido a sua ocorrência heterogênea e seu possível envolvimento em diversas funções celulares (FAILLARD & SCHAUER; GOTTSCHALK; MARSHALL; MEHRISHI; CURTIS; HUGHES; SCHAUER; WEISS citados por NG & DAIN, 1976).

Os ácidos siálicos nos invertebrados são principalmente do tipo N-glicosila, entretanto nos vertebrados além deste tipo existe o N-acetila e seus derivados O-acetila (WARREN citado por NG & DAIN, 1976; TUPPY & GOTTSCHALK, 1972). A principal espécie de ácido siálico encontrada em humanos é o ácido N-acetilneuramínico (GOTTSCHALK citado por NG & DAIN, 1976), apesar de existirem baixos níveis do ácido N-glicosilneuramínico no soro e nos tecidos (NG & DAIN, 1976).

Os primeiros estudos dos ácidos siálicos foram realizados em tecidos de mamíferos, os quais se encontram como:

a) **Ácido siálico livre**, cujo nível nos tecidos é baixo (BENEDICTA citado por NG & DAIN, 1976).

b) **Oligossacarídeos e heterossacarídeos**: cujos ácidos siálicos

estão cetosídicamente unidos à D-galactose (na posição 3 ou 6), à N-acetil-D-galactosamina (na posição 6) ou a outro resíduo de ácido siálico (na posição 8) (TUPPY & GOTTSCHALK, 1972 e GOTTSCHALK & DRZENIEK, 1972). Por sua vez os sialoheterossacarídeos podem estar agrupados em três classes: 1) a que contém lactose ou lactosamina; 2) a que contém galactosil galactosamina e 3) a que contém uridina difosfato (UDP) como parte da molécula (NG & DAIN, 1976). Quando ligado à lactose, composto presente unicamente nos mamíferos, eles dão origem a várias espécies de sialilactose: N-acetil, N-glicosil e N,O-diacetilneuramina-(2→3)lactose as quais no começo da lactação são importantes componentes do leite (KUHN & BROSSMER; KUHN & WIOEGANDT; BARRA et alii citados por NG & DAIN, 1976).

c) **glicoproteínas**: na maioria dos tecidos animais os ácidos siálicos estão associados com proteínas (KLENK & FAILLARD citado por NG & DAIN, 1976). Eles encontram-se ligados às glicoproteínas dos eritrócitos humanos com atividade antigênica MN. Eles também têm um papel na separação do sistema P dos grupos sanguíneos e estão associados ao antígeno de histocompatibilidade, embora não contribuam com as propriedades antigênicas (NG & DAIN, 1976).

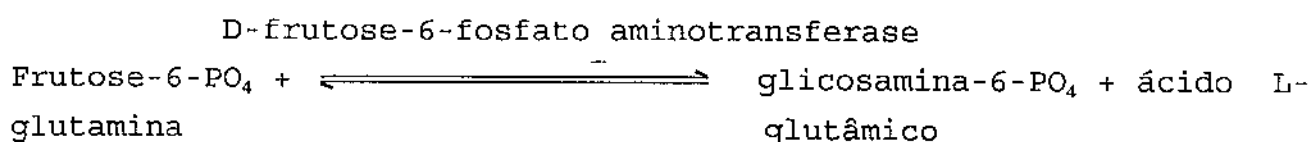
d) **glicolipídios**: outro grande grupo de biomoléculas que contém ácido siálico são os glicolipídios principalmente os gangliosídeos e seus compostos relacionados, que têm função importante no funcionamento celular e estão relacionados com a regulação do crescimento celular, receptores de diferentes toxinas, como a do cólera, de neurotoxina como a do tétano, além do que no tecido nervoso atuam como receptores da serotonina que é a responsável por toda a atividade do sistema nervoso central (NG & DAIN, 1976).

e) **ácido ungúlico**: a existência deste composto é duvidosa, entretanto existe indícios que este ácido contém ceramida, galactose, ácido N-acetilgalactosamina e sulfato, que estão presentes na epiderme humana, cabelo, unhas e nos rins e que provavelmente seja uma mistura de gangliosídeos e sulfato de esterol (LEIKOLA et alii, 1969).

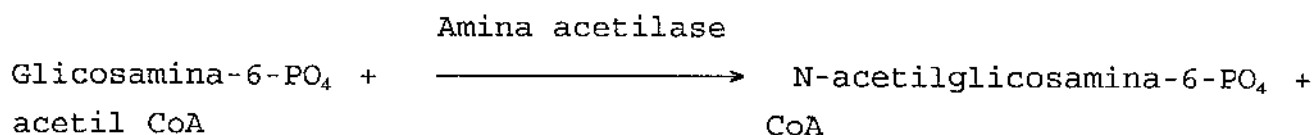
BIOSSÍNTESE DOS ÁCIDOS SIÁLICOS

A glicose é o principal precursor metabólico da biossíntese dos ácidos siálicos realizada no fígado, onde é incorporada na forma de glicosamina, (SPIRO, 1959). As principais reações anabólicas na síntese dos ácidos siálicos são as seguintes:

Aminação: a partir da Frutose-6-PO₄ + glutamina forma-se a Glicosamina-6-PO₄ + ácido glutâmico, que é uma reação reversível, catalisada pela D-frutose-6-fosfato aminotransferase, cujo equilíbrio da reação enzimática é a favor da desaminação; todavia foi demonstrado que quando a reação está acoplada a uma segunda enzima (acetilase), a mesma pode ser direcionada para a síntese de glicosamina (POGELL & GRyder, 1957).

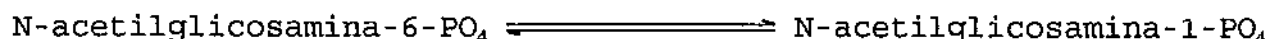


Acetilação: a glicosamina-6-PO₄ + Acetil CoA formam a N-acetilglicosamina-6-PO₄ + CoA, a reação é unidirecional e é catalisada por uma amina acetilase aromática não específica (TABOR et alii, 1953).



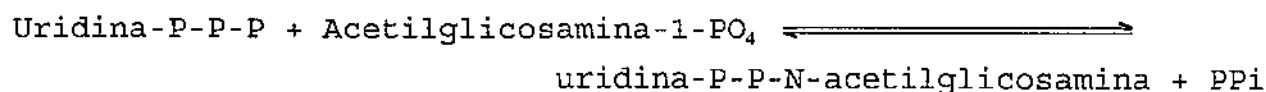
Mutação: a N-acetilglicosamina-6-PO₄ é convertida em N-acetilglicosamina-1-PO₄ por uma fosfoglucomutase que requer Mg²⁺, esta também é uma reação reversível (BROWN, 1953; LELOIR & CARDINI, 1953).

Fosfoglucomutase (Mg^{2+})



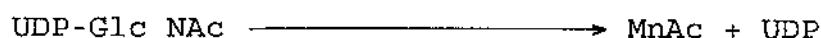
Fosforilação da acetilglicosamina-1-PO₄: esta é realizada por enzimas específicas para o nucleosídeo trifosfato (uridina, adenosina, guanidina e citidina). A diversidade e especificidade das fosforilases envolvidas oferecem a oportunidade para que a célula regule quantos e quais açúcares vai precisar ativar, o produto desta reação é a uridina difosfato-N-acetilglicosamina (UDP-GlcNAc) (KORNBERG, 1950).

Fosforilase



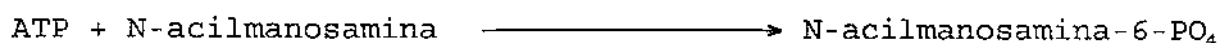
Epimerização da UDP-GlcNAc: é realizada por uma enzima que epimeriza o grupo acilamino à C₂ e que também pode hidrolisar a N-acetilmanosamina (CARDINI & LELOIR, 1957 e COMB & ROSEMAN, 1958).

Epimerase



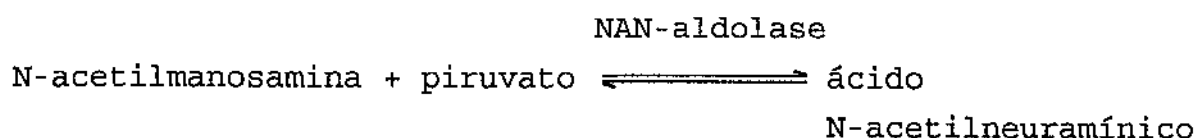
Formação de N-acilmanosamina-6-PO₄: a partir da N-acilmanosina realizada por uma quinase que também requer Mg^{2+} (ROSEMAN et alii, 1961).

Quinase (Mg^{2+})

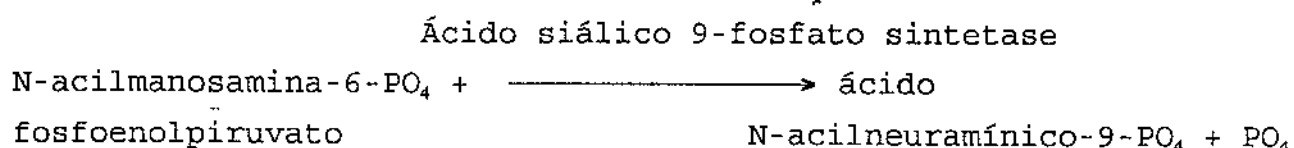


Sínteses dos ácidos siálicos: a formação dos ácidos siálicos a partir do seu precursor N-acetilmanosina se realiza por duas vias: (McGUIRE, 1976).

a) O ácido acilneuramínico é obtido da reação catalisada pela enzima NAN-aldolase que utiliza o N-acetil e a N-glicolilmanosamina e piruvato para a síntese do ácido N-acetilneuramínico e a reação é reversível, com um equilíbrio constante em favor da clivagem aldolítica (HEIMER & MEYER, 1956).

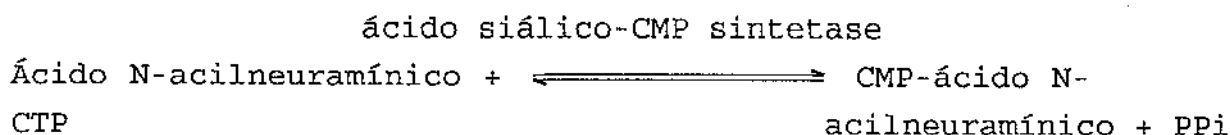


b) Outra enzima envolvida nesta síntese é a ácido siálico 9-fosfato sintetase que catalisa uma reação irreversível em favor da síntese a partir do N-acilmanosamina-6-PO₄ e fosfoenolpiruvato (WARREN & FELSENFELD, 1961, 1962; ROSEMAN et alii, 1961)



O produto é um éster do ácido siálico-9-fosfato que deve ser defosforilado, por uma fosfatase não específica, antes que aconteça a ativação completando assim a síntese dos ácidos siálicos nos tecidos animais (WARREN & FELSENFELD, 1961, 1962; ROSEMAN et alii, 1961).

Ativação: os ácidos siálicos devem ser ativados antes de serem polimerizados ou incorporados como produtos de alto peso molecular. Esta reação é catalizada pela ácido siálico-CMP sintetase que forma um nucleotídeo de açúcar monofosfatado (ácido siálico CMP) (Mc GUIRE, 1976).



As glicosiltransferases são um grupo de enzimas que catalizam a transferência de um açúcar na forma ativada (açúcar nucleotídeo) para uma molécula receptora apropriada, geralmente uma molécula que contém glicose (McGUIRE, 1976).

Glicosiltransferase

Nucleosídeo mono (di) PO_4 açúcar + $\xrightarrow{\hspace{1.5cm}}$ açúcar receptor +
molécula receptora Nucleosídeo mono (di) PO_4

Logo após, as glicosiltransferases catalisam a incorporação de açúcares, um por vez, que integram as proteínas das membranas com os sítios ativos voltados para a face externa do retículo endoplasmático ou do lúmen do Golgi, os polímeros que se formam e que podem conter ácidos siálicos são: glicoproteínas, mucinas e glicolipídios (McGUIRE, 1976).

Uma grande variedade de fenômenos biológicos podem ser atribuídos aos ácidos siálicos. No entanto, não tem sido possível explicar todos esses fenômenos uniformemente para atribuí-les uma função geral, além do que os fenômenos biológicos encontrados como sendo devidos aos ácidos siálicos, podem ser influenciados pelos compostos aos quais os ácidos siálicos estão ligados (SCHAUER, 1982).

Os oligossacarídeos das glicoproteínas e dos glicolipídios localizados nas superfícies celulares estão relacionados com ou são responsáveis por muitas das funções da membrana celular animal (SCHAUER, 1982). Estes carboidratos participam dos processos de adesão celular (KEMP et alii, e ROSEMAN citados por BROWN et alii, 1975), inibição de contato, transporte (WOODRUFF & GESNER, 1969) e dos sítios dos receptores virais e dos antígenos (HOLMGREN, 1987). Estas funções requerem uma conformação específica da cadeia do açúcar e o mecanismo proposto para a adesão celular é um processo dinâmico e múltiplo do complexo de enzima-substrato pelo qual as glicosil-

transferases das membranas se uniriam aos substratos carboidratos sob as células vizinhas (SCHAUER, 1982). Os ácidos siálicos que estão localizados no terminal não redutor das cadeias de carboidratos das glicoproteínas e dos gangliosídeos têm se mostrado integralmente envolvidos com processos de membrana (BROWN et alii, 1975).

Os ácidos siálicos estão em todas as imunoglobulinas do homem, cavalo, coelho, porco e ovelha. A Ig G têm de 0 a 5 resíduos de ácido siálico por molécula, enquanto que as outras imunoglobulinas têm de 3 a 19 resíduos deste ácido por molécula, todavia, os carboidratos das imunoglobulinas podem contribuir por sua resistência à proteólise e antigenicidade, mas parece não estar relacionado com a atividade de anticorpo ou com as reações de fixação do complemento (CLAMP & JOHNSON, 1972).

Os ácidos siálicos são constituintes de muitas das glicoproteínas do soro e são os principais responsáveis por sua microheterogeneidade eletroforética; determinam a sobrevivência das glicoproteínas na circulação e, conseqüentemente, estão envolvidos com as funções biológicas do orosomucóide, fetuína, ceruloplasmina, haptoglobina, α -2-macroglobulina, tiroglobulina, lactoferrina, gonadotrofina coriônica humana e do hormônio folículo estimulante (MONTGOMERY, 1972). Existe grande quantidade de enzimas que contém ácidos siálicos como parte de sua molécula, por exemplo a fosfatase, glicoamilase, enteroquinase e a glutamiltranspeptidase (NG & DAIN, 1976).

Frequentemente nas glicoproteínas o carboidrato mais externo ligado à proteína, é o ácido N-acetilneuramínico que gera carga negativa sobre a superfície destas proteínas e, devido a repulsão de suas cargas, impedem que as proteínas dissolvidas se choquem entre si (DARNELL et alii, 1990).

Os resíduos de açúcar das glicoproteínas estão comumente unidos a duas diferentes classes de resíduos de aminoácidos sendo que

no colágeno os açúcares classificados como O-ligados estão unidos ao oxigênio da hidroxila da serina, treonina e da hidroxilisina e os classificados como N-ligados estão unidos ao nitrogênio amida da aspargina; então, a estrutura dos oligossacarídios O- e N- ligados são muito diferentes e geralmente não contém os mesmos açúcares, ao passo que os oligossacarídios O-ligados são geralmente mais curtos e mais variáveis, principalmente no número de ramificações (duas, três ou quatro), no número de resíduos de ácidos N-acetilneuramínico (zero, um, dois ou três) e na natureza química da ligação do ácido N-acetilneuramínico à galactose, todavia, os oligossacarídios encontrados no mesmo lugar e em determinada espécie de proteína são frequentemente diferentes (DARNELL et alii, 1990).

Foram encontradas glicoproteínas dessializadas na membrana plasmática isolada dos hepatócitos o que faz pensar que existe um mecanismo *in vivo* para a liberação controlada do ácido siálico: quando há suficiente renovação de ácido siálico, a glicoproteína ligada à membrana plasmática é ingerida e degradada, mostrando com isso que este ácido está relacionado com a regulação do turnover das glicoproteínas séricas, o que representa um claro envolvimento destes na regulação de quaisquer evento metabólico ou biológico (McGUIRE, 1976). A remoção dos carboidratos das superfícies celulares pelas neuraminidases alteram ou impedem muitas funções das membranas, inclusive as interações dos eritrócitos com o vírus da influenza, adesão e inibição de contato de certas células e a velocidade de transporte de potássio e de proteínas nas células leucêmicas (BROWN et alii, 1975).

FUNÇÕES DOS ÁCIDOS SIÁLICOS

As funções biológicas destes ácidos são divididas em quatro grupos:

1 - **FUNÇÃO DA CARGA NEGATIVA** - os ácidos siálicos carregados negativamente e localizados sobre as membranas celulares, têm forte

influência no comportamento celular, visto que a eletronegatividade protege alguns tipos de células, impedindo a agregação por repulsão eletrostática como por exemplo, nas plaquetas e eritrócitos (JEANLOZ & CODINGTON, 1976). Foi observado que as forças eletrostáticas dos ácidos siálicos contribuem para a rigidez das superfícies celulares, facilitam a união dos compostos catiônicos às macromoléculas e às células (WEISS, 1965). Além disso, nas células musculares estes ácidos são importantes sítios de união do cálcio, parecendo ainda que os sialoglicconjugados estão envolvidos na união do cálcio ao tecido ósseo (HARDING & HALLIDAY, 1980).

2 - INFLUÊNCIA SOBRE A ESTRUTURA MACROMOLECULAR - Sabe-se que os ácidos siálicos aumentam a viscosidade intrínseca das glicoproteínas (AHMAD & McPHIE, 1980) e de muitas secreções, como por exemplo, do trato respiratório, digestivo e da órbita ocular (SCHAUER, 1973; FAILLARD & SCHAUER, 1972). Este efeito se deve ao fato de que os resíduos de ácidos siálicos repelem-se mutuamente e assim expandem as cadeias dos oligossacarídeos da proteína central, dando as moléculas uma estrutura com forma de vareta que facilita a formação do gel na água (FAILLARD & SCHAUER, 1972; SCHAUER, 1973).

No entanto, as várias glicoproteínas das mucosas, como por exemplo, as do estômago são relativamente pobres em ácidos siálicos e a viscosidade é dada pelas ligações dissulfeto existentes entre as cadeias peptídicas (ALLAN & GARNER, citado por SCHAUER, 1982). As secreções mucosas são vitais, elas atuam como lubrificantes e agentes de defesa nas cavidades comunicantes do corpo com o meio ambiente ou sobre as superfícies corporais (SCHAUER, 1973; FAILLARD & SCHAUER, 1972; e REID et alii, citado por SCHAUER, 1982).

A influência dos ácidos siálicos sobre a conformação macromolecular parece ser a razão para a resistência proteolítica das várias sialoglicoproteínas e o primeiro exemplo vem dos estudos de FAILLARD & PRIBILA, que em 1964 demonstraram que após a liberação do ácido siálico havia uma perda da resistência proteolítica do fator

intrínscico e concomitantemente de sua capacidade de ligação com a vitamina B₁₂ (SCHAUER, 1982).

3 - EFEITO ANTI-RECONHECIMENTO - o efeito anti-reconhecimento é uma das funções mais fascinantes dos ácidos siálicos e tem dado lugar a estimulantes pesquisas. Foi observado que os ácidos siálicos recobrem os resíduos D-galactosil de várias glicoproteínas do soro aumentando a sobrevivência dessas moléculas na corrente sanguínea (ASHWELL & MORELL, 1974), parecendo que estes ácidos não só estão relacionados com a regulação do tempo de vida das glicoproteínas solúveis no soro, como também das células sanguíneas dos mamíferos, de alguns anticorpos e dos sítios antigênicos das membranas celulares (WOODRUFF & GESNER, 1969).

4 - COMPONENTE DE RECEPTORES - existe grande variedade de interações entre os ácidos siálicos e os compostos biologicamente ativos, bem como os microorganismos (SCHAUER, 1973; FAILLARD & SCHAUER, 1972). A aglutinação de eritrócitos nativos em contraste com os eritrócitos dessializados pelos mixovírus, e o vírus da influenza, foi primeiro observada por BURNET e colaboradores em 1951 (JEANLOŹ & CODINGTON, 1976 e ANDREWES et alii, citado por SCHAUER, 1982). O fenômeno parece ser devido a interação específica entre os resíduos sialil das superfícies celulares e as moléculas da sialidase viral, tendo um papel importante mas não totalmente compreendido no mecanismo da infecção da célula do hospedeiro pelo microorganismo, visto que a função desta sialidase viral seria a de favorecer a agregação da progênie viral, removendo os receptores potenciais do vírus de suas próprias glicoproteínas limitando com isto a propagação dos vírus (CHOPPIN & SCHEID, 1980).

Os ácidos siálicos, principalmente os que são componentes dos gangliosídeos, estão relacionados com a união das células a uma variedade de toxinas como por exemplo a do tétano, difteria, botulismo, cólera, assim como à tubocurarina e a colchicina (FISHMAN & BRADY, 1976). Nestes estudos foram observadas algumas especi-

ficidades de ligação entre a classe de toxina e a natureza dos gangliosídeos; como é o caso da toxina do cólera, que tem forte atividade ligadora com o gangliosídeo M₁ (GM₁). A subunidade B da toxina do cólera se une aos receptores sialiglicoconjugados das membranas celulares, posteriormente a subunidade A da molécula nativa se dissocia da toxina, logo penetra entre a membrana e estimula a síntese do AMP cíclico (SCHAUER, 1982).

Assim como muitos componentes fisiológicos que regulam o crescimento e metabolismo celular parecem interatuar com os gangliosídeos dos receptores celulares, conjectura-se que a perda do controle do crescimento de certas células transformadas possa estar parcialmente fundamentada na composição alterada dos gangliosídeos das células neoplásicas (FISHMAN & BRADY, 1976).

Como os ácidos siálicos estão diretamente relacionados com vários fenômenos dos sistemas biológicos, são necessários mais experimentos para estabelecer suas reais funções, já que não se conhece qual é a parte da molécula destes ácidos comprometida com estas funções biológicas; eles participam na regulação de muitos processos fisiológicos e são considerados importantes componentes para a proteção da vida, com exceção daqueles encontrados nos tecidos cancerosos que devido ao seu efeito anti-reconhecimento parecem contribuir para melhorar a sobrevivência das células malignas (SCHAUER, 1982).

2.2 - ÁCIDOS SIÁLICOS NO LEITE

Os ácidos siálicos identificados na fração glicoprotéica e oligossacarídica do leite humano são o N-glicosilneuramínico (NGNA) e o N-acetilneuramínico (NANA) (VIVERGE et alii, 1985, 1986 e CARLSON, 1985 a,b).

O NANA é o açúcar terminal de muitos glicolipídios e glicoproteínas dos mamíferos (CARLSON, 1985b). A fração de carboidrato no leite que não é lactose é principalmente formada por oligossacarídeos (POLONOVSKY & LESPAGNOL, citado por NEWBURG et alii, 1990), sendo que todos os oligossacarídeos do leite humano têm como estrutura comum a lactose que serve como base para a construção de grandes estruturas pela adição de galactose, fucose, N-acetil glucosamina e ácido N-acetilneuramínico (GRONBERG et alii, 1990).

A atividade biológica mais fascinante está associada com alguns glicoconjugados encontrados no leite humano. Esses compostos têm estruturas muito semelhantes ou idênticas às estruturas das membranas celulares (FEIZI et alii e BREIMER et alii citados por SABHARWAL et alii, 1991). As cadeias dos oligossacarídeos específicos localizados sobre as superfícies das células do hospedeiro podem atuar como receptor ou ligante na adesão de bactérias, micoplasmas e vírus patogênicos (FEIZI et alii; SAVAGE & BEACHY citados por SABHARWALL et alii, 1991). Foi observado que a D-glicosamina N-substituída age como um precursor para a biossíntese do ácido murâmico da parede celular das bactérias (O' BRIEN et alii, 1960).

Foram realizadas muitas pesquisas para identificar o **fator bifidus**, depois que SCHOENFEL em 1926 encontrou que o soro do leite humano continha um composto que promovia o crescimento do *Lactobacillus bifidus* (KOBATA, 1977). Essas substâncias, promotoras do crescimento do *Lactobacillus bifidus*, foram identificadas como compostos que continham N-acetil-D-glicosamina, preferencialmente com ligação β -D-glicosídica, ácido N-acetilneuramínico, lactose, galactose e fucose em variadas proporções (GYORGY et alii, 1974). GYORGY & ROSE, 1955 observaram que o conteúdo do ácido N-acetilneuramínico no leite humano era muito maior que o do leite de vaca, guardando proporção idêntica à atividade bífida total (40 : 1). Quimicamente, estes ácidos dão ao leite humano uma posição especial, particularmente em comparação ao leite de vaca, visto que o ácido N-acetilneuramínico tem importante relação com o grupo do vírus da

infuenza, existindo a possibilidade que o fator bifidus do leite humano interfira com a atividade deste vírus (HUMMELER, et alii; SILVER et alii, citados por MATA & WYATT, 1971).

GYORGY et alii, 1974, mostraram que os oligossacarídeos isolados em seu laboratório não tinham atividade promotora do crescimento do *L. bifidus* a menos que fosse removido o ácido siálico da molécula. Entretanto NICHOLS et alii, 1975, quando removeram os ácidos siálicos de cinco glicoproteínas isoladas não observaram o aumento da atividade bífida. Como a concentração de proteínas presente nas glicoproteínas isoladas por GYORGY et alii, 1974 era menor do que das isoladas por NICHOLS et alii, 1975 esses autores concluíram que existiria dois tipos diferentes de agentes promotores do crescimento de *L. bifidus*, aqueles de natureza oligossacarídica e os de natureza glicoprotéica, o que foi confirmando posteriormente por BEZKOROVAINY & NICHOLS, 1976.

A bifidobactéria metaboliza uma grande variedade de açúcares, produzindo grande quantidade de ácido acético e ácido láctico e traços dos ácidos succínico e fórmico, sendo estes produtos os responsáveis pelo baixo pH das fezes dos bebês amamentados ao seio (SMITH et alii e MOORE et alii citados por MATA & WYATT, 1971). A relação entre a flora bífida e o pH foi observada em vários estudos (MATA & WYATT, 1971).

A relação existente entre amamentação, tipo de flora e pH fecal também foi demonstrada em outro estudo onde observou-se que a bifidobactéria representava mais de 99% da flora fecal das crianças amamentadas ao seio em contraste com menos de 60% das crianças alimentados com leite humano fervido ou leite de vaca, onde proliferam coliformes e enterococos (GYLLEMBERG & ROINE citados por MATA & WYATT, 1971).

O pH fecal aumenta quando a alimentação do neonato é realizada com leite de vaca ou com formulações (LEUTER citado por

MATA & WYATT, 1971). Foi observado que o trato intestinal das crianças submetidas ao aleitamento materno é resistente às infecções por microorganismos patogênicos como *Shigella* e protozoários intestinais (MATA & WYATT, 1971). Além da N-acetilglicosamina e do ácido N-acetilneuramínico, serem fatores importantes do crescimento da bifidobactéria, existe evidências que estes compostos podem ser absorvidos intactos, sendo assim utilizados para a síntese das proteínas e dos lipídios do epitélio intestinal e do cérebro (CARLSON, 1985a).

A composição química da membrana das microvilosidades do intestino delgado é diferente nos animais maduros e nos imaturos (SHEARD & WALKER, 1988). Os carboidratos glicoconjugados são importantes no reconhecimento, diferenciação e amadurecimento celular, visto que em ratos foi observado que a medida que o intestino amadurece a concentração de ácidos siálicos decresce enquanto o conteúdo de fucose aumenta até níveis encontrados nos adultos (PANG et alii, 1983, citado por SHEARD & WALKER, 1988). A atividade das enzimas relacionadas com a glicosilação das membranas, as sialiltransferases e fucosiltransferases, mudam em função análoga durante o período pós-natal (CHU & WALKER, 1986). Essas diferenças na composição dos carboidratos podem alterar a adesão de antígenos e bactérias às membranas, assim como influenciar a função das enzimas ligadas às mesmas (SHEARD & WALKER, 1988).

O muco que recobre a superfície do intestino é também composto de glicoproteínas e tem influência na defesa intestinal do hospedeiro, na digestão luminal e na absorção de nutrientes (SHUBB et alii, 1983). As glicoproteínas do muco do intestino do rato recém-nascido têm alta densidade, baixa proporção carboidrato/proteína, baixo conteúdo de fucose e N-acetilgalactosamina, quando comparados com os ratos adultos e estas diferenças permitem que se difunda grande quantidade de antígenos e bactérias através do muco, aumentando com isso a adesão das substâncias nocivas às microvilosidades (SNYDER et alii, 1986).

Foi demonstrado que o NANA exógeno, administrado por via oral ou intraperitoneal é incorporado preferencialmente nas regiões sinaptossomais do cérebro de ratos (MORGAN & WINICK, 1979, 1980; MORGAN et alii, 1981 e CARLSON & HOUSE, 1986). Esta incorporação pode ser por incremento absoluto na concentração dos gangliosídeos ou das glicoproteínas ou ainda pelo aumento na sialização destes compostos no cérebro e no cerebelo (MORGAN & WINICK, 1979, 1980; MORGAN et alii, 1981).

Os mamíferos podem sintetizar NANA a partir de açúcares simples mas ainda não foi estudada a capacidade relativa de síntese deste composto nos neonatos e feto e a utilização do NANA, encontrado no leite materno, na sialização dos gangliosídeos cerebrais que seriam importantes no desenvolvimento neuronal e comportamental do recém-nascido (CARLSON, 1985b; CARLSON & HOUSE, 1986).

Glicoproteínas

As glicoproteínas são proteínas conjugadas que contêm como grupo prostético um ou mais heterossacarídeo, com pequeno número de açúcares residuais, ligados covalentemente à cadeia polipeptídica. (GRAHAM et alii, 1970).

Os ácidos siálicos estão presentes em várias proteínas do leite (THOMPSON & BRUNNER citado por GRAHAM et alii, 1970). A proteína mais estudada é a k- caseína e a análise de ácido siálico na fração de caseína tem, frequentemente, sido usada como um índice de sua concentração (CAYEN et alii, 1962 e GRAHAM et alii, 1970). Logo, a análise do ácido siálico é importante na caracterização das

glicoproteínas purificadas do leite (GRAHAM et alii, 1970). Foi encontrado que o conteúdo de glicoproteínas no primeiro dia após o parto é de 3,31%, diminuindo nos dias seguintes até alcançar mais ou menos 1,6% no 11º dia após o parto (HIRANO et alii, 1968).

Foram isoladas cinco frações de glicoproteínas do colostro humano com pesos moleculares entre 26.000 a 35.000 daltons e cada uma dessas frações tinham pesos menores que os encontrados no colostro de vaca (NICHOLS et alii, 1975). Estes mesmos autores observaram que o conteúdo de carboidratos das frações isoladas do colostro humano foi de 67%, e que a única fração isolada do colostro de vaca continha apenas 7% de carboidratos. Foi ainda observado ainda que os componentes dos carboidratos no colostro humano eram: galactose, L-fucose, N-acetilhexosamina e ácidos siálicos, sendo este identificado como ácido N-acetilneuramínico o qual estava presente em todas as frações isoladas. As cinco frações de glicoproteínas tinham atividade promotora do crescimento para o *Lactobacillus bifidus* var. *Pensylvania* e não foram substancialmente alteradas pela dessialização (NICHOLS et alii, 1975). Os trabalhos preliminares de HIRANO et alii, 1968, mostraram que, além dos componentes acima citados, as frações glicoprotéicas continham glicose e que o peso molecular destas estava entre 7.400 e 19.000 daltons.

No leite humano maduro foram encontradas dois tipos de glicoproteínas, uma com propriedades muito similares ao orosomucóide do soro e a outra, específica do leite, chamada glicoproteína A que é semelhante à do colostro, tendo peso molecular de 30.000 daltons, com 70% de carboidratos e com só a metade do conteúdo de ácido siálico quando comparado com o colostro (BEZKOROVAINY & NICHOLS, 1976).

Foi encontrado no leite humano por AZUMA et alii, 1984 glicomacropeptídios similares aos descritos por BEZKOROVAINY et alii, 1979 chegando-se a conclusão que se tratavam de fragmentos de caseína humana. A presença destes produtos no soro do leite estaria rela-

cionada à proteólise prévia da caseína na glândula mamária (LÖNNERDAL, 1985b). Também foram descritas substâncias de baixo peso molecular, aproximadamente de 4.000 daltons que os autores concluíram tratar-se de oligossacarídeos (BEZKOROVAINY & NICHOLS, 1976).

Algumas das glicoproteínas sializadas no leite formam compostos bastante estudados, como por exemplo a Ig A e a lactoferrina e dia a dia se descobrem mais glicoproteínas, sobretudo ligadas a metais, sendo necessário estudos mais detalhados de todos os tipos de glicoproteínas sializadas para que se possa compreender sua significância funcional (LONNERDALL, 1985b).

Oligossacarídeos

Mais de 2,4% do colostro e mais ou menos 1,3% do leite maduro é constituído por oligossacarídeos (MONTREUIL & MULLET, citados por CARLSON, 1985a). A criança alimentada com leite materno, ganha em média 170 mg/kg de peso corporal/dia ou 0,11% (peso/volume) de sua dieta sob a forma de NANA proveniente dos oligossacarídeos (CARLSON, 1985b).

Os oligossacarídeos do leite de vaca bem como suas fórmulas derivadas, além de serem quimicamente diferentes dos do leite humano têm pouco NANA complexado (ZILLIKEN et alii, citado por NICHOLS & BEZKOROVAINY, 1974 e CARLSON, 1985b). Igualmente, as fórmulas provenientes de soja não são boas fontes de NANA livre ou complexado (CARLSON, 1985b).

Não existem experimentos que indiquem que o NANA antes de ser absorvido seja hidrolizado de seus oligossacarídeos ou proteínas, incrementando o pool de NANA disponível para a sialização de glicolipídios e glicoproteínas (CARLSON, 1985b). No entanto, foi

demonstrado que a incorporação do ácido siálico é maior, quando o NANA é ingerido oralmente e está complexado à lactose mais do que no estado livre (WITT et alii, 1979), sugerindo que o NANA, seria hidrolisado de seus oligossacarídeos e glicoproteínas durante a digestão do leite (CARLSON, 1985b).

A maioria de oligossacarídeos encontrados no leite humano, normalmente não são encontrados em outros tecidos (EBNER & SCHANBACHER citado por NEWBURG et alii, 1990), apesar que a síntese dos oligossacarídeos seja catalizada pela mesma glicosiltransferase, que funciona na síntese de uma parte dos carboidratos dos glicolipídios e glicoproteínas celulares (KOBATA & GINSBURG, 1970). As glicosiltransferases se encontrariam no leite como um subproduto do mecanismo secretório relacionado com a formação deste fluído na presença de altas concentrações de lactose, o principal açúcar do leite, ao passo que as transferases acidentalmente usariam a lactose como um acceptor glicosil, sendo por isso que os oligossacarídeos sempre contém lactose no seu grupo terminal redutor (KOBATA & GINSBURG et alii, 1970).

Alguns oligossacarídeos do leite humano estão presentes nas estruturas haptênicas determinantes dos grupos sangüíneos. Isto se deve ao fato que as glicosiltransferases responsáveis pela formação dos determinantes antigênicos dos grupos sangüíneos são as mesmas que formam os oligossacarídeos do leite humano (KOBATA, 1977). As células epiteliais das glândulas secretoras contém uma série de glicosiltransferases, as quais formam uma parte dos carboidratos das mucinas com atividade de grupo sangüíneo (SHEN et alii; GROLLMAN et alii; TUPPY & SCHENKEL-BRUNNER citados por KOBATA, 1977).

Já foram identificados mais de 50 diferentes oligossacarídeos no leite humano e muitos têm estruturas similares àqueles das glicoproteínas e glicolipídios encontrados na superfície celular (YAMASHITA et alii citado por KITAGAWA et alii, 1991). Estruturalmente estes podem ser classificadas em sete séries:

1- série da lactose: 2-O-fucosilactose, 3-O-fucosilactose, lactodifu-

cotetraose, 3-O-sialilactose, 6-O-sialilactose, 6-O-galactosilactose;

2- série da lacto-N-tetrose: lacto-N-fucopentose I, lacto-N-fucopentose II, lactodifucohexose I, lacto-N-difucohexose II, sialilactohexose-a, sialilacto-N-tetrose-b, disialilacto-N-tetrose;

3- série da lacto-N-neotetrose: lacto-N-neotetrose, lacto-N-fucopentose III, sialilacto-N-neotetrose;

4- série lacto-N-hexose: lacto-N-hexose, fucosilacto-N-hexose, difucosilacto-N-hexose, sialilacto-N-hexose, disialilmono-fucosilacto-N-hexosa;

5- série da lacto-N-neohexose: lacto-N-neohexose, fucosilacto-N-hexose, difucosilacto-N-hexose, sialilacto-N-neohexose, sialifucosilacto-N-neohexose, disialilmono-fucosil-N-neohexose;

6- série da lacto-N-octaose: monofucosilacto-N-octaose;

7- série da lacto-N-neo-octaose: monofucosilacto-N-neo-octaose (GROLLMAN & GINSBURG; KOBATA et alii citados por KOBATA, 1977).

Entre estes, os derivados fucosil e sialil da lactose e as lacto-N-tetraoses são os maiores componentes no leite (KOBATA, 1977). Estudos da ocorrência destes fucosiloligossacarídeos nas amostras individuais de leite revelaram que estes nem sempre são detectados em todas as amostras estudadas e que aproximadamente a metade dos oligossacarídeos do leite humano são sializados (SABHARWAL et alii, 1991).

Foi encontrada uma rápida e progressiva modificação na concentração dos ácidos siálicos no curso da lactação sendo mais alta no colostro (1200 mg/l) do que no leite maduro (120 mg/l) (CARLSON, 1985b e VIVERGE et alii, 1985). O mecanismo e o significado dessas variações são desconhecidos e poderiam ser interpretados como adaptação programada da composição do leite as necessidades do bebê ou mais simplesmente, como consequência do processo de envelhecimento das células responsáveis pela secreção do leite (VIVERGE et alii, 1985).

A origem e a função da N-acetilglicosamina e do ácido N-

acetilneuramínico não está esclarecida, pois estes compostos não estão relacionados com o metabolismo das glicoproteínas ou dos glicosfingolipídios (GRIMMONPREZ & MONTREUIL, 1975). Eles também não estão implicados na formação de lactose, através do processo metabólico compensatório, no entanto podem ser biossintetizados por transglicosilação a partir da mesma (VIVERGE et alii, 1985). Já que os oligossacarídios não são nem sintetizados nem degradados por um mecanismo único ou específico sugere-se que eles não tenham função específica (NEWBURG et alii, 1990) e apesar de terem sido bem caracterizados no leite humano seu significado funcional permanece desconhecido (CARLSON, 1985b).

2.3 - BASES FISIOLÓGICAS DA SECREÇÃO DO LEITE

Anatomia e Histologia da Glândula Mamária Humana

A glândula mamária é um conjunto túbulo-alveolar com 10 a 15 ductos que convergem para o mamilo por onde saem as secreções mamarías sendo que os ductos se ramificam através do estroma da mama, que é preenchido com tecido adiposo. As ramificações finalizam em forma de cacho de uva o qual é chamado alvéolo (PITELKA, 1977 e RUSSO & RUSSO, 1987). Com a gravidez há aumento do número e do tamanho dos cachos alveolares, e até o final da gravidez 70% da massa glandular mamária é composta por tecido parenquimatoso (RUSSO & RUSSO, 1987).

Histologicamente os grandes ductos são formados por dupla camada de células epiteliais cubóides e os ductos pequenos dos alvéolos estão recobertos por uma camada de células epiteliais envoltas por células mioepiteliais (PITELKA, 1977). Estas células associadas aos ductos estão arranjados longitudinalmente, ao passo que as que estão nos arredores do alvéolo têm a forma de cesta, arranjo este que permite a ejeção do leite do alvéolo até o mamilo. Durante a lactação a forma das células epiteliais depende da quantidade do leite que está dentro do alvéolo, ao passo que no alvéolo vazio, as células assumem forma colunar com abundante

retículo endoplasmático (VORHERR, 1974 e REYNIAC, 1978). As células do alvéolo e dos pequenos ductos são competentes para secretar o leite, continuamente e numa proporção de 1,6 g de leite por grama de tecido por 24 horas (NEVILLE, 1990a).

Desenvolvimento da Glândula Mamária

A glândula mamária tem origem ectodérmica a partir da 5ª semana de vida intra-uterina (RUSSO & RUSSO, 1987) e durante a infância ocorre apenas discreta elongação e ramificação das estruturas ductulares formando ductos rudimentares com espessamento do epitélio (VORHERR, 1974 e REYNIAC, 1978).

Comumente a telarca ou desenvolvimento da mama (10 - 12 anos) representa na mulher o primeiro sinal do início da puberdade (REYNIAC, 1978). As mudanças histológicas das mamas na puberdade correspondem ao crescimento e ramificações do epitélio, principalmente dos ductos, ao mesmo tempo que a quantidade de estroma aumenta, especialmente, devido ao aumento do colágeno periglandular e do tecido adiposo (BRUNI et alii, 1990).

O crescimento das mamas na puberdade está relacionado ao aumento dos níveis endógeno ou exógeno dos estrógenos (MARSHALL & TANNER, 1969; JENNER et alii, 1972; ANGUSUSINGHA et alii, 1974; LEE et alii, 1976 e ROSENFELD & FUNG, 1974). Os fatores genéticos e outros fatores contribuem na determinação da morfologia e no volume da mama na adolescente, tendo sido demonstrado pela ultrassonografia que existe uma relação entre crescimento mamário e níveis de estrógenos (BRUNI et alii, 1990).

Várias pesquisas experimentais revelaram que outros fatores endócrinos atuam sinergicamente com o estrogênio sobre o epitélio mamário como a porção N-terminal da molécula de prolactina (MITTRA, 1980), a sinlactina, composto produzido pelo fígado e estimulado pela prolactina (MICK & NICOLL, 1985), o hormônio do

crescimento e a insulina (TOPPER & FREEMAN, 1980).

A compreensão da endocrinologia das mamas é complicada já que este órgão tem três tipos de tecidos (epitelial, fibroso e adiposo) os quais são marcados por diferentes sensibilidades aos hormônios circulantes nos diferentes períodos de maturação, mas que interatuam durante o crescimento puberal (McGRATH, 1983; HASLAM & LEVELY, 1985). Vários fatores de crescimento têm função importante no estímulo proliferativo da glândula mamária, como por exemplo a relaxina (BIGAZZI et alii citado BRUNI, 1990), os ácidos graxos insaturados produzidos pelos adipócitos mamários (DAGLIOTTI et alii citado por BRUNI, 1990), a insulina e os fatores de crescimento epidérmico provenientes do estroma mamário (OKA & YASHIMURA, 1986).

Fisiologia da Lactação

A secreção do leite é um processo contínuo e sua ejeção é controlada por reflexos neuro-humorais a partir da secreção da oxitocina da pituitária posterior (BAUMAN & NEVILLE, 1984). A oxitocina interatua com as células mioepiteliais mamárias, estimulando a contração e forçando a saída do leite dos alvéolos para os ductos, onde este fica disponível para a sucção (PETERSON citado por NEVILLE, 1990a).

Na glândula mamária madura o processo de secreção do leite é transcelular, com a fase aquosa sendo principalmente formada no aparelho de Golgi e nas vesículas secretórias (Via I da Figura 3), ao passo que as proteínas são sintetizadas no retículo endoplasmático e remetidas ao sistema vesicular, onde são modificadas por glicosilação e fosforilação (BAUMAN & NEVILLE, 1984). Dentre essas proteínas está o complexo enzimático lactose sintetase, que catalisa a síntese da lactose a partir da glicose e da UDP-galactose (BREW & HILL citado por BAUMAN & NEVILLE, 1984). O aparelho de Golgi e as vesículas secretórias são permeáveis aos substratos mas não a lactose, a qual é aprisionada dentro das vesículas gerando forte corrente osmótica

para a entrada de água e íons monovalentes dentro do sistema de vesículas, que se mobilizam até a membrana apical, fundindo-se com esta e descarregando seu conteúdo por exocitose dentro do lúmen alveolar (BAUMAN & NEVILLE, 1984).

Os lipídios são secretados por um processo único na glândula mamária (Via II da Figura 3). Os ácidos graxos transportados pelo sangue ou sintetizados pela glândula mamária, se combinam com o glicerol para formar triglicerídios, os quais coalescem dentro de gotas de gorduras, essas gotas se movimentam através do citoplasma até a membrana apical e finalmente são expulsas com uma capa de membrana plasmática (BAUMAN & DAVIES citado por BAUMAN & NEVILLE, 1984).

Os íons monovalentes atravessam a membrana apical (Via III da Figura 3), no entanto o controle de sua secreção não está esclarecido (PEAKER citado por BAUMAN & NEVILLE, 1984). Por outro lado, as imunoglobulinas se combinam com um receptor na membrana basolateral e são transferidas através das células alveolares como uma vesícula pinocitótica (Via IV da Figura 3) (MAYER & KLEIN citados por BAUMAN & NEVILLE, 1984). Durante a lactação normal as uniões complexas entre as células formam uma barreira de leite-sangue, no entanto, quando acontece a mastite, durante a gravidez ou na amamentação, essas uniões complexas são rompidas permitindo a transferência de soluto extracelular, particularmente sódio e cloreto diretamente no espaço intracelular onde o leite está localizado (Via V da Figura 3) (BAUMAN & NEVILLE, 1984, NEVILLE, 1990a).

Durante a última fase da gravidez, há continuação da fase de crescimento da glândula mamária, paralelamente com o aparecimento da fase secretora, o que resulta numa distensão dos alvéolos (KULSKI & HARTMAN, 1981). Então no período pós-parto inicia-se a lactogênese através do decréscimo dos níveis de progesterona plasmático e a presença de concentrações adequadas de prolactina, não sendo necessário o estímulo da mamada para dar início à lactação (HARTMAN

& KULSKI, 1978). No entanto, depois do 3° ou 4° dia após o parto se não for praticada a amamentação ou se o leite não for removido a intervalos regulares, a produção do leite declina (NEVILLE et alii, 1991).

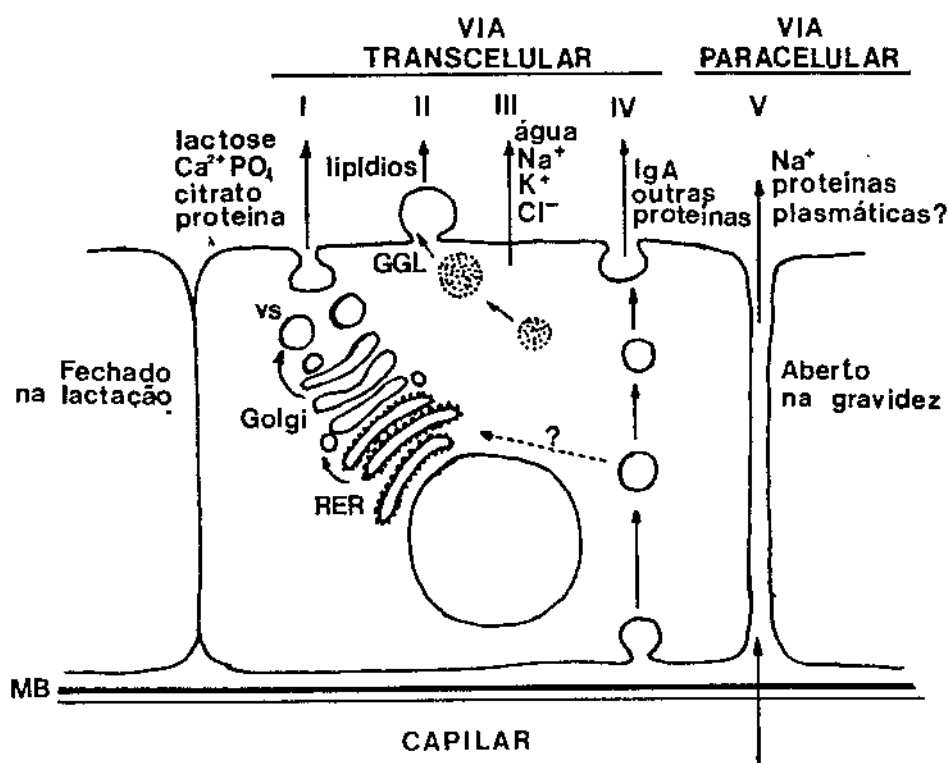


Figura 3 - ESQUEMA DA SECREÇÃO DO LEITE

GGL: Glóbulo de gordura do leite; vs: Vesícula secretória; RER: Retículo endoplasmático rugoso; MB: Membrana basal. NEVILLE, M.C. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 586: 1-11, 1990.

HARTMAN & KULSKI 1978 e KULSKI & HARTMAN, 1981 definiram três períodos lactacionais:

a) Colostro - é o líquido produzido durante a última etapa da gravidez e as primeiras 36 horas após o parto; b) Leite transicional - entre o 2° e 5° dia após o parto e c) Leite maduro - depois do 5° dia após o parto com o estabelecimento das concentrações de lactose, glicose, proteínas e outros elementos presentes no leite.

É bastante conhecida a variabilidade na composição dos muitos nutrientes no leite, variando segundo o período e a hora de lactação, com o dia ou noite, com o tipo de alimentação da mãe sendo que o valor energético e alimentício do leite vai depender da doadora, do período de lactação, hora de coleta, entre outras causas (VIVERGE et alii, 1986) e numerosos estudos sobre a qualidade do leite humano indicam que o status socio-econômico tem relação linear com a composição química deste fluído biológico (NAGRA, 1989).

As contínuas mudanças na composição do leite durante a lactação, são particularmente marcadas pela concentração de proteínas, sódio, potássio e citrato que decrescem mais de 25% entre o primeiro e sexto mês de lactação, enquanto que a lactose, cálcio ionizado e a glicose aumentam mais de 10%, entretanto o cloreto diminui na mesma proporção, visto que estas mudanças são contínuas durante a lactação, diz-se que o leite está sempre em transição e o termo de leite transicional deve ser afastado do vocabulário científico (ALLEN et alii, 1991).

Existe correlação negativa entre a lactose e os oligossacarídeos, comparável com a correlação também negativa existente entre a lactose e as proteínas (proteínas totais, alfa-lactalbumina, lactoferrina, albumina, Ig A, Ig G, Ig M), entre a lactose e os minerais (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , e Mg^{2+}) e entre a lactose e os hormônios (insulina, hormônio do crescimento e hormônio estimulante da tiróide) (KULSKI & HARTMANN, 1981 e VIVERGE et alii, 1990a).

As poucas diferenças significativas encontradas na composição do leite das mamas esquerda e direita, são transitórias e produzidas por alguma modificação nas próprias mamas, como por exemplo as decorrentes de um processo inflamatório, sugerindo que a composição do leite possa ser controlada geneticamente ou que talvez dependa da concentração de hormônios sistêmicos ou de metabólitos aos quais ambas as mamas estão expostas; como eventualmente se pode encontrar diferenças na composição dos nutrientes é recomendável que este seja retirado de ambas as mamas (NEVILLE et alii, 1984).

As concentrações dos nutrientes no leite mudam durante o dia, particularmente quando se considera indivíduos mais do que os grupos, mas as mudanças relativamente importantes se dão nos componentes lipossolúveis, pois estes mudam rapidamente com a composição dos alimentos ingeridos e pela estocagem dentro da glândula mamária onde as gorduras aderem aos ductos e superfícies alveolares retardando o fluxo de saída (BROWN et alii, 1982). No entanto, os constituintes hidrofílicos não se modificam significativamente com a alimentação nem com a estocagem dentro da mama (NEVILLE et alii, 1984).

No início da lactação os níveis dos hormônios esteróides, inibem a produção e secreção do leite sendo que a copiosa secreção do leite após o segundo dia é o resultado da queda dos níveis de progesterona e possivelmente dos estrogênios (NEVILLE, 1988).

RODERUCK et alii. (citados por HARTMANN & PROSSER, 1984) encontraram que o volume de colostro expelido nas primeiras 24 horas após parto só alcançavam 30 ml o que concorda com os resultados achados por HARTMANN & PROSSER, 1984 seja na mulher primípara ou multípara.

O volume médio obtido no segundo dia após parto foi de 175 ml/dia e obtidos por expressão manual e duplicam no terceiro dia de

lactação, sugerindo que o potencial de produção de leite no início da lactação é maior do que o neonato precisa e que pode ser obtido por esvaziamento completo das duas mamas (NEVILLE & OLIVA-RASBACH e DEWEY & LONNERDALL citados por NEVILLE et alii, 1988).

Os neonatos saudáveis e a termo, obviamente possuem nutrientes de reserva que lhes permite enfrentar com sucesso o período de baixo suplemento alimentício (CASEY et alii citado por NEVILLE et alii, 1988). Não obstante, o início do suporte nutricional é particularmente importante para neonatos prematuros ou outros neonatos com requerimento atípico por fluidos ou glicose durante os dois dias após o nascimento, já que nesta etapa o desenvolvimento abrange um limite de ganho de peso maior que em quaisquer outra etapa de sua vida (ZEIGLER et alii citado por ANDERSON, 1984 e NEVILLE et alii, 1988).

Colostro - É um líquido espesso, amarelado (pela alta quantidade de carotenóides), cuja variação de volume (2 a 10 ml/amamentação/-dia) está relacionado em parte à paridade da mãe, sendo maior nas mães multíparas (WORTHINGTON-ROBERTS, 1986).

A composição química do colostro mostra altas concentrações de sódio, cloreto e proteínas e baixas concentrações de lactose, potássio e glicose, sendo marcadamente diferente do leite maduro (KULSKI & HARTMANN, 1981), a composição diferente do colostro é explicada pela presença das vias paracelulares através do epitélio mamários (LINZELL & PEAKER, 1974).

O estabelecimento da lactação acontece com produção média de 700-900 ml/24 horas nas mães bem alimentadas e a amamentação exclusiva pode ser nutricionalmente adequada durante os três primeiros meses após o parto para a maioria de crianças (JELLIFFE & JELLIFFE e WHITEHEAD citados por HARTMANN & PROSSER, 1984). No oeste australiano se encontrou que mães de nível socio-econômico alto produziram 1100 ml/24 horas o que servia para alimentar adequadamente

as crianças durante os primeiros 6 meses de vida (HARTMANN & PROSSER, 1984).

2.4 - O LEITE MATERNO

O leite materno é um fluído biológico específico dos mamíferos, é o primeiro e único alimento do neonato por um período de tempo. Ajuda na proteção do recém-nascido contra os riscos de seu meio ambiente (BLANC, 1981). Ao nascer acontece uma série de mudanças na alimentação do neonato, desde a alimentação parenteral pré-natal a partir do sangue da mãe até o leite que no entanto, é comparável ao sangue em sua composição e significância fisiológica (BLANC, 1981).

A composição do leite de uma espécie em particular, supre seus requerimentos e está relacionada com a proporção de crescimento e mudanças na composição corporal do animal recém-nascido (GURR, 1981). O bebê humano tem grande reserva de gordura corporal e o leite que recebe têm relativamente baixa energia, no entanto o leitão, por exemplo, não tem reservas de gorduras e deve seu prodigioso crescimento a ingestão de um leite com alto conteúdo em energia, proteínas e gorduras (GURR, 1981).

Principais Componentes Nutricionais do Leite Humano

Carboidratos

O carboidrato principal no leite humano é a lactose que contribui com 40% do total de energia deste fluido corpóreo (BLANC, 1981). A maioria dos estudos demonstraram o aumento da lactose no transcurso da lactação, com isto haveria aumento da osmolaridade que serviria para balancear o decréscimo dos outros constituintes do leite, como os íons monovalentes e as proteínas (ALLEN et alii, 1991). Outros oligossacarídeos e glicoproteínas estão presentes no colostro em quantidades superiores as encontradas no leite maduro (MONTREUIL & MULLET, 1959; GRIMMOPREZ, 1971 citado por BLANC, 1981).

A concentração de glicose no início da lactação é de $1,5 \pm 0,1$ mM, três semanas após passa a $1,75 \pm 0,1$ mM, sendo a mesma proporcional ao volume de leite produzido (NEVILLE et alii, 1988, 1990).

A utilização da lactose pelo neonato é bastante eficiente pois a lactase encontra-se em seu pico máximo logo após o nascimento, no entanto, uma pequena quantidade de lactose escapa à digestão e pode ser fermentada no cólon por bactérias já que o leite humano tem uma baixa capacidade tamponante, resultando na diminuição do pH intestinal impedindo o crescimento de *E. coli* no bebê amamentado ao seio (BULLEN & WILLIS, 1971).

Em ratos foi observado que a lactose promove a absorção de Ca^{2+} , Fe^{3+} , mas isto não foi confirmado em humanos (PATRIK & STERLING,; AMINE & HEGSTED, citado por GURR, 1981). Apesar da grande vantagem da lactose como fonte de carboidrato, não se pode dizer que esta seja um nutriente essencial (FOSBROOKE & WHARTON, 1975).

Gorduras

As gorduras são os constituintes mais variáveis do leite humano, tanto em suas quantidades absolutas como na composição (GURR, 1981 e LONNERDALL, 1986). O conteúdo de gorduras no leite humano depende do estado de lactação, sendo maior no colostro que no leite maduro (MACY et alii citado por GURR, 1981), varia com o transcurso do dia (HYTTEN, 1954) e com o "status" nutricional (JELLIFFE & JELLIFFE, 1978; PRENTICE et alii, 1981a,b). Ele é proporcional à quantidade de gordura corporal, sendo menor nas mães desnutridas dos países em desenvolvimento (PRENTICE et alii, 1981a,b; BROWN et alii, 1982).

O leite de vaca é composto na sua maioria por ácidos graxos saturados e é menos afetado pela dieta que o leite dos animais monogástricos, devido a excessiva hidrogenação dos ácidos graxos insaturados realizada no rumen (KEEN & KROGER, citado por GURR,

1981).

Quando a quantidade de gordura na dieta humana é muito baixa se produz marcada elevação dos ácidos graxos de cadeia média, comparada com o que acontece no leite de mulheres com dieta rica em gorduras poliinsaturadas (READ et alii, 1965a,b). O ácido linoléico (ácido cis,cis- 9,12,- octadecanóico) é o principal ácido graxo essencial e deve ser administrado pela dieta ou mobilizado do tecido adiposo, porque ele não pode ser sintetizado (GURR, 1981).

O neonato humano nasce antes de alcançar sua total capacidade para digerir e absorver as gorduras, mas depois de uma semana ele absorve mais de 90% das gorduras do leite humano; no entanto ele só pode absorver 60 - 70% das gorduras do leite de vaca e só depois de vários meses é que o recém-nascido absorve perto de 90% das gorduras provenientes desta fonte alimentícia (FOMON, 1993). Uma das várias razões desta pobre absorção das gorduras do leite de vaca é a baixa solubilidade das grandes cadeias de ácido graxo livre, além da limitação imposta pela baixa concentração de sais biliares do trato digestivo do neonato (JENSEN et alii, 1978).

Proteínas

O leite de vaca contém 3,5 vezes mais proteína que o leite humano e o leite de porca contém 6 vezes mais. (GURR, 1981). A principal proteína no leite humano é a caseína, no entanto ela é diferente da caseína bovina em suas propriedades físico-químicas; assim o precipitado formado pela caseína humana a pH 4,6 é mais solto que o formado pela caseína de vaca (LONNERDALL & FORSUM, 1985); e isto é importante na utilização da proteína pelo neonato (FOMON et alii citado por GURR, 1981; HAMBRAEUS et alii, 1976).

A caseína, como uma classe de proteína, é formada por várias subunidades (α , β e κ caseína), que por sua vez formam micelas

com Ca^{2+} e PO_4^{4-} dando ao leite a cor branca característica, sendo as micelas do leite humano menores que as do leite bovino (LONNERDALL & FORSUM, 1985).

Outras proteínas encontradas no leite são as do soro que são as seguintes:

Lactoferrina - Se encontra em concentração maior que em todos os outros fluidos corporais e BULLEN et alii, 1972 descobriram sua função bacteriostática sobre a *E. coli*, sendo também bacteriostática para *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Pyocyaneus* (ARNOLD et alii, 1977). Esta proteína liga-se fortemente ao ferro não o deixando disponível para os microorganismos como os coliformes que têm alto requerimento deste metal (BULLEN et alii, 1972). Uma segunda função da lactoferrina é a de promover a absorção do ferro e ligar-se ao zinco (LONNERDALL, 1985). A concentração do ferro no soro do leite é a mesma que a da transferrina no sangue mas sua saturação é extremamente baixa (HIRAI et alii, 1990).

α -Lactalbumina - Esta proteína tem alto valor nutricional, a composição de aminoácidos é bem adaptada aos requerimentos nutricionais do neonato, faz parte da lactose sintetase que é a responsável pela síntese da lactose na glândula mamária; ela também tem um sítio ligante de metais e no leite humano liga o cálcio em proporção 1:1 a qual mantém a abundância de cálcio no leite. Foi demonstrado que a ligação com o cálcio tem uma função importante na biossíntese da caseína do leite (LONNERDALL, 1985).

Imunoglobulinas - O colostro é rico em imunoglobulinas, sendo estas proteínas resistentes à proteólises, atravessam facilmente o trato gastrointestinal, impedindo a adesão de microorganismos à mucosa e a posterior colonização do intestino do neonato por estes elementos (HANSON et alii, 1978).

Albumina - sem outra importância biológica que a de fornecer

aminoácidos, não obstante têm se encontrado que tirosina, zinco, e cobre estão associados com albumina (LONNERDALL et alii, 1982; LONNERDALL, 1985).

Lisosima - o leite humano tem alta concentração de lisosima, que cataliza o clivagem das ligações entre os ácidos N-acetilglicosamina e N-acetilmurâmico, os quais são parte da estrutura da parede celular das bactérias gram-positivas, além disto, tem sido sugerido que ela também funciona como bacteriostática no trato gastrointestinal do neonato alimentado com leite materno (LONNERDALL, 1985).

Outras proteínas presentes em quantidades muito menores são entre outras: a α -amilase, galactosiltransferase, sulfidriloxidase, lactoperoxidase, proteases, proteína ligadora de folato, proteína ligadora de vitamina B₁₂, proteína ligadora de tiroxina e a proteína ligadora de corticostéroides (LONNERDALL, 1985).

Composição de Aminoácidos das Proteínas do Leite Humano

As proteínas do leite humano têm composição de aminoácidos adequados aos requerimentos do neonato, sendo que proteínas de outras fontes têm padrão de aminoácidos subótimas, deficiente em um ou mais aminoácidos e um excesso de outros, resultando em incremento da concentração de uréia, amônia e alguns aminoácidos no sangue, como acontece com o leite bovino (HAMBRAEUS et alii, 1978). A maior diferença está na razão de cistina:metionina que no leite humano é dado pelas proteínas do soro que têm uma razão cistina:metionina 10 vezes maior do que a caseína (GURR, 1981).

O leite humano contém taurina que está ausente no leite de vaca e que desempenha funções especiais como agente conjugante dos ácidos biliares, assim como em funções do sistema nervoso central (STURMAN et alii; VESSEY citados por HARZER et alii, 1986). Parece que nos neonatos os ácidos biliares conjugados à taurina, contribuem

com a acidez do meio intestinal favorecendo a colonização bífida (LONNERDALL, 1985).

O nitrogênio não protéico (NPN) representa 24% do nitrogênio total do leite humano (LONNERDAL et alii, 1976) e é derivado, ao menos em parte, do plasma sanguíneo. As mudanças no NPN do plasma aparecem imediatamente no leite e a glândula mamária deve ser considerada como uma fonte potencial de NPN, assim como um regulador do conteúdo de aminoácidos (DONOVAN et alii, 1991).

Minerais

O leite de vaca tem alta concentração de Na^+ e K^+ e baixa concentração de Ca^{2+} e PO_4^- ao passo que o leite humano têm baixo conteúdo de ferro comparado com outros leites, no entanto o colostro humano têm de 3 a 5 vezes mais ferro que o leite maduro (VAUGHAM et alii, 1979). Uma parte do ferro existente no leite está ligado a uma das maiores proteínas antimicrobianas, a lactoferrina (BULLEN et alii, 1972). O zinco no leite de vaca está associado com compostos de alto peso molecular e no leite humano está associado com compostos de baixo peso molecular (ECKHERT et alii, 1977). O cálcio do leite humano é melhor absorvido que o cálcio do leite bovino (FOMON citado por GURR, 1981) e sua concentração é afetada pelas condições alimentares da mãe (LONNERDALL, 1986) e diminui em cerca de 30% aos nove meses após parto (VAUGHAM et alii, 1979).

Vitaminas

Vitaminas Lipossolúveis - A vitamina A se encontra no leite como retinol ou como pró-vitamina A. No colostro a atividade desta vitamina é duas vezes maior que no leite maduro e sua concentração depende da dieta materna (MACY & KELLY citados por GURR, 1981). Os níveis de vitamina A são mantidos pelos níveis da proteína trans-

portadora de retinol (RBP), tendo sido observado que as mulheres de baixo nível econômico têm baixo nível de RBP, sendo também baixo o nível de ésteres de retinil, possivelmente devido à esterificação insuficiente da glândula mamária (LONNERDALL, 1986).

A vitamina E é abundante tanto no leite vaca quanto no leite humano (GURR, 1981). O leite humano contém α , β , γ , e δ -tocoferol, sendo que no leite maduro a maior parte está na forma α -tocoferol com 61,7 μ /g de lipídio (KOBAYASHI et alii citado por BLANC, 1981). Existe uma interrelação entre vitamina E e o metabolismo dos ácidos graxos poliinsaturados; o aumento de mais de 10% de ácidos graxos poliinsaturado favorece a peroxidação no leite humano o que provoca o aumento nas necessidades de vitamina E, pois esta vitamina tem função antioxidante (BLANC, 1981).

Foi calculado que os requerimentos de vitamina E para o neonato é equivalente a 1,8 mg de α -tocoferol/l presente no leite humano, no entanto quando este leite contém 30 g de gordura e 300 g de ácido linoléico por litro e quando a criança é a termo, ela necessita 300 mg de ácido linoléico e pelo menos 0,7 UI de vitamina E/g de ácido linoléico (JENSEN et alii, 1978).

Vitaminas hidrossolúveis - A concentração de todas as vitaminas do complexo B são maiores no leite de vaca do que no leite humano, mas em mães bem alimentadas cujas dietas têm quantidades suficientes destas vitaminas, as concentrações no leite são adequadas para seis meses de lactação (THOMAS et alii, 1980). Quanto ao ácido ascórbico ou vitamina C foi encontrado que o seus níveis no leite humano são diretamente afetados pela dieta materna, mas existe uma tendência a manter os níveis desta vitamina para que não seja afetado pelo excesso da suplementação dietética (THOMAS et alii, 1980).

Componentes Antimicrobianos ou Protetores do Leite

O leite humano contém imunoglobulinas e elementos não imunoglobulínicos que contribuem para a proteção do neonato contra agentes produtores de diarreia e outras doenças (NEWBURG, 1990).

A principal imunoglobulina é a Ig A, que se encontra no colostro em quantidade acima de 50mg/ml, diminuindo no leite maduro para 1mg/ml (CHANDRA, 1979). Como esta imunoglobulina não será absorvida pelo intestino do neonato, sua função é a de neutralizar as toxinas, prevenir a adesão de vírus, bactérias e a absorção de antígenos alimentares (WELSH & MAY, 1979).

Todas as imunoglobulinas estão presentes no leite humano, sendo que a Ig A está em maior concentração e possui estrutura antigênica característica dos anticorpos séricos (HAVEZ et alii, citado por MATA & WYATT, 1971). Além disso, a Ig G encontrada no leite humano tem atividade de anticorpo para uma grande variedade de vírus, rickettsias, protozoários bem como para as antitoxinas bacterianas (MATA & WYATT, 1971).

Fatores Antimicrobianos não específicos

Ácidos graxos- Os ácidos graxos saturados de cadeia média ($C_{8:0}$ - $C_{12:0}$) e os insaturados de cadeia longa ($C_{18:1}$ e $C_{18:2}$) são os que particularmente têm atividade antimicrobiana sobre os microorganismos Gram-positivos mas não sobre os Gram-negativos (KABARA et alii, 1977).

2.5 - GRAVIDEZ E LACTAÇÃO NA ADOLESCÊNCIA

O termo adolescência têm sido definido como o período de vida compreendido entre 10 e 19 anos de idade, ao passo que jovens são os indivíduos localizados entre 10 e 24 anos (OMS, 1989). No

entanto, a verdadeira adolescência é o período onde acontece o amadurecimento físico, psicológico e social, é a passagem da infância para a idade adulta, podendo acontecer em qualquer idade dentro desse limite etário (OMS, 1989). O desenvolvimento apresentado na adolescência é geralmente irregular, onde a maturidade física pode ser a concluída com o progresso da maturidade psicológica ou social (OMS, 1989).

O crescimento repentino da adolescente é uma constante que ocorre em todas as crianças, embora varie em intensidade e duração de uma criança para outra (TANNER, 1981). Para enfrentar a série de mudanças que se apresentam no organismo do adolescente, suas necessidades nutricionais estão grandemente aumentadas (DWYER, 1981).

Existe grande variação no tempo em que se inicia a explosão do crescimento, no entanto a sequência de eventos é ligeiramente constante. Na menina, o aparecimento do broto da mama é uma norma como o primeiro sinal da puberdade e é algumas vezes precedido pelo aparecimento dos pelos púbicos (TANNER, 1981). O útero e a vagina desenvolvem-se simultaneamente com as mamas, sendo que a menarca acontece invariavelmente depois que foi ultrapassado o pico de altura, indicando o provável e definitivo estado maduro do desenvolvimento uterino (TANNER, 1981; WORKING GROUP ON NUTRITION AND PREGNANCY IN ADOLESCENCE, 1971). Geralmente isto não significa que a menina alcançou o completo amadurecimento de sua função reprodutiva, sendo necessário uma medida do desenvolvimento da idade ou do amadurecimento fisiológico, que verdadeiramente será mais representativo do que a idade cronológica (TANNER, 1981).

Este fato, impulsionou pesquisadores a buscar uma medida de maturação biológica ajustada às variações individuais e, ao mesmo tempo, capaz de traduzir de maneira simples e objetiva o grau de desenvolvimento físico em qualquer momento durante a adolescência. Assim introduziram-se os termos como "idade fisiológica", "idade dentária", "idade morfológica" e "idade óssea" que por motivos de

limitações na aplicabilidade clínica são pouco usadas (TANNER citado por MOTTA, 1993; STEVENS-SIMON et alii, 1986).

A maneira simples, prática e ajustada às variações individuais, capaz de medir o desenvolvimento físico em qualquer momento durante a adolescência é a determinação da "idade ginecológica", definida como a diferença entre a idade cronológica e a idade da menarca (WORKING GROUP ON NUTRITION AND PREGNANCY IN ADOLESCENCE, 1971; ZLATNIK & BURMEISTER, 1977).

O pico máximo da curva do ganho ponderal na adolescente é acompanhado pelo aparecimento da menarca e ocorre a desaceleração do crescimento máximo entre os 12 a 18 meses após ter sido atingido o pico máximo do crescimento físico, logo a maior parte do crescimento da menina foi alcançado antes que ela chegue à idade reprodutiva (NELSON, 1978 e BEAL, 1981). Não obstante, as variações do tempo no aparecimento do estirão puberal faz com que a idade ginecológica e a cronológica sejam indicadores pobres do crescimento potencial da adolescente (STEVENS-SIMON & McANARNEY, 1988).

A incidência de adolescentes gestantes vem aumentando mundialmente, em todos os níveis sociais e étnicos (SUGAR, 1991) fato considerado problema de saúde pública tanto nos países desenvolvidos como nos países em vias de desenvolvimento (NAEYE, 1981; FRISANCHO et alii, 1983; OMS, 1989). É de particular interesse a atenção deste fato nos países em desenvolvimento onde mais da metade da população tem menos de 25 anos de idade (OMS, 1989).

As maiores mudanças no comportamento social e sexual das adolescentes foram, em geral, decorrentes da melhoria da nutrição e da saúde o que provocou o aumento no crescimento físico e a diminuição na idade da maturação sexual. Outras mudanças foram as decorrentes da menor influência familiar sobre a adolescente e o aumento da urbanização e das migrações (WORTHINGTON-ROBERTS & REES, 1986).

No Brasil, a estimativa do número de nascimentos de mães adolescentes em 1970 foi de 395.000; havendo aumento de 42% até 1985 entre as mulheres de 15 a 19 anos, não existindo evidências estatísticas de que a atividade sexual variou entre as adolescentes de diferentes níveis de renda. No entanto, a maior parte das mães adolescentes são solteiras com baixa escolaridade e a maioria são procedentes de áreas rurais (HENRIQUES et alii, 1989). Estas mães adolescentes que interrompem sua educação em idade precoce terão menor chance de contribuir com seu talento para a sociedade e, com os frutos de seu trabalho, para a manutenção da própria família. Alguns economistas enfatizam a forte conexão entre pobreza feminina (desvantagem social em geral) e maternidade precoce, particularmente quando a mãe também é solteira; logo, a maioria das crianças que vivem com mães solteiras e adolescentes crescem em condições de pobreza (HENRIQUES et alii, 1989).

ERKAN et alii citado por MOTTA, 1993, sugeriram que o maior risco da gravidez na adolescência acontece dois anos após a menarca. Este dado foi confirmado por ZLATNIK & BURMEISTER, 1977, os quais concluíram que o baixo peso de neonatos de mães adolescentes está relacionado com a baixa idade ginecológica.

Embora se saiba que na mulher adulta, o "status" nutricional materno e os fatores hereditários sejam importantes fatores no crescimento prenatal, o mesmo conceito não pode ser extrapolado para a adolescente grávida, porque ela está em crescimento e ainda não atingiu sua maturidade fisiológica; então, seus requerimentos nutricionais são maiores que os da mulher adulta o que resultaria numa competição na demanda nutricional com o feto (LAVELLE & MOERNA, 1982 e FRISANCHO et alii, 1983).

Os primeiros trabalhos mostraram que a gravidez na adolescência está associada com neonatos de baixo peso, aumento da anemia, toxemia, alta prevalência de contrações, trabalho de parto

demorado (NAEYE, 1979; BEAL, 1981; OMS, 1989), malformações fetais (STEVEN-SIMON & MCANARNEY, 1988; MOTTA, 1993) e inadequado ganho de peso materno (REES et alii, 1992).

Apesar das controvérsias nos trabalhos acima relacionados que enfatizam as consequências da gravidez na adolescência, principalmente, aquelas devido a imaturidade biológica e fisiológica, existem evidências que estas gestantes apresentam características biológicas compatíveis com desempenho obstétrico satisfatório, mostrando as mesmas complicações puerperais que as encontradas nas gestantes adultas, além do que seus filhos apresentam desempenho perinatal semelhantes aos filhos de mulheres adultas quando avaliados através do peso, apgar, mortalidade, malformações congênitas e estado geral de saúde (PINTO E SILVA, 1984; MOTTA, 1993).

Em relação ao aleitamento materno, assim como a composição do leite da mãe adolescente, existe um número muito limitado de trabalhos na literatura mundial. A maioria dos trabalhos sobre a amamentação na adolescente, indicam que estas mães amamentam menos os seus filhos quando comparadas com as mulheres adultas (RYAN et alii, 1991; HIRSCHMAN & SWEET, 1974).

PETERSON & DAVANZO, 1992 mostraram que dependendo da associação das características étnicas e sócio-econômicas as adolescentes amamentam menos os seus filhos. Assim, segundo estes autores as adolescentes de raça negra amamentam menos que as adolescentes brancas e esta relação decorreria do fato que geralmente as mães negras têm menor nível educacional, menor renda e geralmente são solteiras, além do fator próprio do desenvolvimento da psicologia da adolescente, onde existe uma grande preocupação com sua imagem corporal e uma grande egocentricidade, visto que nesta fase da vida ela não adquiriu individualidade, autoconfiança e amadurecimento da personalidade para ter capacidade de raciocínio e habilidade para resolver seus problemas (WORTHINGTON-ROBERTS & REES, 1986).

Isto é contrastante, visto que as mães adolescentes seriam as que mais poderiam beneficiar-se com as vantagens do aleitamento materno, porque seus filhos são geralmente menos saudáveis que os nascidos de mães adultas e estão expostos a ambientes mais insalubres, então as propriedades imunológicas do leite materno desempenhariam um papel muito importante na manutenção do estado saudável destas crianças (PETERSON & DaVANZO, 1992).

Quanto a composição do leite materno das adolescentes, LIPSMAN et alii, 1985 encontraram altos valores de proteínas quando comparado com os de mães adultas, mas, no entanto, essas diferenças não foram significativas. Por outro lado, BRASIL et alii, 1991 observaram que a alta concentração de proteínas no leite de adolescentes era altamente significativa quando comparada com as mães adultas.

LIPSMAN et alii, 1985 encontraram que a concentração de lactose no leite das mães adolescentes foi significativamente menor do que a das mães adultas; dados semelhantes foram observados para o conteúdo de magnésio, cálcio, potássio e sódio. Foi encontrada menor concentração do ácido linolênico (18:3 ω 3) no colostro de mães adolescentes de maior idade ginecológica (ARRUDA, 1992) e no leite de mães adolescentes de baixo nível econômico foi observado altas concentrações de ácido láurico (12:0) e mirístico (14:0) (BRASIL et alii, 1991).

Foi ainda observado que não existem fatores que limitem a amamentação na adolescência, nem os decorrentes do curto intervalo de tempo entre a menarca, gravidez e estabelecimento da atividade secretória nem pela baixa idade da mãe (COELHO, 1988 e LAURINDO et alii, 1992). Os fatores que limitariam o estabelecimento da amamentação nas adolescentes seriam unicamente de ordem psico-sócio-econômico (PETERSON & DaVANAZO, 1992).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo desta pesquisa foi previamente aprovado pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Tocoginecologia da FCM-UNICAMP em Janeiro de 1991.

3.1. MATERIAIS

Foram coletadas amostras de colostro de 89 nutrizes do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher - CAISM/UNICAMP, as quais tinham previamente dado o consentimento verbal depois da explicação do protocolo de estudo.

Estas mães foram selecionadas com base nos seguintes critérios:

- Paridade :
Primíparas e sem história de abortos.
- Idade Cronológica:
Nutrizes adultas : 20 a 29 anos
Nutrizes Adolescentes : 12 a 19 anos
- Idade da Menarca e ginecológica:
Idade da menarca nas nutrizes adultas e adolescentes.
Idade ginecológica (tempo transcorrido desde a menarca até o parto nas adolescentes):
ADO1 = Idade ginecológica $\leq$ 3 anos
ADO2 = Idade ginecológica $>$ 3 anos
- Idade Gestacional:
Acima de 37 semanas de gravidez, calculados a partir da data da última menstruação e confirmadas através do exame físico (CAPURRO et alii, 1978).
- Ausência de intercorrências patológicas durante a gravidez como: edema generalizado, diabetes, cardiopatias, doenças hipertensivas específica da gravidez (DHEG) anemias e outras.
- Estágio de Lactação:

De 24 a 48 horas (segundo dia após parto)

Uma vez selecionadas as puérperas voluntárias foram cadastradas e identificadas (Ficha N° 1, Anexo), submetidas aos inquéritos obstétrico (Ficha N° 2, Anexo), sócio-econômico (Ficha N° 3, Anexo) e finalmente foi coletado o colostro.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. IDENTIFICAÇÃO DA NUTRIZ

Os dados observados nas Fichas de 1 a 3 (Anexo) foram obtidos através de consulta ao prontuário de internação e completados ou confirmados pela própria nutriz.

No inquérito sócio-econômico a renda mensal per capita foi obtida em cruzeiros e convertidos em salários mínimos (S.M.) vigente no mês da coleta, sendo em seguida dividida pelo número total dos indivíduos constituintes da família. O grau de escolaridade (G.E.) foi classificado da seguinte forma:

Primeiro Grau : Completo (PC) ou Incompleto (PI)

Segundo Grau : Completo (SC) ou Incompleto (SI)

Superior : (SUP)

3.2. COLETA DO COLOSTRO

As amostras foram coletadas no Alojamento Conjunto do CAISM/ UNICAMP, entre 24 e 48 horas após o parto, entre as 13 e 18 horas e no intervalo máximo de 30 minutos após a última mamada.

Coletaram-se as amostras de colostro de cada nutriz seguindo o método de extração manual, precedido de massagens circulares em vários pontos das mamas para facilitar a extração (BROWN et alii, 1982 & NEVILLE et alii, 1984).

As alíquotas coletadas de colostro variaram entre 7 e 25 ml, as quais foram guardadas em frascos de vidro âmbar ou de plástico (capacidade de 15 a 30 ml), previamente identificados e colocados imediatamente em caixa de isopor contendo gelo para que estas fossem transportadas até o laboratório de Pesquisas Bioquímicas CAISM/UNICAMP.

No laboratório as amostras foram desengorduradas por centrifugação usando-se a centrífuga refrigerada BECKMAN modelo J2-21 a 100xg/15'/2°C. A seguir a mostra foi filtrada em lã de vidro e guardada a -180C até o momento da determinação dos ácidos siálicos (HIRANO et alii, 1966).

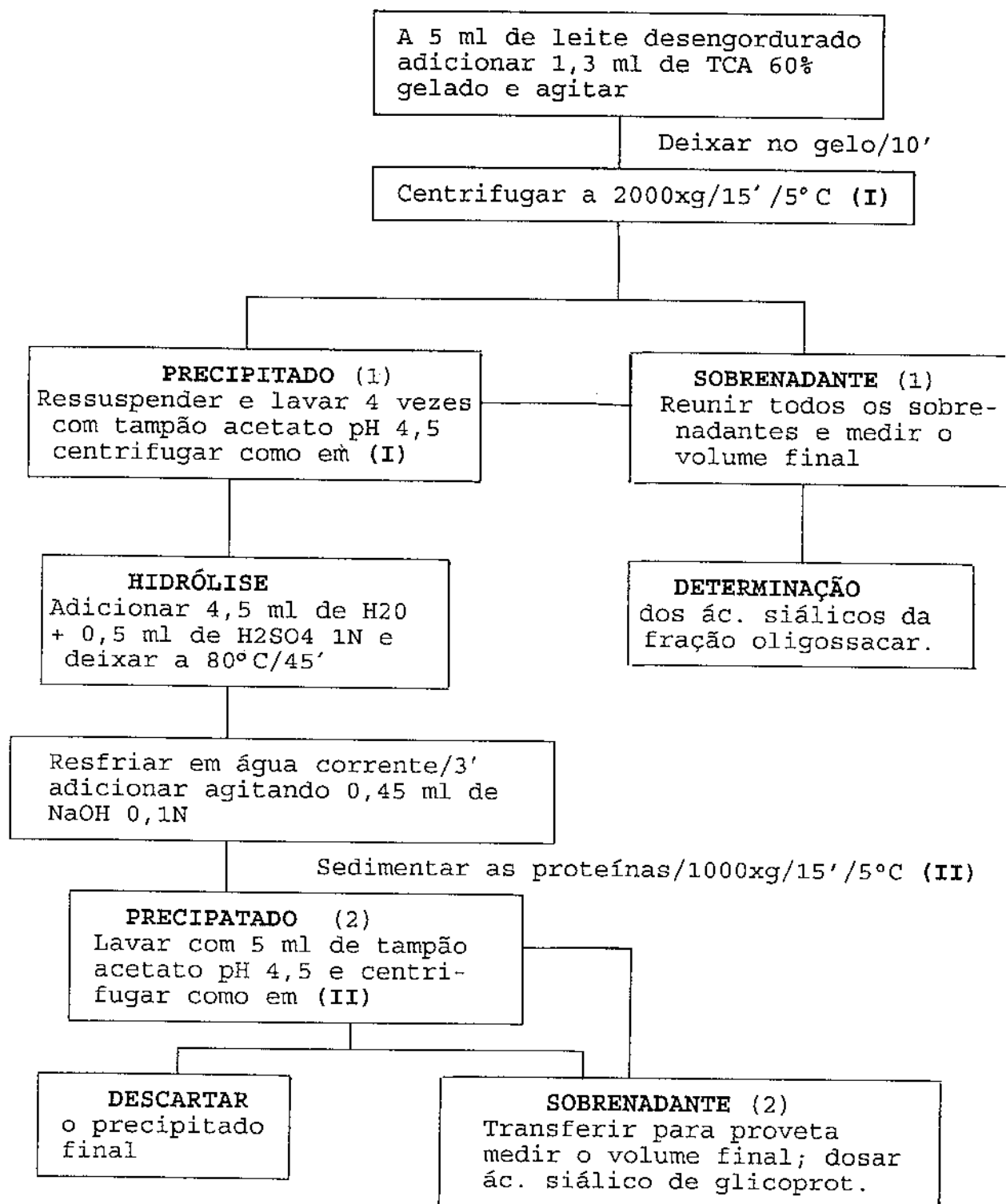
3.2.3. DETERMINAÇÃO DOS ÁCIDOS SIÁLICOS NO COLOSTRO

3.2.3.1. Extração dos Ácidos Siálicos ligados às Proteínas e Oligossacarídeos do Colostro

A proteína contida no colostro foi extraída pela adição de TCA (ácido tricloro acético) 12% (1,3ml de TCA a 60% para 5ml de colostro) (MARIER et alii, 1963). Depois a amostra foi centrifugada em centrífuga refrigerada BECKMAN modelo J2-21 a 2000xg/15'/5°C. O sobrenadante recolhido foi guardado e o precipitado de proteína lavado por 5 vezes por suspensão em alíquotas de 5 ml de tampão acetato pH 4,5 (MARIER et alii, 1963). Os sobrenadantes obtidos após cada lavagem do precipitado inicial foram adicionados ao sobrenadante da precipitação por TCA a 12% e anotado o volume final que foi de 25 ± 5 ml (Figura 4). A lavagem extensiva do precipitado inicial foi necessária para que fosse removida a lactose, a qual interfere na medida dos ácidos siálicos, dando uma cor laranja a 490 nm (MARIER et alii, 1963).

Todo o ácido siálico contido na fração protéica foi considerado como estando na forma de glicoproteína e os ácidos siálicos determinados na fração desproteinizada (sobrenadante) foram considerados como estando complexado aos oligossacarídeos (BEZKOROVAINY & NICHOLS, 1976).

FIGURA 4 - ESQUEMA DA EXTRAÇÃO DOS ÁCIDOS SIÁLICOS DO COLOSTRO



3.2.3.2. Liberação e Determinação dos Ácidos Siálicos da Fração Protéica.

A fração protéica (precipitado) foi submetida a hidrólise para liberar os ácidos siálicos das ligações glicosídicas (GOTTSCALK citado por SCHAUER, 1987).

Esta hidrólise foi realizada pela adição de 4,5 ml de H_2SO_4 0,1 N e submetido a 80°C por 45 minutos; a reação de hidrólise foi terminada colocando-se os tubos de ensaio sob jato de água fria por 3' e logo após adicionando 0,45 ml de NaOH 0,1 N com agitação constante (MARIER et alii, 1963).

O precipitado de proteína foi sedimentado por centrifugação a 1000 x g/5'/50°C, o sobrenadante foi decantado para uma proveta. O precipitado foi lavado mais uma vez com tampão acetato pH 4,5, novamente centrifugado sob as mesmas condições e o sobrenadante adicionado ao anterior, anotando-se o volume final que foi de 10,3 ml $\pm$ 0,5 ml.

Foram usadas alíquotas desta solução aquosa para determinar-se o ácido siálico da fração protéica (MARIER et alii, 1963) pelo uso do método do ácido tiobarbitúrico (WARREN, 1959), que é um método muito sensível e aplicado às amostras muito diluídas, como foi o caso deste estudo.

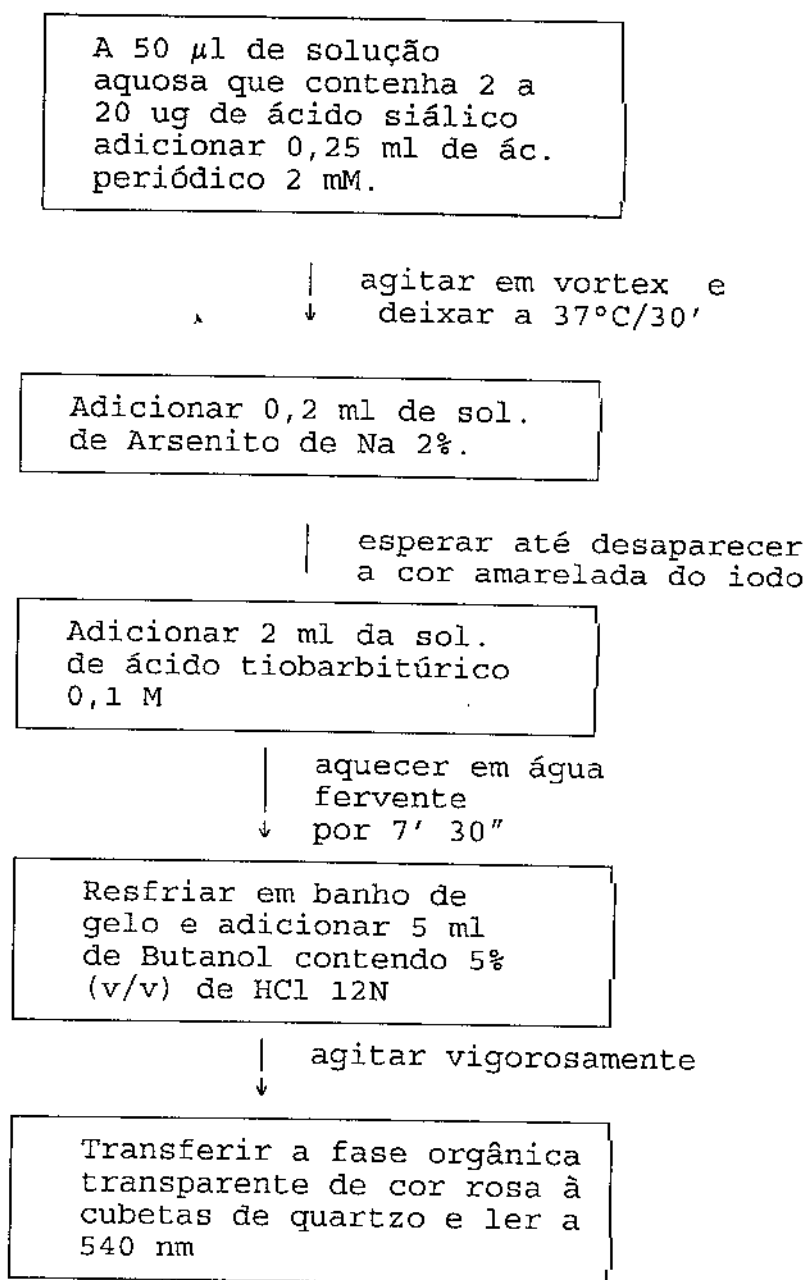
Método do Ácido Tiobarbitúrico: foi empregado o método de SCHAUER, 1987 resultante das modificações realizadas por AMINOFF, 1961 do método original de WARREN, 1959.

Reagentes:

- Ácido N-Acetilneuramínico (Sigma) 1mM dissolvido em água e ajustado a pH 5 com bicarbonato de sódio
- Ácido Periódico, 2 mM em 0,125 N de H_2SO_4
- Arsenito de Sódio 2% em HCl 0,5N

- Ácido 2-tiobarbitúrico 0,1M ajustado a pH 9 com NaOH concentrado.
- n-Butanol contendo 5% de HCl 12 N (v/v)

FIGURA 5 - ESQUEMA DE DOSAGEM DOS ÁCIDOS SIÁLICOS PELO MÉTODO DO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (SCHAUER, 1987)



Procedimento:

A reação foi realizada em tubos de centrífuga com tampa de rosca. A 50 μ l de uma solução aquosa contendo de 2 a 20 μ g de ácido siálico livre adicionou-se 0,25 ml de ácido periódico. A oxidação pelo ácido periódico foi realizada a 37°C/30'. Logo após, foi adicionado 0,2 ml da solução de arsenito de sódio para destruir o excesso de periodato formado. Depois do desaparecimento da cor amarela (2 minutos) era adicionado 2,0 ml da solução de ácido tiobarbitúrico. A mistura foi aquecida por 7,5 minutos em água fervente e em seguida esfriada em banho de gelo. O cromóforo formado foi extraído por agitação vigorosa com 5,0 ml butanol contendo 5% de HCl 12 N (v/v). Depois de centrifugada a 3000xg/5'/5°C, a fase orgânica clara foi transferida para cubetas de quartzo e a concentração medida a 540 nm de absorbância (FIGURA 5). O branco usado foi obtido pela substituição da amostra por água e o padrão Sigma utilizado foi uma solução que continha 10 μ g de ácido N-acetil-neuramínico. Os resultados foram dados em miligramas por decilitros (mg/dl).

3.2.3.3. Determinação dos Ácidos Siálicos da Fração Oligossacarídica

Para determinar-se os ácidos siálicos na fração sobrenadante foi usado o método do periodato-resorcinol que determina os ácidos siálicos livres e os glicosidicamente ligados sem a hidrólise prévia (JOURDIAN, 1971) o que diluiria mais a amostra original já que esta foi anteriormente submetida a exaustivas lavagens com tampão acetato. Além disso, o método do ácido tiobarbitúrico, como outros métodos já descritos é conhecido por dar resultados falsos-positivos na presença de outras substâncias, particularmente dos açúcares neutros (AMINOFF, 1961), que no caso do colostro seria, principalmente, lactose.

Este método não pôde ser aplicado ao colostro total,

pois o precipitado protéico, dado principalmente pela caseína, alteraria o resultado final da reação.

Método do Periodato/Resorcinol: (JOURDIAN et alii, 1971)

Reagentes:

- Ácido periódico 0,04M
- 0,6g de resorcinol numa solução que contém 60,0 ml de HCl 28%, 40,0 ml de água e 25,0 μ moles de CuSO_4
- Álcool ter-butílico 95%

Os reagentes da prova (ácido periódico e resorcinol) foram preparados na hora de uso, a partir das soluções *stock* de ácido periódico 0,4M e da solução de resorcinol 6%. As soluções *stock* são estáveis por varias semanas a -19°C e no escuro, foram guardadas nessas condições no freezer do laboratorio. O álcool ter-butílico, foi guardado a temperatura ambiente.

Procedimento :

A uma alíquota do sobrenadante que continha aproximadamente 200 μ g de ácido siálico num volume mínimo de 0,5 ml foi adicionado 0,1 ml da solução de ácido periódico 0,04M. Depois misturou-se com agitação vigorosa deixou-se em banho de gelo por um período de 35 minutos. Foi adicionado 1,25 ml do reagente de resorcinol, após a mistura foi agitada e deixada em banho de gelo por 5 minutos. Após foi aquecida a 100°C por 15 minutos, esfriada em jato de água fria e posteriormente foi adicionado 1,25 ml álcool ter-butílico 95%; agitou-se vigorosamente até a obtenção de uma fase única, em seguida colocou-se a 37°C por 3 minutos para finalmente se medir a absorbância a 626 nm. (Figura 6). Os resultados foram expressos em miligramas por decilitros (mg/dl).

FIGURA 6 - ESQUEMA DE DOSAGEM DOS ÁCIDOS SIÁLICOS PELO
MÉTODO DO PERIODATO/RESORCINOL (JOURDIAN, 1971)

A uma alíquota de amostra
contendo 0,20 ug de ácido
siálico em 0,5 ml adicio-
nar 0,1 ml de ácido periód-
ico 0,04 M

| misturar vigorosamente e
↓ deixar em gelo por 35'

Adicionar 1,25 ml da sol. de
resorcinol 0,6%

| misturar e deixar em gelo/
5', aquecer a 100°C/15' ...
↓ e resfriar em água

Adicionar 1,25 ml de álcool ter-
butílico 95%

| misturar vigorosaente até
dar uma fase única e deixar
↓ a 37°C/3'

Medir a absorbância a 626 nm

3.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram utilizadas análises estatísticas descritivas com cálculo de percentagem, médias e desvio padrão ($X \pm DP$) e testes não paramétricos, já que a maioria das variáveis estudadas não apresentaram distribuição normal (LEVIN, 1987).

Os testes não paramétricos usados foram os seguintes:

- Mann-Whitney: Utilizado na comparação dos grupos de Nutrizes adultas e adolescentes e foi fixado o nível de 5% ($p \leq 0,05$) para a rejeição da hipótese de nulidade, sendo indicado nos resultados como não significativo quando $p > 0,05$.

- Kruskal-Wallis: Utilizado na comparação de três grupos quando se compararam mães adultas, mães adolescentes com idade ginecológica ≤ 3 anos (ADO1) e adolescentes com idade ginecológica > 3 (ADO2), sendo não significativo quando $X^2 < 5,991$ para g.l. = 2.

4. RESULTADOS

4.1. DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS OBTIDAS CONSIDERADAS NA DEFINIÇÃO DA AMOSTRA

4.1.1. Variáveis Biológicas

4.1.1.1. Idade Cronológica - as Tabelas 1 e 2 mostram a distribuição das frequências absolutas e relativas (%) por idade das mães adolescentes e adultas. As mães adolescentes entre 13 e 15 anos, que representaram as de menor idade cronológica da população estudada, constituíam 32,6% do total de adolescentes. Nas mães adultas a faixa etária mais representativa foi a que estava entre 20 e 21 anos de idade, respondendo por 48,8% da amostra estudada. A figura 7 mostra detalhadamente este estudo.

Tabela 1 - Distribuição da idade nas
Mães Adolescentes.

IDADE	FREQUÊN ABSOLU. (N)	FREQUÊNCIA RELATIVA (%)
13	01	2,173
14	03	6,521
15	11	23,91
16	09	19,56
17	11	23,91
18	10	21,73
19	01	2,196
TOTAL	46	100

Tabela 2 - Distribuição de Idades
nas Mães Adultas

IDADE	FREQÜÊN. ABSOLU- TA (N)	FREQÜÊN. RELATIVA (%)
20	12	27,9
21	09	20,9
22	04	9,3
23	06	13,95
24	02	4,65
25	03	6,97
26	02	4,65
27	03	6,95
29	02	4,65
TOTAL	43	100

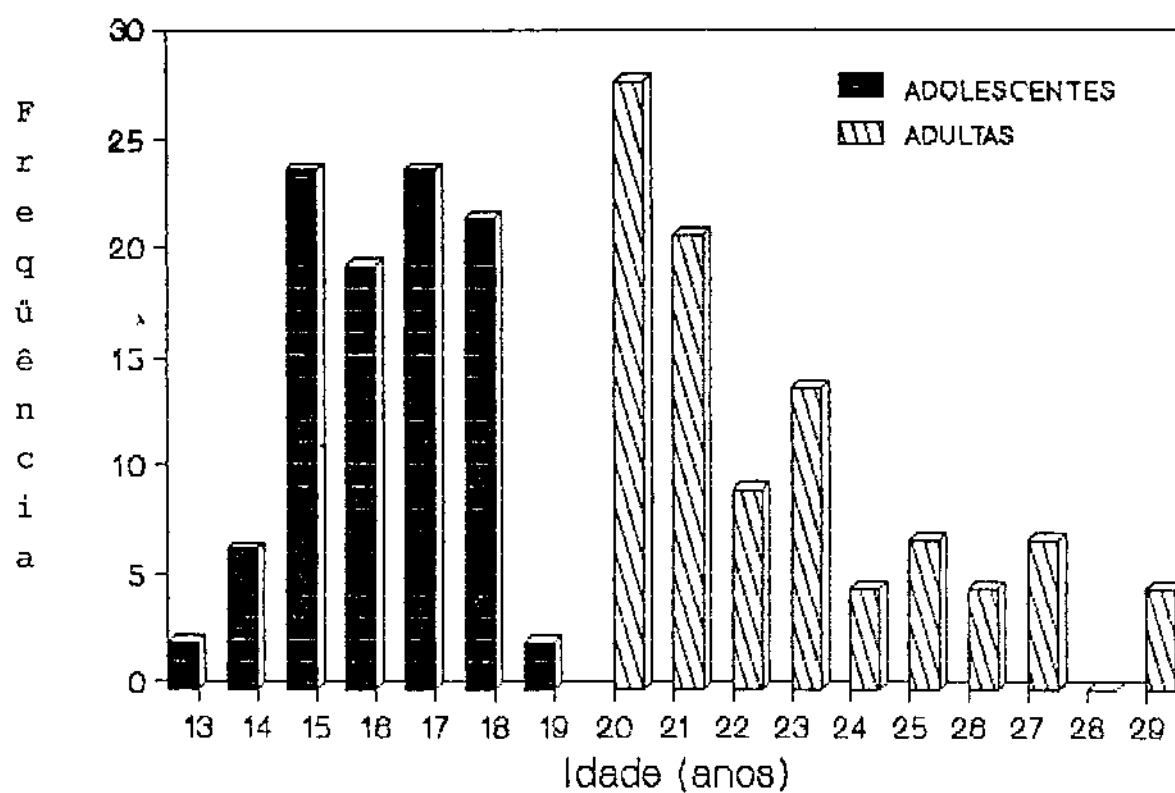


Figura 7 - Idade: Distribuição nas Mães Adolescentes e Adultas

4.1.1.2. Idade da Menarca e Ginecológica - a média de idade da menarca nas adolescentes foi de 12 anos $\pm$ 1,2 e nas adultas foi de 13 anos $\pm$ 1,6 (Figura 8) não existindo diferenças significativas entre ambos grupos em relação a este parâmetro. Em relação a idade ginecológica (tempo entre a menarca e o parto), 36,95% das nutrizes adolescentes tinham 3 anos ou menos, 32,6% tinham 4 anos e 30,45% tinham 5 anos ou mais (Figura 9).

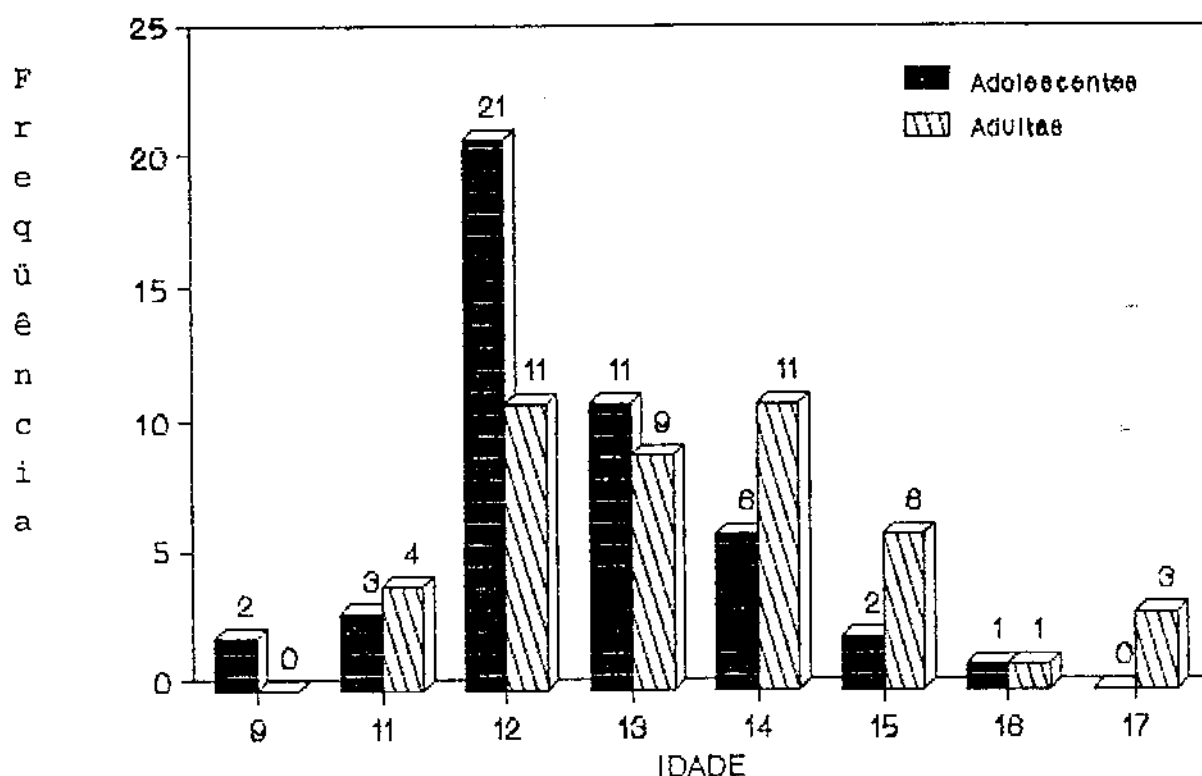


Figura 8 - Menarca: Idade das Mães Adolescentes e Adultas

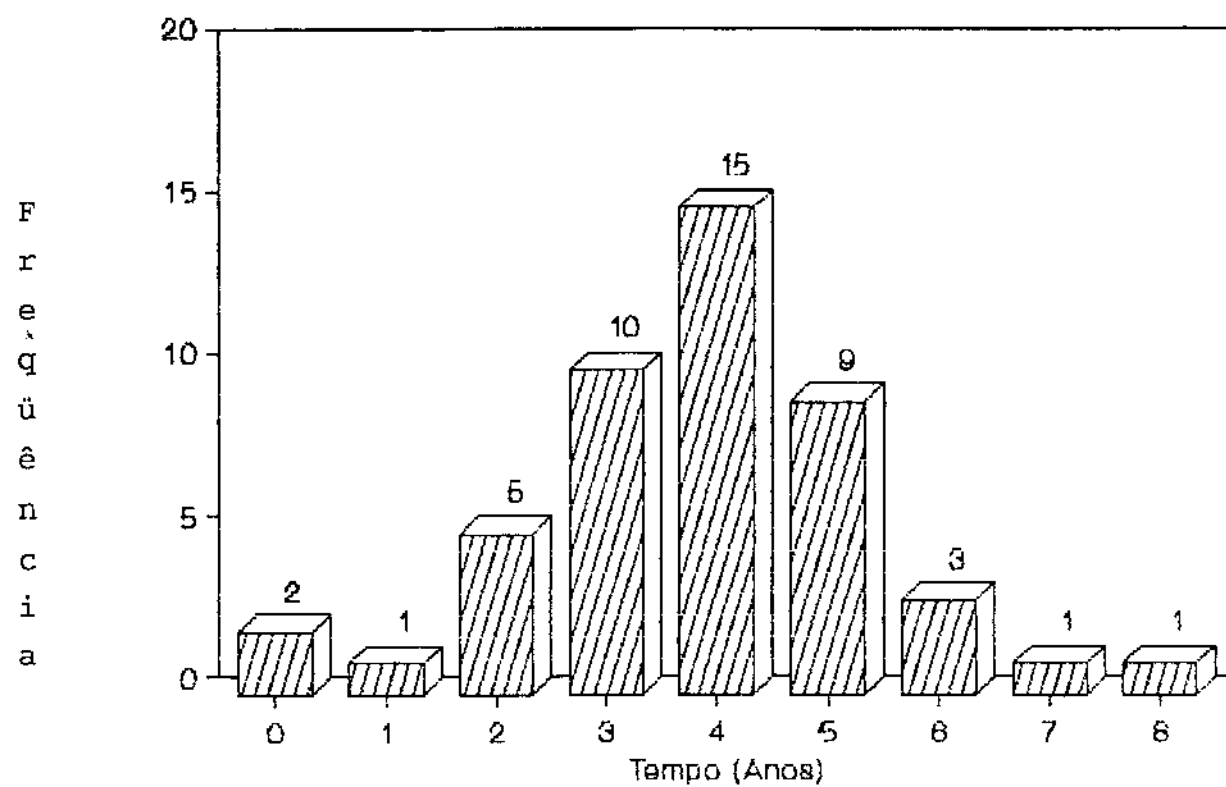


Figura 9 - Idade Ginecológica: Distribuição nas Mães Adolescentes.

4.1.1.3. **Estatura Materna** - a estatura média das nutrizes adolescentes foi de 156,0 cm $\pm$ 0,063 e das adultas 156,0 cm $\pm$ 0,053, não existindo diferenças estatisticamente significativas nem mesmo quando foram comparadas as idades ginecológicas, onde foi obtido $\chi^2 = 0,6565$ (Figura 10).

g.l. = 2

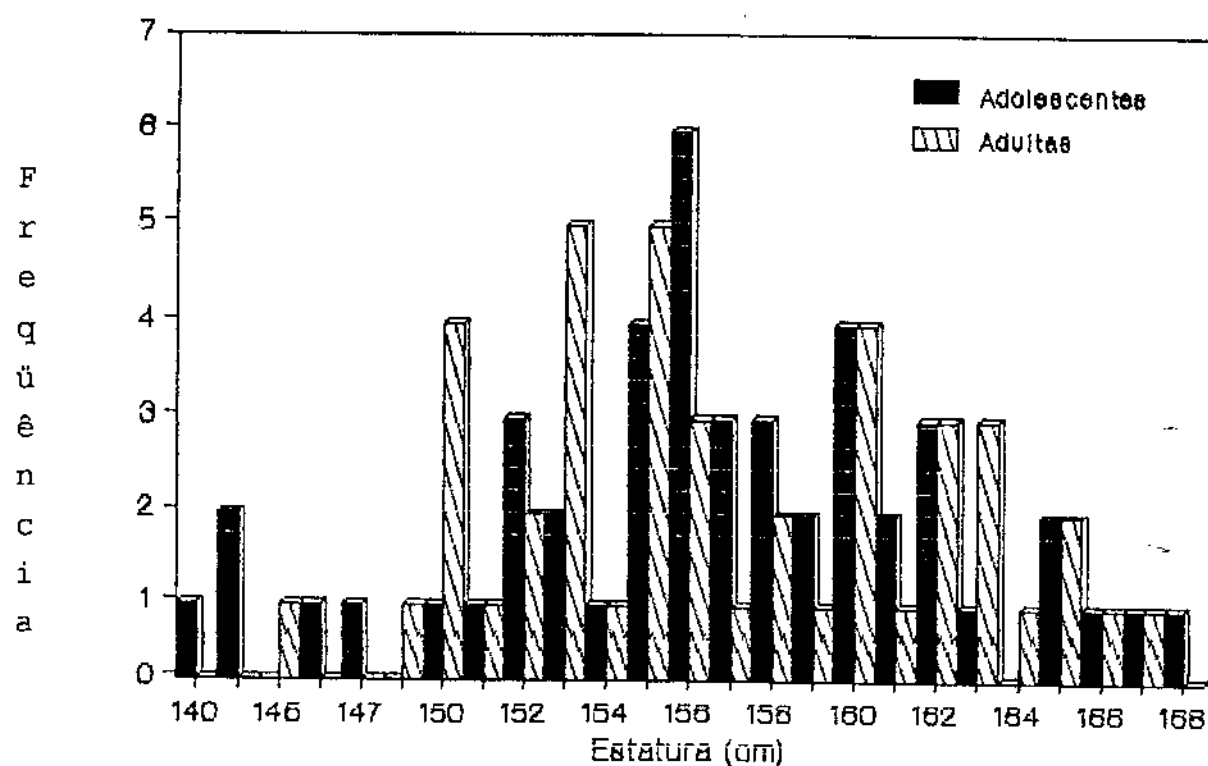


Figura 10 - Estatura: Distribuição nas Mães Adolescentes e Adultas.

4.1.1.4. Raça - a distribuição das frequências relativas (%) e absolutas das raças encontrada na população estudada estão na Tabela 3 e na figura 11. Foi observado que 70% das nutrízes adultas e adolescentes foram de raça branca.

Tabela 3 - Distribuição percentual das nutrízes

RAÇA	ADOLESCENTE		ADULTA	
	Freq. Absol. (n)	Freq. Relat. (%)	Freq. Absol. (n)	Freq. Relat. (%)
BRANCA	32	69,56	32	74,4
NEGRA	4	8,7	3	6,9
PARDA	9	19,56	6	13,95
OUTRAS*	1	2,17	2	4,65

* : amarela, índia ou caboclo.

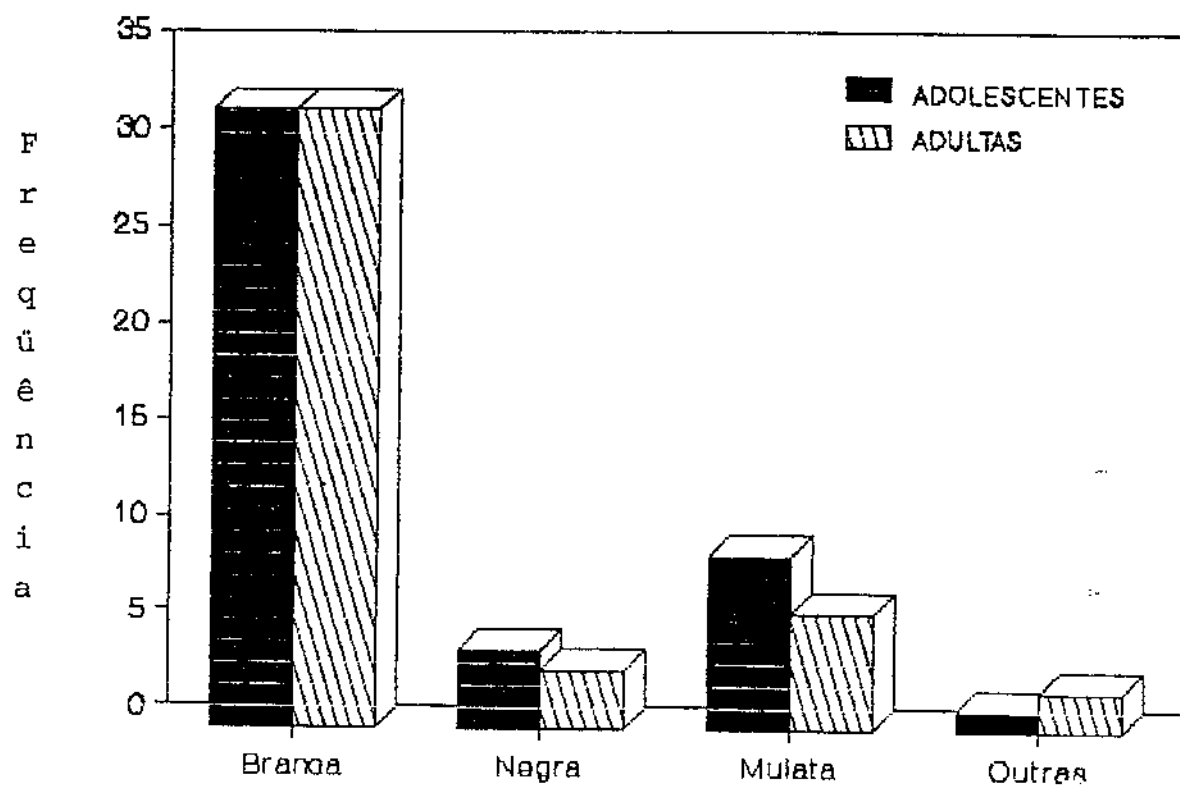


Figura 11 - Raça: Distribuição das Mães Adolescentes e Adultas

4.1.1.5. **Ganho Ponderal** - a média do ganho de peso durante a gravidez nas mães adolescentes foi de $12,29 \pm 5,93$ e nas adultas de $13,5 \pm 4,78$. Na figura 12 se observa que a maioria de mães adolescentes e adultas aumentaram entre 7 e 12 kilos de peso durante a gravidez e que 4 mães adolescentes não tiveram nenhum ganho de peso, ao contrário sofreram perda de peso durante a gravidez. Apesar disso, não se encontrou diferença estatisticamente significativa quando foi considerada a idade cronológica (adolescentes e adultas) ($p = 0,394 > 0,05$) nem quando nas mães adolescentes se considerou a idade ginecológica (ADO1 e ADO2) ($X^2 = 2,166 < 5,991$).

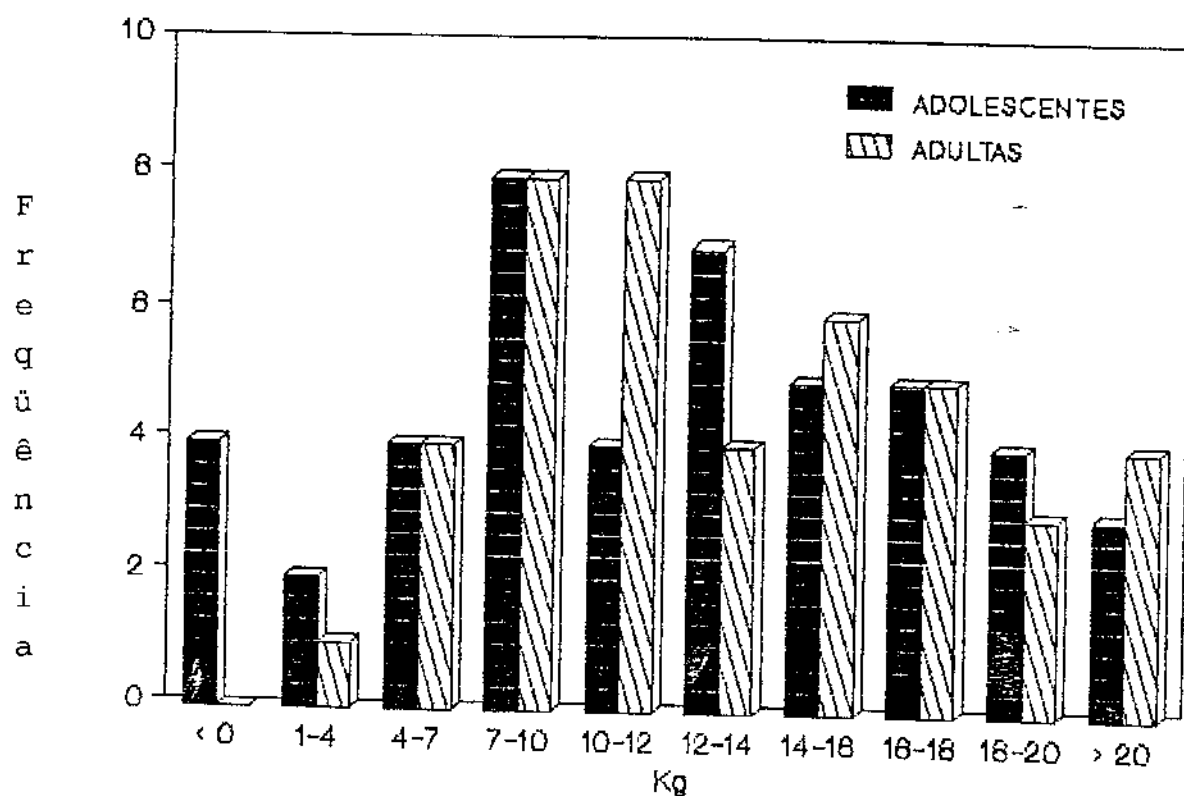


Figura 12 - Ganho Ponderal: Distribuição entre as Mães Adolescentes e Adultas.

4.1.1.6. **Peso do recém-nascido** - o peso médio do neonato das mães adultas e adolescentes (ADO1 e ADO2) foi de 3 kg. As frequências de pesos achados nos grupos estudados é mostrado na Tabela 4, aplicando o teste estatístico de Kruskal-Wallis não se encontrou diferenças significativas entre eles.

Tabela 4 - Distribuição Percentual dos Pesos dos Recém-nascidos das Mães Estudadas.

Peso (g)	ADO1		ADO2		ADULTAS	
	Freq. Absol. (n)	Freq. Rela. (%)	Freq. Absol. (n)	Freq. Rel. (%)	Freq. Absol. (n)	Freq. Relat. (%)
≤ 2500	0	0	2	6,8965	2	4,6511
2500 - 3000	7	41,176	11	37,931	11	25,581
3000 - 3500	9	52,941	13	44,827	22	51,162
> 3500	1	5,882	3	10,344	8	18,604
TOTAL	17	100%	29	100%	43	100%

ADO1 = Idade Ginecológica < 3 Kruskal-Wallis: $X^2 = 3,446 < 5,991$
ADO2 = Idade Ginecológica > 3 N.S.

4.1.2. Variáveis Sociais

4.1.2.1. Estado Civil - na Tabela 5 observa-se a distribuição do estado civil das parturientes no momento da internação. A população sem parceiro estável foi de 28% nas mães adolescentes e 18% nas adultas. A proporção de amasiadas também foi maior nas adolescentes (45,65%) do que nas adultas (30,23%). No entanto, 51,46% das mães adultas eram casadas enquanto que somente 26% das adolescente tinham este estado civil.

Tabela 5 - Distribuição Percentual das Mães Adolescentes e Adultas Segundo o Estado Civil.

E S T A D O C I V I L				
NUTRIZ	Sem parceiro Estável	Amasiada	Casada	Total
ADOLESCENT.	13 (28,0%)	21 (45,65%)	12 (26%)	46
ADULTAS	8 (18,0%)	13 (30,23%)	22 (51,4%)	43

4.1.2.2. Escolaridade - os níveis escolares da população estudada estão relacionados na Tabela 6. Foi observado que a maior parte das mães adolescentes (91,35%) tinham só o primeiro grau incompleto. Por outro lado, as mães adultas apresentaram uma distribuição mais ampla do nível escolar, apesar de a maior percentagem destas mães (62,79%) ter o primeiro grau incompleto.

Tabela 6 - Distribuição Percentual do Grau de Escolaridade na População Estudada

Grau de Escolaridade	ADOLESCENTES	ADULTAS
1º		
G Completo	4 (8,69%)	7 (16,27%)
R	42 (91,31%)	27 (62,79%)
A Incompleto		
U		
2º		
G Completo	0	4 (9,32%)
R	0	3 (6,97%)
A Incompleto		
U		
SUPERIOR	0	2 (4,65%)
TOTAL	46 (100%)	43 (100%)

4.1.2.3. Renda per capita - a distribuição da renda per capita está mostrada na Tabela 7. Foi observado que 17,4% das mães adolescentes tinham um rendimento menor que 0,5 salários mínimos (S.M.) e que nenhuma teve um rendimento superior a 2,5 S.M.. No entanto, 32,5 % das mães adultas apresentaram um rendimento superior a 2,5 S.M. Na figura 13 pode-se observar nitidamente a distribuição da renda per capita nos grupos estudados.

Tabela 7 - Distribuição dos Níveis da Renda Per capita.

Salários - Mínimos	ADOLESCENTES	ADULTAS
0 - 0,5	8 (17,4%)	1 (2,4%)
0,5 - 1	19 (41,3%)	12 (27,9%)
1 - 1,5	15 (32,6%)	5 (11,6%)
1,5 - 2	2 (4,3%)	5 (11,6%)
2 - 2.5	2 (4,3%)	6 (13,9%)
> 2.5	0	14 (32,5%)
TOTAL	100%	100%

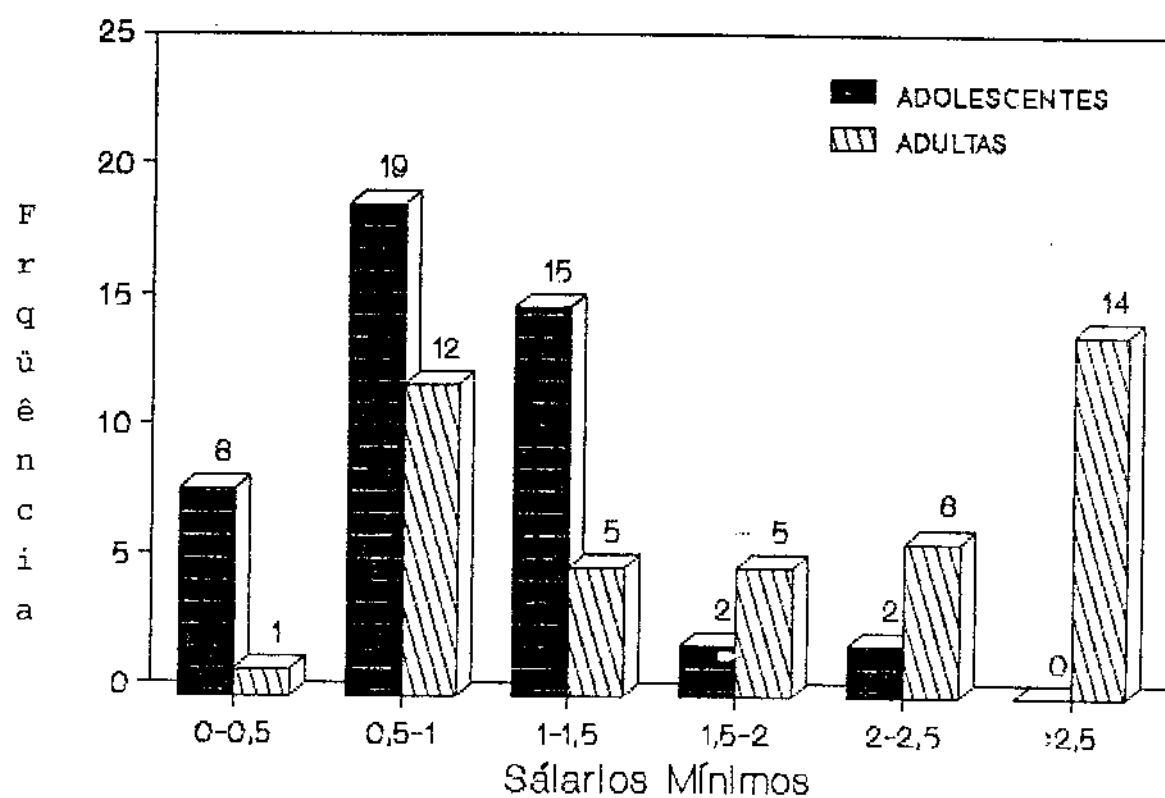


Figura 13 - Renda Per Capita: Distribuição por Intervalos de Classe nas Mães Adolescente e Adultas

4.2. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Análises dos Ácidos Siálicos nas Amostras Estudadas

Após a separação das proteínas do colostro das mães por precipitação com TCA 12%, foi realizada a determinação dos ácidos siálicos da fração oligossacarídica no "pool" de sobrenadante pelo método do periodato/resorcinol (JOURDIAN, 1971) e no precipitado hidrolisado dos ácidos siálicos da fração protéica foi determinado pelo método do ácido tiobarbitúrico (SCHAUER, 1987). Foi observado que eram necessárias quatro lavagens com tampão acetato pH 4,5 do precipitado de proteínas antes que estas fossem hidrolisadas, para conseguir extrair todo o ácido siálico solúvel pertencente a fração oligossacarídica.

A Tabela 8 mostra as concentrações médias e o coeficiente de variabilidade dos ácidos siálicos nas diferentes frações do colostro das nutrizes adolescentes e adultas estudadas, também mostra os resultados das análises estatísticas, onde não foram encontradas diferenças significativas.

Tabela 8 - Comparação das Concentrações Médias dos Ácidos Siálicos nas Diferentes Frações do Colostro das Nutrizes Adolescentes e Adultas.

NUTRIZ	GLICOPROTEÍ- -NAS (mg/dl)	OLIGOSSACARÍ- DIOS (mg/dl)	ACIDO SIÁLICO TOTAL (mg/dl)
ADULTAS (n=43)	28,32 ± 20,6 c.v. = 72,8%	103,01 ± 46,1 c.v. = 44,8%	127 ± 48,0 c.v. = 37,7%
ADOLESCENTES (n=46)	27,04 ± 17,6 c.v. = 65,0%	104,57 ± 38,9 c.v. = 37,0%	123,7 ± 48,5 c.v. = 38,0%
ESTATÍSTICA (*)	p = 0,9053 N.S.	p = 0,4956 N.S.	p = 0,988 N.S.

mg/dl = Miligramas de ácido siálico por decilitro de colostro

c.v. = Coeficiente de variabilidade

(*) = Teste de Mann-Whitney: S = Significativo; $p \leq 0,05$

N.S. = Não Significativo; $p \geq 0,05$

A Figura 14 mostra os intervalos das concentrações (mg/dl) das glicoproteínas das mães adolescentes e adultas estudadas. Foi observado que a maioria das mães adolescentes e adultas se estavam no intervalo compreendido entre 10 e 20 mg/dl e a distribuição de mães nos outros intervalos de concentração foi semelhante nos dois grupos de mães.

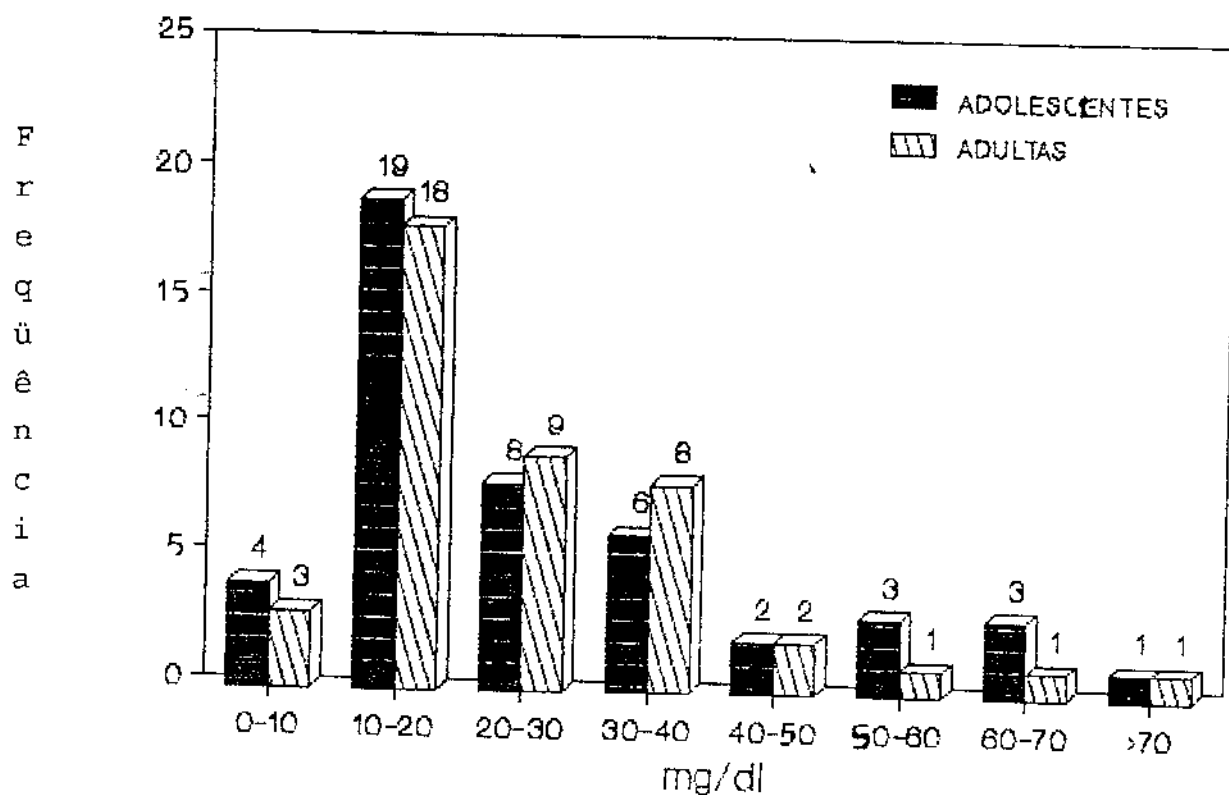


Figura 14 - Distribuição em Intervalos de Classe da Concentração de Ácidos Siálicos (mg/dl) da Fração Protéica do Colostro de Mães Adolescentes e Adultas.

A figura 15 mostra os intervalos de concentração de ácido siálico (mg/dl) ligados aos oligossacarídeos do colostro de mães adolescentes e adultas. Se observa que o maior número de mães tanto adultas quanto adolescentes, estão no intervalo de 80 a 120 mg/dl, e que a distribuição de mães é semelhante nos outros intervalos de concentrações de ácidos siálicos desta fração.

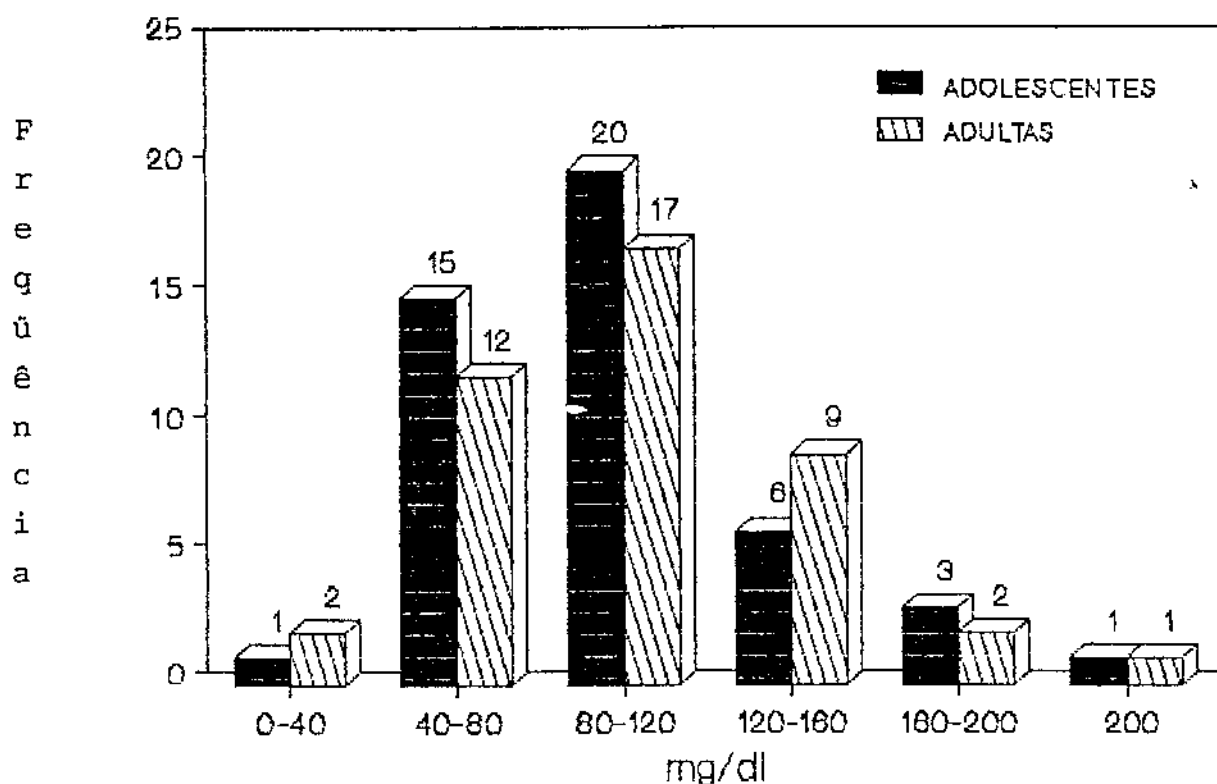


Figura 15 - Distribuição em Intervalos de Classe da Concentração de Ácidos Siálicos (mg/dl) Ligados a Fração Oligossacarídica do Colostro de Mães Adolescentes e Adultas.

A Figura 16 mostra os intervalos das concentrações de ácido siálico total (mg/dl) obtido da soma das concentrações da fração glicoprotéica e oligossacarídica do colostro de mães adolescentes e adultas. O maior número de mães adolescentes e adultas estão no intervalo entre 80 a 100 mg/dl, sendo similar a distribuição de mães nos outros intervalos de concentração.

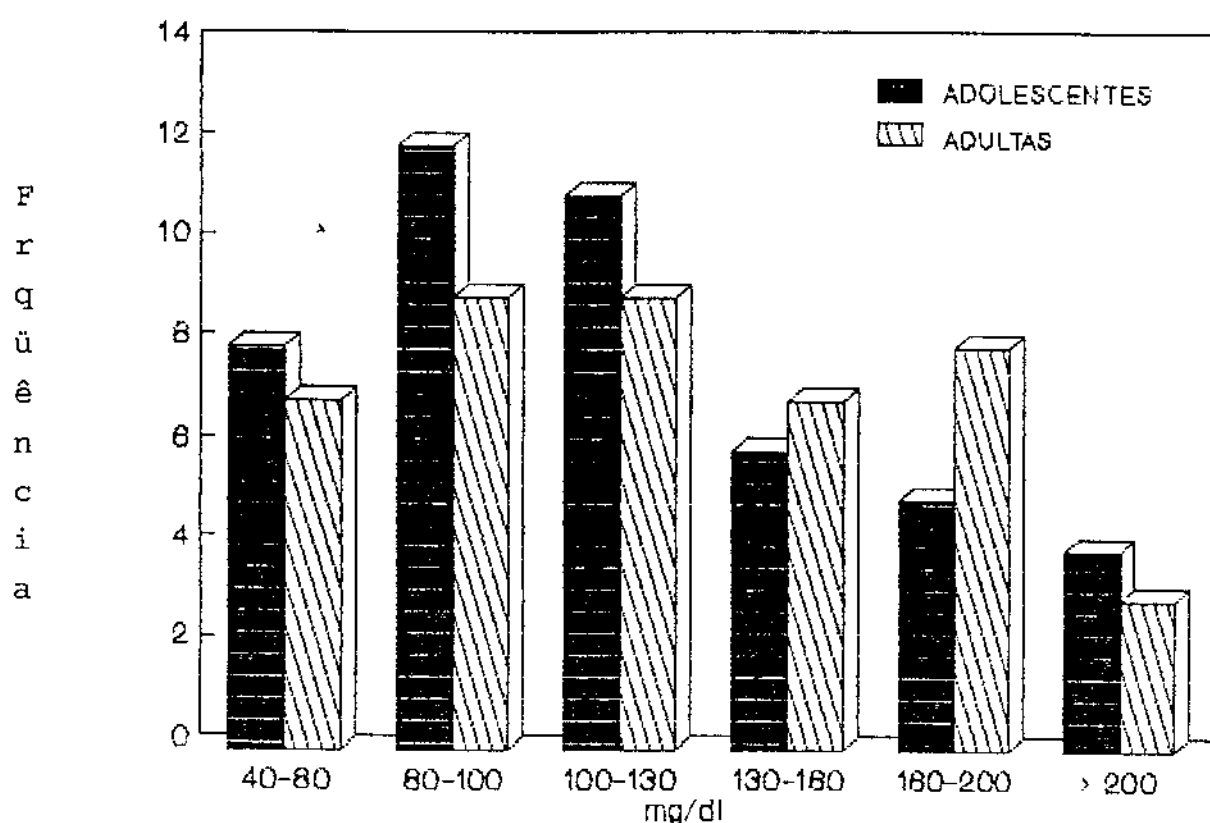


Figura 16 - Distribuição em Intervalos de Classe da Concentração de Ácidos Siálicos Totais (mg/dl) no Colostro de Mães Adolescentes e Adultas.

Na Tabela 9 estão indicados os resultados das concentrações médias e os coeficientes de variabilidade dos ácidos siálicos obtidos no colostro das adolescentes com diferentes idades ginecológicas (ADO1 ≤ 3 e ADO2 > 3); entre ambos grupos não se encontraram diferença estatisticamente significativa em nenhuma das frações consideradas.

Tabela 9 - Comparação das Médias de Concentração dos Ácidos Siálicos nas Frações do Colostro das Nutrizes Adolescentes (ADO1 e ADO2)

NUTRIZES	GLICOPROTEÍ- NAS (mg/dl)	OLIGOSSACA- RÍDIOS (mg/dl)	ÁCIDO SIÁLICO TOTAL (mg/dl)
ADO1 (n=17)	26,9 $\pm$ 19,5 c.v. = 72,41%	98,46 $\pm$ 32,2 c.v. = 32,72%	125,36 $\pm$ 47 c.v. = 37,57%
ADO2 (n=29)	28,64 $\pm$ 21,7 c.v. = 75,97%	96,77 $\pm$ 48,5 c.v. = 44,92%	122,77 $\pm$ 50,2 c.v. = 40,89%
ESTATÍS- TICA (*)	p = 0,617 N.S.	p = 0,376 N.S.	p = 0,721 N.S.

mg/dl = Miligramas de ácido siálico por decilitro de colostro

c.v. = Coeficiente de variabilidade

(*) = Teste de Mann-Whitney: S = Significativo; $p \leq 0.05$

N.S. = Não significativo $p > 0,05$

A Figura 17 mostra a distribuição da concentração de ácidos siálicos na fração protéica do colostro das mães adolescentes com diferentes idades ginecológicas. Se observa nesta figura que ambas as adolescentes (ADO1 e ADO2) apresentam a maior frequência no intervalo entre 10 e 20 mg/dl.

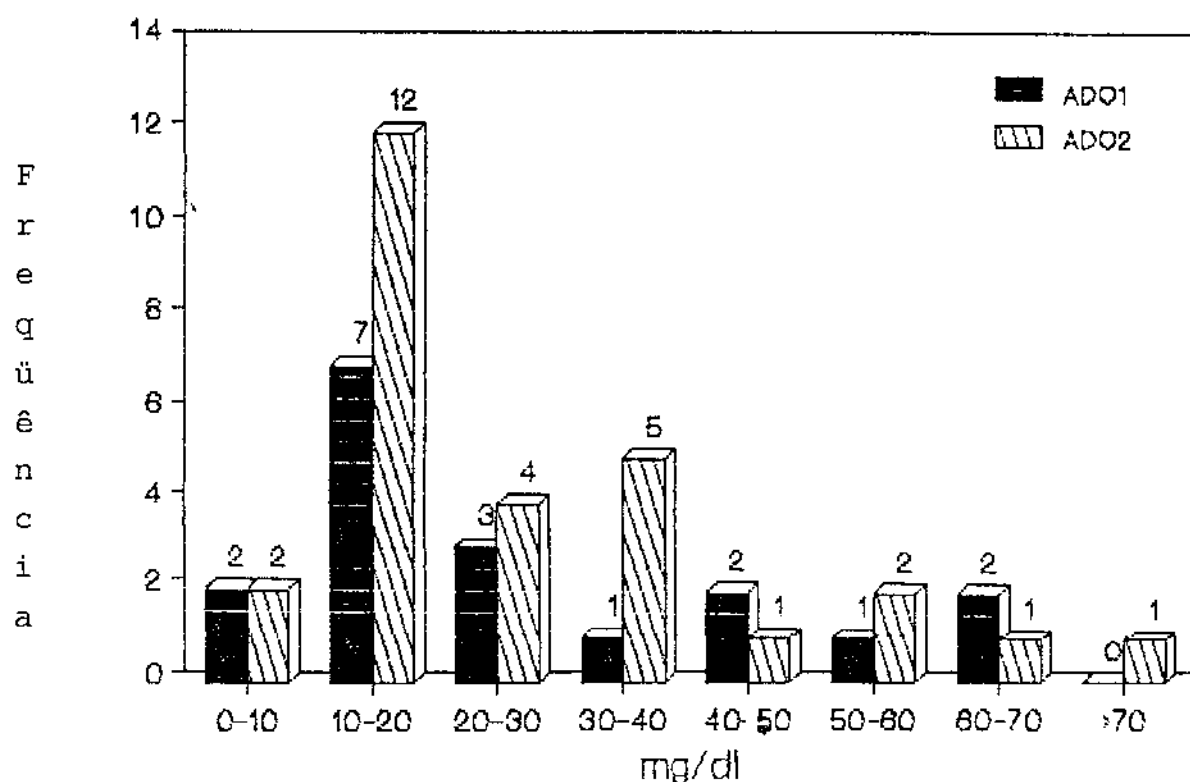


Figura 17 - Distribuição em Intervalos de Classe da Concentração de Ácido Siálico (mg/dl) da Fração Protéica do Colostro de Mães Adolescentes (ADO1 e ADO2).

Na Figura 18 podemos observar a distribuição em intervalos de classe da concentração de ácidos siálicos (mg/dl) da fração oligossacarídica do colostro das mães adolescentes com diferente idade ginecológica. O maior número de mães está no intervalo entre 80 a 120 mg/dl, também se observa um segundo grupo de alta frequência de mães no intervalo entre 40-80 mg/dl.

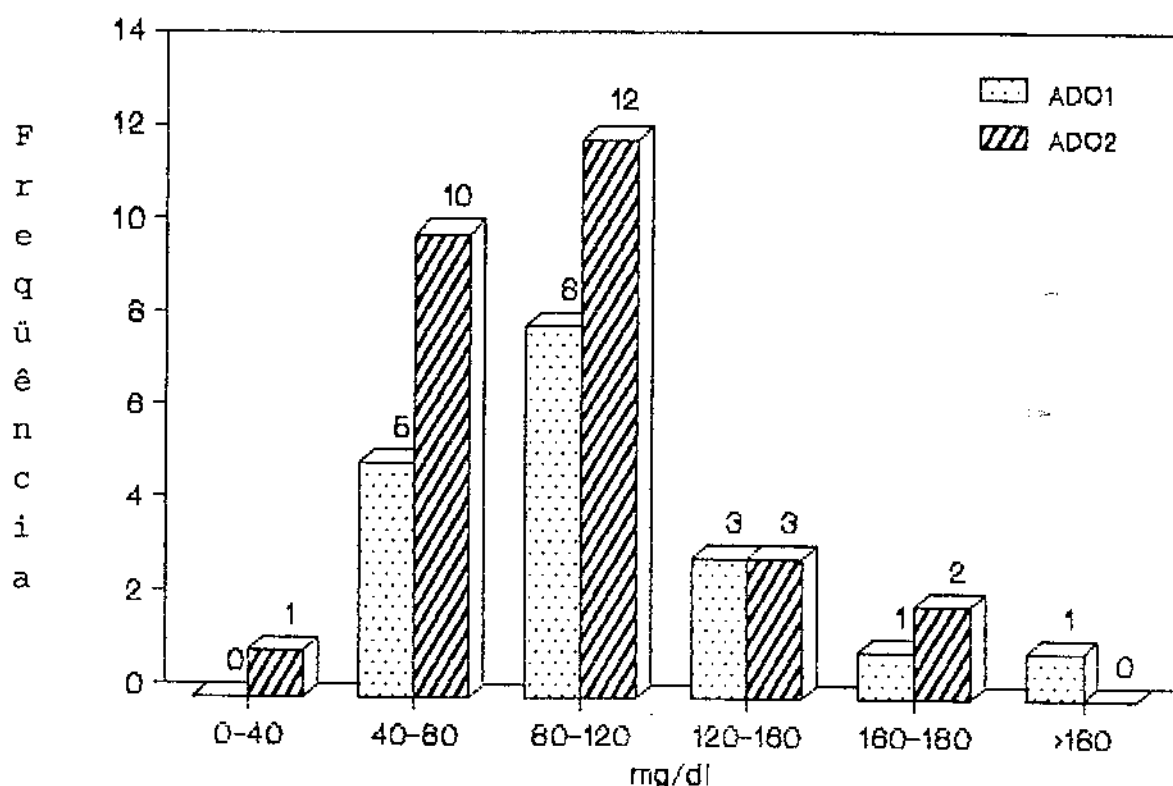


Figura 18 - Distribuição em Intervalos de Classe da Concentração de Ácidos Siálicos (mg/dl) da Fração Oligossacarídica do Colostro de Mães Adolescentes (ADO1 e ADO2).

Na Figura 19 se observa a distribuição por intervalos de classe dos ácidos siálicos totais (mg/dl), resultante da soma das concentrações dos ácidos siálicos da fração protéica e oligossacáridica do colostro das mães adolescentes com diferente idade ginecológica. A maior frequência de mães nos dois grupos de mães (ADO1 e ADO2) se dá nos intervalos de 80 a 100 e 100 a 130 mg/dl.

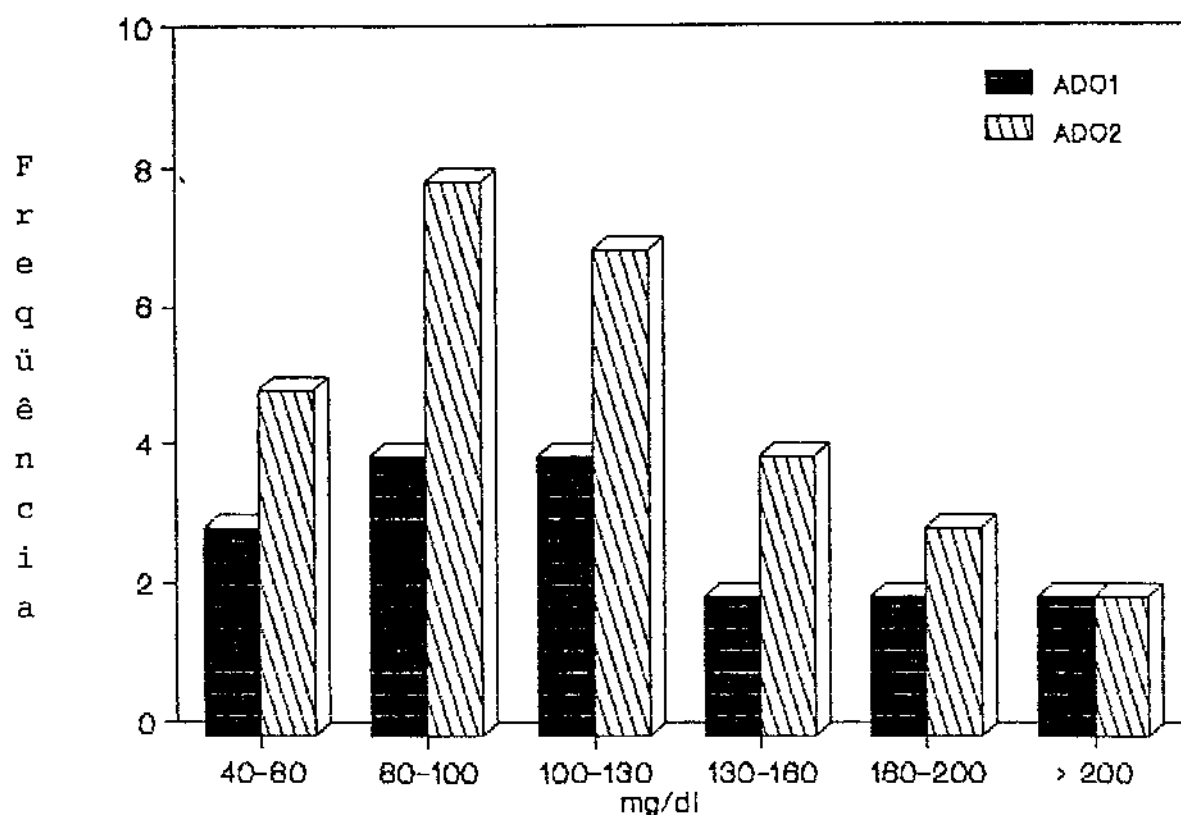


Figura 19 - Distribuição em Intervalos de Classe da Concentração de Ácidos Siálicos (mg/dl) Totais do Colostro de Mães Adolescentes (ADO1 e ADO2).

A Tabela 10 mostra as concentrações médias dos ácidos siálicos obtidas nos grupos de mães adolescentes de diferente idade ginecológica e nas mães adultas. Comparando estes três grupos de mães não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na concentração de ácido siálico das frações consideradas.

Tabela 10 - Comparação da Concentração de Ácidos Siálicos das Diferentes Frações do Colostro Nas Nutrizes Adolescentes (ADO1, ADO2) e Adultas.

NUTRIZES	GLICOPROTEÍ- NAS (mg/dl)	OLIGOSSACARÍ- DIOS (mg/dl)	ÁCIDO SIÁLICO TOTAL (mg/dl)
ADO1 (n=17)	26,9 ± 19,4 c.v. = 72,41%	98,46 ± 32,2 c.v. = 32,72%	125,36 ± 47 c.v. = 37,57%
ADO2 (n=29)	28,64 ± 21,7 c.v. = 75,97	96,77 ± 43,4 c.v. = 44,92%	122,77 ± 50,2 c.v. = 40,89%
ADULTAS (n=43)	28,32 ± 20,6 c.v. = 72,8%	103 ± 46 c.v. = 37%	127 ± 48 c.v. = 37,7%
ESTATIS- TICA (*)	$X^2 = 0,3479$ N.S.	$X^2 = 0,7495$ N.S.	$X^2 = 0,2991$ N.S.

mg/dl = Miligramas de ácido siálico por decilitro de colostro

c.v. = Coeficiente de variabilidade

(*) = Teste de Kruskal-Wallis: S = Significativo; $X^2 \geq 5,991$
g.l. = 2

N.S. = Não significativo; $X^2 < 5,991$

A Figura 20 mostra a distribuição em intervalos de classe da concentração (mg/dl) dos ácidos siálicos da fração glicoprotéica do colostro de mães adolescentes (ADO1 e ADO2) e adultas. Foi observado que a maior freqüência dos três grupos de mães estudadas está no intervalo entre 10 e 20 mg/dl.

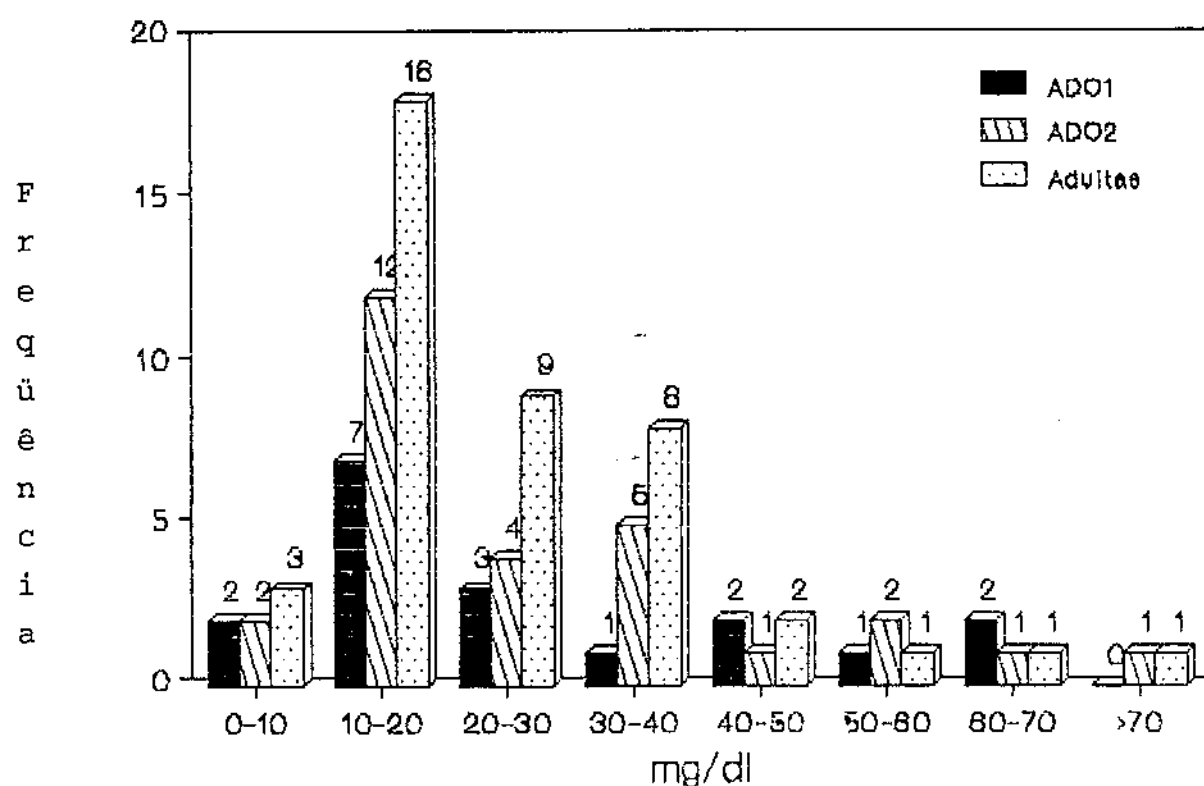


Figura 20 - Distribuição da Concentração de Ácidos Siálicos (mg/dl) da Fração Protéica do Colostro de Mães Adolescentes (ADO1 e ADO2) e Adultas.

A Figura 21 mostra a distribuição em intervalos de classe da concentração de ácidos siálicos na fração oligossacarídica do colostro das mães adultas e das adolescentes com diferentes idades ginecológicas. Se observa nesta figura que a maior frequência de mães está situada no intervalo entre 80 a 120 mg/dl, seguida das situadas entre de 40 a 80 mg/dl.

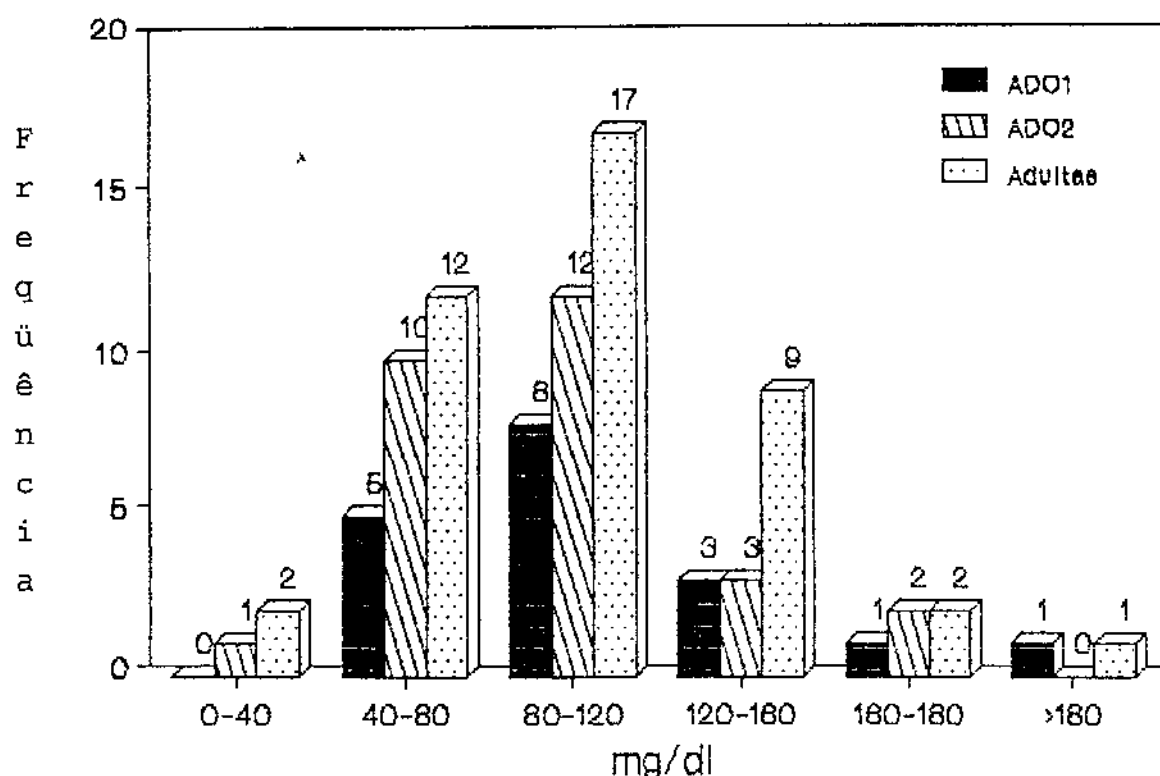


Figura 21 - Distribuição da Concentração de Ácidos Siálicos (mg/dl) da Fração Oligossacarídica do Colostro de Mães Adolescente (ADO1 e ADO2) e Adultas.

A Figura 22 mostra a distribuição em intervalos de classe da concentração de ácido siálico total, obtido pela soma dos ácidos siálico da fração protéica e oligossacarídica, no colostro de mães adolescentes com diferentes idades ginecológicas e nas mães adultas. O maior número de mães dos três grupos considerados se situam nos intervalos entre 80 e 100 mg/dl e entre 100 e 130 mg/dl.

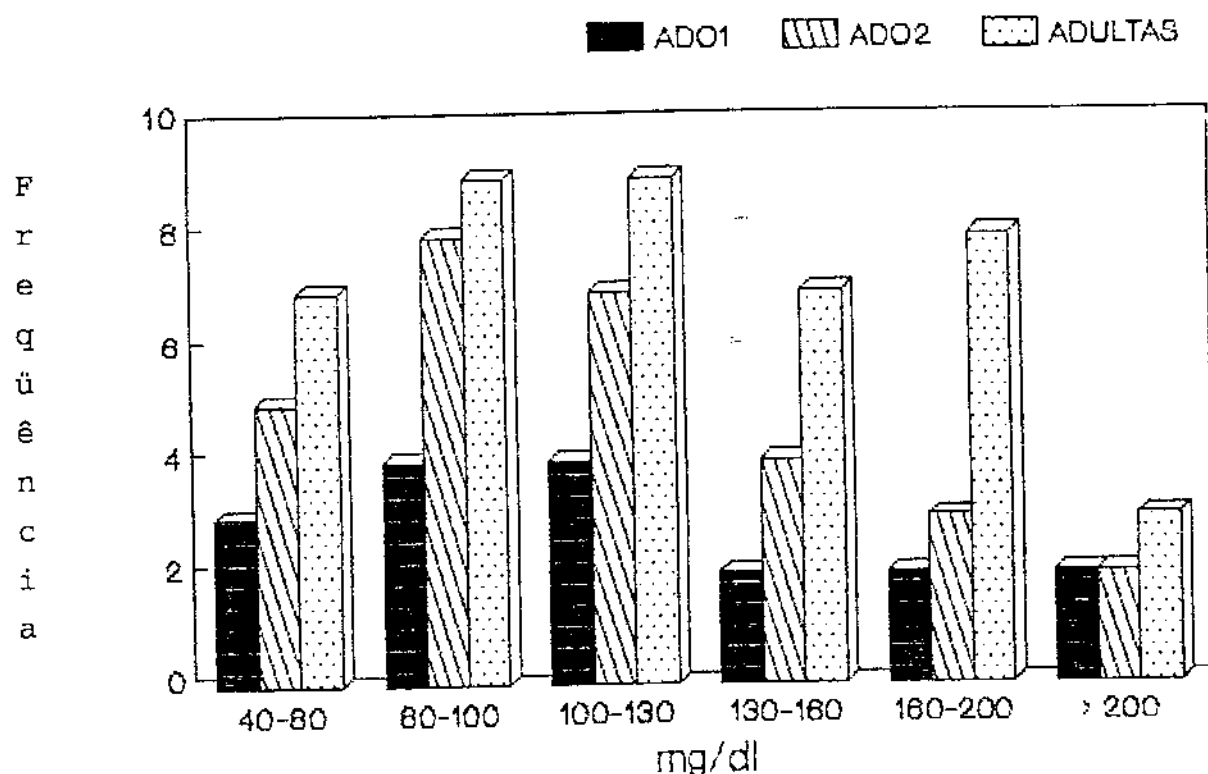


Figura 22 - Distribuição em Intervalos de Classe da Concentração de Ácidos Siálicos Totais (mg/dl) nas Mães Adolescentes (ADO1 e ADO2) e Adultas.

5. DISCUSSÃO

A separação das frações e a determinação de ácido siálico do colostro de mães adolescentes e adultas baseou-se no método descrito por CARLSON (1985b), sendo entretanto introduzidas algumas modificações, segundo o trabalho de MARIER (1963), que serão discutidas a seguir.

O TCA é usado como coagulante de proteínas do leite para a preparação de soro livre destas macromoléculas (GRAHAM et alii, 1970). A concentração de TCA usada por CARLSON (1985b) para precipitar as proteínas do colostro ou do leite foi de 5% para um mesmo volume de amostra. Por outro lado, ROWLAND (1938) observou que para precipitar todas as proteínas do leite era necessário um TCA com 8% de concentração. O TCA usado neste estudo tinha concentração final de 12%, pois, foi previamente observado que esta concentração permitia a formação de um precipitado mais estável, o que não ocorria quando foi utilizado a descrita por CARLSON (1985b). De acordo com o trabalho de ARMSTRONG et alii (1967), que também usaram na precipitação das proteínas do leite TCA 12%, observaram que o sobrenadante era constituído por moléculas mais negativamente carregadas (carboidratos em geral, ácidos siálicos livres ou ligados a carboidratos ou a peptídios de baixo peso molecular), enquanto que no precipitado estaria a porção menos negativamente carregada, constituída por proteínas. Em vista disto a precipitação das proteínas do leite com concentração de TCA inferior a 12%, seria incompleta, com conseqüente erro na análise dos ácidos siálicos, decorrente da presença de glicoproteínas na fração ácida solúvel.

O precipitado protéico de colostro ou leite obtido por CARLSON (1985b), pela adição de TCA 5%, não passava por nenhum processo de lavagem antes da dosagem dos ácidos siálicos. Neste trabalho foi observado que, quando o precipitado não era lavado, pelo menos, quatro vezes com tampão acetato pH 4,5 (pH de precipitação da

caseína) havia interferência na dosagem do ácido siálico pelo método do ácido tiobarbitúrico (SCHAUER, 1978), pois a cor desenvolvida era laranja e não a cor característica da reação (rosa "shock") o que sugeria a contaminação por outros açúcares (WARREN, 1959).

Como as amostras de ácido siálico da fração glicoprotéica ficavam muito diluídas, depois da hidrólise e da extensa lavagem para se obter os ácidos siálicos livres, foi empregado o método do ácido tiobarbitúrico na dosagem destes compostos por ser este método mais sensível, específico e conveniente na determinação de frações muito pequenas (WARREN, 1959; GIBBONS, 1962).

Alguns autores têm relatado que este método dá valores ligeiramente mais baixos do que o método do resorcinol (EYLAR et alii, 1962 e HIRANO et alii, 1986). No entanto, outros encontraram uma excelente concordância entre estes dois métodos (GIBBONS, 1962 e RIBADEAU-DUMAS & ALAIS, 1961).

Os ácidos siálicos da fração oligossacarídica (sobrenadante) foram determinados pelo método do resorcinol, que mede o conteúdo destes ácidos quando estão livres ou glicosidicamente ligados sem que haja interferência de outros açúcares, lipídios ou aminoácidos (JOURDIAN et alii, 1971).

Realizadas as análises estatísticas das concentrações dos ácidos siálicos nas frações oligossacarídica e glicoprotéica do colostro obtido de 89 mães, divididas em dois grupos considerando-se a idade cronológica (46 adolescentes e 43 adultas), não se observou diferença estatisticamente significativa entre estes grupos. Apesar disso, foi observada grande variabilidade interindividual nos grupos de mães em estudo.

O pouco volume de colostro secretado pelas mães primíparas nas primeiras horas de lactação, impediu que obtivéssemos a quantidade suficiente de colostro em todas as 159 mães que participaram inicialmente desta pesquisa. Mesmo assim, o tamanho da amostra foi

compatível com os trabalhos já descritos na literatura (HIRANO et alii, 1968; CARLSON, 1985b e VIVERGE et alii, 1986).

Pelas observações das variáveis biológicas, foi considerado que a população deste estudo, de mães adolescentes e adultas era homogênea, visto que não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas com relação a idade gestacional, estatura, raça, ganho ponderal da mãe e peso do recém-nascido entre os dois grupos estudados.

Com relação às variáveis sociais consideradas neste estudo, foi observado que no grupo de mães adolescentes houve maior incidência de mães solteiras, baixo grau de escolaridade e menor renda per capita (Tabelas 5, 6 e 7). Apesar deste fato mostrar desvantagem sócio-econômica da mãe adolescente, em relação à mãe adulta, o mesmo não modificou os resultados das variáveis biológicas, pois não foram obtidas diferenças estatisticamente significativas em ambos grupos estudados com relação à estatura e ganho ponderal da mãe durante a gravidez e peso do recém-nascido, dados que concordam com os encontrados na literatura (PINTO E SILVA, 1984; STEVENS-SIMON & McANARNEY, 1988 e MOTTA, 1993).

Os resultados encontrados na concentração de ácidos siálicos das frações glicoprotéica e oligossacarídica no colostro das mães primíparas adolescentes e adultas quando, comparados com os resultados obtidos por CARLSON (1985b) no estágio de lactação de 0 a 2 semanas após parto, não mostraram diferenças significativas apesar de que no estudo de CARLSON (1985b) não estavam indicadas as variáveis biológicas e sócio-econômicas de cada mãe.

No entanto, que em nosso estudo foram necessárias modificações na metodologia de tratamento das amostras e na dosagem dos ácidos siálicos, a concentração média de ácido siálico da fração glicoprotéica foi de $27,4 \pm \text{mg/dl}$ no colostro de mães adolescentes primíparas e $28,32 \pm \text{mg/dl}$ nas mães adultas primíparas, ao passo que

CARLSON (1985b) obteve $26,7 \pm \text{mg/dl}$ na mesma fração nas mulheres que estudou sem caracterizar uma determinada faixa etária. O mesmo foi observado com a concentração de ácidos siálicos da fração oligossacarídica do colostro das mães adolescentes, que mostram um conteúdo médio de $104,57 \pm \text{mg/dl}$, as adultas com $103,01 \pm \text{mg/dl}$, ao passo que CARLSON (1985b) obteve uma média de $113,8 \pm \text{mg/dl}$. Talvez estes resultados sejam consequência do maior tamanho de nossa amostra ou da ampla faixa de tempo de lactação (0 a 2 semanas com 22 amostras) do trabalho de CARLSON (1985b) onde cada participante deve ter sido analisada de uma a três vezes.

A alta variação interindividual encontrada na concentração dos ácidos siálicos nas diferentes frações do colostro nos dois grupos de mães estudados, não nos permitiu dizer se as modificações introduzidas na metodologia deste trabalho alteraram os resultados finais. Mas podemos sugerir que estas variações interindividuais estariam fora do controle da obtenção da amostra, da metodologia analítica empregada e das variáveis biológicas consideradas em cada mãe, independentemente se estas eram adultas ou adolescente.

Esta grande variação interindividual encontrada nos dois grupos de mães estudadas, em parte pode ser explicada pelo fato do leite humano possuir oligossacarídios comuns a todos os grupos sangüíneos, cuja presença não está geneticamente determinada pelo tipo de secretor sangüíneo materno; ao passo que existem outros oligossacarídios, que são dependentes do tipo de secretor sangüíneo materno do sistema ABO (ABH) e/ou Lewis (VIVERGE et alii, 1985 e 1990b).

O grupo sangüíneo ABO (ABH) é qualitativamente expresso na presença dos neuraminiloligossacarídios e o caracter do sistema Lewis pelos oligossacarídios ricos em N-acetilglicosamina (NAGA) e fucose, componentes estes requeridos para a especificidade do fator Lewis: Le^a ou Le^b . No entanto, existem baixos níveis de NAGA no leite de mães que pertencem aos grupos B e AB ($\text{Le}^a + b^+$) e baixos níveis de

NANA no leite de mulheres do grupo ABH (-) Le (a⁺ b⁻) (VIVERGE et alii, 1990b).

O leite das mães do grupo sanguíneo ABH(+) Le (a⁻ b⁻) tem um alto conteúdo de lactose e baixo de oligossacarídeos, pois elas não têm as glicosiltransferases responsáveis pela estrutura do sistema Lewis. Aparentemente, o elevado nível de lactose compensaria o déficit dos oligossacarídeos, o que sugeriria que estes são sintetizados pela transglicosilação da lactose. Quando as mães têm o gene que expressa as glicosiltransferases, a lactose poderia ser o indutor da síntese destes oligossacarídeos (VIVERGE et alii, 1990b). As analogias entre as estruturas dos grupos sanguíneos e os oligossacarídeos do leite materno mostram que existe uma relação metabólica entre estes dois grupos de substâncias, o que explicaria a atividade de certos oligossacarídeos nos grupos sanguíneos (WATKINS, 1980).

As variações qualitativas e quantitativas dos oligossacarídeos no leite humano de acordo com o tipo de secretor sanguíneo, sugere que estes afetariam o crescimento do *Bifidum bacterium* e que a capacidade protetora encontrada no leite variaria segundo o tipo sanguíneo da mãe (HOLMGREN et alii, 1983). Então teríamos pessoas com diferentes susceptibilidades às doenças, como o observado com os glicocompostos do leite humano, os quais inibem a adesão do *Vibrio cholerae* da variedade El Tor (HOLMGREN et alii, 1983). Foi também observado em Bangladesh, que nos indivíduos com grupo sanguíneo O são mais afetados pelo cólera do que os do grupo AB (GLASS et alii, 1985; NEWBURG et alii, 1990).

Outro fator que poderia ter influenciado a alta variabilidade interindividual observada neste estudo se refere as condições físicas das mamas. Geralmente, durante os primeiros dias de amamentação o mamilo se inflama (GURR, 1981 e HARTMANN & PROSSER, 1984) e, como consequência, se tem encontrado modificações na composição do leite, tais como o aumento da concentração de sódio e da albumina e diminuição da concentração de potássio e lactose

(HARTMANN & PROSSER, 1984). Com a inflamação do mamilo além de se modificar esses elementos na composição do leite, haveria também modificação na concentração de ácidos siálicos, visto que foi observado aumento da concentração do NANA no soro sangüíneo, na presença de um processo inflamatório agudo em quaisquer parte do organismo (SILVER et alii, 1979).

Também há o aumento do NANA quando existe destruição de tecidos ou mesmo nos casos de câncer (STEFENELLHI et alii, 1985) e durante a gravidez (MAITY, 1983). No câncer o aumento dos ácidos siálicos é explicado pela alteração na produção de glicoproteínas e glicolipídios que estão na superfície das células malignamente transformadas, sendo que muitas dessas glicoproteínas têm carga negativa decorrente da presença de NANA (ROY & LUYT, 1987).

Existem outros fatores que modificam os níveis do ácido siálico. Por exemplo a molécula da transferrina sérica está aumentada nos indivíduos dependentes de álcool ou naqueles expostos a solventes orgânicos. Das cinco isoformas estudadas da transferrina, no indivíduo normal a forma com P.I. = 5,7, tem uma concentração de ácido siálico de 2,4 % ao passo que nos alcoólatras esta concentração é maior do que 9% (PETRÉN & VESTERBERG, 1989).

Em algumas espécies, inclusive nos humanos muitas das glicoproteínas do soro sangüíneo da mãe, particularmente as proteínas ligadoras de metais, são semelhantes às glicoproteínas do soro do colostro (BROCK; LONNERDAL citados por HUTCHENS et alii, 1992). Mas também existem glicoproteínas que são específicas do leite e do colostro (BEZKOROVAINY & NICHOLS, 1976).

SHIMIZU et alii (1986) observaram a presença de duas glicoproteínas sializadas no soro do leite materno e na membrana dos glóbulos de gordura do leite. Esses autores denominaram tais glicoproteínas como A e C e observaram que as mesmas não estavam presentes no leite de bovinos mas faziam parte da composição do leite

de primatas, mostrando que há uma especificidade das glicoproteínas do leite, fato este que reforça o caráter insubstituível do leite humano no aleitamento materno.

Outra glicoproteína sializada encontrada no colostro e no leite humano foi chamada de glicoproteína HRG (glicoproteína rica em histidina) que também está no plasma sangüíneo e cuja função não está muito esclarecida, apesar de ser ligadora de metais de transição, como o cobre e o zinco, além de estar implicada na regulação da ativação dos linfócitos T e, conseqüentemente, do sistema de defesa do organismo (HUTCHENS et alii, 1992).

No soro bovino o tipo e a concentração de ácido siálico varia com a idade do animal, sendo três vezes maior no bezerro que no bovino adulto (SHERBLOM, 1988).

Visto que muitas glicoproteínas do soro sangüíneo são semelhantes a do colostro ou leite (BREOCK, LONNERDAL citados por HUTCHENS, 1992) que estas participam de vários eventos metabólicos (McGUIRE, 1976 e SCHAUER, 1982) e que nos bovinos o ácido siálico varia com a idade do animal (SHERBLOM, 1988), provavelmente nos humanos, o conteúdo de ácidos siálicos do leite materno e em outros compartimentos do organismo, também se modifique com o decorrer da idade.

As fezes dos neonatos prematuros apresentam maior quantidade de ácido siálico ligado ao invés de ácido siálico livre como o encontrado no neonato maduro, indicando, com isto o pobre desenvolvimento do metabolismo destes compostos nos prematuros (SABHARWAL et alii, 1991). Muitas são as situações em que o neonato, sobretudo os prematuros, precisam de leites maternizados e/ou bovino ou de outras espécies (NEVILLE et alii, 1988), onde os componentes sializados se encontrariam pobremente representados (GYORGY & ROSE, 1955 e HIRANO et alii, 1966). A inclusão dos compostos sializados melhoraria a qualidade dos leites maternizados e poderia favorecer o

desenvolvimento dos neonatos, diminuindo o índice de mortalidade nesta fase da vida humana (VIVERGE et alii, 1990b).

Como já foi enfatizado neste trabalho, os ácidos siálicos encontrados no colostro e no leite humano ligados às glicoproteínas ou aos oligossacarídeos participariam no desenvolvimento neuronal, gastrointestinal, no sistema autoimune e na modulação da flora intestinal do neonato. Porém, para se obter resultados mais concretos sobre a influência da idade materna na concentração destes compostos no colostro ou leite seriam necessários outros estudos que não foram desenvolvidos neste trabalho, como por exemplo determinação e correlação do tipo sanguíneo, condições das mamas, aspectos da saúde, nutrição e hábitos das nutrízes.

6. CONCLUSÕES

1 - O precipitado de proteínas do colostro foi mantido em condições de maior estabilidade quando o mesmo foi obtido pela adição de TCA a 12%.

2 - Quando se determinou a concentração do ácido siálico na fração protéica do colostro pelo método do ácido tiobarbitúrico, foram necessarias quatro 4 lavagens do precipitado com tampão acetato pH 4,5 para eliminar as interferências de outros açúcares.

3 - Não existem diferença estatísticamente significativas na concentração de ácido siálico das frações oligossacarídica, glicoprotéica, assim como não existem diferenças no conteúdo total do ácido siálico total do colostro das mães adolescentes e adultas.

4 - A alta variação interindividual nas concentrações de ácido siálico encontradas nas frações do colostro dos grupos de mães estudadas, estariam fora do controle das variáveis biológicas, sociais e da metodologia de determinação deste composto.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, F. & MCPHIE, P.- The intrinsic viscosity of glycoproteins (Mini review). *Int. J. Biochem.*, 11: 91-96, 1980.
- ALLEN, J.C.; KELLER, R.P.; ARCHER, P. & NEVILLE, M.C.- Studies in human lactation: milk composition and dairy secretion rates of macronutrients in the first year of lactation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54: 69-80, 1991.
- AMINOFF, D.- Methods for the quantitative estimation of N-acetylneuraminic acid and their application to hydrolysates of sialomucoids. *Biochem. J.*, 81: 384-91, 1961.
- ANDERSON, G.H.- The effect of prematurity on milk composition and its physiological basis. *Fed. Proc.*, 43: 2438-42, 1984.
- ANGSUSINGHA, K.; KENNY, F.M.; HOWARD, R.N. & NANKIN, H.R.- Unconjugate estrone, estradiol and FSH and LH in prepubertal and pubertal males and females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 35: 63-68, 1974.
- ARMSTRONG, C.E.; MACKINLAY, A.G.; HILL, R.J. & WAKE, R.G.- The action of rennin on k-casein; the heterogeneity and origin of the soluble product. *Bioch. Biophys. Acta*, 140:123-131, 1967.
- ARNOLD, R.R.; COLE, M.F. & MCGHEE, J.R.- A bacterial effect for human lactoferrin. *Sci.*, 197: 263-65, 1977.
- ARRUDA, R.P.- Comparação do colostro de mães adultas e adolescentes, fumantes e não fumantes (Valor calórico,

lipídios totais e ácidos graxos).Campinas, S.P., 1992.
(tese de Mestrado. FEA-UNICAMP).

ASHWELL, G. & MORELL, A. G.- The role of surface in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins.
Adv. Enzymol., 41: 99-128, 1974.

AZUMA, N.; KAMINOGAWA, S. & YAMAUCHI, K.- Properties of glicomacropeptides and para-k-casein derived from human k-casein and comparison of human and bovine k-caseins as to susceptibility to chymosin and pepsin. *Agric. Biol. Chem.*, 48: 2025-31, 1984.

BAUMAN, D.E. & NEVILLE, M.C. - Nutritional and physiological factors affecting lactation. *Fed. Proc.*, 43: 2430-31, 1984.

BEAL, V.A.- Assessment of nutritional status in pregnancy.
Am. J. Clin. Nutr., 34: 691-96, 1981.

BENTLEY, R. - Configurational and conformational aspects of carbohydrate biochemistry. *Ann. Rev. Biochem.*, 41 : 953-996, 1972.

BEZKOROVAINY, A. & NICHOLS, J.H. - Glycoproteins from mature human milk whey. *Pediatr. Res.*, 10: 1-5, 1976.

BEZKOROVAINY, A.; GROHLICH, D. & NICHOLS, J.H.- Isolation of a glycopolypeptide fraction with *Lactobacillus bifidus* subspecies *pennsylvanicus* growth-promoting activity from whole human milk casein. *Am. J. Clin. Nutr.*, 32: 1428-32, 1979.

BLANC, B. - Biochemical aspect of human milk comparison with bovine milk. *World. Rev. Nutr. Diet.*, 36: 1-89, 1981.

- BRASIL, A.L.D.; VITOLO, M.R.; LÓPEZ, F.A. & NÓBREGA, F.J. - Fat and protein composition of mature milk in adolescents. *J. Adolesc. Health.*, 12: 365-71, 1991.
- BROWN, D.H.- Action of phosphoglucomutase on D-glucosamine-6-phosphate. *J. Biol. Chem.*, 204: 877-89, 1953.
- BROWN, B.E.; BREY, S.W. & WELTNER, W.- Cell-surface carbohydrates and their interactions I. NMR of N-acetyl neuraminic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, 399: 124-30, 1975.
- BROWN, K.H.; BLACK, R.E.; ROBERTSON, A.D.; AKHTAR, N.A.; AHMED, G. & BECKERS, S.- Clinical and field studies of human lactation: methodological considerations. *Am. J. Clin. Nutr.*, 35: 745-56, 1982.
- BRUNI, V.; DEI, M.; DELIGEOROGLOV, E.; INNOCENTI, P.; PANDIMIGLIO, A.M.; MAGINI, A. & BASSI, F.- Breast development in adolescent girls. *Adolesc. Pediatr. Gynecol.*, 3: 201-205, 1990.
- BULLEN, C.L. & WILLIS, A. T.- Resistance of the breast-fed infant to gastroenteritis. *Br. Med. J.*, 3: 338-43, 1971.
- BULLEN, J.J.; ROGERS, H.J. & LEIGH, L.- Iron-binding proteins in milk and resistance to *Escherichia coli* infection in infants. *Br. Med. J.* 1: 69-75, 1972.
- CAPURRO, H.; KONICHEZKY, S.; FONSECA, D. & CALDEYRO-GARCIA, R.- A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J. Pediatr.*, 93: 120-24, 1978.
- CARDINI, C.E. & LELOIR, L.F. - Enzymatic formation of acetylgalactosamine. *J. Biol. Chem.*, 225: 317-24, 1957.

- CARLSON, S.- Human milk nonprotein nitrogen: occurrence and possible functions. In BARNES, L., ed. **Advances in Pediatrics**, Year Book Medical Publishers, Chicago, I.L., vol. 32:43-70, 1985a.
- CARLSON, S.E.- N-acetylneuraminic acid concentrations in human milk oligosaccharides and glycoproteins during lactation. **Am. J. Clin. Nutr.**, 41: 720-26, 1985b.
- CARLSON, S.E. & HOUSE, S.G.- Oral and intraperitoneal administration of N-acetylneuraminic acid: Effect on rat cerebral and cerebellar N-acetylneuraminic acid. **J. Nutr.**, 116: 881-86, 1986.
- CAYEN, M.N.; HENNEBERRY, G.O. & BAKER, B.E.- Studies on casein. IV. The sialic acid content of casein. **J. Dairy Sci.**, 45: 706-9, 1962
- CHANDRA, R.K.- Prospective studies of the effect of breast feeding on incidence of infection and allergy. **Acta Paediatr. Scan.**, 68: 691-4, 1979.
- CHOPPIN, P.W. & SCHEID, A.- The role of viral glycoproteins in adsorption, penetration and pathogenicity of viruses. **Rev. Infect. Dis.**, 2: 40-61, 1980.
- CHU, S. & WALKER, W.A.- Developmental changes in the activities of sialyl and fucosyl transferases in rat small intestine. **Biochim. Biophys. Acta**, 883: 496-500, 1986.
- CLAMP, J. R. & JOHNSON, I. - Immunoglobulins. In GOTTSCHALK, A., ed.- **Glycoproteins: Their composition, structure and function**. 2d. ed. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1972. pgs. 612-652.

- COELHO, M.R.V.- Estudo da composição química (gorduras totais, valor calórico total, proteína totais, imunoglobulinas e ácidos graxos) do colostro de nutrízes adolescentes. São Paulo, 1988. (Tese de Doutorado - Escola Paulista de Medicina).
- COMB, D.G. & ROSEMAN, S.- Enzymatic synthesis of N-acetyl-D-mannosamine. *Biochim. Biophys. Acta*, 29: 653-54, 1958.
- DARNELL, J.; LODISH, H. & BALTIMORE, D.- Plasma-membrane, secretory and lysosome proteins: biosyntheses and sorting. In DARNELL, J.; LODISH, H. & BALTIMORE, D. **Molecular cell biology**. Scientific American Book ed. New York, 1990. pgs 79-81 e 662-64.
- DONOVAN, S.M.; EREMAN, R.R.; DEWEY, K. & LONNERDALL, B.- Postprandial changes in the content and composition of nonprotein nitrogen in human milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54: 1017-23, 1991.
- DWYER, J.- Nutritional requirements of adolescence. *Nutr. Rev.*, 39 (2): 56-72, 1981.
- ECKHERT, C.D.; SLOAN, M.V.; DUNCAN, J.R. & HURLEY, L.S.- Zinc binding: A difference between human and bovine milk. *Sci.*, 195: 789-90, 1977.
- EYLAR, E.H.; MADOFF, M.A.; BRODY, O.V. & ONCLEY, J.L.- The contribution of sialic acid to the surface charge of the erythrocyte. *J. Biol. Chem.*, 237: 1992-2000, 1962.
- FAILLARD, H. & SCHAUER, R.- Glycoproteins as lubricants, protective agents, carriers, structural proteins and as participants in other functions. In GOTTSCHALK, A., ed - **Glycoproteins: their composition, structure and function**,

- 2d ed. Elsev. Publish. Co., Amsterdam, 1972. pgs. 381-402.
- FISHMAN, P.H. & BRADY, R.O.- Biosynthesis and function of gangliosides. *Sci.*, 194: 906-15, 1976.
- FOMON, S.- Fats. In FOMON, S., ed. **Nutrition of normal infants**, Mosby, Missouri, USA, 1993. pgs. 147-175.
- FOSBROOKE, A.S. & WHARTON, B. A.- 'Added lactose' and 'added sucrose' cow's milk formulae in nutrition of low birth weight babies. *Arch. Dis. Child.*, 50: 409-18, 1975.
- FRISANCHO, A.R.; MATOS, J. & PAN FLEGEL, B.A.- Maternal nutritional status and adolescent pregnancy outcome. *Am. J. Clin. Nutr.*, 38: 739-46, 1983.
- GIBBONS, R.A.- The decomposition of sialic acid in acid. *Biochem. J.*, 82: 32-33, 1962.
- GLASS, R.I.; HOLMGREN, J.; HALEY, C.E.; KHAN, M.R.; SVENNER HOLM, A.M.; STOLE, B.J.; BELAYET HOSSAIN, K.M.; BLACK, R.E.; YUNUS, M. & BARUA, D.- Predisposition for cholera of individuals with O blood group: possible evolutionary significance. *Am. J. Epidemiol.*, 121: 791-96, 1985.
- GOLDMAN, A. S. & SMITH, C. W. - Host resistance factors in human milk. *J. Pediatr.*, 82: 1082-1090, 1973.
- GOLDMAN, A. & GARZA, C. - Future research in human milk. *Pediatr. Res.*, 22: 492-96, 1987.
- GOTTSCHALK, A. & DRZENIEK, R. - Neuraminidase as a tool in strutural analysis. In GOTTSCHALK, A., ed. - **Glycoproteins: their composition, structure and function**, 2d. ed. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1972. pgs. 381-402.

- GRAHAM, E.R.B.; MCKENZIE, H.A. & MURPHY, W.H.- Analysis and structural chemistry of the carbohydrate of glycoproteins. In MCKENZIE, H.A. ed. **Milk proteins, chemistry and molecular biology**, vol. I, Academic Press, New York and London, 1970. pgs.219-251.
- GRIMBLEBY, F.H. & NTAILIANAS, H.A.- Binding of trichloroacetic acid by proteins. **Nature**, 189: 835-36, 1961.
- GRIMMOPREZ, L. & MONTREUIL, J. _ Isolement et étude des propriétés physico- chimiques d'oligosaccharides du lait de femme. **Biochim.**, 57: 695-701, 1975.
- GRONBERG, G.; LIPNIUNAS, P.; LUNDGREN, T.; LIMDH, F. & NILSSON, B.-Isolation and structural analysis of three new disialylated oligosaccharides from human milk. **Arch. Bioch. Biophys. Acta**, 278(2): 297-311, 1990.
- GURR, M.I.- Review of the progress of dairy science: Human and artificial milks for infant feeding. **J. Dairy Res.**, 48: 519-54, 1981.
- GYORGY, P. & ROSE, C.S.- Further observations on the metabolic requeriments of *Lactobacillus bifidus* var. penn. **J. Bacteriol.**, 69: 483-490, 1955.
- GYORGY, P.- Biochemical aspects. In JELLIFFE, D.B. & JELLIFFE, E.F.P., eds. **The uniqueness of human milk**, **Am. J. Clin. Nutr.**, 24 (8) : 970-75, 1971.
- GYORGY, P.; JEANLOZ, R.W.; VON NICOLAI, H. & ZILLIKEN, F - Undializable growth factors for *Lactobacillus bifidus* var. *pennsylvanicus*. Protective effect of sialic acid bound to glycoproteins and oligosaccharides against bacterial degradation. **Eur. J. Biochem.**, 43: 29-33, 1974.

- HAMBRAEUS, L.; LONNERDALL, B.; FORSUM, E. & GEBRE-MEDHIN, M.- Nitrogen and protein components of human milk. *Acta Paediatr. Scand.*, 67: 561-5, 1978.
- HAMBRAEUS, L.; FORSUM, E.; ABRAHAMSSON, L. & LONNERDALL, B.- Automatic total nitrogen analysis in nutritional evaluation using a block digester. *Anal. Biochem.*, 72: 78-85, 1976.
- HANSON, L.A.; AHISTEDT, S. & CARLSON, B.; FALLSTROM, S.P.; KAIJSER, B.; LINDBLAD, B.S.; SOHLAKERLUND, A. & SVANBOR GEDEN, C.- New knowledge in human milk immunoglobulin. *Acta Paediatr. Scand.*, 67: 577-82, 1978.
- HARDING, S.E. & HALLIDAY, J.- Removal of sialic acid from cardiac sarcolemma does not affect contractile function in electrically stimulated guinea pig left atria. *Nature*, 286: 819-21, 1980.
- HARTMANN, P.E. & PROSSER, C.G.- Physiological basis of longitudinal changes in human milk yield and composition. *Fed. Proc.*, 43: 2448-53, 1984.
- HARTMANN, P.E. & KULSKI, J.K.- Changes in the composition of the mammary secretion of women after abrupt termination of breast-feeding. *J. Physiol.*, 275: 1-11, 1978.
- HARZER, G.; HAUG, M. & BINDELS, J.G.- Biochemistry of maternal milk in early lactation. *Hum. Nutr. Appl. Nutr.*, 40 A, Supp 1:11-18, 1986.
- HASLAM, S.Z. & LEVELY, M.L.- Estrogen responsiveness of normal mouse mammary cells in primary cell culture: association of mammary fibroblast with estrogenic regulation of progesterone receptors. *Endocrinology*, 116: 1835-

44, 1985.

- HEIMER, R. & MEYER, K.- Studies on sialic acid of submaxilar mucoid. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 42: 728-34, 1956.
- HENRIQUES, M.H.; SILVA, N.V.; SINGH, S. & WULF, D.- *Adolescentes de hoje, pais do amanhã: Brasil*. Presencia, Bogotá, 1989.
- HIRAI, Y.; KAWAKATA, N.; SATOH, K.; IKEDA, Y.; HISAYASU, S.; ORIMO, H. & YOSHINO, Y.- Concentration of lactoferrin and iron in human milk at different stages of lactation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 36: 531-44, 1990.
- HIRANO, S.; HAYASHI, H.; MASUDA, F.; ONODERA, K.- Mucopolysaccharides isolated from human and cow colostrum. *Agr. Biol. Chem.*, 30: 212-14, 1966.
- HIRANO, S.; HAYASHI, H.; TERABAYASHI, T.; ONODERA, K.; ISEKI, S.; KOCHIBE, N.; NAGAI, Y.; NAKAGAKI, T. & IMAGAWA, T.- Biologically active glycopeptides in human colostrum. *J. Biochem.*, 64(4): 563-65, 1968.
- HIRSCHMAN, CH. & SWEET, J.A.- Social background and breastfeeding among american mothers. *Soc. Biol.*, 21(1): 39-57, 1974.
- HOLMGREN, J; SVENNERHOLM, A-M.; LINDBLAND, M.; STRECKER, G.- Inhibition bacterial adhesion and toxin binding by glycoconjugate and oligosaccharide receptor analogues in human milk. In: GOLDMAN, A.S.; ATKINSON, S.A. HANSON, L.A. eds. *Human lactation 3: The effects of human milk upon the recipient infant*. Plenum Press, New York, 1987. pgs.251-259.

- HORNON, I.L.; STROBINO, D.M. & McDONALD, H.M.- Birth weights among infants born to adolescent and young adults women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 146: 444-9, 1983.
- HUTCHENS, W.T.; YIP, T.T. & MORGAN, T.- Identification of histidine-rich glycoproteins in human colostrum and milk. *Pediatr. Res.*, 31: 239-46, 1992.
- HYTTEN, F.E.- Clinical and chemical studies in human lactation. III- Diurnal variations in the major constituents of milk. *Br. Med. J.*, 1: 179-82, 1954.
- JEANLOZ, R.W. & CONDINGTON, J.F. - The biological role of sialic acid at the surface of the cell. In ROSENBERG, A. & SCHENGRUD, C. eds. *Biological roles of sialic acid*, Plenum, New York, 1976. pgs. 201-227.
- JELLIFFE, D.B. & JELLIFFE, E. F.P.- The volume and composition of human milk in poorly nourished communities. A review. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31: 492-515, 1978.
- JENNER, H.R.; KELCH, R.P.; KAPLAN, S.L.; GRUMBACH, M.N.- Hormonal changes in puberty: IV. Plasma estradiol, LH, and FSH in prepubertal children, pubertal females, and in precocious puberty, premature thelarche, hypogonadism, and in a child with a feminizing ovary tumor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34: 521-530, 1972.
- JENSEN, R.G.; HAGERTY, M.M. & McMAHON, K.E.- Lipids of human milk and infant formulas: A review. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31: 990-1016, 1978.
- JOURDIAN, G.W. DEAN, L. & ROSEMAN, S.- The sialic acids - XI. A periodate-resorcinol method for the quantitative estimation of free sialic acids and their glycosides. *J. Biol.*

Chem., 246 (2): 430-35, 1971.

KABARA, J.J.; VRABLE, R. & LI KEN JIE, M.S.F.- Antimicrobial lipids: Natural and synthetic fatty acids and monoglycerides. **Lipids**, 12: 753-9, 1977.

KARKAS, J. D. & CHARGAFF, E. - Studies on the stability of simple derivatives of sialic acid. **J. Biol. Chem.**, 239: 949-957, 1964.

KITAGAWA, H.; TAKAOKA, M; NAKADA, H.; FUKUI, S.; FUNAKOSHI, I.; KAWASAKI, T.; TATE, S.; INAGOKI, F. & YAMASHINA Isolation and structural studies of human milk oligosaccharides that are reactive with a monoclonal antibody MSN 113. **J. Biochem.**, 110: 598-604, 1991.

KOBATA, A. - Milk proteins and oligosaccharides. In HOROWITZ, M. S. PIGMANN, W. eds. **The glycoconjugates** , New York, Academic Press Inc., 1977. pgs. 423-40.

KOBATA, A. & GINSBURG, V.- Uridine diphosphate-N-acetyl-D-galactosamine: D-galactose-alpha-3-N-acetyl-D-galactosaminyltransferase. **J. Biol. Chem.**, 245: 1484-490, 1970.

KORNBERG, A. - Reversible enzymatic synthesis of diphosphopyridine nucleotide and inorganic pyrophosphate. **J. Biol. Chem.**, 182: 779-793, 1950.

KULSKI, J.K. & HARTMANN, P.E.- Changes in human milk composition during initiation of lactation. **Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.**, 59: 101-14, 1981.

LAURINDO, V.M.; CALIL, T.; LEONE, C.R.; & RAMOS, J.L.A.- Composição nutricional do colostro de mães de recém-

nascidos de pré-termo adequados e pequenos para a idade gestacional III - Condições que alteram a composição nutricional do leite humano. *Pediatrics*, 14: 24-9, 1992.

LAVELLE-MOERNA, M.- Growth of the birth canal in adolescent girls. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 143: 528-32, 1982.

LEDEEN, R.W. & YU, R.K.- Chemistry and analysis of sialic acid. In ROSENBERG, A. & SCHENGRUD, C. L., eds. *Biological roles of sialic acid*. New York, Plenum, 1976, pgs. 1-47.

LEE, P.A.; XENAKIN, T.; WINER, J. & MATSENBAUGH, S.- Puberty in girls: correlation of serum levels of gonadotropins, prolactin, androgens, estrogens and progestins with physical changes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 775-784, 1976.

LEIKOLA, E.; NIEMINEN, E. & TEPPS, A. M.- New sialic acid-containing sulfolipid, unguic acid. *J. Lipid. Res.*, 10 : 440-44, 1969.

LELOIR, L.F. & CARDINI, C.E.- The biosynthesis of glucosamine. *Biochim. Biophys. Acta*, 12: 15-22, 1953.

LEVIN, J.- *Estatística aplicada a Ciências Humanas*. São Paulo, Ed. Herrera Ltda., 1987.

LEWIS-JONES, D.I.; LEWIS-JONES, M.S.; CONNOLLY, R.C.; LLOYD, D.C. & WEST, C.R.- The influence of parity, age and maturity of pregnancy on antimicrobial proteins in human milk. *Acta Paediatr. Scand.*, 74: 655-59, 1985.

LINZELL, J.L. & PEAKER, M.- Changes in colostrum composition and in permeability of mammary epithelium at about the time of parturition in the goat. *J. Physiol.*, 243: 129-31,

1974.

LIPSMAN, S.; DEWEY, K. G. & LONNERDALL, B. - Breast-feeding among teenage mothers: milk composition, infant growth and maternal dietary intake. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 4: 426-34, 1985.

LÖNNERDAL, B.; FORSUM, E. & HAMBRAEUS, L.- A longitudinal study of the protein, nitrogen, and lactose contents of human milk from Swedish well-nourished mothers. *Am. J. Clin. Nutr.*, 29:1127-33, 1976.

LÖNNERDAL, B.; HOFFMAN, & HURLEY, L.S.- Zinc and copper binding proteins in human milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 36: 1170-6, 1982.

LÖNNERDAL, B. & FORSUM, E.- Casein content of human milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 41: 113-120, 1985a.

LÖNNERDAL, B.- Biochemistry and physiological function of human milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.*, 42: 1299-317, 1985b.

LÖNNERDAL, B. Effects of maternal dietary intake on human milk composition. *J. Nutr.*, 116: 499-513, 1986.

MAITY, P.; DAS, P. & CHOWDHURY, J.R.- Serum sialic acid level under different conditions including malignancy. *Ind. Med. Res.*, (suppl) 78: 137-40, 1983.

MARIER, J.R.; TESSIER, H. & ROSE, D.- Sialic acid as an index of the k-casein content of bovine skim milk. *J. Dairy Sci.*, 46: 373-79, 1963.

MARSHALL, W.A. & TANNER, J.M.- Variations in the pattern of

- pubertal changes in girls. **Arch. Dis. Child.**, 44: 291-303, 1969.
- MATA, L.J. & WYATT, R.G.- Host resistance to infection. In JELLIFFE, D. B. & JELLIFFE, E.P. eds. **Symposium. The uniqueness of human milk.** **Am. J. Clin. Nutr.**, 24(8): 976-86, 1971.
- Mc GRATH, C. M. - Augmentation of the response of normal mammary epithelial cells to estradiol by mammary stroma. **Cancer Res.**, 43: 1355-60, 1983.
- McGUIRE, E.J. - Anabolic reaction involving sialic acids. In ROSENBERG, A. & SCHENGRUD, C.L. eds., **Biological roles of sialic acid.** New York, Plenum, 1976. pgs.123-152.
- MICK, C.W. & NICOLL, C.S.- Prolactin directly stimulates the liver in vivo to secrete a factor (syalactin) which acts synergistically with the hormone. **Endocrinology**, 116: 2049-53, 1985.
- MITTRA, I.- A novel cleaved prolactin in the rat pituitary. In vivo mammary mitogenic activity of its N-terminal 16 k moiety. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 95: 1760-1767, 1980.
- MONTGOMERY, R. - Heterogeneity of the carbohydrate groups of glycoproteins. In GOTTSCHALK, A., ed. - **Glycoproteins: Their composition, structure and function**, 2d. ed. Amsterdam, Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1972. pgs. 512-528.
- MORGAN, B.L.G. & WINICK, M. - A possible relationship between brain N-acetylneuraminic acid content and behavior. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 161: 534-37, 1979.

- MORGAN, B.L.G. & WINICK, M. - Effect of administration of N-acetylneuraminic acid (NANA) on brain NANA content and behavior, *J. Nutr.*, 110: 416-24, 1980.
- MORGAN, L. G. B.; OPPENHEIMER, J. & WINICK, M.- Effects of essential fatty acid deficiency during late gestation brain N-acetylneuraminic acid metabolism and behaviour in the progenie. *Br. J. Nutr.*, 46: 223-30, 1981.
- MOTTA, M.L.- *Influência da idade materna e da idade ginecológica sobre os resultados maternos e neonatais da gravidez na adolescência*. Campinas, S.P., 1993. (Tese de Doutorado. FCM-UNICAMP).
- NAEYE, R.L.- Teenaged and pre-teenaged pregnancies: consequences of fetal-maternal competition for nutrients. *Pediatr.*, 67:146-50, 1981.
- NAGRA, S.A.- Longitudinal study in biochemical composition of human milk during first year of lactation. *J. Trop. Pediatr.*, 35:126-128, 1989.
- NELSON, R.M.- Physiologic correlates of puberty. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 21(4):1137-49, 1978.
- NEVILLE, M.C.; KELLER, R.P.; SEACAT, J.; CASEY, C.E.; ALLEN, J.C.; ARCHER, P.- Studies on human lactation. I. Within-feed and between-breast variation in selected components of human milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 40: 635-46, 1984.
- NEVILLE, M.C.; KELLER, R.; SEACAT, J.; LUTES, V.; NEIFERT, M.; CASEY, C. & ALLEN, J.- Studies in human lactation: milk volumes in lactating women during the onset of lactation and full lactation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 48: 1375-86, 1988.

- NEVILLE, M.C. - The physiological basis of milk secretion.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 586: 1-11, 1990a.
- NEVILLE, M.C.; HAY, W.W. & FENNESSEY, P.- Physiological significance of the concentration of human milk glucose.
Protoplasma, 159: 118-28, 1990b.
- NEVILLE, M.C.; ALLEN, J.C.; ARCHER, P.C.; CASEY, C.E.; SEACAT, J.; KELLER, R.P.; LUTES, V.; RASBACH, J. & NEIFERT, M.- Studies in human lactation: milk volume and nutrient composition during weaning and lactogenesis. **Am. J. Clin. Nutr.**, 54: 81-92, 1991.
- NEWBURG, D.S.; PICKERING, L.K.; McCLUER, R.H. & CLEARY, T.G.- Fucosylated oligosaccharides of human milk protect suckling mice from heat-stabile enterotoxin of *Escherichia coli*. **J.Infect. Dis.**, 162: 1075-80, 1990.
- NG, S.S. & DAIN, J. A. - The natural occurrence of sialic acids. In ROSENBERG, A. & SCHENGRUD, C.L., eds. - **Biological roles of sialic acid**, New York, Plenum 1976. pgs 59-86.
- NICHOLS, J.H. & BEZKOROVAINY, A. - Human colostrum whey M-1 glycoproteins and their *L. bifidus* var. penn. growth promoting activities. **Life Sci.**, 14: 967-76, 1974.
- NICHOLS, J.H.; BEZKOROVAINY, A. & PAQUE, R. - Isolation and characterization of several glycoproteins from human colostrum whey. **Biochim. Biophys. Acta**, 412: 99-108, 1975.
- O'BRIEN, P.J.; GLICK, M.C. & ZILLIKEN, F.- Acidic amino-sugars from bacteria. Incorporation of [14 C] α,β -methyl-N-acetyl-D-glucosaminide into muramic acid. **Biochim.**

Biophys. Acta, 37:357-60, 1960.

OKA, T. & YASHIMURA, M.- Paracrine regulation of mammary gland growth. **Clin. Endocrinol. Metab.**, 15: 79-97, 1986.

PAERELS, G.B. & SCHUT, J. The mechanism of the periodate - Thiobarbituric acid reaction of sialic acids. **Biochem. J.**, 96: 787-792, 1965.

PETERSON, CH.E. & DaVANZO, J.- Why are teenagers in the United States less likely to breast-feed than older Women. **Demography**, 29(3): 431-50, 1992.

PETRÉN, S. & VESTERBERG, O.- The N-acetylneuraminic acid content of five forms of human transferrin. **Biochim. Biophys. Acta**, 994: 161-65, 1989.

PINTO e SILVA, J.L. - Aspectos pediátricos da gravidez na adolescência. **J. Bras. Ginecol.** 94(8): 319-26, 1984.

PÍTELKA, D.R.- The mammary gland. In WEISS, L. & GREEP, R.O., eds. **Histology**. 4a ed, New York, McGraw Hill Book Co., 1977. pgs. 925-50

POGELL, B.M. & GRYDER, R.M.- Enzymatic synthesis of glucosamine-6-phosphate in rat liver. **J. Biol. Chem.**, 228: 701-712, 1957.

PRENTICE, A.; PRENTICE, A.H. & WHITEHEAD, E.G.- Breast milk fats concentration of rural African women. 1.- Short term variations within individuals. **Br. J. Nutr.**, 45: 483-94, 1981a.

PRENTICE, A.; PRENTICE, A.H. & WHITEHEAD, E.G.- Breast milk fat concentrations of rural African women. 2.- Long term

variations within a community. **Br. J. Nutr.**, 45: 495-503, 1981b.

READ, W.W.C.; LUTZ, P.G. & TASHIJIAN, A.- Human milk lipids. II. The influence of carbohydrate and fat on the fatty acids of mature milk. A study in four ethnic groups. **Am. J. Clin. Nutr.**, 17: 180-83, 1965a.

READ, W.W.C.; LUTZ, P.G. & TASHIJIAN, A.- Human milk lipids. 3. Short-term effects of dietary carbohydrate and fat. **Am. J. Clin. Nutr.**, 17: 184-87, 1965b.

REES, J.M.; ENGELBERT-FENTON, K.A.; GONG, E.J. & BACH, C.M.- Weight gain in adolescents during pregnancy: rate related to birth-weight outcome. **Am. J. Clin. Nutr.**, 56: 868-73, 1992.

REYNIK, J.V.- Physiology of the breast, In GALLAGER, H.S.; LEIS jr. H.P.; SNYDERMAN, R.K.; URBAN, J.A. eds., **The breast**. St. Louis, C. V. Mosby Company, 1978. pgs. 23-31.

RIBADEAU-DUMAS, B. & ALAIS, C.- Preparation of cristallized N-acetylneuraminic acid (O-sialic) from cow milk casein. **Bull. Soc. Chim. Biol.**, 43: 377-85, 1961.

ROSEMAN, S.; JOURDIAN, G. W.; WATSON, D. & ROOD, R. Enzymatic synthesis of sialic acid-9-phosphate. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, 47: 958-61, 1961.

ROSENFELD, R.I. & FUNG. V.S.- The effects of prolonged physiological estradiol therapy on the maturation of hypogonadal teenagers. **J. Pediatr.**, 85: 830-37, 1974.

ROWLAND, S.J.- The precipitation of the proteins in milk. **J. Dairy Res.**, 9: 30-41, 1938.

- ROY, H.W. & LUYT, N.F. Significance of sialic acid determination (letter). **S. Afr. Med. J.**, 71: 193-4, 1987.
- RUSSO, J. & RUSSO, I.H.- Development of the human mammary gland. In: NEVILLE, M. & DANIEL, C.W., ed.- **The mammary gland: Development, regulation and function**. New York, Plenum Publishing Corporation, 1987. pgs. 67-93.
- RYAN, A.S.; RUSH, D.; KRIEGER, F.W. & LEWANDOWSKI, G.- Recent declines in breast-feeding in the United States, 1984 through 1989. **Pediatr.**, 88(4): 719-27, 1991.
- SABHARWAL, H; SJOBLAD, S. & LUNDBLAD, A.- Sialylated oligosaccharides in human milk and feces of preterm, full-term and weaning infants. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, 12: 480-84, 1991.
- SCHAUER, R.- Chemistry and biology of the acylneuraminic acids. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, 12: 127-38, 1973.
- SCHAUER, R.- Characterization of sialic acids. In GINSBURG, V. ed. Complex carbohydrates. **Methods Enzymol.**, 50: 64-132, 1978.
- SCHAUER, R. - Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, 140: 131-234, 1982.
- SCHAUER, R.- Analysis of sialic acids. In GINSBURG, V. ed. Complex carbohydrate. **Methods. Enzymol.**, 138: 132-161, 1987.
- SHEARD, N.F. & WALKER, W.A. -The role of breast milk in the development of the gastrointestinal tract. **Nutr. Rev.**, 46: 1-8, 1988.

- SHERBLOM, A.P.; BHARATHAN, S.; HALL, P.J.; SMAGULA, R.M.; MOODY, CH.E. & ANDERSON, G.- Bovine serum sialic acid: age related changes in type and content. *Int. J. Biochem.*, 20: 1177- 83, 1988.
- SHIMIZU, M.; YAMAUCHI, K.; YAUCH, Y.; SAKURA, T.; TOKUGAWA, K. & McILHINNEY, R.J.- High-Mr glycoprotein profiles in human milk serum and fat globule membrane. *Biochem. J.*, 233: 725-30, 1986.
- SHUB, M.D.; PANG, K.Y.; SWANN, D.A. & WALKER, W.A.- Age-related changes in chemical composition and physical properties of mucus glycoproteins from rat small intestine. *Biochem. J.*, 215: 405-411, 1983.
- SILVER, H.K.B.; KARIM, K.A.; ARCHIBALD, E.L. & SALINAS, F.A. Serum sialic and sialyltransferase as monitors of tumor burden in malignant melanoma patients. *Cancer Res.*, 39: 5036-42, 1979.
- SNYDER, J.D.; PODOLSKY, D.K. & WALKER, W.A.- The role of mucus in intestinal host defense: Developmental differences in composition and binding to cholera toxin (CT). *Pediatr. Res.*, 20: 249 A (Abst 570), 1986.
- SPIRO, R.G. - Studies on the biosynthesis of glucosamine in the intact rat. *J. Biol. Chem.*, 234: 742-48, 1959.
- STEFENELLI, N.; KLOTZ, H.; ENGEL, A. & BAUER, P.- Serum sialic in malignant tumors, bacterial infections and chronic liver diseases. *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.*, 109: 55-59, 1985.
- STEVENS-SIMON, C.; FORBES, G.B.; KREIPE, R.E. & McANARNEY, E.R.- A comparison of chronological age and gynecologic

- age as indices of biologic maturity. *Am. J. Dis. Child.*,
140: 702-705, 1986.
- STEVENS-SIMON, C. & McANARNEY, E.R.- Adolescent maternal
weight gain and low birth weight: a multifactorial model.
Am. J. Clin. Nutr., 47: 948-53, 1988.
- SUGAR, M.- Adolescent pregnancy in the USA: Problems and
prospects. *Adolesc. Pediatr. Gynecol.*, 4: 171-85, 1991.
- SVENNERHOLM, L. - On the isolation characterization of N-
acetylsialic acid. *Acta Soc. Med. Ups.*, 61 : 75-80, 1956.
- TABOR, H. MEHLER, A.H. & STADTMAN, E.R.- The enzymatic
acetylation of amines. *J. Biol. Chem.*, 204: 127-38, 1953.
- TANNER, J.M.- Growth and maturation during adolescence.
Nutr. Rev., 39(2): 43-55, 1981.
- THOMAS, M.R.; SNEED, S.M.; WEI, C.; NAIL, P.A.; WILON, M. &
SPRINKLE, E.- The effects of vitamin C, vitamin B₆,
vitamin B₁₂, folic acid, riboflavin and thiamin on the
breast milk and maternal status of well-nourished women
at 6 months postpartum. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33: 2151-56,
1980.
- TOPPER, Y.J. & FREEMAN, S.- Multiple hormone interactions
in the developmental biology of the mammary gland.
Physiol. Rev., 60 (4): 1049-1106, 1980.
- TUPPY, H & GOTTSCHALK, A. - The struture of sialic acid and
their quantitation. In GOTTSCHALK A., ed., *Glycoprotein.
Their composition struture and function.* 2nd. ed Else
vier Publishing Co., Amsterdam, 1972. pgs. 403-409.

- VAUGHAM, L.A.; WEBER, C.W. & KEMBERLING, S.R.- Longitudinal changes in the mineral content of human milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 32: 2301-06, 1979.
- VIVERGE, D.; GRIMMOPREZ, L.; CASSANAS, G.; BARDET, L.; BONNET, H. & SOLÉRE, M.- Variations of lactose and oligosaccharides in milk from women of blood types secretor A or secretor H. Secretor Lewis and secretor H/nonsecretor Lewis during the course of lactation. *Ann. Nutr. Metab.*, 29: 1-11, 1985.
- VIVERGE, D.; GRIMMOPREZ, L.; CASSANAS, G.; BARDET, L. & SOLÉRE, M.- Diurnal variations and within the feed in lactose and oligosaccharides of human milk. *Ann. Nutr. Metab.*, 30: 196-209, 1986.
- VIVERGE, D.; GRIMMOPREZ, L.; CASSANAS, G.; BARDET, L. & SOLÉRE, M.- Variations in oligosaccharides and lactose in human milk during the first week of lactation. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 11: 361-64, 1990a.
- VIVERGE, D.; GRIMMOPREZ, L.; CASSANAS, G.; BARDET, L. & SOLÉRE, M.- Discriminant carbohydrate components of human milk according to donor secretor types. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 11: 365-70, 1990b.
- VORHERR, H.- *The breast morphology, physiology and lactation*. New York, Academic Press, 1974, 269 pgs.
- WARREN, L.- The thiobarbituric acid assay of sialic acid. *J. Biol. Chem.*, 234: 1971-75, 1959.
- WARREN, L. & FELSENFELD, H.- The biosynthesis of N-acetylneuraminic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 4: 234-35, 1961.

- WARREN, L. & FELSENFELD, H.- N-acetylmannosamine-6-phosphate and N-acetylneuraminic acid-9-phosphate as intermediates in sialic acid biosynthesis. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 5: 185-90, 1961.
- WARREN, L. & FELSENFELD, H.- The biosynthesis of sialic acids. **J. Biol. Chem.**, 273: 1421-1431, 1962.
- WATKINS, W.M. - Biochemistry and genetics of the ABO, Lewis and P blood group systems. **Adv. Hum. Genetics.**, 10: 1-36, 1980.
- WEISS, L.- Studies on cell deformability. I. Effect of surface charge. **J. Cell. Biol.**, 26: 735-39. 1965.
- WELSCH, J.K. & MAY, J.T.- Anti-infective properties of breast milk. **J. Pediatr.**, 94: 1-9, 1979.
- WITT, W.; VON NIKOLAI, H. & ZILLIKEN, F.- Uptake and distribution of orally applied N-acetyl [^{14}C]- neuraminosyllactose and N-acetyl [^{14}C] neuraminic acid in the organs of newborn rats. **Nutr. Metab.**, 23: 51-61, 1979.
- WOODRUFF, J.J. & GESNER, B.M.- The effect of neuraminidase on the fate of transfused lymphocytes. **J. Exp. Med.**, 129: 551-67, 1969.
- WORKING GROUP NUTRITION AND PREGNANCY IN ADOLESCENCE, COMMITTEE ON MATERNAL NUTRITION; FOOD AND NUTRITION BOARD, NATIONAL RESEARCH COUNCIL; NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, Washington, D.C.- Relation of nutrition to pregnancy in adolescence. **Clin. Obstet. Gynecol.**, 14: 367-92, 1971.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. - The reproductive health of

adolescents: A strategy for action. A Joint WHO/UNFPA/UNICEF Statement, 1989. 18pg.

WORTHINGTON-ROBERTS, B.S.- Lactação e leite humano: considerações nutricionais. In WORTHINGTON-ROBERTS, B.S.; VERMEERSCH, J. & WILLIAMS, S.R. eds. **Nutrição na gravidez e na lactação**, 3a ed. Rio de Janeiro, Ed. Interamericana 1986. pgs: 187-240.

WORTHINGTON-ROBERTS, B.S. & REES, J.M.- Necessidades nutricionais da adolescente grávida. In WORTHINGTON-ROBERTS, B.; VERMEERSCH, J. & WILLIAMS, S.R., eds., **Nutrição na gravidez e na lactação**, 3a ed. Rio de Janeiro, Ed. Interamericana, Rio de Janeiro, 1986. pg. 165-183.

ZLATNIK, F. J. & BURMEISTER, L.F.- Low "gynecologic age. An obstetric risk factor. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, 128: 183-86, 1977.

8. A N E X O S

FICHA N° 01 IDENTIFICAÇÃO DA NUTRIZ

CADASTRO N° _____	DATA: ____/____/____
NOME: _____	IDADE: _____
END: R. Av. _____	N° _____
BAIRRO: _____	
CIDADE: _____	
RAÇA: Branca () Negra () Amarela () Outros _____	

FICHA N° 02 - INQUÉRITO SÓCIO-ECONÔMICO

CADASTRO N° _____	DATA: ____/____/____			
Adolescente ()	Adulta ()			
ESCOLARIDADE: PC () PI () SC () SI () SUP ()				
PROFISSÃO: _____	REND A MENSAL _____			
ESTADO CIVIL: Casada () Amasiada () Solteira ()				
M E M B R O S D A F A M I L I A				
GRAU DE PARENTESCO	IDADE	OCUPAÇÃO/PROFISSÃO	REND A MENSAL	ESCOLARIDA DE

FICHA N° 3 - INQUÉRITO OBSTÉTRICO

CADASTRO N° _____		DATA: ____/____/____	
Adolescente () _____		Adulta () _____	
DATA DO PARTO: ____/____/____		TIPO DO PARTO: Normal ()	
HORÁRIO DO PARTO: _____		Cesariana () Forceps ()	
PESO PREGESTACIONAL _____ kg		GANHO PONDERAL _____ kg	
ESTATURA _____ cm		PESO FINAL _____ kg	
PESO DO RN: _____ kg		IDADE GESTACIONAL _____ seman. e dias	
COMPRIMENTO _____ cm		SEXO: Masculino () Feminino ()	