

GABRIELLE DO AMARAL VIRGINIO PEREIRA

O efeito da obesidade pré-gestacional sobre a proliferação de linfócitos do colostro humano e mecanismos intracelulares de modulação linfocitária na presença de adiponectina, leptina e melatonina

SÃO PAULO

2023

GABRIELLE DO AMARAL VIRGINIO PEREIRA

O efeito da obesidade pré-gestacional sobre a proliferação de linfócitos do colostro humano e mecanismos intracelulares de modulação linfocitária na presença de adiponectina, leptina e melatonina

Versão Corrigida

(Versão Original encontra-se na unidade que aloja o Programa de Pós-Graduação)

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Ciências Médicas
Área de Concentração: Educação e Saúde

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Abreu

SÃO PAULO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pereira, Gabrielle do Amaral Virginio

O efeito da obesidade pré-gestacional sobre a proliferação de linfócitos do colostro humano e mecanismos intracelulares de modulação linfocitária na presença de adiponectina, leptina e melatonina / Gabrielle do Amaral Virginio Pereira. -- São Paulo, 2023.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências Médicas. Área de Concentração: Educação e Saúde.

Orientador: Luiz Carlos de Abreu.

Descritores: 1.Adiponectina 2.Leite humano
3.Colostro 4.Hormônios 5.Leptina 6.Linfócitos
7.Melatonina 8.Obesidade

USP/FM/DBD-282/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

AGRADECIMENTOS

Demonstro aqui a minha gratidão ao universo, a natureza e todas as energias existentes por nos fazer sentir e nos proporcionar esperança, em meio de um mundo caótico.

Primeiramente, expresso a minha gratidão a minha mãe e genitora, Rosana Amaral, que sempre foi uma mulher extremamente forte, me amou, mostrou e ensinou a nunca desistir e em grande parte, é responsável pela mulher que me tornei. Agradeço também, a minha namorada e eterna companheira, Ananda Cristina, pelos conselhos, abraços e apoio em toda trajetória. A nossa criança, Lorenzo Gabriel Moncosso, que me ensina muito todos os dias. Aos meus irmãos, Vinicius e Vitor, por sempre estarem comigo independentemente da situação, e a minha querida cunhada, Kamille Soumaili.

Agradeço a minha amada prima, Flávia Amaral, que desde antes da minha primeira graduação sempre me apoiou profissionalmente e pessoalmente. E ao meu tio, Cláudio Pereira, que sempre esteve ao meu lado, especialmente nos momentos difíceis.

Sou extremamente grata a todos que contribuíram para a conclusão deste estudo. Primeiramente, expresso meus agradecimentos ao meu orientador, Luiz Carlos de Abreu, que me acompanha, ensina e me orienta desde a Iniciação Científica, no ano de 2019, durante a minha primeira graduação. Suas ideias e conselhos foram fundamentais para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional, serei eternamente grata pela sua disposição, paciência e comprometimento.

Desejo expressar minha gratidão a todos os meus colegas de laboratório, que me ensinam diariamente e sempre estão dispostos a ajudar. A minha grande parceira de experimentos, Tassiane Morais, que me ensinou muito durante todo o período de mestrado e é responsável por grande parte do meu desenvolvimento científico.

A minha grande amiga e colega de trabalho, Agatha Mesaroach, obrigada por toda a sua disposição e auxílio durante a coleta de dados e ao longo deste estudo. Agraço também a Ingrid Soares, que também nos auxiliou na coleta de colostro. Agradeço imensamente a todos os membros do Laboratório de Delineamento de Estudos e Escrita Científica, especialmente a Célia Guarnieri, Francisco Naildo, Blanca Guerrero, Rodrigo Daminello, Matheus Paiva, Henrique Ferreira e Maitê Ferrari.

Por fim, agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), que financiou parte do estudo (Nº 2019/25112-2) e contribuiu para que ele fosse executado. Além da bolsa de mestrado fornecida pela Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pelo Programa de Excelência Acadêmica (PROEX).

“O homem é aquilo que a educação faz dele.”

KANT, IMMAUEL

RESUMO

Pereira GAV. O efeito da obesidade pré-gestacional sobre a proliferação de linfócitos do colostro humano e mecanismos intracelulares de modulação linfocitária na presença de adiponectina, leptina e melatonina [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução: A obesidade é um problema de saúde pública que provoca milhões de óbitos mundialmente todos os anos. O excesso de peso durante a gestação pode contribuir para complicações que envolvem o feto e a gestante. A obesidade materna pode causar alterações no neonato, promovendo mudanças nos níveis de linfócitos, especialmente as células TCD4+, importantes modulares do processo inflamatório. Deste modo, se faz necessário o desenvolvimento de estudos para melhor entendimento de como o estado nutricional materno impacta a ação do sistema neuroendócrino-imune e a maneira em que afeta os mecanismos imunológicos da relação materno-infantil por meio da amamentação. **Objetivo:** Analisar as repercussões da obesidade materna na proliferação de linfócitos do colostro humano e os mecanismos intracelulares de modulação de linfócitos na presença de adiponectina, leptina e melatonina. **Método:** Trata-se de estudo transversal que analisou 52 amostras de colostro de puérperas divididas em dois grupos, um com obesidade e outro de eutróficas. Os linfócitos do colostro foram submetidos a imunofenotipagem e proliferação celular por citometria de fluxo e liberação de cálcio intracelular e ensaios de apoptose por imunofluorescência na presença ou ausência de hormônios. Diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0,05$, os testes estatísticos utilizados foram o qui-quadrado e/ou teste T. **Resultados:** A obesidade pré-gestacional materna reduziu a proliferação de linfócitos. Houve redução de linfócitos TCD4+ no colostro humano ($p < 0,05$). Os hormônios estudados restauraram a proliferação de linfócitos a um nível semelhante ao do grupo eutrófico ($p < 0,05$). Os hormônios reduziram os níveis de cálcio intracelular nas células do colostro no grupo de mulheres eutróficas ($p < 0,05$). Entretanto, no grupo de obesidade, na presença de adiponectina e adiponectina + leptina, ocorreu uma diminuição da liberação de cálcio nas células de colostro quando comparado ao mesmo grupo tratado com meio celular ($p < 0,05$). Não houve alteração da taxa de apoptose dos linfócitos associada ao excesso de peso materno. No grupo eutrófico, os hormônios reduziram taxa de apoptose ($p < 0,05$). **Conclusão:** Os hormônios estudados mostraram diferentes ações sobre os linfócitos de acordo com o estado nutricional pré-gestacional. A leptina, adiponectina, melatonina e as ações biológicas representam mecanismos de proteção materna e infantil via colostro e modulam os linfócitos do colostro humano.

Palavras-chave: Adiponectina. Leite humano. Colostro. Hormônios. Leptina. Linfócitos. Melatonina. Obesidade.

ABSTRACT

Pereira GAV. The effect of pre-gestational obesity on human colostrum lymphocyte proliferation and intracellular mechanisms of lymphocyte modulation in the presence of adiponectin, leptin and melatonin [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

Background: Obesity is a public health problem that causes millions of deaths worldwide every year. Excess weight during pregnancy can contribute to complications involving the fetus and the pregnant woman. Maternal obesity can cause alterations in the neonate, promoting changes in lymphocyte levels, especially CD4+ T cells, which are important regulators of the inflammatory process. Therefore, it is necessary to develop studies for a better understanding of how maternal nutritional status impacts the neuroendocrine-immune system and the way it affects the immunological mechanisms of the maternal-infant relationship through breastfeeding. **Objective:** Examine the effects of maternal obesity on human colostrum lymphocytes and the intracellular mechanisms of lymphocyte modulation in the presence of leptin, adiponectin, and melatonin through cell proliferation, the release of intracellular calcium, and apoptosis induction. **Methods:** This cross-sectional study analyzed 52 colostrum samples from postpartum women divided into two groups, one with obesity and the other with normal weight. The colostrum lymphocytes were subjected to immunophenotyping and cell proliferation by flow cytometry and intracellular calcium release and apoptosis assays by immunofluorescence in the presence or absence of hormones. Significant differences were considered when $p < 0.05$, and the statistical tests used were the chi-square test and/or t-test. **Results:** Maternal obesity reduced lymphocyte proliferation. There was a reduction in CD4+ T lymphocytes in human colostrum ($p < 0.05$). The hormones studied restored lymphocyte proliferation to a similar level to the eutrophic group ($p < 0.05$). The hormones reduced intracellular calcium levels in colostrum cells in eutrophic women group ($p < 0.05$). However, in the obesity group, in the presence of adiponectin and adiponectin + leptin, there was a decrease in calcium release in colostrum cells compared to the same group treated with cell medium ($p < 0.05$). There was no alteration in the rate of lymphocyte apoptosis due to maternal overweight. In the eutrophic group, the hormones reduced the apoptosis rate ($p < 0.05$). **Conclusion:** The studied hormones showed different actions on lymphocytes according to the pre-pregnancy nutritional status. Leptin, adiponectin, melatonin, and their biological actions represent mechanisms of maternal and infant protection through colostrum and modulate human colostrum lymphocytes.

Keywords: Adiponectin. Milk, human. Colostrum. Hormones. Leptin. Lymphocytes. Melatonin. Obesity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Caracterização das participantes obesas e eutróficas.....	46
Tabela 2:	Caracterização dos recém-nascidos de participantes eutróficas e obesas.....	47
Tabela 3:	Caracterização da população de linfócitos T.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Esquema ilustrativo para o desenvolvimento da inflamação do tecido adiposo induzida pela obesidade.....	20
Figura 2:	Fluxograma do número de amostras de colostro utilizadas em cada etapa.....	42
Figura 3:	Colostro humano em um tubo falcon com capacidade de 5ml após a centrifugação para a divisão de fases celulares	43
Figura 4.	Intensidade da fluorescência da proliferação de linfócitos do colostro de acordo com o IMC pré-gestacional e estímulo de hormônios leptina, adiponectina e melatonina.....	49
Figura 5.	Detecção de cálcio intracelular liberados pelos linfócitos do colostro de puérperas segundo o IMC materno e o tratamento com hormônios adiponectina, leptina e melatonina.....	50
Figura 6.	Ação dos hormônios adiponectina, leptina e melatonina sob o índice de apoptose dos linfócitos do colostro humano segundo o estado nutricional materno.....	51
Figura 7.	Representação esquematizada dos principais resultados encontrados.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS	Organização Mundial de Saúde
IMC	Índice de Massa Corporal
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral-alfa
TAB	Tecido Adiposo Branco
IL-6	Interleucina-6
PAI	Inibidor de Ativador de Plasminogênio
IgG	Imunoglobulina G
OLH	Oligossacarídeos
IL	Interleucinas
LPS	Lipossacarídeo
APN	Adiponectina
NF-kB	Fator de Transcrição Nuclear Kappa B
DHGNA	Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica
AMPK	Proteína Quinase Dependente de APM
NAT	N-acetiltransferase
SNC	Sistema Nervoso Central
HBSS	Solução de sais balanceados de Hank
BSA	Albumina de Soro Bovino
P.P.s.	Placas de Peyer
NK	Natural Killer

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Obesidade	17
2.1.1 Mecanismos da obesidade	18
2.1.2 Alterações da imunidade na obesidade	19
2.2 Obesidade na gravidez	22
2.2.1 Amamentação e obesidade	24
2.3 Fisiologia da amamentação e transferência celular para o recém-nascido	26
2.3.1 Possíveis alterações no colostro e no leite materno de mulheres obesas.	27
2.4 Composição do colostro e leite materno	29
2.5 Hormônios presentes no leite materno e suas alterações devido a obesidade	32
2.5.1 Leptina	33
2.5.2 Adiponectina	35
2.5.3 Melatonina	37
3 OBJETIVOS	40
3.1 Geral	40
3.2 Específicos	40
4 MÉTODO	41
4.1 Desenho e local do estudo	41
4.2 Amostra	41
4.3 Análise de colostro e análises laboratoriais	41
4.3.1 Coleta de colostro e População de estudo	42
4.3.2 Separação de fases do colostro humano	42
4.3.3 Imunofenotipagem	43
4.3.4 Estímulo	43
4.3.5 Proliferação de linfócitos	44
4.3.6 Cálcio Intracelular	44
4.3.7 Apoptose	44
4.4 Análise estatística	45
4.5 Aspectos éticos	45

5 RESULTADOS	46
5.1 Caracterização da amostra	46
5.2 Análise molecular do colostro	48
6 DISCUSSÃO	53
7 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61
ANEXOS	82
ANEXO 1. Comitê de Ética Aprovado	82
ANEXO 2. Artigo Publicado	83

1 INTRODUÇÃO

É amplamente reconhecido que a obesidade é um problema de saúde pública significativo que afeta pessoas de todas as idades e gêneros. Por isso, possui uma relevância significativa tanto para a comunidade científica como para a população em geral, o desenvolvimento de evidências acerca dos determinantes desta condição.

A obesidade é uma doença crônica que pode ser caracterizada pela interação de diversos processos que resultam em excesso de gordura corporal (SOUZA, 2022). Esta disfunção possui uma alta prevalência em toda a população mundial. Mulheres em idade reprodutiva são mais propensas a ganhar peso rapidamente em comparação com homens e mulheres de outros grupos etários (NG et al., 2014; LIM et al., 2022).

Durante o período gestacional, esta patologia está associada a diversas complicações neonatais que são desenvolvidas a partir da inflamação induzida pela obesidade e alterações nos mecanismos de defesa que podem resultar em efeitos a longo prazo na mãe e em seu descendente (STADLER et al., 2023; LI et al., 2021; RUGINA et al., 2021).

As alterações provenientes da obesidade promovem mudanças nos perfis de citocinas (OUCHI et al., 2011; FUJIMORI, 2016), no mecanismo de proteínas e imunoglobulinas (CHANDRA et al., 2022), nos mediadores inflamatórios associados ao tecido adiposo (FARAH et al., 2012) e em hormônios relacionados com a regulação do metabolismo energético (TORELLY, 2021; MORAIS et al., 2019a). Além disso, desempenha um papel funcional nas células mononucleares do colostro, a partir do aumento do cálcio intracelular proporcionando uma maior taxa basal de apoptose (MORAIS et al., 2019b; MORAIS et al., 2019a).

Sabe-se que esta doença crônica está associada a mudanças no tecido adiposo e nos perfis sistêmicos de linfócitos, o que contribui para uma desregulação de mediadores pró-inflamatórios (MRAZ e HALUZIK, 2014; DEL CORNO, CONTI e GESSANI, 2018). No meio intrauterino de mulheres obesas, há redução nos níveis de linfócitos CD4+ T, que são fundamentais para a manutenção de uma gravidez saudável. O desequilíbrio nos níveis destes linfócitos podem prover perdas fetais (LI et al., 2021; POLESE et al., 2014).

As complicações de uma gravidez em mulheres com obesidade pré-gestacional não se restringem ao meio intrauterino. Durante a amamentação e todo o período da

gestação, as transferências maternas para o feto e recém-nascido são capazes de modular o sistema imunológico de um bebê (HUSSAIN et al., 2022; GODFREY et al., 2017). Entretanto, os efeitos da obesidade durante os períodos pré e pós-natal ainda não são totalmente compreendidos.

Estudos que analisaram a influência da obesidade materna em componentes do colostro humano, verificaram que a obesidade promove mudanças na atividade de células mononucleares, reduzindo o índice de fagocitose, com alterações na quantidade de cálcio intracelular e de apoptose. Entretanto, os hormônios leptina, adiponectina e melatonina estão relacionados ao mecanismo de proteção materno infantil que possuem o potencial de restaurar a atividade destas células, garantindo assim a proteção da amamentação (MORAIS et al., 2019b; MORAIS et al., 2019a).

As adipocinas leptina e adiponectina influenciam no desenvolvimento infantil em seu primeiro ano de vida (GRIDNEVA et al., 2018) e estão presentes no colostro em concentrações distintas entre mulheres eutróficas e aquelas com obesidade pré-gestacional (FUJIMORI et al., 2015). Além disso, esses hormônios são responsáveis pela restauração da redução da atividade de macrófago no colostro de puérperas obesas. Deste modo, o equilíbrio entre os níveis de adipocinas maternas pode proporcionar maior proteção do colostro e auxiliar na redução das taxas de infecções em recém-nascidos que foram amamentados por mulheres com obesidade pré-gestacional (MORAIS et al., 2019b).

Estudos recentes sugerem uma potencial relação entre a presença de leptina no leite materno e o ganho de peso em crianças (JUAN CASTELL et al., 2022; CHAN et al., 2018). Dentre as funções da leptina, destacam-se a sua relação com o metabolismo energético e com a imunidade inata e adaptativa, uma vez que é responsável pela modulação de respostas celulares como linfócitos B e T. Ao aumentar a proliferação de linfócitos e diminuir a atividade de células T regulatórias (T REGS), a leptina promove uma resposta com um fenótipo tipo Th1 pró-inflamatório em vez do Th2, facilitando respostas dos linfócitos Th17 (FRANCISCO et al., 2018).

Além da ação pró-inflamatória da leptina, existem mecanismos compensatórios para a alteração dos níveis endógenos desta adipocina. A melatonina é capaz de influenciar a modulação dos níveis endógenos de leptina, uma vez que os receptores de melatonina MT1 são importantes vias de sinalização na produção de leptina (BOUNFIGLIO et al., 2019).

A melatonina desempenha diversas funções importantes, sendo algumas das principais a estruturação do sistema circadiano, a promoção do sono, regulação de ciclos reprodutivos sazonais, regulação homeostática energética e redução da resposta imuno inflamatória em excesso do organismo. Além disso, está relacionada com mecanismos fisiopatológicos que contribuem para o desenvolvimento e manutenção da obesidade e da síndrome inflamatória (TAN et al., 2014; CIPOLLANETO et al., 2014; CARDINALI e HARDELAND, 2017).

Em indivíduos obesos, os níveis séricos de melatonina são reduzidos (ALAMDARI et al., 2015; PROCHNOW et al., 2022; GROSSHANS et al., 2016). Em contrapartida, Colostro de mulheres obesas pode conter concentrações elevadas deste hormônio (KATZER et al., 2016; MORAIS, 2019a; HONORIO-FRANÇA et al., 2013).

A melatonina ingerida pelo recém-nascido a partir da amamentação é essencial na sincronização dos ritmos biológicos da díade mãe-filho e favorece a diminuição da atividade dos fagócitos no colostro, auxiliando na proteção contra infecções (FRANCA et al., 2010; MOCELI et al., 2013; VETERAMO et al., 2022). Além de que, este hormônio aumenta a atividade protetora dos fagócitos, representado um possível mecanismo de proteção materno-infantil contra a obesidade (MORAIS et al., 2019a).

Dentro do contexto observado é possível que a obesidade materna durante a gestação cause alterações na população dos linfócitos do colostro e os hormônios adiponectina, leptina e melatonina.

Deste modo, é provável que os riscos da obesidade pré-gestacional possam ser reduzidos a partir da interação entre mãe e filho durante o período de lactação por mecanismos de proteção presentes no colostro e no leite materno, envolvendo ações imunomoduladoras de hormônios como a leptina, adiponectina e melatonina, que são capazes de regular a atividade dos linfócitos do leite humano.

No entanto, ainda existem lacunas na literatura científica em relação às consequências da obesidade materna na atividade funcional dos linfócitos presentes no colostro humano. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar as repercussões da obesidade materna na proliferação de linfócitos do colostro e os mecanismos intracelulares de modulação de linfócitos na presença de adiponectina, leptina e melatonina através da liberação intracelular de cálcio e indução de apoptose.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade

Conforme diretrizes da Organização Mundial de Saúde (OMS), o excesso de peso e a obesidade são identificados como a presença de acúmulo anormal ou excessivo de tecido adiposo, representando uma ameaça para a saúde. A definição é determinada pelo Índice de massa corporal (IMC), utilizado para classificar o excesso de peso, calculado pelo valor do peso em quilos dividido pelo quadrado da altura em metros (kg/m^2). A OMS estabelece a obesidade como um IMC igual ou superior a 30kg/m^2 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

Esta doença é uma realidade mundial que se encontra em crescimento em proporções epidêmicas tanto em adultos quanto em crianças, sendo considerada uma epidemia do século XXI, de acordo com a carga global da obesidade (PEREIRA, 2007; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

O sobrepeso e a obesidade constituem fatores de risco significativos para uma variedade de condições e doenças crônicas, como doenças cardiovasculares (LAVIE, MILANI e VENTURA, 2009), demência e Alzheimer (FLORES-CORDERO et al., 2022), acidentes vasculares cerebrais (MARIANELLI, MARIANELLI e DE LADERDA NETO, 2020), diabetes (LA SALA e PONTIROLI, 2020), distúrbios musculoesqueléticos (LIN e LI, 2021), além de uma maior suscetibilidade para diversos tipos de câncer (DE PERGOLA e SILVESTRIS, 2013).

Ressalta-se que o risco de desenvolver doenças não transmissíveis se agrava à medida que o índice de massa corporal aumenta ((WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

A obesidade em crianças é um problema de saúde mundial, representando um grande desafio para a saúde pública do século XXI (LOBSTEIN e BRINSDEN, 2019). Entre os anos de 1975 e 2016, a prevalência de crianças e adolescentes com sobrepeso ou obesidade, com idades de 5 a 19 anos, aumentou mais de quatro vezes, passando de 4% a 18% em nível global (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023). Estudos mostram que crianças com obesidade provavelmente continuem obesas em sua vida adulta, além de estar associada com as doenças e condições citadas anteriormente, bem como a mortalidade prematura e incapacidade (PULGARÓN, 2013; HORESH et al., 2021).

2.1.1 Mecanismos da obesidade

No ano de 1996, Hotamisgill reconheceu a obesidade como uma doença inflamatória, após conduzir um estudo experimental em ratos. Nesse estudo, observou-se um aumento na expressão do gene responsável pela produção de adipocinas pró-inflamatórias, mais especificamente do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), no tecido adiposo.

Inflamação é uma resposta fisiológica do organismo a estímulos prejudiciais, sejam eles físicos, químicos ou biológicos, que geralmente conduz ao restabelecimento da homeostase. A resposta inflamatória aguda normalmente envolve o transporte de componentes do plasma e leucócitos ao local lesionado e é iniciada por macrófagos e mastócitos do tecido, levando a uma produção de diferentes tipos de mediadores inflamatórios (QATANANI e LAZAR, 2007).

O tecido adiposo possui diversas funções, além de existir uma grande especialização fisiológica, presença de macrófagos, fibroblastos, pré-adipócitos e adipócitos. A partir da constatação de que o tecido adiposo branco (TAB) emite substâncias com efeitos biológicos relevantes, foi estabelecido um papel endócrino significativo (PRADO et al., 2009).

O TAB, além de funcionar como uma reserva de energia, desempenha um papel importante na regulação da temperatura corporal e está envolvido em uma ampla gama de processos metabólicos e fisiológicos. Este tecido é capaz de secretar peptídeos bioativos, que influenciam a função adipocitária e afeta vias metabólicas por meio da circulação sanguínea (FRUHBECK et al., 2001; RONTI, LUPATELLI e MANNARINO, 2006; FONSECA-ALANIZ et al., 2006).

A origem da associação da obesidade e do processo inflamatório foi fortalecida após a descoberta de que muitas citocinas, definidas como proteínas solúveis sintetizadas que mediam a comunicação intracelular (WEIR e STEWART, 2002) e elevados níveis de proteínas de fase aguda, associadas à inflamação, são observados em indivíduos obesos. Os adipócitos são capazes de secretar diversas citocinas e proteínas responsáveis por elevar a produção de fatores associados à inflamação (TRAYHURN, 2009; BULLÓ et al., 2003).

Sabe-se que as adipocinas têm a capacidade de afetar diversos processos fisiológicos, tais como o controle da ingestão de alimentos, a regulação energética do

organismo, a sensibilidade à insulina, a proteção vascular, a regulação da pressão arterial e da coagulação sanguínea. Quando ocorre uma desregulação dessas adipocinas, podem surgir complicações patológicas e ocorrer alterações na quantidade de tecido adiposo. Dentre as adipocinas, destacam-se a leptina, adiponectina, resistina, fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa), interleucina-6 (IL-6), inibidor do ativador do plasminogênio (PAI), angiotensinogênio e omentina (BOOTH et al., 2015; LACERDA, MALHEIROS e DE ABREU, 2016; PRADO et al., 2009).

Além disso, as adipocinas são ligadas a imunidade e inflamação, uma vez que há relação entre os adipócitos e as células imunológicas (FANTUZZI, 2005)

Deste modo, a inflamação do tecido adiposo é iniciada e mantida por adipócitos disfuncionais que secretam adipocinas inflamatórias e pela infiltração de células imunes derivadas da medula óssea. Mesmo em baixo grau, a inflamação do tecido adiposo afeta negativamente o funcionamento de órgãos, o que pode causar muitas complicações da obesidade (KAWAI, AUTIERI e SCALIA, 2021).

2.1.2 Alterações da imunidade na obesidade

O tecido adiposo branco possui um importante papel na defesa microbiana, na cicatrização de feridas e no processo inflamatório, o que faz com que alguns pesquisadores o definem como um órgão imune, o que o torna capaz de interferir em doenças autoimunes (DAÏEN e SELLAM, 2015; THRUM, 2017).

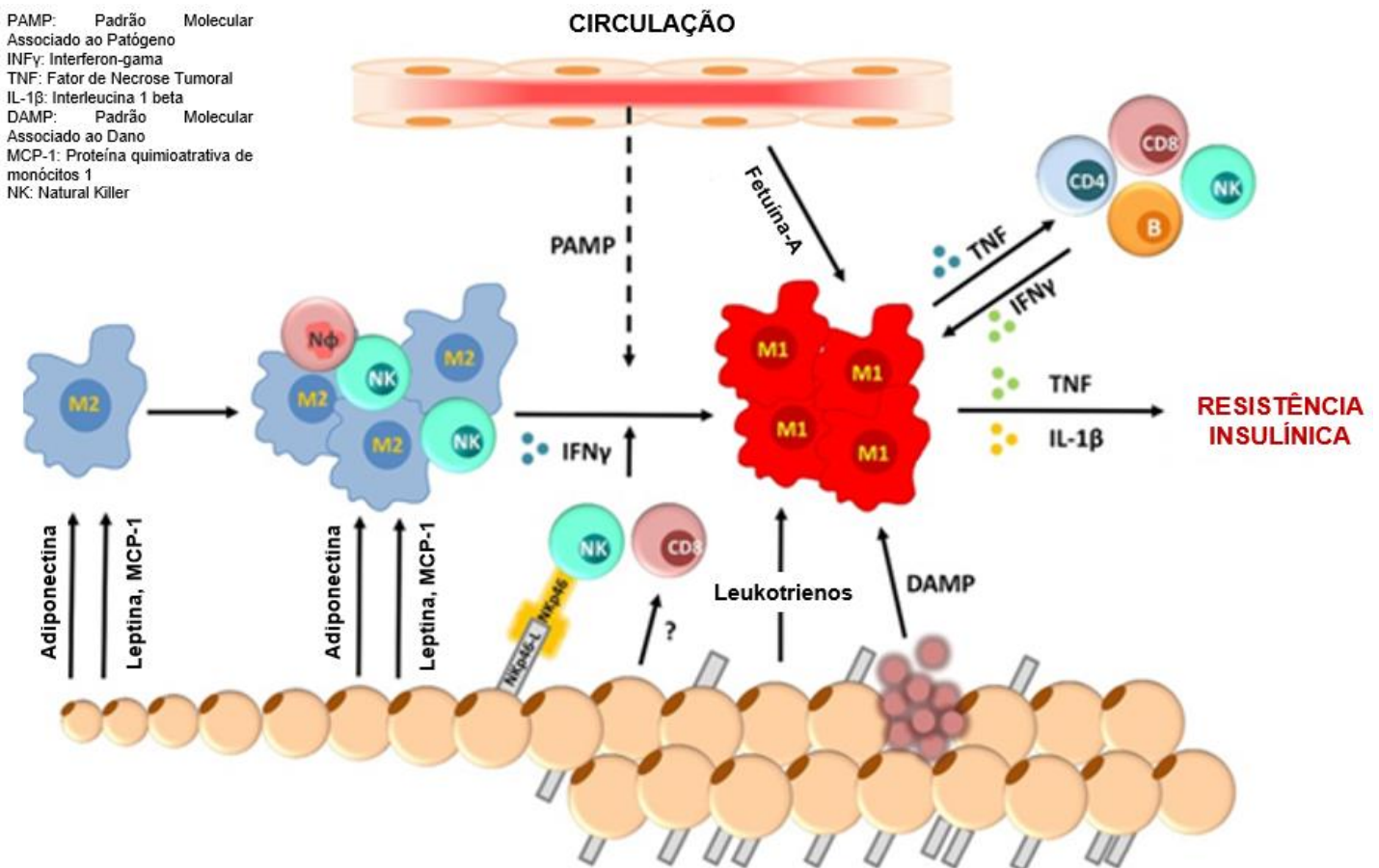
Em indivíduos que possuem um IMC classificado como eutrófico, as células do TAB tendem a um estado anti-inflamatório, uma vez que as células Natural Killer (NK), células B, células Th2 e células T reguladoras tem capacidade de suprir a inflamação. Por outro lado, o aumento da adiposidade favorece a produção de uma maior quantidade de células imunes pró-inflamatórias, como a Th17, além de causar uma alteração na expressão de adipocinas (HUTCHESON, 2015).

O tecido adiposo, além de sua função endócrina, desempenha um papel imunológico ao produzir proteínas relacionadas ao sistema imunológico, tais como a adiponectina, a leptina, o IL-1 β , IL-6 e TNF- α (fator de necrose tumoral) (MECKENSTOCK e THERBY, 2015; CARTER et al., 2018).

Em pessoas com obesidade, ocorre um aumento do tecido adiposo visceral, assim como uma secreção excessiva de citocinas e adipocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (MECKENSTOCK e THERBY, 2015; MILNER e BECK, 2012;

CARTER et al., 2018), além da transição fenotípica de um estado anti-inflamatório M2 para pró-inflamatório M1, causando um desequilíbrio (CATALÁN, GÓMEZ-AMBROSI, RODRÍGUEZ, e FRÜHBECK, 2013). A figura 1 ilustra o desenvolvimento da inflamação do tecido adiposo induzida pela obesidade.

Figura 1 - Esquema ilustrativo para o desenvolvimento da inflamação do tecido adiposo induzida pela obesidade



Fonte: Adaptado de WENSVEEN et al., 2015.

Além disso, observa-se uma redução na quantidade de adiponectina, que pode estar relacionado a modificações na citotoxicidade das células NK e na síntese de citocinas. É importante ressaltar que este hormônio possui uma tendência anti-inflamatória, anti-diabética e anti-aterogênica (ROCHA e LIBBY, 2008).

Em contrapartida, há um excesso na produção de IL-6, TNF- α e IL-1 β no TAB de pessoas com obesidade. De modo geral, a adiponectina reduz a ativação de macrófagos e a produção de citocinas pró-inflamatórias (ROJAS-OSORNIO et al.,

2019). Ademais, a exposição prolongada a citocinas pró-inflamatórias afeta as células do sistema imunológico, comprometendo suas respostas durante uma potencial infecção (MILNER e BECK, 2012).

A leptina, excretada pelo tecido adiposo, é responsável pela regulação do apetite e do gasto de energia. Durante períodos de jejum, ocorre uma redução nos níveis de leptina, o que resulta em um aumento do apetite e uma limitação na termogênese (FLIER, 2004). Esse hormônio está associado a respostas pró-inflamatórias (ROJAS-OSORNIO et al., 2019) e influencia a síntese de citocinas, regulação da apoptose, função dos linfócitos, proliferação e maturação de células T, modulação de marcadores em células CD8+ e TCD4+, recuperação da imunodepressão causada pelo jejum, estímulo de macrófagos e neutrófilos, aprimorando a resposta do sistema imunológico, entre outras funções.

A leptina tem capacidade de promover o aumento de IL-2 e diminuir a resposta dos LTh2, resultando em uma diminuição na produção de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Além disso, sabe-se que a hiperleptinemia em indivíduos obesos resultaram na resistência à leptina por células NK, monócitos e células T, que diminui ainda mais a função imunitária (LAMAS, MARTI e MATINEZ, 2002; MARTÍ, MARCOS e MARTÍNEZ, 2001; NAVE et al., 2008; O'ROURKE et al., 2005; MILNER e BECK, 2016; MILNER e BECK, 2012).

Além da desregulação hormonal e macrocitária, a obesidade pode resultar em hipertrofia dos adipócitos, estresse e apoptose, levando a uma hipóxia, desregulação imunológica, inflamação sistêmica de baixo grau e infiltração pró-inflamatória do tecido adiposo (CARTER et al., 2018).

Em relação aos níveis de leucócitos e linfócitos, estudos mostram que o IMC está positivamente relacionado com alteração dos níveis de neutrófilos, proteína C reativa, linfócitos, índice de inflamação imune sistêmica, contagem de leucócitos e índices de plaquetas. Desta forma, sabe-se que existe uma correlação entre a obesidade e a contagem de leucócitos e linfócitos, com inibição da proliferação de linfócitos T e B, bem como ao aumento nas taxas de atividade oxidativa e fagocitose, resultando em impactos adversos no sistema imunológico (DE ABREU et al., 2013; VOUNG et al., 2014; TULGAR e FURUNCUOGLU et al., 2016).

O estudo de Childs et al. (2014) mostrou que as células mononucleares do sangue periférico de indivíduos obesos possuem aumento na frequência de células

em apoptose e que o plasma destes pacientes induz apoptose e imunosenescências em linfócitos previamente saudáveis. Assim, a apoptose possibilita a eliminação rápida das células disfuncionais pelos fagócitos, sem estimular a ocorrência de inflamação. Em contrapartida, a senescência celular em obesos causa uma resposta inflamatória que pode ser um impacto sistêmico.

Desta forma, o aumento da apoptose nas células mononucleares do sangue periférico em obesos indica que a obesidade é capaz de sensibilizar os linfócitos T e a apoptose precoce. Além disso, foi observado um aumento de moléculas indutoras de morte celular no plasma de indivíduos com obesidade, como o TNF- α , que pode desencadear a apoptose em linfócitos e, conseqüentemente, resultar em linfopenia e imunodeficiência prematura, criando um fenótipo imunológico semelhante ao observado durante o envelhecimento (PARISI, 2018).

2.2 Obesidade na gravidez

A prevalência da obesidade também tem aumentado em mulheres em idade fértil. De acordo com os dados de uma pesquisa realizada pelo Ministério da Saúde, em 2018, mais de metade da população brasileira (55,7%) possui excesso de peso, e 20,7 das mulheres apresentam obesidade (BRASIL, 2018).

Sabe-se que o peso pré-gestacional é parâmetro importante tanto do peso durante a gravidez e quanto do impacto da saúde fetal e materna, uma vez que mulheres com um maior Índice de Massa Corporal (IMC) podem ter um ganho de peso superior do que o recomendado, além de recém-nascidos com maior peso (BEZERRA e ANTÔNIO, 2020).

Assim como em indivíduos saudáveis, em grávidas a obesidade pode causar diversas complicações, porém com risco de afetar o feto. Entre eles, podem ser citados a diabetes gestacional, doenças hipertensivas da gravidez, hemorragia pós-parto, pré-eclâmpsia, eclâmpsia, maior chance de nascimento por cesáreas, malformação fetal, aborto espontâneo, ganho de peso gestacional excessivo, macrossomia e hipoglicemia neonatal (BRANDÃO, DA SILVA e DE SIQUEIRA, 2019; WANG, BARTELL e WANGG, 2018; FARPOUR-LAMBERT et al., 2018).

A trajetória do peso de um indivíduo tem início antes e durante a gestação e é desenvolvida durante a infância e a vida adulta, até a senescência (KUH e BEN-SHLOMO, 2004).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) o desenvolvimento da obesidade ao longo da vida ocorre através de dois mecanismos, na exposição gestacional à obesidade e a partir de uma alimentação não saudável e atividade física impulsionada pela exposição de fatores ambientais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). Desta forma, é possível observar o impacto e a influência da obesidade para o feto, recém-nascido e até após o nascimento, desencadeado durante a gestação.

Mulheres obesas que engravidam geralmente permanecem com dietas de baixa qualidade e baixos níveis de atividade física e de maneira mais abrangente, mulheres reduzem a frequência de atividades físicas durante a gravidez, sendo menor ainda no ano após o parto (KAAR et al., 2014; DEVINE, BONE e OLSON, 2000).

Estudo de coorte mostrou que o excesso de peso durante a gravidez é associado a um maior peso do recém-nascido, um risco 46% maior de sobrepeso ou obesidade em crianças com idades entre dois e cinco anos (KAAR et al., 2014), maior probabilidade de peso corporal maior do que o considerado saudável pela OMS e maior quantidade de tecido adiposo aos 10 anos de idade (DEVINE, BONE e OLSON, 2000).

A obesidade é considerada uma condição complexa conduzida por diversos fatores sociais, econômicos, ambientais, comportamentais e biológicos individuais ao longo da vida do indivíduo (RUUTER, 2018). Sabe-se que estratégias para otimizar o peso e o estado nutricional de mulheres e homens antes do planejamento da gravidez é importante na redução dos riscos à saúde e na prevenção do sobrepeso e obesidade de seus filhos (STEPHENSON et al., 2018).

Em 2018, Farpour-lambert et al. (2018) a partir de uma revisão sistemática, identificaram intervenções eficazes no estilo de vida que auxiliam na manutenção do peso a fim de aprimorar os efeitos maternos e infantis durante a gravidez e o pós-parto; e mostrou que a implementação de uma dieta equilibrada, com baixa carga glicêmica, juntamente com atividade física de intensidade leve a moderada é recomendada a partir do primeiro trimestre de gravidez e que seja mantida durante o período pós-parto.

Além disso, é conhecido que as condições genéticas e ambientais da mãe têm a capacidade de modificar e influenciar o sistema imunológico do feto. Isso ocorre devido à capacidade de adaptação e desenvolvimento do sistema imunológico

durante os estágios iniciais da vida. Durante a gravidez, o feto obtém anticorpos IgG (Imunoglobulina G) para o combate a infecções, recebendo a experiência imunológica da mãe (GOENKA e KOLLMANN et al., 2015; FRANÇA et al., 2012). Com isso, uma dieta rica em gordura na gestação influencia a produção de hormônios que é desenvolvida durante o estágio embrionário, em especial a desregulação de leptina, como já descrito neste estudo.

O feto adquire imunidade passiva através da placenta e posteriormente, pelos componentes moleculares do colostro, sendo os linfócitos especialmente importantes para o desenvolvimento do sistema imunológico do recém-nascido (HLAVOVA, STEPANOVA e FALDYNA, 2014).

2.2.1 Amamentação e obesidade

A lactação é uma característica de animais mamíferos, além da produção e secreção de leite a partir de mecanismos complexos e processos neuroendócrinos. Desta forma, a amamentação é consequência direta e natural da gravidez e do nascimento, como uma parte integrante do processo reprodutivo que traz benefícios para a mãe lactante e o filho, de forma simultânea. Além disso, o colostro representa uma das primeiras experiências nutricionais para o recém-nascido, que anteriormente recebia a sua nutrição de forma intrauterina (KENT, 2006; CIAMPO e CIAMPO, 2018).

De acordo com a OMS a recomendação do aleitamento materno exclusivo é até seis meses de idade e deve estar incluído na dieta até dois anos de idade, mas as taxas mundiais de amamentação ainda são baixas em relação as metas estabelecidas (WHO, 2003).

O leite materno possui uma variedade de fatores bioativos, incluindo hormônios e enzimas, que desempenham um papel crucial no crescimento, diferenciação e maturação funcional de órgãos específicos, influenciando o desenvolvimento do bebê. O aleitamento materno promove diversos benefícios a curto prazo, como a redução de mortalidade e morbidade por doenças infecciosas para o recém-nascido (SANKAR et al., 2015) e a longo prazo, como maior quociente de inteligência em crianças (HORTA, LORET DE MOLA e VISTORA, 2015; HORTA, DE SOUZA e DE MOLA, 2018).

Além de sua importância para a prevenção de sobrepeso e obesidade (VON DER OHR, 2018), maior qualidade de vida ao bebê (ROLLINS et al., 2016), impacto

positivo para o desenvolvimento cognitivo nos primeiros anos de vida (KOH, 2017), proteção contra distúrbios alérgicos (LODGE et al., 2015) e prevenção de leucemia infantil (AMITAY e KEINAN-BOKER, 2015).

Para a puérpera, o ato de amamentar está relacionado com a saúde física e mental, à redução do sangramento e infecção no período pós-parto (GREMMO-FÉGER, 2013), redução da adiposidade e do peso (MCCLURE et al., 2012), prevenção de depressão pós-parto (SIPSMA et al., 2018), redução do estresse e da ansiedade (HANDLIN et al., 2009).

Além da prevenção de câncer (mama, ovário e endométrio) (ZHOU et al., 2015; DANFORTH et al., 2007; WANG, LI e SHI et al., 2015) e outras doenças como diabetes (SCHWARZ et al., 2010), osteoporose (KOVACS, 2016), hipertensão arterial (WBINA e KASHIWAKURA, 2012), síndrome metabólica (CHOI et al., 2017), artrite reumatoide (CHEN et al., 2015), doenças respiratórias e gastrointestinais (GERTOSIO et al., 2015), Alzheimer (FOX; BERZUINI e KAPP, 2013) e esclerose múltipla (LARGER-GOULD et al., 2017; CIAMPO e CIAMPO, 2018).

A composição do leite materno pode estar associada ao processo de "imprinting metabólico", influenciando o número e o tamanho dos adipócitos ou estimulando a homeostase metabólica. Essa alteração dos adipócitos pode possibilitar um cenário de obesidade infantil. Este fenômeno é compreendido como uma experiência nutricional precoce, que ocorre em um período crítico e específico do desenvolvimento humano, podendo ocasionar um efeito duradouro por toda a vida do indivíduo e interferir na suscetibilidade de algumas doenças (BALABAL et al., 2004).

Os resultados apresentados por Araújo, Bezerra e Chaves (2006), que investigaram o papel da amamentação ineficaz no desenvolvimento da obesidade infantil mostraram que uma amamentação em conjunto com uma condição socioeconômica baixa pode favorecer um cenário propício para a evolução da obesidade (VON KRIES et al., 2002).

Na Alemanha, um estudo com uma amostra superior a 9 mil crianças entre cinco e seis anos mostrou uma prevalência de obesidade de 4,5% entre crianças que nunca tinham sido amamentadas e 2,8% naquelas que receberam o aleitamento materno. Além disso, os resultados mostraram que quanto maior foi o período de amamentação, menor foi a prevalência de obesidade (VON KRIES et al., 2002).

Em crianças mais velhas, entre 9 e 11 anos de idade, Ma et al. (2020) a partir de uma pesquisa realizada em doze países diferentes constataram que a amamentação é um fator de proteção para a obesidade e sobrepeso. Outros estudos também chegaram à conclusão de que a adiposidade infantil é menor em crianças que tiveram uma amamentação eficaz e assim, corroborando a ideia de que a amamentação é um importante agente na prevenção da obesidade infantil (ORTEGA-GARCIA et al., 2018; QIAO et al., 2020; LIU et al., 2022; MA et al., 2020).

2.3 Fisiologia da amamentação e transferência celular para o recém-nascido

A glândula mamária lactante é constituída por uma rede ramificada de ductos e células mioepiteliais que ao serem estimuladas pela oxitocina, liberada pela hipófise devido a estimulação induzida pela sucção, são responsáveis pela contração dos alvéolos, o que promove a ejeção do leite. A síntese de lactose ocorre no complexo de Golgi das células epiteliais mamárias e as proteínas secretas o leite são sintetizadas pelas células alveolares, podendo ser modificadas no citoplasma (MONKS e NEVILLE, 2000; MACMANAMAN e NEVILLE, 2003).

Em relação ao transporte de solutos e vias de secreção, os lipídeos e proteínas são secretadas por um processo exclusivo das células epiteliais mamárias (MATHER e KEENAN, 1998). Há a presença de duas vias transcelulares para o transporte de substâncias exógenas para o leite e a via da transcitose, que realiza o transporte de diversas substâncias macromoleculares incluindo proteína séricas como imunoglobulinas, albumina e transferrina, hormônios endócrinos como insulina e prolactina e agentes essenciais para a imunidade como imunoglobulina A, citocinas e lipoproteína lipase (MONKS e NEVILLE, 2000; MACMANAMAN e NEVILLE, 2003).

Além disso, existem outras vias de transporte de membrana para a transferência de íons e pequenas moléculas e uma via paracelular. Porém, sabe-se que o transporte por essas vias é afetado pelo estado funcional da glândula mamária e regulado por ações diretas e indiretas de hormônios e fatores de crescimento (NGUYEN e NEVILLE, 1998).

A capacidade de secretar leite é desenvolvida durante o processo de lactogenese I, que ocorre ainda durante a gravidez. Essas alterações são reguladas por hormônios e envolve mudanças tanto na composição celular da glândula mamária quanto em suas propriedades estruturais e bioquímicas, essenciais para o

desenvolvimento eficiente do transporte de solutos, neste caso, o colostro e o leite materno (MACMANAMAN e NEVILE, 2003).

Em relação a transferência de células para o recém-nascido, ele dependerá durante seus primeiros meses de vida de anticorpos maternos originários da passagem transplacentária, no colostro, no leite materno e a partir da colonização de microbiota intestinal obtida da mãe (NUÑEZ VACA e CARBONARE, 2010).

A proteína addressin MadCAM 1 encontrada na glândula mamária de mulheres grávidas, alcançando o pico durante a lactação, possibilita a interação com os linfócitos circulantes, que direciona o trânsito de células na lactação, conhecido como “bronco-entero-mamário” e integra a glândula mamária ao sistema imune comum de mucosas. Deste modo, este processo faz com que o leite materno apresente níveis elevados de anticorpos (NISHIMURA, 2003; BRANDTZAEG, 2003).

Sabe-se que a amamentação possui uma relação significativa com o sistema imunológico (NUZZI et al., 2021), incluindo os linfócitos T. Os linfócitos T são reguladores centrais da imunidade celular que desempenha um papel fundamental na resposta imune do corpo, auxiliando no combate a infecções (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010).

A transferência de linfócitos T através da amamentação pode fornecer ao bebê benefícios imunológicos adicionais, ajudando a fortalecer seu sistema imunológico e protegendo-o contra infecções durante os primeiros meses de vida, quando o sistema imunológico do bebê ainda está em desenvolvimento. Diversos fatores podem influenciar a presença de linfócitos T no leite materno, incluindo a saúde da mãe, o estado imunológico, a exposição a antígenos específicos e até mesmo a dieta materna. A amamentação estimula a produção e a liberação de células imunes, como os linfócitos T, no leite materno (ERLIANA e FLY et al., 2019; CABINIAN et al., 2016).

Embora haja evidências sobre a presença de linfócitos T no leite materno e seus possíveis efeitos benéficos para o sistema imunológico do bebê, é importante ressaltar que a pesquisa nessa área ainda está em andamento e muitas questões permanecem em aberto.

2.3.1 Possíveis alterações no colostro e no leite materno de mulheres obesas

O estado nutricional anterior à gravidez pode estar relacionado a alterações na composição de micronutrientes, na quantidade e nos compostos bioativos presentes

no leite materno (SANTOS, 2022). No entanto, em relação a composição de macronutrientes, existem poucas pesquisas que abordam a relação da variação desta composição entre puérperas com estado nutricional adequado ou com obesidade.

O excesso de tecido adiposo permite a concentração de grandes quantidades de progesterona, sendo que níveis elevados deste hormônio dificultam a execução apropriada da fase II da lactogênese, retardando o início da lactação em mulheres obesas ou com excesso de peso (JEVITT et al., 2007). Outros estudos reforçam que mulheres com IMC não saudáveis possuem menor produção de leite materno, além de uma maior concentração de gordura e conteúdo energético e redução do hormônio prolactina (RASMUSSEN e KJOLHEDE, 2004; BARBOSA et al., 1997).

A maior concentração de gordura no leite materno de mulheres com sobrepeso e obesas possui uma correlação positiva com o IMC materno, ou seja, quanto maior o valor o IMC, maior a quantidade de gordura no leite (CANNON et al., 2015; KHAN et al., 2013). É possível que a desregulamentação metabólica que ocorre em mulheres com dislipidemia (altos níveis de lipídeos na corrente sanguínea) e altos níveis de triglicérides circulantes tenham sido associada a um aumento na concentração de gordura no leite materno, mas pode também estar relacionado com a maior ingestão de gordura na dieta dessas mulheres (KIM et al., 2017; FUJIMORI et al., 2015).

Na Bahia, estado da Região Nordeste brasileira, Silva (2010) apresentou que o leite materno de mulheres obesas e/ou com sobrepeso mostrou uma maior concentração de zinco em comparação com mulheres eutróficas, mesmo o autor relatando que esta concentração não é benéfica para o recém-nascido, não se sabe ao certo os efeitos que a alta concentração de zinco no leite materno tem sobre o neonato.

No leite materno, são encontrados oligossacarídeos (OLH), que são carboidratos solúveis importantes na função imunológica dos recém-nascidos, podem sofrer alterações devido à fatores genéticos maternos, tempo pós-parto, índice de massa corporal (IMC), idade, estágio de lactação e ganho de peso (SPRENGER, BINIA e AUSTIN, 2019). Diversos estudos apresentaram concentrações de OLH no leite materno de puérperas obesas menores em relação a mulheres eutróficas, podendo causar alterações na imunidade neonatal (LARSSON et al., 2019; SABEN et al., 2021; FERREIRA et al., 2020).

Sabe-se que o leite de puérperas obesas é enriquecido de monossacarídeos e álcoois de açúcar, sofrem alteração no tempo do ciclo glucose-alanina, no metabolismo de aminoácidos e no ciclo da ureia. Além de apresentar modificações na composição lipídica, aumento de insulina, leptina, IL-6, proteína C reativa e TNF- α , menor quantidade de adiponectina e alteração na síntese de peptídeos oxigenados, podendo desenvolver hiperfagia e maior depósito de gordura (MÄKELÄ et al., 2013; FIELDS et al., 2017, ISGANAITIS, 2021).

Ainda há controvérsias sobre o mecanismo de equilíbrio entre citocinas de padrão de ativação celular de linfócitos T em mulheres obesas, que são essenciais na produção de citocinas responsáveis pelos processos imunológicos, alguns estudos relatam alterações no perfil de citocinas (SVEC et al., 2007; WINER et al., 2009; VAN DER WEERD et al., 2012).

A literatura científica relata que o leite materno e o colostro de mulheres com excesso de peso apresentam alterações nos constituintes bioquímicos e imunológicos e modifica as concentrações de hormônios imunomoduladores como a leptina e adiponectina (ANDREAS et al., 2016; FUJIMORI et al., 2017).

2.4 Composição do colostro e leite materno

Após o nascimento do recém-nascido, o primeiro fluido produzido pelas puérperas é o colostro, que distingue do leite materno em diversos aspectos, como volume, aparência e composição. O colostro normalmente é produzido nos primeiros dias após o parto e em pequenas quantidades, é uma substância rica e nutritiva essencial para o desenvolvimento inicial dos recém-nascidos (DRAGO et al., 2017). A produção dele é realizada nas glândulas mamárias imediatamente após o parto até o quinto ou sexto dia depois (TOSCANO et al., 2017).

O colostro é rico em componentes imunológicos, como leucócitos, fatores de desenvolvimento, citocinas, IgA, sais minerais, água, lactoferrina, anticorpos, peptídeos antimicrobianos, quimiocinas, enzimas e hormônios (PIRES-LAPA et al., 2013; TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, KVERKA e HRDÝ, 2020; KVERKA et al., 2007). As citocinas, como a TGF- β_2 , IL-6, IFN- γ , são secretadas no colostro ou no leite nas células epiteliais mamárias e leucócitos, sendo uma menor parte filtrada pelo sangue da genitora (GAROFALO e GOLDMAN, 1998). Além disso, ele é composto por lactose

e possui níveis de sódio e magnésio mais elevados em relação ao leite materno (PANG e HARTMANN, 2007).

Nas primeiras 48 horas após o parto, há aumentos transitórios nas taxas de secreção de IgA e lactoferrina no colostro, permanecendo altas durante este período. Após o segundo dia depois do nascimento do recém-nascido, as concentrações dessas duas importantes proteínas protetoras diminuem, tanto pela diluição a medida que o volume de secreção do leite aumenta quanto pelas reduções na produção de imunoglobulinas (MACMANAMAN e NEVILLE, 2003).

Conseqüentemente, a ingestão do colostro proporciona uma fonte de elementos nutritivos essencial e auxilia o neonato na adaptação no ambiente extrauterino. Além disso, o colostro auxilia na prevenção de doenças gastrointestinais, enterocolite necrosante, ameniza respostas inflamatórias influenciando na composição da microbiota intestinal (HOLMLUND et al., 2010; MUNBLIT et al., 2016).

Entre os microrganismos presentes na composição do colostro, podem ser citados o *Staphyococcus*, *Streptococcus*, bacteroides, *Alloiococcus* spp. que contribuem no combate a infecções e na produção de mecanismos antimicrobianos (DRAGO et al., 2017). Ainda, é importante ressaltar os resultados de Toscano et al. (2017) que mostrou que a microbiota do colostro possui uma forte influência do tipo de parto realizado, parto normal ou cesárea. Ainda, abordaram que esta microbiota pode ser modificada através da alimentação.

Os oligossacarídeos do leite humano (OLH) são carboidratos e representam o terceiro maior componente presente na secreção láctea, sendo encontrados em maior quantidade no colostro, quando transferido ao recém-nascido, é encontrado nas fezes, urina e no sangue periférico. Neste último, apresentam funções imunológicas importantes como a redução dos níveis de IL-6, TNF- α , IL-1 α e IL-1 β (FERREIRA et al., 2020; TRIANTIS, BODE e VAN NEERVER, 2018).

A produção e secreção do leite são conhecidas como lactogênese, e esse processo ocorre em duas etapas distintas. A primeira fase ocorre a partir da vigésima semana de gestação, quando ocorre aumento da concentração plasmática de lactose e a-lactalbumina além do desenvolvimento da mama (PREUSTING et al., 2017).

O segundo estágio de lactogênese está associado a grandes mudanças na composição da secreção mamária que caracteriza a transição do colostro para o leite materno, que normalmente ocorre entre os primeiros dias após o parto. A lactogênese

II é considerada tardia quando se inicia 72 horas após o parto, o que provoca aos recém-nascidos perda de peso e risco elevado de descontinuação precoce da amamentação. (NOMMSEN-RIVERS, 2016).

Este atraso ocorre com maior frequência em mulheres que realizaram parto prematuro, aquelas com obesidade materna, diabetes gestacional, idade materna avançada e foram submetidas a parto cesária (NOMMSEN-RIVERS e DOLAN, 2012; BALLARD e MORROW, 2013; TURCK SIN et al., 2014).

O fluido de transição entre colostro e leite materno apresenta algumas características do colostro, mas representa um período de produção de leite modificada para suportar as necessidades nutricionais e de crescimento. Este período de transição normalmente ocorre entre cinco a quatorze dias após o parto, depois deste momento, o leite é classificado como parcialmente maduro. Entre quatro a seis semanas após o parto, o leite materno é considerado totalmente maduro (BALLARD e MORROW, 2013).

Os componentes nutricionais do leite materno derivam de diferentes fontes, como da síntese de lactose e da alimentação. Desta forma, a dieta materna é extremamente importante na composição de vitaminas e ácidos graxos no leite humano. Entre os macronutrientes encontrados no leite maduro, podem ser citados mais de 400 tipos de proteína, carboidratos, gordura e lactose, que possuem em média 65 a 70 kcal/dL a cada 100mL. Porém, a concentração desses macronutrientes se diferem de acordo com o IMC materno, ingestão de proteínas, tipo de parto, retorno de menstruação e frequência da amamentação (NOMMSEN et al., 1991; ANDREAS, KAMPMANN e LE-DOARE, 2015).

Os micronutrientes do leite humano variam de acordo com a dieta materna e das reservas corporais, mas entre eles incluem as vitaminas K, A, D, B12, B6, B1, B2 e iodo. No entanto, muitas vezes a puérpera não consegue manter uma dieta saudável nas primeiras semanas após o parto, então médicos e pesquisadores recomendam a ingestão de complexos multivitamínicos durante a lactação (ARSLANOGLU et al., 2010; GREER, 2001).

Em relação aos componentes bioativos do leite humano, alguns são produzidos e secretados pelo epitélio mamário, alguns por células transportadas dentro do leite e outros extraídos do soro materno e transportados através do epitélio mamário a partir

de um receptor (CAVALETTO, GIUFFRIDA e CONTI, 2004; DE ASSUNÇÃO et al., 2022).

Assim como o colostro, o leite materno também possui células imunes importante para o desenvolvimento do recém-nascido, contém citocinas, fator de necrose tumoral- α e algumas interleucinas (IL) como IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, interferon- γ , oligossacarídeos do leite e fator de crescimento transformador- β que fornecem imuno modulação e proteção passiva, reduzindo a probabilidade de infecção (LÖNNERDAL, 2003; YI e KIM, 2021).

As imunoglobulinas apresentam concentrações elevadas no início da lactação no colostro, mas também são encontrados no leite materno, essa diminuição de anticorpos reflete a diminuição das necessidades dos bebês, uma vez que seu sistema imunológico se torna mais funcional (HURLEY e THEIL, 2011; ANDREAS, KAMPMANN e LE-DOARE, 2015).

Ainda sobre sua composição, há a presença de elementos bioativos, como hormônios, assim como no colostro. Esses elementos desempenham um papel crucial na regulação do equilíbrio energético, controlando a ingestão de alimentos, determinando a composição corporal dos indivíduos e auxiliando na regulação da homeostase energética (SAVINO et al., 2013; SCHUELER et al., 2013). Porém, sabe-se que a concentração de hormônios no leite materno muda de acordo com diversos fatores como tabagismo, obesidade, diabetes entre outros (NUNES, 2015).

O leite materno é um sistema extremamente complexo de diversos componentes bioativos e altamente variável. Sua composição é alterada de acordo de diversos fatores como a fase de lactação, raça, dieta da lactante, produtos químicos ambientais específicos da região, armazenamento e tratamento (MARTIN, LING e BLACKBURN, 2016; KIM et al., 2019).

2.5 Hormônios presentes no leite materno e suas alterações devido a obesidade

O aleitamento materno condiciona o desenvolvimento de circuitos neuroendócrinos que influenciam o controle do apetite, a duração da amamentação e o ganho de peso do recém-nascido tanto a curto como a longo prazo (HARDER et al., 2005; PLAGEMANN e HARDER, 2005). Em humanos, sabe-se que várias moléculas hormonais, como insulina, leptina, melatonina, adiponectina, obestatina e resistina são envolvidas no desenvolvimento da obesidade através de fatores inflamatórios (como

a interleucina IL-6 e a TNF- α), encontrados no leite materno (ARRIGO et al., 2013; MARSEGLIE et al., 2015).

É importante ressaltar que o perfil hormonal fornecido ao recém-nascido através do colostro e do leite materno por meio das ações de hormônios como a leptina e a adiponectina está relacionado saciedade, ao metabolismo de ácido graxo e na sensibilidade de insulina (DE PAULA et al., 2021).

2.5.1 Leptina

Descoberta em 1994 a partir da clonagem e do sequenciamento de um gene de camundongo obeso, a leptina está associada com a regulação da ingestão alimentar e gasto energético a partir da regulação pelo sistema nervoso central. Os resultados mostraram que o balanço energético em mamíferos é controlado por um ciclo de retroalimentação no qual a quantidade de energia é armazenada no hipotálamo, que ajusta a ingestão de alimentos e o gasto de energia para manter um peso constante (ZHANG et al., 1994).

A leptina também apresenta funções sobre os linfócitos-T, agindo na proliferação de células relacionadas com o sistema imune e suas respostas, auxiliando na produção de linfocinas pró inflamatórias, sendo considerada uma mediadora do estado nutricional e da função imunológica. Deste modo, a leptina tem um efeito específico nas respostas dos linfócitos, regulando a proliferação e memórias das células T (LORD et al., 1998).

Sabe-se que a leptina não possui um papel apenas na regulação da ingestão alimentar, mas também é importante no controle da imunidade e da inflamação.

Este hormônio é uma citocina produzida predominantemente pelo tecido adiposo branco diferenciado, que possui diversas funções que vai além da regulação da ingestão alimentar, mas também é importante no controle da imunidade, da inflamação, em funções do sistema endócrino, hematopoiese, angiogênese, controle da pressão sanguínea, osteogênese e cicatrização de feridas (KELESIDIS et al., 2010; FRUHBECK et al., 2001). A leptina desempenha um papel importante no estado pró-inflamatório crônico, que é encontrado na obesidade, síndrome metabólica e suas complicações.

A partir do desencadeamento de respostas inflamatórias por este hormônio, certos estímulos inflamatórios e infecciosos como IL1, lipossacarídeo (LPS) e TNF- α também podem aumentar os níveis de leptina, que se correlacionam com o nível de

inflamação. Assim, as interações entre a leptina e a inflamação ocorrem em ambas as direções. As citocinas pró-inflamatórias estimulam a síntese e liberação de leptina, contribuindo para o desenvolvimento do ciclo de inflamação crônica na obesidade (MEURY e BRICHARD, 2010; PAZ-FILHO et al., 2012).

Desde 1998, sabe-se que os níveis circulantes de leptina são proporcionais a massa gorda, podendo ser reduzidas por jejum ou aumentadas por mediadores inflamatórios (LORD et al., 1998). A concentração de leptina está correlacionada com a quantidade de tecido adiposo, sendo elevados em pacientes obesos. No metabolismo lipídico, esse hormônio desempenha um papel importante, aumentando a oxidação de lipídios pelo músculo esquelético e reduzindo a síntese de triglicerídeos no fígado (FRUHBECK et al., 2001).

Em pessoas com obesidade, altos níveis de leptina estão associados a uma menor sensibilidade do hipotálamo, bem como a defeitos na transposição da barreira hematoencefálica, na expressão do receptor de leptina no hipotálamo ou na cascata de sinalização que regula esse hormônio (KLOK et al., 2007). Mulheres grávidas apresentam uma concentração sérica de leptina cerca de duas a três vezes superior a mulheres não gestantes, com um pico próximo a 28ª semana de gestação, este aumento pode estar relacionado com a produção e liberação de leptina pela placenta (MASUZAKI et al., 1997; MIEHLE, STEPAN e FASSHAUER, 2012; LEPERCQ et al., 2001).

Durante a gravidez, ocorre um estado de resistência à leptina devido à sinalização comprometida no hipotálamo, como foi comprovado em ratos, em que o RNAm do receptor leptina é reduzido no hipotálamo de ratos fêmeas gestantes (MIEHLE, STEPAN e FASSHAUER, 2012).

Em 1997, foi identificado a presença de leptina no leite materno (HOUSEKNECHT et al., 1997; CASABIELL et al., 1997) que possui maior concentração no colostro quando comparado ao leite materno maduro (BRUNNER et al., 2015; NUNES, 2015).

Estudos sobre a expressão de leptina no leite humano tem apresentado uma correlação positiva entre os níveis deste hormônio e o índice de massa corporal (IMC) materna. Desta forma, o leite materno e o colostro de mulheres com obesidade pré-gestacional possuem maiores concentrações de leptina (UYSAL et al., 2002; MORAIS, 2019; FUJIMORI, 2016). Essas alterações podem intervir nos componentes

imunológicos presentes no leite materno dessas mulheres, podendo ser transmitidas ao recém-nascido (HERSOUG e LINNBERG, 2007).

2.5.2 Adiponectina

Inicialmente, a adiponectina (APN) foi caracterizada como uma proteína expressa e sintetizada por adipócitos 3T3-L1 de ratos, chamada *de adipocyte complement-related protein of 30 kDa* (Acrp30) (SCHERER et al., 1995). Somente em 1996 foi identificado e caracterizado o homólogo humano, porém desde essa época sabe-se que a adiponectina está relacionada com o tecido adiposo e a obesidade (HU, LIANG e SPIEGELMAN, 1996).

A adiponectina é produzida pelos adipócitos e é uma das adipocinas mais presentes no plasma. Essa adipocina apresenta importantes ações fisiológicas no sistema cardiovascular e endócrino, está relacionada com a sensibilização da insulina, possui ação anti-inflamatória reduzindo os níveis séricos de adipocinas pró-inflamatórias como TNF e IL-6, contribui para a homeostase pós-prandial da glicose e de lipídeos, auxilia na regulação do metabolismo energético corporal e cardíaco e provoca aumento da oxidação de gorduras (WEYER et al., 2001; FONSECA-ALANIZ et al., 2006; BERG, COMBS e SCHERER, 2002).

A produção da APN é realizada não só pelos adipócitos, mas também em outros tecidos como cardiomiócitos, células fetais, epiteliais e o músculo esquelético (LAN et al., 2003; PIÑEIRO et al., 2005). O gene que codifica a adiponectina é encontrado no cromossomo 3q27 e sua expressão é mais abundante no tecido adiposo (MAEDA et al., 1996). Em 2002, foi revelado que esse *locus* está relacionado com a suscetibilidade ao desenvolvimento de diabetes mellitus tipo II e doenças cardiovasculares (STUMVOLL et al., 2002).

As propriedades anti-inflamatórias da APN ocorrem a partir da inibição da ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), da diminuição da expressão de moléculas de adesão induzidas pelo TNF- α , indução da produção de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 e o antagonista do IL-1 e a supressão da produção de IFN- α (WOLF et al., 2004).

Entre os estados patológicos envolvidos com a ação anti-inflamatória da adiponectina, podem ser citados a diabetes tipo II, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), doenças cardiovasculares, desempenhando um importante papel

no desenvolvimento de doenças (FANG e JUDD, 2011; GIL-CAMPOS e CAÑETE, 2004).

A inflamação crônica de baixo grau é uma consequência da obesidade que provoca diminuição da produção de adiponectina, diferente do que ocorre com os níveis de leptina em indivíduos obesos, o que representa um risco aumentado nesses indivíduos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes (SILVA-NUNES et al., 2009; EBRAHIMI-MAMAEHANI et al., 2015).

A ação da adiponectina na obesidade está relacionada com a inibição da via de proteína quinase dependente de APM (AMPK), que possui um importante papel na homeostase energética celular e resulta na inibição da enzima acetil-CoA carboxilase, que é responsável pela ativação da síntese e degradação de ácidos graxos, produção de glicose, expressão de neuropeptídeos no hipotálamo e captação de glicose nos tecidos periféricos (MALHEIROS, 2006).

Como resultado, a restrição da síntese e o aumento da oxidação dos ácidos levam a uma redução do acúmulo de lipídios e da ingestão alimentar, processo que na obesidade, encontra-se comprometido pela diminuição do nível de adiponectina (EBRAHIMI-MAMAEHANI et al., 2015).

No período da gravidez, sabe-se que no primeiro trimestre gestacional os níveis de adiponectina são muito semelhantes a concentração pré-gestacional, porém, diminui gradualmente a partir do segundo trimestre, junto com o avanço da gravidez e alterações da resistência à insulina (FUGLSANG et al., 2006; VALSAMAKIS et al., 2010; ZAVALZA-GÓMEZ et al., 2008).

A resistência à insulina durante a gravidez é uma condição fisiologicamente normal e desempenha um papel importante na reserva de nutrientes para o feto. A hiperinsulinemia progressiva ocorre a partir da crescente concentração de hormônio lactogênio placentário, cortisol, níveis de adiponectina e gonadotrofina coriônica (HAGHIAC et al., 2014). A concentração de adiponectina está diretamente relacionada a este processo, uma vez que auxilia na diminuição da produção hepática de glicose e aumenta a ação de insulina pelo fígado (MAZAKI-TOVI, KANETY e SIVAN, 2005; JAHROMI, ZAREIAN e MADANI, 2011; ERIKSSON et al., 2010).

Em gestantes obesas, existe uma redução na concentração de adiponectina (MARTIN et al., 2006). Também presente no leite materno, a adiponectina está envolvida na regulação do crescimento e desenvolvimento neonatal além de ser

importante no balanço energético (SAVINO et al., 2010). Ainda que os níveis de adiponectina no sangue de puérperas obesas sejam reduzidos, as concentrações deste hormônio no colostro de puérperas com obesidade foram maiores quando comparadas ao colostro de puérperas eutróficas (FUJIMORI, 2016).

2.5.3 Melatonina

A melatonina é um hormônio não esteroide e uma molécula lipofílica secretada principalmente pela glândula pineal durante o período noturno, ela é um composto lipossolúvel de cor amarelo-clara que circula no plasma (ZHANH e ZHANG, 2014; MAGANHIN et al., 2008).

Quando descoberta, a melatonina estava associada com a estruturação do sistema circadiano endógeno, promoção do sono e regulação de ciclos reprodutivos sazonais (ARENDRT et al., 1998). Porém, hoje sabe-se que esta molécula também apresenta um papel neuroprotetor, antioxidante, essencial na gênese e agregação de plaquetas, proteção contra alguns tipos de câncer (ARMIJO et al., 2013), além de um importante papel na diminuição da resposta imuno-inflamatória excessiva do organismo (TAN et al., 2014).

A síntese de melatonina na glândula pineal ou na retina, que se inicia a partir da acetilação da serotonina pela N-acetiltransferase (NAT), é determinada pela presença ou ausência de luz, que sincroniza o ritmo intrínseco do núcleo supraquiasmático do hipotálamo e regula o ritmo biológico para a secreção do hormônio (JASSER, BLASK e BRAINARD, 2006). Após sintetizada, a melatonina é liberada na corrente sanguínea e se espalha por todo o organismo, não sendo estocada (NETO e CASTRO, 2008).

A atividade deste hormônio ocorre sobre diferentes estágios do balanço energético como a ingestão alimentar, o fluxo e o gasto energético. Desta forma, melatonina reduz a ingestão alimentar, auxilia na redução da temperatura corporal através da indução da vasodilatação (VAN DER HELM-VAN MIL et al., 2003), regula a secreção de insulina, glucagon e cortisol, aumentando a massa do tecido adiposo marrom (SBEM, 2015).

A melatonina também age sobre o sistema imune e é considerado sinais pró-inflamatórios que promovem proliferação, síntese de células imunes, estimulação e diferenciação, que ocorre em concordância com o sincronismo circadiano,

participando ativamente de respostas inflamatórias (BESEDOVSKY, LANGE e BORN, 2012). Ainda é importante ressaltar que a melatonina também atua na proteção dos leucócitos contra a apoptose, com o aumento da expressão de Bcl-2 (VAINER, ROCHA e JUVENALE, 2021).

Por outro lado, a redução da produção de melatonina pode ocorrer quando a glândula pineal é alvo do sistema imunológico devido a certas condições patológicas associadas à presença de TNF- α , que participa da liberação de uma cascata de sinalização intracelular pró-inflamatória, elevando a produção da citocina que causa danos aos leucócitos e na enzima NAT, fundamentais para a síntese de melatonina (SILVA, 2016).

A diminuição na produção de melatonina pode resultar na deterioração dos ritmos circadianos, essenciais na homeostase, que podem desencadear distúrbios do sono, neurodegenerativas, alguns tipos de câncer, depressão, entre outros (PANDI-PERUMAL et al., 2008; SILVA JUNIOR, 2015).

Em indivíduos obesos os níveis séricos da melatonina são reduzidos, podendo estar associada a dislipidemia. Assim, vários estudos exploram a melatonina como uma estratégia para o controle do excesso de peso e das doenças metabólicas associadas (ALAMDARI et al., 2015; PROCHNOW et al., 2022; PAIXÃO, 2017; FERNANDEZ VÁZQUEZ, REITER e AGIL, 2018).

Os efeitos anti-inflamatórios deste hormônio na obesidade e na redução de peso compreende diferentes mecanismos. As ligações com os receptores de membrana deste hormônio, MT1 e MT2, distribuídos pelo Sistema Nervoso Central (SNC) e em tecidos periféricos são essenciais para as ações da melatonina. Os receptores MT2 possuem a capacidade de regular os ritmos circadianos nos tecidos adiposos periféricos, o que resulta na mudança no peso corporal, além de ações relacionadas com a dilatação de vasos cardíacos e respostas inflamatórias na microcirculação (WITT-ENDERBY et al., 2003; BENARROCH, 2008; LI et al., 2013; DUBOCOVICH, MARKOWSKA, 2005; LIU et al., 2017; CIPOLLA-NETO et al., 2014).

Durante a gravidez, a melatonina desempenha um importante papel na fisiopatologia em mulheres com pré-eclâmpsia e restrição de crescimento fetal, uma vez que esse hormônio está envolvido na regulação e resposta imune (SALUSTIANO et al., 2013; NAKAMURA et al., 2001). Além disso, a melatonina desempenha um papel crucial na manutenção da gestação e no processo de parto, demonstrando

eficácia na redução do estresse oxidativo devido à sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e placentária. Essa propriedade permite proteger a placenta e o feto (CHEN et al., 2013; SCHENKER et al., 1998).

A melatonina também é encontrada no colostro e no leite materno (KATZER et al., 2016). Sua presença é significativa na sincronização do ritmo biológico do recém-nascido com o ritmo materno, elevando a quantidade de leucócitos no colostro e consequentemente, aprimorando a imunidade e a capacidade de proteger a infecções devido a sua capacidade de modular respostas imunológicas (PONTES et al., 2007; MORCELI et al., 2013; PONTES et al., 2006). Na Turquia, Çaliskan et al. (2021) apresentou mudanças que os níveis de melatonina no colostro humano podem variar de acordo com o tipo de parto.

Já em mulheres obesas, existe concentração mais alta de melatonina no colostro em comparação com mulheres eutróficas (MORAIS, 2019), alterando as respostas imunológicas em leucócitos mononucleares (PIRES-LAPA et al., 2013; HONORIO-FRANÇA et al., 2013; KATZER et al., 2016).

Acredita-se que o estudo do impacto da obesidade pré-gestacional nas relações da imunologia materno-infantil e a promoção da amamentação represente uma chave eficaz para promover a saúde materno-infantil e reduzir parte dos impactos futuros oriundos da obesidade.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar as repercussões da obesidade materna sobre a proliferação de linfócitos do colostro humano e seus mecanismos intracelulares de modulação de linfócitos na presença de adiponectina, leptina e melatonina.

3.2 Específicos

- Analisar a modulação de linfócitos no colostro humano em relação aos hormônios adiponectina, leptina e melatonina;
- determinar a fenotipagem dos linfócitos T em relação ao grupo de obesas e eutróficas;
- analisar o índice de apoptose dos linfócitos tratados com adiponectina, leptina e melatonina;
- analisar a dependência da liberação de cálcio em relação aos mecanismos intracelulares dos linfócitos estimulados com adiponectina, leptina e melatonina.

4 MÉTODO

4.1 Desenho e local do estudo

Trata-se de um estudo corte transversal, que permite elaborar conclusões confiáveis (ZANGIROLAMI-RAIMUNDO, ECHEIMBERG e LEONE, 2018), com análises laboratoriais do colostro humano coletado em mulheres puérperas voluntárias que deram à luz no Hospital da Universidade de São Paulo, localizado no estado de São Paulo, Brasil. Mulheres que foram submetidas ao parto vaginal ou cesárea foram inseridas e assentidas a participar do estudo.

4.2 Amostra

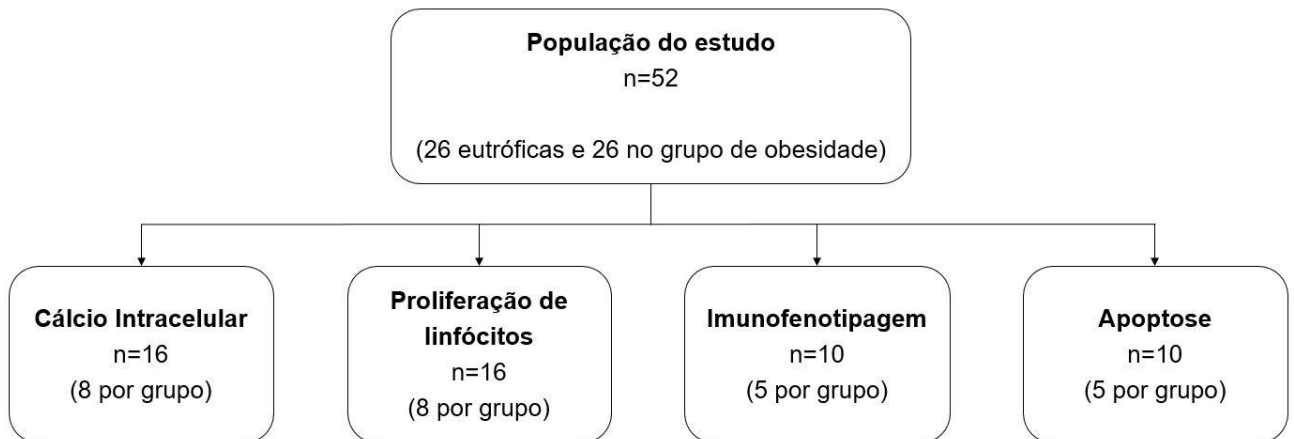
A pesquisa incluiu mulheres em pós-parto clinicamente saudáveis com idade de 18 a 35 anos de idade; tinham o conhecimento ou medido o peso pré-gestacional até o fim da 13ª semana gestacional; uma idade gestacional entre 37 e 41^{6/7} semanas; não tinham hepatite, HIV ou sífilis; que realizaram atendimento pré-natal; e que não tinham nenhuma restrição dietética. Além disso, excluimos mulheres em pós-parto diagnosticadas com diabetes gestacional, gravidez gemelar e malformações fetais.

Deste modo, a população do estudo consistiu em 52 mulheres divididas em um grupo eutrófico (n=26) e um grupo com obesidade pré-gestacional (n=26). As participantes foram distribuídas aos grupos de acordo com seu índice de massa corporal (IMC) pré gestacional: eutrófica (IMC entre 18,50 a 24,90 Kg/m²) e obesidade (IMC \geq 30 Kg/m²) (RASMUSSEN et al., 2009). Além disso, os dados antropométricos das mulheres puérperas foram coletados nos prontuários de cada mulher e no cartão da gestante, onde possuíam informações como o peso anterior e ao final a gravidez.

4.3 Análise de colostro e análises laboratoriais

As quantidades de amostras de colostro utilizadas em cada uma das etapas de análises laboratoriais foram distintas e estão descritas na Figura 2.

Figura 2 - Fluxograma do número de amostras de colostro utilizadas em cada etapa



4.3.1 Coleta de colostro e População de estudo

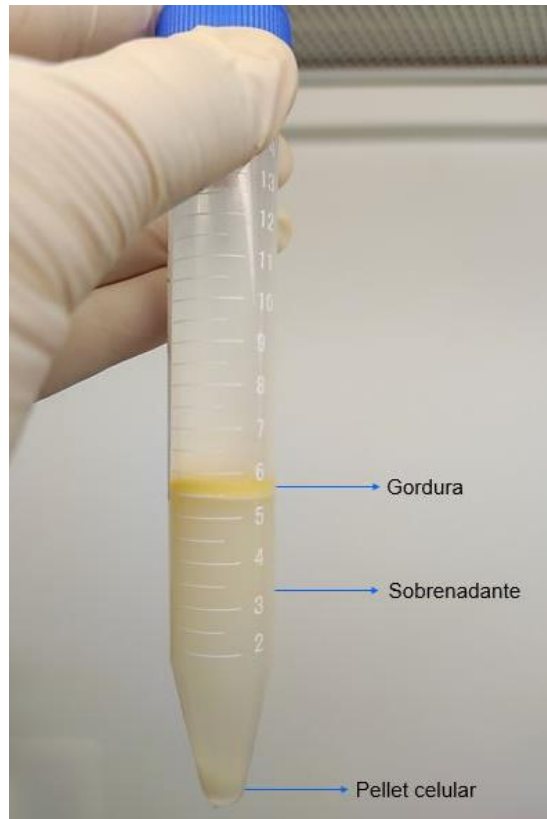
Foram coletados, aproximadamente, 5 mL de colostro de cada participante, por ordenha manual, no intervalo entre duas mamadas, no período matutino, correspondente as primeiras 48 a 72 horas após o parto. Aproximadamente 5ml de colostro de cada uma das voluntárias inseridas no estudo foram coletados por ordenha manual até 72 horas após o parto.

4.3.2 Separação de fases do colostro humano

Após as coletas, as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 1600rpm e 4°C para a separação de fases do pellet celular, sobrenadante e gordura (visíveis na figura 3).

As células mononucleares foram obtidas usando o gradiente de concentração *Ficoll-Paque* (Pharmacia, Uppsala, Suécia) e ressuspendidas em meio celular 199 (Gibco, Grand Island, EUA) (MORAIS et al., 2019b; MORAIS et al., 2019a). Posteriormente, as células foram incubadas em uma placa de vidro para determinar a adesão de fagócitos durante uma hora em uma estufa de CO₂ a 37°C. As células não aderentes foram removidas e a concentração de linfócitos foi ajustada para 2x10⁶ células/mL.

Figura 3 – Colostro humano em um tubo falcon com capacidade de 5ml após a centrifugação para a divisão de fases celulares



Fonte: A autora.

4.3.3 Imunofenotipagem

Os linfócitos foram marcados por 30 minutos com 5 μ l dos respectivos anticorpos monoclonais: anti-CD3 PerCP, anti-CD4 FITC e anti-CD8 P.E. (B.D. Biosciences, San Jose, EUA). Um controle de isótopo (IgG1-FITC ou IgG1-p) (B.D. Biosciences, San Jose, EUA) foi utilizado em todas as análises, e posteriormente as células foram submetidas à citometria de fluxo, no citômetro FACSCalibur™ (B.D. Bioscience, San Jose, EUA).

4.3.4 Estímulo

Os linfócitos foram incubados com meio celular 199 (controle) ou com os seguintes hormônios humanos: adiponectina (Sigma, ST Louis, EUA) na concentração de 100 ng/ml, leptina (Thermo Fisher, Carlsnad, EUA) a 100 ng/ml, melatonina (Sigma. ST Louis, EUA) a 100ng/ml, adiponectina + leptina a 100 ng/ml e melatonina + leptina a 100 ng/ml. Os estímulos eram livres de endotoxinas. As concentrações hormonais

foram determinadas de acordo com pesquisas anteriores com células mononucleares de colostro humano coletado de mulheres puérperas eutróficas e obesas (; MORAIS et al., 2019b; MORAIS et al., 2019a).

4.3.5 Proliferação de linfócitos

Os linfócitos foram mantidos em culturas em uma incubadora de CO₂ a uma temperatura de 37°C na presença ou ausência de estímulo realizado em duas vezes: em 2 e 24 horas. Em seguida, as células foram lavadas e coradas com a solução de iodeto de propídio a uma concentração de 440 µg/ml, Triton X-100 (5,5%), e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (110 Mm). Um controle sem corante foi utilizado para determinar o branco. A intensidade da fluorescência foi determinada por citometria de fluxo no citômetro FACSCalibur™ (B.D. Bioscience, San Jose, EUA), que realiza a análise de dez mil eventos.

Este método fornece uma correlação linear proporcional entre o número de células e a intensidade de fluorescência. O índice de proliferação foi calculado subtraindo a fluorescência observada nas células após 24 horas da intensidade de fluorescência observada no tempo inicial (WAN, SIGH e LAU, 1994).

4.3.6 Cálcio Intracelular

Linfócitos a uma concentração de 2×10^6 cell/mL foram incubadas com 50 µL de estímulo em uma concentração de 100 ng/mL e com 5 µL da solução Flu-3 AM a 1mM (Sigma, ST Louis, EUA) durante 2 horas a 37°C (MORAIS et al., 2019a; MORAIS et al., 2019b; BURCHIEL et al., 2000). As células foram lavadas e ressuspendidas em Solução de sais balanceados de Hank (HBSS) com albumina de soro bovino (BSA). *Flouroskan Ascent FL*® foi usado para medir a intensidade de fluorescência com 485 nm de excitação e 538 nm de filtros de emissão, os resultados foram descritos de acordo com a intensidade de fluorescência.

4.3.7 Apoptose

Após os linfócitos terem sido incubados com os hormônios durante duas horas, a apoptose foi analisada com o *FITIC Annexin V* (B.C. Biosciences, Erembodegem, Belgium). *Flouroskan Ascent FL*® foi utilizado para medir a intensidade da

fluorescência usando uma excitação de 485 nm e filtros de emissão de 538 nm (MORAIS et al., 2019b; MORAIS et al., 2019a).

4.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o software BioEstat® versão 5.0 (Instituto Mamirauá, Belém, Brasil). Foram utilizados os testes de normalidade de Lilliefors, teste T para dados independentes e teste de qui-quadrado; os resultados foram apresentados com a média (\pm desvio padrão). Diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0,05$.

4.5 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (CAAE 46643515.0.0000.542) (ANEXO 1).

Os participantes foram convidados a participar da pesquisa livre de coação ou conflito de interesse. Eles foram informados sobre os objetivos de estudo, e as informações e/ou amostra de colostro foram coletados somente após o consentimento em formulário específico (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE), seguindo todas as exigências necessárias para pesquisa com seres humanos, conforme resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização da amostra

As características das 52 participantes incluídas, 26 em cada um dos grupos (obesas e eutróficas) neste estudo estão apresentadas na tabela 1.

A média de idade das participantes foi menor no grupo eutrófico (24,77 anos) ($p > 0,0001$). O peso materno pré-gestacional em kg foi superior no grupo com obesidade ($p < 0,0001$), assim como o peso ao final da gestação, o que já era esperado devido ao excesso de peso em pessoas obesas. O IMC pré-gestacional e ao final da gestação também foi maior no grupo com obesidade ($p < 0,0001$). A idade gestacional foi maior em obesas e o peso ganho durante a gestação foi maior no grupo eutrófico ($p > 0,0001$) (Tabela 1).

Tabela 1 - Desvio Padrão e p-value da caracterização das participantes obesas e eutróficas

Variável	Grupo Eutrófico	Grupo com Obesidade	p-value
Idade (anos) (Média ± D.P.)	24,77±5,54	26,17±4,45	0,3327
Peso Materno Pré-gestacional em quilograma (Média± D.P.)	55,65±6,82	86,87±8,62*	<0,0001
Altura Materna em metros (Média ± D.P.)	1,59±0,06	1,62±0,07	0,1361
Peso ao Final da Gestação em quilograma (Média ± D.P.)	67,28±8,12	94,22±9,57*	<0,0001
IMC Pré-gestacional em Kg/m ² (Média ± D.P.)	21,84±1,90	33,23±2,35*	<0,0001
IMC ao Final da Gestação em Kg/m ² (Média ± D.P.)	26,59±2,47	36,51±2,92*	<0,0001
Peso Ganho Durante a Gestação em quilogramas (Média ± D.P.)	11,84±4,52	8,20±5,49*	0,0155
Idade Gestacional em Semanas (Média ± D.P.)	38,65±1,52	38,87±1,45	0,6023

D.P.= Desvio Padrão. IMC = Índice de Massa Corporal.

*Análise da diferença estatística entre os grupos realizados pelo Teste-T Bicaudal ($p < 0,05$).

Na tabela 2, é evidenciado os dados dos recém-nascidos de cada um dos grupos. O valor de p da diferença entre os sexos foi calculado pelo teste de qui-quadrado.

Tabela 2 - Caracterização dos recém-nascidos de participantes eutróficas e obesas

Variável	Grupo Eutrófico	Grupo com Obesidade	p-value
Sexo do recém-nascido – Feminino (%)	15 (57,69%)	16 (61,54%)	1,38*
Peso no momento do nascimento em gramas (Média ± D.P.)	3143,85±356,56	3316,20 ± 427,51	0,7852
Altura em centímetros (Média ± D.P.)	48,35±1,84	48,59±2,14	0,7041

D.P.= Desvio Padrão. Valor de $p < 0,05$. *Teste qui-quadrado.

Não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao sexo dos recém-nascidos, ao peso e altura no momento do nascimento ($p > 0,05$).

Para a caracterização dos linfócitos, o n utilizado foi de 5 amostras de colostro para cada grupo. Na tabela abaixo está exposto a população de diferentes tipos de linfócitos T no colostro de mulheres obesas e eutróficas. É importante evidenciar que o número de linfócitos CD3CD8+ foi significativamente maior no grupo de mulheres eutróficas ($p < 0,05$).

Tabela 3 - Caracterização da população de linfócitos T

Anticorpo	Grupo Eutrófico	Grupo com Obesidade	p-value
CD3+ (Média ± D.P.)	80,01±13,72	39,72±6,99*	0,0019
CD3CD4+ (Média ± D.P.)	52,34±10,73	22,35±3,08*	0,0338
CD3CD8+ (Média ± D.P.)	31,86±12,33	17,37±4,16	0,07

D.P.= Desvio Padrão. *Análise da diferença estatística entre os grupos realizados pelo Teste-T Bicaudal. Valor de $p < 0,05$.

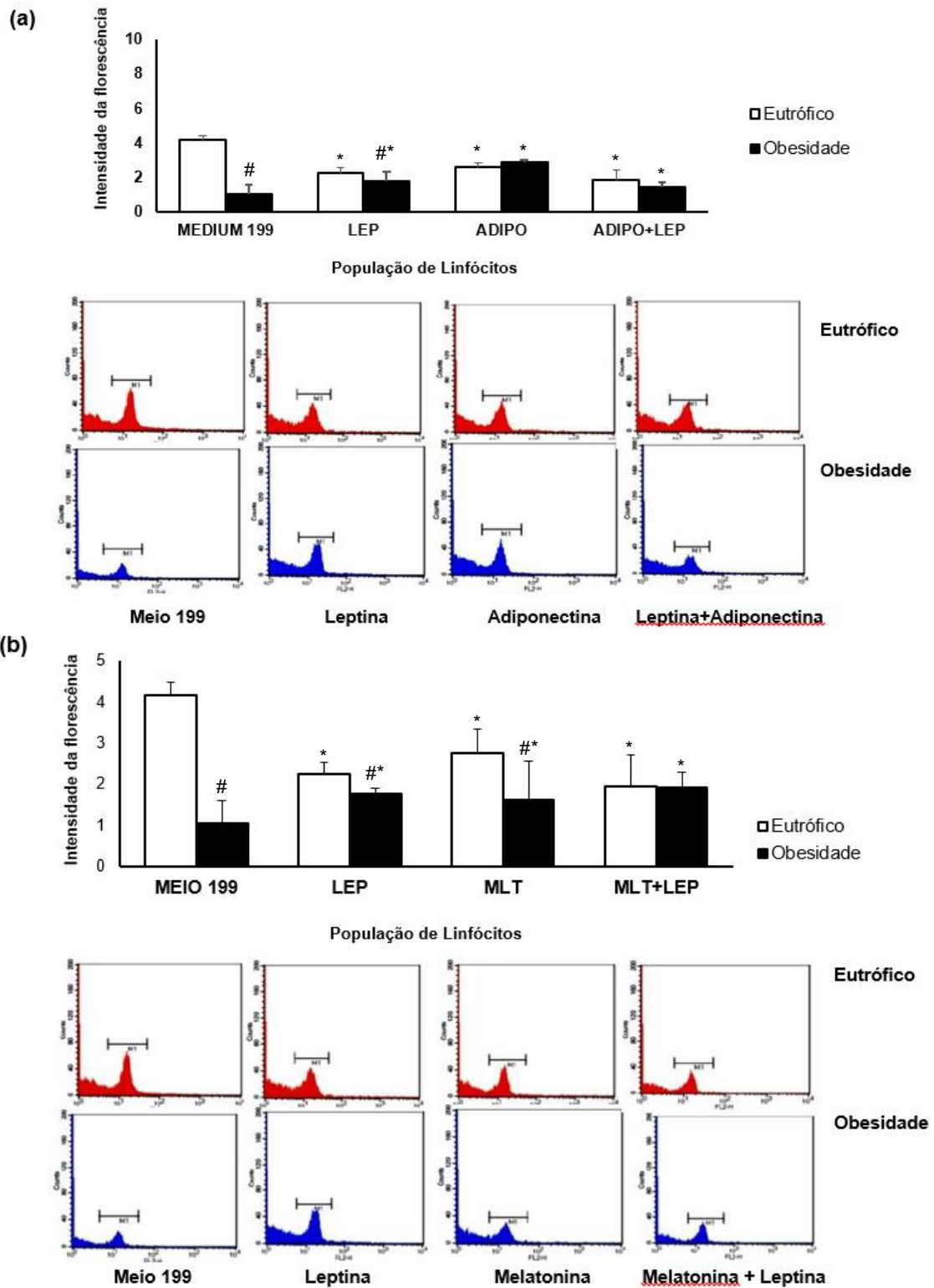
A caracterização da população de linfócitos TCD3+ foi menor no grupo de participantes com obesidade ($p < 0,0001$). Os resultados da população de linfócitos T CD3CD4+ e CD3CD8+ também foram reduzidos no grupo com obesidade.

5.2 Análise molecular do colostro

As consequências da obesidade e sua influência hormonal sobre os linfócitos do colostro foram avaliados pela capacidade de proliferação celular, ativação funcional por meio da liberação de cálcio intracelular e seus efeitos sobre a indução da via apoptótica para a morte celular.

O colostro de puérperas com obesidade pré-gestacional apresentou menor proliferação celular ($p > 0,05$), porém quando essas células receberam estímulos, houve aumento da proliferação celular. No entanto, nos estímulos apresentados, a proliferação foi menor nas células do colostro de participantes do grupo eutrófico (Figura 4). A capacidade proliferativa dos linfócitos foi significativamente semelhante entre ambos os grupos apenas na presença de adiponectina (Figura 4a) e melatonina + leptina (Figura 4b) ($p < 0,05$).

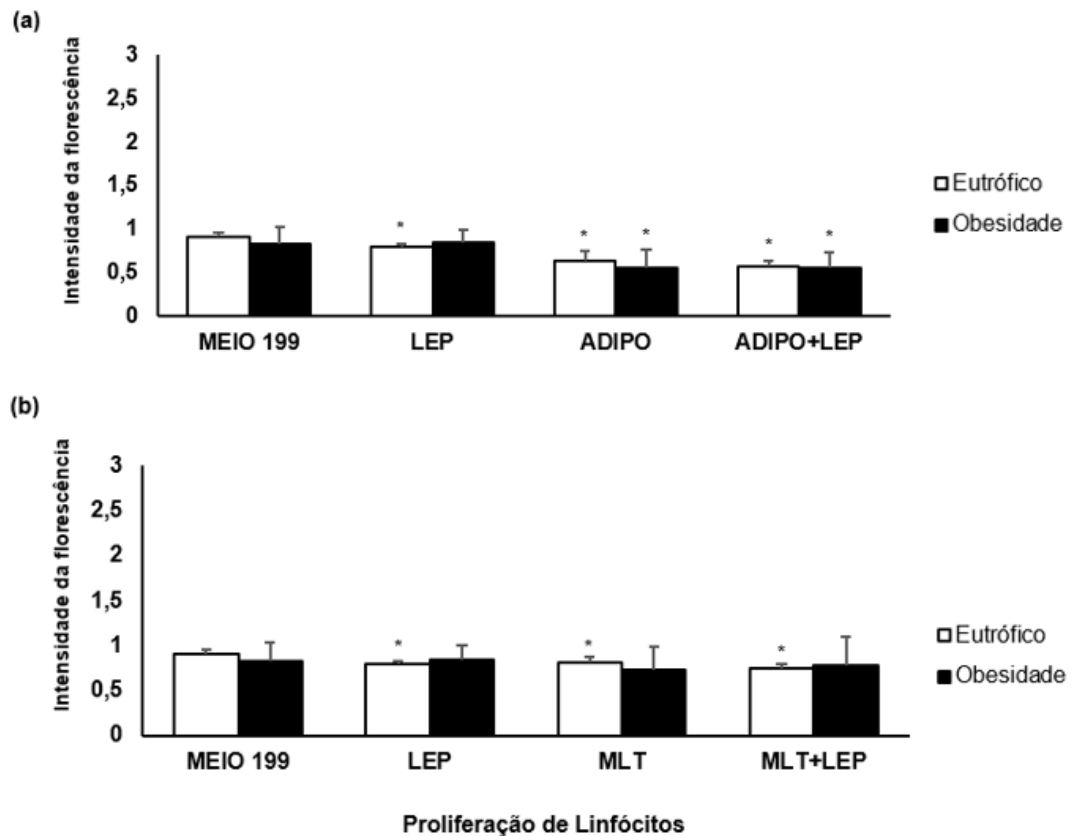
Figura 4 - Intensidade da fluorescência da proliferação de linfócitos do colostro de acordo com o IMC pré-gestacional e estímulo de hormônios leptina, adiponectina e melatonina



Proliferação de linfócitos do colostro, após período de 24 horas de incubação, na presença ou ausência dos hormônios: (A) adiponectina e/ou leptina ou (B) melatonina e/ou leptina. Os resultados foram avaliados por teste de Tukey, os dados foram expressos em média \pm DP (n=8 por grupo), indicado como a seguir: *Diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao mesmo grupo tratado com meio 199. #Diferença estatística ($p < 0,05$) intragrupo (eutrófico x excesso de peso considerando o mesmo tratamento).

Os gráficos da figura 5 demonstra a detecção de cálcio intracelular liberados pelos linfócitos do colostro de puérperas com obesidade e eutróficas a partir do tratamento com os hormônios adiponectina, leptina e melatonina.

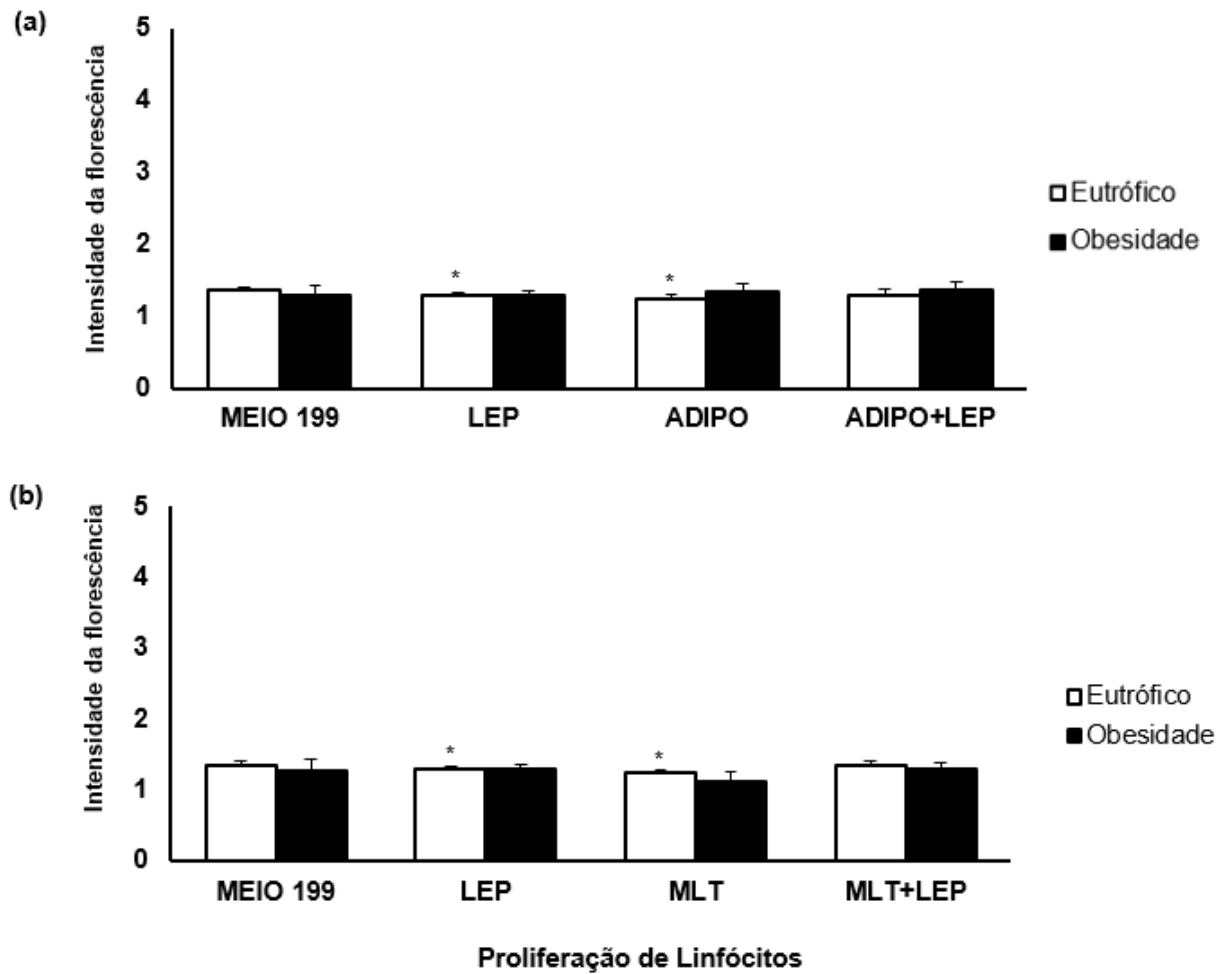
Figura 5 - Detecção de cálcio intracelular liberados pelos linfócitos do colostro de puérperas segundo o IMC materno e o tratamento com hormônios adiponectina, leptina e melatonina



Cálcio intracelular liberados pelos linfócitos do colostro humano na presença ou ausência: (A) adiponectina e/ou leptina ou (B) melatonina e/ou leptina. Os resultados foram avaliados por ANOVA e teste de Tukey, os dados foram expressos em média \pm DP (n=8 por grupo), indicado como a seguir: *Diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao mesmo grupo tratado com meio 199 (controle).

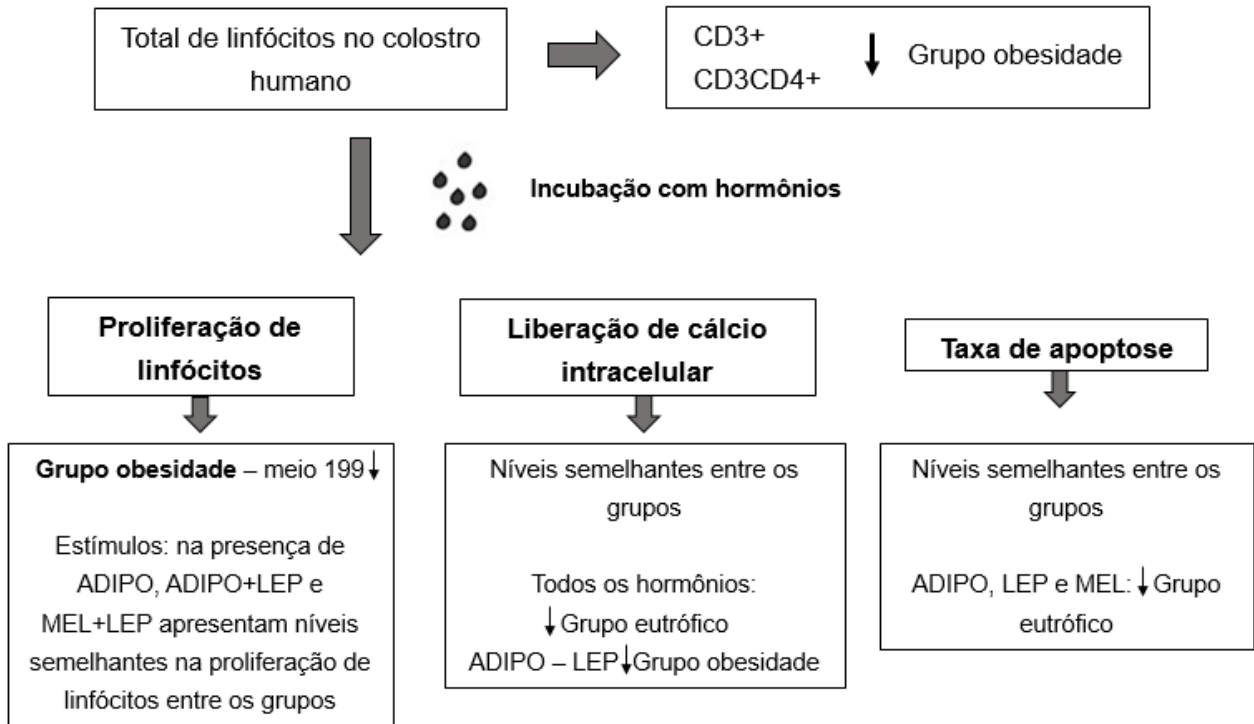
Não houve alteração da taxa de apoptose dos linfócitos devido ao excesso de peso materno (Figura 6). No entanto, o hormônio leptina, a adiponectina (Figura 6a) e a melatonina (Figura 6b) reduziram a apoptose nos linfócitos do grupo eutrófico após duas horas de incubação ($p < 0,05$).

Figura 6 - Ação dos hormônios adiponectina, leptina e melatonina sob o índice de apoptose dos linfócitos do colostro humano segundo o estado nutricional materno



Índice de apoptose dos linfócitos do colostro humano tratados com os hormônios: (A) adiponectina e/ou leptina ou (B) melatonina e/ou leptina. Os resultados foram avaliados por ANOVA e teste de Tukey, os dados foram expressos em média \pm DP (n=5 por tratamento), indicado como a seguir: *Diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao mesmo grupo tratado com meio 199 (controle).

Figura 7 - Representação esquematizada dos principais resultados encontrados



ADIPO= adiponectina; LEP= leptina; MEL= melatonina.

A figura acima resume os principais resultados da imunofenotipagem, proliferação de linfócitos, liberação de cálcio intracelular e taxa de apoptose encontrados neste estudo.

6 DISCUSSÃO

Com base nos resultados deste estudo, constatou-se que independente do IMC pré-gestacional materno, não foram encontradas diferenças na liberação espontânea de cálcio intracelular pelas células do colostro ($p > 0,05$). Os hormônios leptina, adiponectina e melatonina reduziram os níveis de cálcio intracelular nas células do colostro no grupo de mulheres eutróficas ($p < 0,05$). Entretanto, no grupo de obesidade, na presença de adiponectina e adiponectina + leptina, ocorreu uma diminuição da liberação de cálcio nas células de colostro quando comparado ao mesmo grupo tratado com meio 199 ($p < 0,05$).

A capacidade de analisar a taxa de propagação de linfócitos é essencial para a compreensão do comportamento dos mecanismos imunológicos do colostro em mulheres com obesidade pré-gestacional, uma vez que as alterações metabólicas causadas por esta patologia promovem variações no sistema imunológico. De acordo com o estado nutricional materno pré-gestacional, os hormônios, leptina, adiponectina e melatonina foram capazes de alterar a atividade proliferativa dos linfócitos no colostro humano, de diferentes maneiras.

A avaliação da interação entre adiponectina, leptina, melatonina isoladamente, adiponectina mais leptina e melatonina mais leptina foi realizada com base no fato de que, na literatura, as ações desses hormônios estão consolidadas em relação ao seu papel como mediadores da inflamação. A adiponectina (OHASHI et al., 2015; ALJAFARY, AL-SUHAIMI, 2022) e a melatonina (PRADO et al., 2018) têm ações imunológicas com um perfil anti-inflamatório, enquanto a leptina tem um caráter mais pró-inflamatório (IIKUNI et al., 2008; PÉREZ-PÉREZ et al., 2020).

A obesidade materna pré gestacional promoveu alterações nos mecanismos imunológicos do colostro, reduzindo a porcentagem de linfócitos T, especialmente o TCD4+, além da redução da atividade proliferativa total dos linfócitos. Essa diminuição dos linfócitos T CD4+ pode comprometer o sistema imunológico, tornando-o menos eficiente no combate a patógenos agressores, aumentando a suscetibilidade a doenças (VELLA; HERATI; WHERRY, 2017).

Entretanto, os hormônios responsáveis pela regulação do metabolismo energético apresentaram um potencial de restaurar a atividade, sendo capaz de atenuar as repercussões causadas pelo excesso de peso materno para recuperar a atividade celular em níveis semelhantes aos grupos de mulheres eutróficas. Devido

as alterações metabólicas decorrentes da obesidade pré-gestacional, os linfócitos estimulados com os hormônios adiponectina, leptina e melatonina aumentaram a proliferação celular sem causar alterações nos níveis de cálcio intracelular, destacando a sua ação anti-inflamatória no grupo com obesidade.

O colostro humano possui uma rica concentração de leucócitos, uma vez que a concentração celular do colostro humano varia entre 1 a 3×10^9 células/mL (TSUDA, DICKEY, GOLDMAN, 1983; GOLDMAN, 1993), e cerca 5 a 10% dessas células são linfócitos (GOLDMAN, 1993). Entre eles, aproximadamente 80% dos linfócitos encontrados no colostro são linfócitos T (GOLDMAN et al., 2011), semelhantes a concentração encontrada neste estudo, onde a caracterização da população de linfócitos foi de 80,01% no grupo eutrófico.

Essas células são responsáveis por uma rede de segurança adicional para o bebê que, de forma sinérgica, impede a entrada de patógenos ou destrói os mesmos a fim de não desencadear uma inflamação descontrolada (GOLDMAN, 1993; CIARDELLI et al., 2008).

Ainda que são conhecidos os benefícios imunológicos estabelecidos pela amamentação, sabe-se que existem lacunas na literatura científica em relação aos mecanismos in vivo de transferência de linfócitos maternos para o recém-nascido. No entanto, Cabinian et al. (2016) a partir de um estudo experimental em animais evidenciou que as células derivadas da hematopoiese do leite materno sobrevivem no trato intestinal do bebê até que ocorra o desmame por completo. Além disso, 80% das células transferidas para o intestino do bebê são linfócitos T e podem ser armazenadas em regiões chamadas de placas de Peyer (P.P.s.).

A maior parte dessas células, 75%, são compostas por linfócitos TCD8+, pois apresentam altos níveis de moléculas intestinais como $\alpha 4\beta 7$ e CCR9, além de possuir uma expressão reduzida do marcador de localização sistêmica CD62L. Desta forma, é possível que exista um mecanismo de compensação imunológica que proteja o recém-nascido dos riscos de constantes infecções orais durante o período pós-natal (CABINIAN et al., 2016).

Além disso, não houve alteração nos níveis de TCD8+ entre os grupos, porém foram observadas reduções na população de células de linfócitos T CD4+ no colostro de mulheres obesas. Além disso, uma cultura mista de linfócitos T e B apresentou uma redução na proliferação de linfócitos no colostro do grupo com obesidade após

24 horas de incubação com leptina, adiponectina e melatonina. É importante ressaltar que os linfócitos T CD4⁺ são células essenciais que possuem capacidade de alterar os marcadores de inflamação, sendo encontrados em menores concentrações em indivíduos com obesidade (LI et al., 2021; POLESE et al., 2014).

Ainda que há lacunas e na literatura científica acerca as repercussões da obesidade materna nos linfócitos do colostro humano, há evidências de que um aumento na concentração de linfócitos TCD4⁺ podem ser encontrados no ambiente intrauterino durante o período de gestação. Ademais, sabe-se que há uma redução na resposta proliferativa de linfócitos à estimulação mitogênica em indivíduos obesos (NIEMAN, 1999; ELSAYED et al., 2017).

Desta forma, quando associado com as alterações na contagem de linfócitos e com a expressão desregulada de citocinas, está relacionado ao fato de as crianças obesas apresentarem uma taxa de infecção mais alta do que crianças que possuem um IMC saudável (ELSAIED et al., 2017). Portanto, é essencial modular as respostas anti-inflamatórias e favorecer a tolerância imunológica para prevenir que o sistema imunológico materno rejeite o feto até o parto, uma vez que em mulheres obesas, é encontrada uma redução nessa população de células (LI et al., 2021; POLESE et al., 2014).

É importante ressaltar que nem todas as alterações séricas observadas em mulheres com obesidade são transmitidas ao colostro (FUJIMORI et al., 2015; FUJIMORI et al., 2017). Sabe-se que as alterações hormonais, como a adiponectina, leptina (MORAIS et al., 2019) e melatonina (MORAIS et al., 2019) no colostro representam mecanismos de proteção materno-infantil capazes de restaurar a atividade funcional das células com o objetivo de garantir a proteção do recém-nascido.

As descobertas deste estudo indicam que, de acordo com o IMC materno pré-gestacional, os hormônios adiponectina, leptina e melatonina alteraram a atividade proliferativa dos linfócitos do colostro de diferentes maneiras. Essas alterações podem ter implicações no sistema imunológico do recém-nascido, uma vez que o colostro desempenha um importante papel na proteção e no desenvolvimento no sistema imunológico do lactente.

A expressão do perfil de linfócitos de receptores de hormônios reguladores do apetite ocorre de diferentes formas de acordo com os subconjuntos dos leucócitos, o

que esclarece parcialmente as diversas ações dos hormônios sobre essas células (KEUSTERMANS et al., 2017). Além disso, sabe-se que através da síntese de interleucina-2 (IL-2), esses hormônios reguladores são responsáveis pela modulação dos linfócitos T (MARTÍN-ROMERO et al., 2000; CARRILLO-VICO et al., 2005).

Entretanto, o excesso de peso pode ocasionar uma redução no número de linfócitos que expressam o CD25, um receptor que proporciona o local de ligação da IL-2, que é expresso na superfície dos linfócitos (MOMESSO DOS SANTOS et al., 2015). Além disso, essa citocina é essencial na proliferação e ativação de linfócitos T (45).

A maior parte dos linfócitos presentes no leite humano são células T (FIELD, 2005), desta forma, alterações da obesidade podem causar respostas diferentes aos estímulos de adiponectina, leptina e melatonina, devido as mudanças proporcionadas pelo excesso de peso por meio das variações na expressão de receptores de IL-2.

Os hormônios responsáveis pela regulação do metabolismo apresentam uma atividade proliferativa. Os resultados encontrados a partir de uma pesquisa realizada em ratos Wistar amamentados que receberam suplementação de adipocinas, a adiponectina apresentou um aumento da proliferação de linfócitos, enquanto a leptina não. Mas, durante a amamentação, ambos os hormônios desempenharam um papel importante no desenvolvimento da imunidade do no início da vida (GRASES-PINTÓ et al., 2018).

Entretanto, a atividade proliferativa da leptina sob os linfócitos pode restaurar e aumentar o índice de linfócitos, apesar da obesidade (FUJITA et al., 2002). A melatonina fornece atividades semelhantes, aumentando o acúmulo de linfócitos e induzindo a proliferação de linfócitos B (INSERRA et al., 1998) e T (YOO et al., 2016). Esta indolamina atua na expansão celular por meio da ligação a receptores de alta afinidade e também na produção de IL-2, essencial na melhoria e no desenvolvimento da imunidade celular (ARIAS et al., 2003).

Embora existam diferenças na proliferação de linfócitos em função do sobrepeso materno, neste estudo não houve diferenças na viabilidade dos linfócitos encontrados no colostro em ambos os grupos estudados. Além disso, os resultados mostraram que não houve diferenças significativas na liberação de cálcio intracelular e na apoptose. Entretanto, os estímulos terem apresentados efeito antiapoptóticos, com uma redução simultânea do cálcio intracelular no grupo eutrófico.

A diminuição dos níveis endógenos da adiponectina está associada ao aumento da taxa de apoptose dos leucócitos encontrados no sangue periférico (TRELLAKIS et al., 2012). A atividade antiapoptótica deste hormônio controla os níveis de cálcio intracelular, reduz o número de células apoptóticas iniciais e bloqueia o processo de apoptose mitocondrial (LIU et al., 2019).

As ações antiapoptóticas da leptina ocorre através da ligação aos receptores no controle dos processos de apoptose celular. A liberação de cálcio intracelular é essencial para o controle da resposta inflamatória, por estes motivos que os linfócitos foram tratados com adiponectina, leptina e melatonina.

O cálcio intracelular é responsável pelo controle de diferentes processos celulares, como a proliferação, diferenciação e morte celular (HONORIO-FRANCA et al., 2016). A alteração da dinâmica do cálcio e como consequência, do metabolismo mitocondrial é essencial para a sobrevivência de linfócitos T em condições de estresse nutricional (SAINI et al., 2022), sugerindo que os estímulos testados não possuem efeito citotóxico sobre os linfócitos do colostro, porem possuem ação no processo de apoptose, já descrito na literatura científica. Desta forma, os linfócitos proporcionam uma regulação positiva dos genes Bcl-xL e conseqüentemente a inibição da apoptose (FUJITA et al., 2022).

O tratamento dos linfócitos com leptina também atenua a apoptose em linfócitos (SANCHEZ-MARGALET et al., 2003). Porém, na presença de patógenos virulentos, é capaz de induzir a apoptose nessa população celular, intensificando a resposta imune (MORSHEDI, ZARKESH-ESFAHANI e BEHJATI, 2013).

A melatonina controla a apoptose em leucócitos, com a indução e elevação dos níveis de cálcio intracelular no citosol (ESPINO et al., 2011). Este hormônio também causa efeitos antiapoptóticos nos linfócitos por meio de mecanismos que reduzem as atividades da caspase-3 e 9 (DELGADO et al., 2011).

A partir do que foi exposto, podemos observar diferenças entre a ação dos grupos eutrófico e com obesidade em relação à resposta dos linfócitos. Essas alterações sugerem que a modulação dos linfócitos no colostro humano é obtida pelo controle das concentrações da adiponectina, leptina e melatonina e por diferenças na expressão dos receptores nas células destes hormônios.

Nos linfócitos do colostro, entre os estímulos que foram utilizados neste estudo, a adiponectina foi o único que apresentou aumento no índice de proliferação dos

linfócitos no grupo com obesidade, dependendo da redução dos níveis de cálcio intracelular. O hormônio leptina apresentou uma melhor resposta imunitária quando associada à adiponectina ou à melatonina, restaurando a proliferação dos linfócitos a valores semelhantes aos encontrados no grupo eutrófico.

Portanto, é crucial enfatizar a importância de manter o equilíbrio dos hormônios responsáveis pela regulação do metabolismo no organismo materno a fim de obter uma atividade funcional adequada das células mononucleares que compõem o colostro humano. Porém, mesmo com as diferenças nas respostas dos linfócitos causadas pela obesidade pré-gestacional, essas células fornecem uma importante proteção imunológica para o recém-nascido.

As diferenças encontradas neste estudo nas ações imunomoduladoras da adiponectina, leptina e melatonina sob a atividade funcional dos linfócitos podem representar um mecanismo de defesa presente no colostro que garante ao lactente uma imunidade eficiente, uma vez que essas células são provenientes de um ambiente hormonal alterado devido as alterações metabólicas decorrentes da obesidade.

Entre as limitações deste estudo podem ser citados que o número de amostras coletadas em cada experimento é baixo, uma vez que as amostras de colostro são difíceis de coletar e as células nem sempre estão presentes em quantidades suficientes para concluir todas as análises quando coletado da mesma paciente, o que também restringe os pesquisadores de priorizar os testes que devem ser realizados. Outra limitação importante é que os dados foram avaliados durante o período de coleta e durante apenas um estágio de maturação do leite.

Ainda com das limitações encontradas, os experimentos indicam achados significativos e relevantes para alertar a comunidade científica a precisão do desenvolvimento de estudos que enfatizem outros fatores que podem estar associados quanto a amamentação de puérperas com obesidade.

O estudo reforça a hipótese de que aleitamento materno beneficia a saúde da mãe e da criança, auxiliando na redução do peso corporal, controlando o processo inflamatório e reduzindo as infecções infantis. Desta forma, é essencial que o aleitamento materno seja incentivado pois é uma estratégia de saúde pública eficaz para o combate da obesidade tanto para a mãe quanto para o bebê. Acredita-se que avaliar o impacto da obesidade pré-gestacional nas relações da imunologia materno-

infantil e promover a amamentação represente uma chave eficaz para promover a saúde materno-infantil e reduzir parte dos impactos futuros oriundos da obesidade.

7 CONCLUSÃO

A capacidade proliferativa dos linfócitos foi significativamente semelhante entre ambos os grupos apenas na presença de adiponectina e melatonina + leptina. A caracterização da população de linfócitos TCD3+ foi menor no grupo de participantes com obesidade o número de linfócitos CD3CD8+ foi significativamente maior no grupo de mulheres eutróficas. Não houve alteração da taxa de apoptose dos linfócitos devido ao excesso de peso materno. No entanto, o hormônio leptina, a adiponectina e a melatonina reduziram a apoptose nos linfócitos do grupo eutrófico.

A liberação espontânea de cálcio intracelular apresentou níveis semelhantes entre os grupos. Mas, quando tratados com os hormônios leptina, adiponectina e melatonina reduziram os níveis de cálcio intracelular nas células do colostro no grupo de mulheres eutróficas.

De acordo com o estado nutricional pré-gestacional da puérpera, hormônios adiponectina, leptina e melatonina são capazes de alterar a atividade proliferativa dos linfócitos do colostro. Essas alterações sugerem que a modulação dos linfócitos no colostro humano é obtida pelo controle das concentrações da adiponectina, leptina e melatonina e por diferenças na expressão dos receptores nas células destes hormônios.

REFERÊNCIAS

ALAMDARI, N. Mesri et al. A double-blind, placebo-controlled trial related to the effects of melatonin on oxidative stress and inflammatory parameters of obese women. **Hormone and Metabolic Research**, v. 47, n. 07, p. 504-508, 2015.

ALJAFARY, Meneerah Abdulrahman; AL-SUHAIMI, Ebtesam Abdullah. Adiponectin system (rescue hormone): The missing link between metabolic and cardiovascular diseases. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 7, p. 1430, 2022.

AMITAY, Efrat L.; KEINAN-BOKER, Lital. Breastfeeding and childhood leukemia incidence: a meta-analysis and systematic review. **JAMA pediatrics**, v. 169, n. 6, p. e151025-e151025, 2015.

ANDREAS, Nicholas J. et al. Impact of maternal BMI and sampling strategy on the concentration of leptin, insulin, ghrelin and resistin in breast milk across a single feed: a longitudinal cohort study. **BMJ open**, v. 6, n. 7, p. e010778, 2016.

ANDREAS, Nicholas J.; KAMPMANN, Beate; LE-DOARE, Kirsty Mehring. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. **Early human development**, v. 91, n. 11, p. 629-635, 2015.

ARAÚJO, Márcio Flávio Moura de; BESERRA, Eveline Pinheiro; CHAVES, Emilia Soares. O papel da amamentação ineficaz na gênese da obesidade infantil: um aspecto para a investigação de enfermagem. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 19, p. 450-455, 2006.

ARENDDT, Josephine et al. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. **Reviews of reproduction**, v. 3, p. 13-22, 1998.

ARIAS, Julia et al. Effect of melatonin on lymphocyte proliferation and production of interleukin-2 (IL-2) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) in mice splenocytes. **Investigación clínica**, v. 44, n. 1, p. 41-50, 2003.

ARMIJO, Priscila Rodrigues et al. Ação da melatonina no tecido cartilaginoso. **Reprodução & Climatério**, v. 28, n. 1, p. 24-29, 2013.

ARRIGO, Teresa et al. High-mobility group protein B1: a new biomarker of metabolic syndrome in obese children. **European journal of endocrinology**, v. 168, n. 4, p. 631-638, 2013.

ARSLANOGLU, Sertac et al. Optimization of human milk fortification for preterm infants: new concepts and recommendations. 2010.

BALLARD, Olivia; MORROW, Ardythe L. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. **Pediatric Clinics**, v. 60, n. 1, p. 49-74, 2013.

BARBOSA, Lourdes et al. Maternal energy balance and lactation performance of Mesoamerindians as a function of body mass index. **The American journal of clinical nutrition**, v. 66, n. 3, p. 575-583, 1997.

BENARROCH, Eduardo E. Suprachiasmatic nucleus and melatonin: reciprocal interactions and clinical correlations. **Neurology**, v. 71, n. 8, p. 594-598, 2008.

BERG, Anders H.; COMBS, Terry P.; SCHERER, Philipp E. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 13, n. 2, p. 84-89, 2002.

BESEDOVSKY, Luciana; LANGE, Tanja; BORN, Jan. Sleep and immune function. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 463, n. 1, p. 121-137, 2012.

BEZERRA, Laura Grazielle Almeida; ANTÔNIO, Carla Roberta Silva Souza. influência da obesidade na gestação. **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 12, p. 175-178, 2020.

BOOTH, Andrea et al. Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion. **Hormone molecular biology and clinical investigation**, v. 21, n. 1, p. 57-74, 2015.

BRANDÃO, Paula Zamboti; DA SILVA, Thauane Barbosa; DE SIQUEIRA, Emílio Conceição. Obesidade e gestação: a importância da correlação na avaliação dos riscos materno-fetais. **Revista Pró-UniverSUS**, v. 10, n. 2, p. 18-23, 2019.

BRANDTZAEG, Per. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. **Vaccine**, v. 21, n. 24, p. 3382-3388, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. **Vigitel Brasil 2018: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 Estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018**. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2019.

BRUNNER, S. et al. Breast milk leptin and adiponectin in relation to infant body composition up to 2 years. **Pediatric obesity**, v. 10, n. 1, p. 67-73, 2015.

BULLÓ, Monica et al. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. **Obesity research**, v. 11, n. 4, p. 525-531, 2003.

BUONFIGLIO, Daniella et al. Removing melatonin receptor type 1 signaling leads to selective leptin resistance in the arcuate nucleus. **Journal of pineal research**, v. 67, n. 2, p. e12580, 2019.

CABINIAN, Allison et al. Transfer of maternal immune cells by breastfeeding: maternal cytotoxic T lymphocytes present in breast milk localize in the Peyer's patches of the nursed infant. **PLoS one**, v. 11, n. 6, p. e0156762, 2016.

ÇALIŞKAN, Canan et al. The Role of Delivery Route on Colostrum Melatonin and Serum Il-6 Levels: A Prospective Controlled Study. **Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie**, v. 225, n. 06, p. 506-512, 2021.

- CANNON, Anna M. et al. The effects of leptin on breastfeeding behaviour. **International journal of environmental research and public health**, v. 12, n. 10, p. 12340-12355, 2015.
- CANTER, Robert J. et al. Obesity as an immune-modifying factor in cancer immunotherapy. **Journal of leukocyte biology**, v. 104, n. 3, p. 487-497, 2018.
- CARDINALI, Daniel P.; HARDELAND, Rüdiger. Inflammaging, metabolic syndrome and melatonin: a call for treatment studies. **Neuroendocrinology**, v. 104, n. 4, p. 382-397, 2017.
- CARRILLO-VICO, Antonio et al. Human lymphocyte-synthesized melatonin is involved in the regulation of the interleukin-2/interleukin-2 receptor system. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 2, p. 992-1000, 2005.
- CASABIELL, X. et al. Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 12, p. 4270-4273, 1997.
- CATALÁN, V. et al. Adipose tissue immunity and Front. 2013.
- CHAN, D. et al. Adiponectin, leptin and insulin in breast milk: associations with maternal characteristics and infant body composition in the first year of life. **International journal of obesity**, v. 42, n. 1, p. 36-43, 2018.
- CHANDRA, Rashmi et al. Ildr1 gene deletion protects against diet-induced obesity and hyperglycemia. **Plos one**, v. 17, n. 6, p. e0270329, 2022.
- CHEN, Haiyan et al. Breastfeeding and risk of rheumatoid arthritis: a systematic review and metaanalysis. **The Journal of rheumatology**, v. 42, n. 9, p. 1563-1569, 2015.
- CHEN, Yu-Chieh et al. Roles of melatonin in fetal programming in compromised pregnancies. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 3, p. 5380-5401, 2013.
- CHILDS, Bennett G. et al. Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates?. **EMBO reports**, v. 15, n. 11, p. 1139-1153, 2014.
- CIAMPO, Luiz Antonio Del; CIAMPO, Ieda Regina Lopes Del. Breastfeeding and the Benefits of Lactation for Women's Health. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 40, p. 354-359, 2018.
- CIARDELLI, L. et al. Human colostrum T lymphocytes and their effector cytokines actively aid the development of the newborn immune system. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 21, n. 4, p. 781-786, 2008.
- CIPOLLA-NETO, Jose et al. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. **Journal of pineal research**, v. 56, n. 4, p. 371-381, 2014.

- DAÏEN, Claire I.; SELLAM, Jérémie. Obesity and inflammatory arthritis: impact on occurrence, disease characteristics and therapeutic response. **RMD open**, v. 1, n. 1, p. e000012, 2015.
- DANFORTH, Kim N. et al. Breastfeeding and risk of ovarian cancer in two prospective cohorts. **Cancer causes & control**, v. 18, p. 517-523, 2007.
- DE ABREU, Fabiana Guichard et al. Proteína C Reativa, Função Endotelial e Influência Genética: Associação com a Obesidade. **Revista Brasileira Multidisciplinar-ReBraM**, v. 16, n. 1, p. 79-90, 2013.
- DE ASSUNÇÃO, Monica Lopes et al. Compostos Bioativos Presentes no Leite Humano em Função do Estado Nutricional Materno. **Gep News**, v. 6, n. 1, p. 80-89, 2022.
- DE PAULA, Danyella Oliveira et al. Relação entre o aleitamento materno exclusivo nos seis primeiros meses e a prevenção da obesidade infantil. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 4, p. e7007-e7007, 2021.
- DE PERGOLA, Giovanni; SILVESTRIS, Franco. Obesity as a major risk factor for cancer. **Journal of obesity**, v. 2013, 2013.
- DEVINE, Carol M.; BOVE, Caron F.; OLSON, Christine M. Continuity and change in women's weight orientations and lifestyle practices through pregnancy and the postpartum period: the influence of life course trajectories and transitional events. **Social Science & Medicine**, v. 50, n. 4, p. 567-582, 2000.
- DRAGO, Lorenzo et al. Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi. **The ISME journal**, v. 11, n. 4, p. 875-884, 2017.
- DUBOCOVICH, Margarita L.; MARKOWSKA, Magdalena. Functional MT 1 and MT 2 melatonin receptors in mammals. **Endocrine**, v. 27, p. 101-110, 2005.
- EBINA, Satoko; KASHIWAKURA, Ikuo. Influence of breastfeeding on maternal blood pressure at one month postpartum. **International journal of women's health**, p. 333-339, 2012.
- ELSAYED, Hoda L. et al. Lymphocyte subtype dysregulation in a group of children with simple obesity. **Egyptian Journal of Pediatric Allergy and Immunology (The)**, v. 15, n. 2, p. 63-68, 2017.
- ERIKSSON, Britt et al. Body fat, insulin resistance, energy expenditure and serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin before, during and after pregnancy in healthy Swedish women. **British journal of nutrition**, v. 103, n. 1, p. 50-57, 2010.
- ERLIANA, Ummu D.; FLY, Alyce D. The function and alteration of immunological properties in human milk of obese mothers. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1284, 2019.

ESPINO, Javier et al. Protective effect of melatonin against human leukocyte apoptosis induced by intracellular calcium overload: relation with its antioxidant actions. **Journal of pineal research**, v. 51, n. 2, p. 195-206, 2011.

FANG, Han; JUDD, Robert L. Adiponectin regulation and function. **Comprehensive Physiology**, v. 8, n. 3, p. 1031-1063, 2011.

FARAH, Nadine et al. Correlation between maternal inflammatory markers and fetomaternal adiposity. **Cytokine**, v. 60, n. 1, p. 96-99, 2012.

FARPOUR-LAMBERT, Nathalie J. et al. Obesity and weight gain in pregnancy and postpartum: an evidence review of lifestyle interventions to inform maternal and child health policies. **Frontiers in endocrinology**, v. 9, p. 546, 2018.

FERNÁNDEZ VÁZQUEZ, Gumersindo; REITER, Russel J.; AGIL, Ahmad. Melatonin increases brown adipose tissue mass and function in Zucker diabetic fatty rats: implications for obesity control. **Journal of pineal research**, v. 64, n. 4, p. e12472, 2018.

FERNÁNDEZ, Leónides et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. **Pharmacological research**, v. 69, n. 1, p. 1-10, 2013.

FERREIRA, Ana Lorena et al. Human milk oligosaccharide profile variation throughout postpartum in healthy women in a Brazilian cohort. **Nutrients**, v. 12, n. 3, p. 790, 2020.

FIELD, Catherine J. The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. **The Journal of nutrition**, v. 135, n. 1, p. 1-4, 2005.

FIELDS, David A. et al. Associations between human breast milk hormones and adipocytokines and infant growth and body composition in the first 6 months of life. **Pediatric obesity**, v. 12, p. 78-85, 2017.

FLIER, Jeffrey S. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. **Cell**, v. 116, n. 2, p. 337-350, 2004.

FLORES-CORDERO, Juan Antonio et al. Obesity as a Risk Factor for Dementia and Alzheimer's Disease: The Role of Leptin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 5202, 2022.

FONSECA-ALANIZ, Miriam H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, p. 216-229, 2006.

FOX, Molly; BERZUINI, Carlo; KNAPP, Leslie A. Maternal breastfeeding history and Alzheimer's disease risk. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 37, n. 4, p. 809-821, 2013.

FRANÇA, Eduardo Luzía et al. Transfer of maternal immunity to newborns of diabetic mothers. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2012, 2012.

FRANCISCO, Vera et al. Obesity, fat mass and immune system: role for leptin. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 640, 2018.

FRANKLIN, Tamara B. et al. Epigenetic transmission of the impact of early stress across generations. **Biological psychiatry**, v. 68, n. 5, p. 408-415, 2010.

FRUHBECK, Gema et al. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 280, n. 6, p. E827-E847, 2001.

FUGLSANG, Jens et al. A longitudinal study of serum adiponectin during normal pregnancy. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 113, n. 1, p. 110-113, 2006.

FUJIMORI, Mahmi et al. Changes in the biochemical and immunological components of serum and colostrum of overweight and obese mothers. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 15, p. 1-8, 2015.

FUJIMORI, Mahmi et al. Cytokine and adipokine are biofactors can act in blood and colostrum of obese mothers. **Biofactors**, v. 43, n. 2, p. 243-250, 2017.

FUJIMORI, Mahmi. **Relação do sobrepeso e obesidade materna sobre parâmetros imunológicos, bioquímicos e hormonais do sangue e colostro humano**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FUJITA, Yoshimasa et al. Leptin inhibits stress-induced apoptosis of T lymphocytes. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 128, n. 1, p. 21-26, 2002.

FURUNCUOĞLU, Y. et al. How obesity affects the neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio, systemic immune-inflammatory index and platelet indices: a retrospective study. **European review for medical and pharmacological sciences**, v. 20, n. 7, p. 1300-1306, 2016.

GAROFALO, Roberto P.; GOLDMAN, Armond S. Cytokines, chemokines, and colony-stimulating factors in human milk: the 1997 update. **Neonatology**, v. 74, n. 2, p. 134-142, 1998.

GERTOSIO, Chiara et al. Breastfeeding and its gamut of benefits. **Minerva pediatrica**, v. 68, n. 3, p. 201-212, 2015.

GIL-CAMPOS, Mercedes; CAÑETE, Ramón; GIL, Angel. Adiponectin, the missing link in insulin resistance and obesity. **Clinical nutrition**, v. 23, n. 5, p. 963-974, 2004.

GILLMAN, Matthew W. et al. Risk of overweight among adolescents who were breastfed as infants. **Jama**, v. 285, n. 19, p. 2461-2467, 2001.

GODFREY, Keith M. et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. **The lancet Diabetes & endocrinology**, v. 5, n. 1, p. 53-64, 2017.

GOENKA, Anu; KOLLMANN, Tobias R. Development of immunity in early life. **Journal of Infection**, v. 71, p. S112-S120, 2015.

GOLDMAN, Armond S. et al. Immunology of human milk and host immunity. **Fetal and neonatal physiology**, p. 1690, 2011.

GOLDMAN, Armond S. The immune system of human milk: antimicrobial, antiinflammatory and immunomodulating properties. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 12, n. 8, p. 664-672, 1993.

GRASES-PINTÓ, Blanca et al. Leptin and adiponectin supplementation modifies mesenteric lymph node lymphocyte composition and functionality in suckling rats. **British Journal of Nutrition**, v. 119, n. 5, p. 486-495, 2018.

GREER, Frank R. Do breastfed infants need supplemental vitamins?. **Pediatric Clinics**, v. 48, n. 2, p. 415-423, 2001.

GREMMO-FÉGER, G. An update on lactation physiology and breastfeeding. **Archives de pediatrie: organe officiel de la Societe francaise de pediatrie**, v. 20, n. 9, p. 1016-1021, 2013.

GRIDNEVA, Zoya et al. Human milk adiponectin and leptin and infant body composition over the first 12 months of lactation. **Nutrients**, v. 10, n. 8, p. 1125, 2018.

GROSSHANS, Martin et al. The association of pineal gland volume and body mass in obese and normal weight individuals: a pilot study. **Psychiatria danubina**, v. 28, n. 3, p. 220-224, 2016.

HAGHIAC, Maricela et al. Patterns of adiponectin expression in term pregnancy: impact of obesity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 99, n. 9, p. 3427-3434, 2014.

HANDLIN, Linda et al. Effects of sucking and skin-to-skin contact on maternal ACTH and cortisol levels during the second day postpartum—influence of epidural analgesia and oxytocin in the perinatal period. **Breastfeeding medicine**, v. 4, n. 4, p. 207-220, 2009.

HARDER, Thomas et al. Duration of breastfeeding and risk of overweight: a meta-analysis. **American journal of epidemiology**, v. 162, n. 5, p. 397-403, 2005.

HERSOUG, L.-G.; LINNEBERG, A. The link between the epidemics of obesity and allergic diseases: does obesity induce decreased immune tolerance?. **Allergy**, v. 62, n. 10, p. 1205-1213, 2007.

HLAVOVA, Karolina; STEPANOVA, Hana; FALDYNA, Martin. The phenotype and activation status of T and NK cells in porcine colostrum suggest these are

central/effector memory cells. **The Veterinary Journal**, v. 202, n. 3, p. 477-482, 2014.

HOLMLUND, Ulrika et al. Maternal country of origin, breast milk characteristics and potential influences on immunity in offspring. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 162, n. 3, p. 500-509, 2010.

HONORIO-FRANÇA, Adenilda Cristina et al. Human colostrum melatonin exhibits a day-night variation and modulates the activity of colostrum phagocytes. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 11, n. 3, p. 153-162, 2013.

HONORIO-FRANCA, Adenilda Cristina et al. Intracellular calcium is a target of modulation of apoptosis in MCF-7 cells in the presence of IgA adsorbed to polyethylene glycol. **OncoTargets and therapy**, p. 617-626, 2016.

HORESH, Adi et al. Adolescent and childhood obesity and excess morbidity and mortality in young adulthood—A systematic review. **Current Obesity Reports**, v. 10, n. 3, p. 301-310, 2021.

HORTA, B. L., LORET DE MOLA, C., & VICTORA, C. G. Breastfeeding and intelligence: a systematic review and meta-analysis. **Acta paediatrica** (Oslo, Norway: 1992), 104(467), 14–19, 2015.

HORTA, B.L.; DE SOUZA, B. A., & DE MOLA, C. L. Breastfeeding and neurodevelopmental outcomes. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, 21(3), 174–178, 2018.

HOTAMISGILL, G. S. Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor-Alpha: Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance. **Science**, v. 359, p. 625-627, 1996.

HOUSEKNECHT, Karen L. et al. Leptin is present in human milk and is related to maternal plasma leptin concentration and adiposity. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 240, n. 3, p. 742-747, 1997.

HU, Erding; LIANG, Peng; SPIEGELMAN, Bruce M. AdipoQ Is a Novel Adipose-specific Gene Dysregulated in Obesity (*). **Journal of biological chemistry**, v. 271, n. 18, p. 10697-10703, 1996.

HUSSAIN, Tarique et al. Understanding the Immune System in Fetal Protection and Maternal Infections during Pregnancy. **Journal of Immunology Research**, v. 2022, 2022.

HUTCHESON, Jack. Adipokines influence the inflammatory balance in autoimmunity. **Cytokine**, v. 75, n. 2, p. 272-279, 2015.

IIKUNI, Noriko et al. Leptin and inflammation. **Current immunology reviews**, v. 4, n. 2, p. 70-79, 2008.

INSERRA, Paula et al. Modulation of cytokine production by dehydroepiandrosterone (DHEA) plus melatonin (MLT) supplementation of old mice. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 218, n. 1, p. 76-82, 1998.

ISGANAITIS, Elvira. Milky ways: Effects of maternal obesity on human milk composition and childhood obesity risk. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 113, n. 4, p. 772-774, 2021.

JAHROMI, Abdolreza Sotoodeh; ZAREIAN, Parvin; MADANI, Abdolhossein. Association of insulin resistance with serum interleukin-6 and TNF- α levels during normal pregnancy. **Biomarker insights**, v. 6, p. BMI. S6150, 2011.

JASSER, Samar A.; BLASK, David E.; BRAINARD, George C. Light during darkness and cancer: relationships in circadian photoreception and tumor biology. **Cancer Causes & Control**, v. 17, p. 515-523, 2006.

JEVITT, Cecilia; HERNANDEZ, Ivonne; GROËR, Maureen. Lactation complicated by overweight and obesity: supporting the mother and newborn. **Journal of midwifery & women's health**, v. 52, n. 6, p. 606-613, 2007.

JUAN CASTELL, Maria Francisca et al. A Review of the Relationship Between the Appetite-Regulating Hormone Leptin Present in Human Milk and Infant Growth. **Breastfeeding Medicine**, v. 17, n. 2, p. 98-111, 2022.

KAAR, Jill L. et al. Maternal obesity, gestational weight gain, and offspring adiposity: the exploring perinatal outcomes among children study. **The Journal of pediatrics**, v. 165, n. 3, p. 509-515, 2014.

KATZER, David et al. Melatonin concentrations and antioxidative capacity of human breast milk according to gestational age and the time of day. **Journal of Human Lactation**, v. 32, n. 4, p. NP105-NP110, 2016.

KAWAI, Tatsuo; AUTIERI, Michael V.; SCALIA, Rosario. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, v. 320, n. 3, p. C375-C391, 2021.

KELESIDIS, Theodore et al. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. **Annals of internal medicine**, v. 152, n. 2, p. 93-100, 2010.

KENT, George. Child feeding and human rights. **International breastfeeding journal**, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2006.

KEUSTERMANS, Genoveva et al. Differential adipokine receptor expression on circulating leukocyte subsets in lean and obese children. **PLoS One**, v. 12, n. 10, p. e0187068, 2017.

KHAN, Sadaf et al. Variation in fat, lactose, and protein composition in breast milk over 24 hours: associations with infant feeding patterns. **Journal of Human Lactation**, v. 29, n. 1, p. 81-89, 2013.

- KIM, Hyesook et al. Breast milk fatty acid composition and fatty acid intake of lactating mothers in South Korea. **British Journal of Nutrition**, v. 117, n. 4, p. 556-561, 2017.
- KIM, Min Hyung et al. Macronutrient analysis of human milk according to storage and processing in Korean mother. **Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 262-269, 2019.
- KLOK, Melanie D.; JAKOBSDOTTIR, S.; DRENT, M. L. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. **Obesity reviews**, v. 8, n. 1, p. 21-34, 2007.
- KOH, Kanghyock. Maternal breastfeeding and children's cognitive development. **Social Science & Medicine**, v. 187, p. 101-108, 2017.
- KOVACS, Christopher S. Maternal mineral and bone metabolism during pregnancy, lactation, and post-weaning recovery. **Physiological reviews**, v. 96, n. 2, p. 449-547, 2016.
- KUH, Diana; SHLOMO, Yoav Ben (Ed.). **A life course approach to chronic disease epidemiology**. Oxford university press, 2004.
- LACERDA, Marcelle Sousa; MALHEIROS, Glícia Campanharo; DE ABREU, Annelise de Oliveira Wilken. TECIDO ADIPOSEO, UMA NOVA VISÃO: AS ADIPOCINAS E SEU PAPEL ENDÓCRINO. **Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos**, v. 11, n. 2, p. 25-31, 2016.
- LAMAS, O.; MARTI, Amelia; MARTINEZ, José Alfredo. Obesity and immunocompetence. **European journal of clinical nutrition**, v. 56, n. 3, p. S42-S45, 2002.
- LAN, Hong et al. Gene expression profiles of nondiabetic and diabetic obese mice suggest a role of hepatic lipogenic capacity in diabetes susceptibility. **Diabetes**, v. 52, n. 3, p. 688-700, 2003.
- LANGER-GOULD, Annette et al. Breastfeeding, ovulatory years, and risk of multiple sclerosis. **Neurology**, v. 89, n. 6, p. 563-569, 2017.
- LARSSON, Melanie W. et al. Human milk oligosaccharide composition is associated with excessive weight gain during exclusive breastfeeding—an explorative study. **Frontiers in pediatrics**, p. 297, 2019.
- LAVIE, Carl J.; MILANI, Richard V.; VENTURA, Hector O. Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact of weight loss. *Journal of the American college of cardiology*, v. 53, n. 21, p. 1925-1932, 2009.
- LEPERCQ, Jacques et al. Prenatal leptin production: evidence that fetal adipose tissue produces leptin. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 6, p. 2409-2413, 2001.

LI, Di Yan et al. Melatonin receptor genes in vertebrates. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 6, p. 11208-11223, 2013.

LI, Yanhong et al. Obesity challenge drives distinct maternal immune response changes in normal pregnant and abortion-prone mouse models. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 694077, 2021.

LIESE, A. D. et al. Inverse association of overweight and breast feeding in 9 to 10-year-old children in Germany. **International Journal of obesity**, v. 25, n. 11, p. 1644-1650, 2001.

LIM, Siew et al. Addressing Obesity in Preconception, Pregnancy, and Postpartum: A Review of the Literature. **Current Obesity Reports**, p. 1-10, 2022.

LIN, Xihua; LI, Hong. Obesity: epidemiology, pathophysiology, and therapeutics. **Frontiers in endocrinology**, p. 1070, 2021.

LIU, Kaiqing et al. Melatonin reduces intramuscular fat deposition by promoting lipolysis and increasing mitochondrial function. **Journal of lipid research**, v. 60, n. 4, p. 767-782, 2019.

LIU, Zhenjiang et al. Melatonin promotes circadian rhythm-induced proliferation through C lock/histone deacetylase 3/c-Myc interaction in mouse adipose tissue. **Journal of pineal research**, v. 62, n. 4, p. e12383, 2017.

LOBSTEIN, Tim; BRINSDEN, Hannah. Atlas of childhood obesity. **World Obesity Federation**, p. 211, 2019.

LÖNNERDAL, Bo. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. **The American journal of clinical nutrition**, v. 77, n. 6, p. 1537S-1543S, 2003.

LORD, Graham M. et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. **Nature**, v. 394, n. 6696, p. 897-901, 1998.

MA, Jian et al. Breastfeeding and childhood obesity: A 12-country study. **Maternal & child nutrition**, v. 16, n. 3, p. e12984, 2020.

MAEDA, Kazuhisa et al. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPoseMost abundant Gene transcript 1). **Biochemical and biophysical research communications**, v. 221, n. 2, p. 286-289, 1996.

MAGANHIN, Carla C. et al. Efeitos da melatonina no sistema genital feminino: breve revisão. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 54, p. 267-271, 2008.

MÄKELÄ, Johanna et al. Breast milk fatty acid composition differs between overweight and normal weight women: the STEPS Study. **European journal of nutrition**, v. 52, p. 727-735, 2013.

MALHEIROS, Sônia Valéria Pinheiro. Regulação do metabolismo celular—um resumo. **Revista de Ensino de Bioquímica**, v. 4, n. 1, p. 23-29, 2006.

MARIANELLI, Mariana; MARIANELLI, Camila; DE LACERDA NETO, Tobias Patrício. Principais fatores de risco do AVC isquêmico: Uma abordagem descritiva. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 6, p. 19679-19690, 2020.

MARSEGLIA, Lucia et al. Obesity and breastfeeding: The strength of association. **Women and Birth**, v. 28, n. 2, p. 81-86, 2015.

MARTI, Amelia; MARCOS, Ascensión; MARTINEZ, José Alfredo. Obesity and immune function relationships. **Obesity reviews**, v. 2, n. 2, p. 131-140, 2001.
MARTIN, Camilia R.; LING, Pei-Ra; BLACKBURN, George L. Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula. **Nutrients**, v. 8, n. 5, p. 279, 2016.

MARTIN, Lisa J. et al. Adiponectin is present in human milk and is associated with maternal factors. **The American journal of clinical nutrition**, v. 83, n. 5, p. 1106-1111, 2006.

MARTÍN-ROMERO, Consuelo et al. Human leptin enhances activation and proliferation of human circulating T lymphocytes. **Cellular immunology**, v. 199, n. 1, p. 15-24, 2000.

MASUZAKI, Hiroaki et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. **Nature medicine**, v. 3, n. 9, p. 1029-1033, 1997.

MATHER, Ian H.; KEENAN, Thomas W. Origin and secretion of milk lipids. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 3, n. 3, p. 259-273, 1998.

MAURY, Eléonore; BRICHARD, S. M. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 314, n. 1, p. 1-16, 2010.

MCCLURE, Candace K. et al. Maternal visceral adiposity by consistency of lactation. **Maternal and child health journal**, v. 16, p. 316-321, 2012.

MCMANAMAN, James L.; NEVILLE, Margaret C. Mammary physiology and milk secretion. **Advanced drug delivery reviews**, v. 55, n. 5, p. 629-641, 2003.

MECKENSTOCK, R.; THERBY, A. Modifications de l'immunité dans l'obésité: Impact sur le risque infectieux. **La Revue de medecine interne**, v. 36, n. 11, p. 760-768, 2015.

MESQUITA JÚNIOR, Danilo et al. Sistema imunitário-parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, p. 552-580, 2010.

- MIEHLE, Konstanze; STEPAN, Holger; FASSHAUER, Mathias. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. **Clinical endocrinology**, v. 76, n. 1, p. 2-11, 2012.
- MILNER, J. Justin; BECK, Melinda A. The impact of obesity on the immune response to infection. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 71, n. 2, p. 298-306, 2012.
- MOMESSO DOS SANTOS, Cesar Miguel et al. Effect of regular circus physical exercises on lymphocytes in overweight children. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0120262, 2015.
- MONKS, J. A.; NEVILLE, M. C. Transcytosis of proteins across the mammary epithelium into milk. **J Women's Cancer**, v. 2, p. 193-200, 2000.
- MORAIS, Tassiane C. et al. Melatonin action on the activity of phagocytes from the colostrum of obese women. **Medicina**, v. 55, n. 10, p. 625, 2019a.
- MORAIS, Tassiane C. et al. Obesity as an inflammatory agent can cause cellular changes in human milk due to the actions of the adipokines leptin and adiponectin. **Cells**, v. 8, n. 6, p. 519, 2019b.
- MORAIS, Tassiane Cristina. **Hormônios reguladores do metabolismo energético e repercussões na atividade funcional dos fagócitos mononucleares do colostro de puérperas com excesso de peso pré-gestacional**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- MORCELI, Gliciane et al. Antioxidant effect of melatonin on the functional activity of colostrum phagocytes in diabetic women. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. e56915, 2013.
- MORSHEDI, Amir; ZARKESH-ESFAHANI, Sayyed Hamid; BEHJATI, Mohaddeseh. Effect of leptin on neutrophils phagocytosis and lymphocytes apoptosis challenge by listeria monocytogenes and Escherichia coli. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 6, n. 7, 2013.
- MRAZ, Milos; HALUZIK, Martin. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. **Journal of Endocrinology**, v. 222, n. 3, p. R113-R127, 2014.
- MUNBLIT, Daniel et al. Colostrum and mature human milk of women from London, Moscow, and Verona: determinants of immune composition. **Nutrients**, v. 8, n. 11, p. 695, 2016.
- NAKAMURA, Yasuhiko et al. Changes of serum melatonin level and its relationship to feto-placental unit during pregnancy. **Journal of pineal research**, v. 30, n. 1, p. 29-33, 2001.
- NAVE, Heike et al. Resistance of Janus kinase-2 dependent leptin signaling in natural killer (NK) cells: a novel mechanism of NK cell dysfunction in diet-induced obesity. **Endocrinology**, v. 149, n. 7, p. 3370-3378, 2008.

NETO, Júlio Anselmo Sousa; CASTRO, Bruno Freire de. Melatonina, ritmos biológicos e sono: uma revisão da literatura. **Rev Bras Neurol**, v. 44, n. 1, p. 5-11, 2008.

NG, Marie et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The lancet**, v. 384, n. 9945, p. 766-781, 2014.

NGUYEN, Duy-Ai D.; NEVILLE, Margaret C. Tight junction regulation in the mammary gland. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 3, n. 3, p. 233-246, 1998.

NIEMAN, D. C. Henson D a, Nehlsen-Cannarella SL, Ekkens M, Utter a C. **Butterworth DE et al. Influence of obesity on immune function. Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, p. 294-9, 1999.

NISHIMURA, Toshihide. Expression of potential lymphocyte trafficking mediator molecules in the mammary gland. **Veterinary Research**, v. 34, n. 1, p. 3-10, 2003.

NOMMSEN, Laurie A. et al. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study. **The American journal of clinical nutrition**, v. 53, n. 2, p. 457-465, 1991.

NOMMSEN-RIVERS, Laurie A. Does insulin explain the relation between maternal obesity and poor lactation outcomes? An overview of the literature. **Advances in nutrition**, v. 7, n. 2, p. 407-414, 2016.

NOMMSEN-RIVERS, Laurie A.; DOLAN, Lawrence M.; HUANG, Bin. Timing of stage II lactogenesis is predicted by antenatal metabolic health in a cohort of primiparas. **Breastfeeding Medicine**, v. 7, n. 1, p. 43-49, 2012.

NUNES, Marina. Influência de diferentes ambientes intrauterinos sobre a composição hormonal do colostro e leite maduro e o peso de lactentes: coorte ivapsa. 2015.

NUÑEZ VACA, Silvia Patricia; CARBONARE, Solange Barros. Transferência de anticorpos reativos com intiminas α , β e γ de Escherichia coli pela placenta e aleitamento materno: determinação quantitativa em soros de recém-nascidos e soros e colostros de suas mães. 2010.

NUZZI, Giulia et al. Breast milk: more than just nutrition!. **Minerva Pediatrics**, v. 73, n. 2, p. 111-114, 2021.

OHASHI, Koji et al. Adiponectin as a target in obesity-related inflammatory state. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)**, v. 15, n. 2, p. 145-150, 2015.

O'ROURKE, Robert W. et al. Alterations in T-cell subset frequency in peripheral blood in obesity. **Obesity surgery**, v. 15, n. 10, p. 1463-1468, 2005.

ORTEGA-GARCIA, Juan Antonio et al. Full breastfeeding and obesity in children: a prospective study from birth to 6 years. **Childhood obesity**, v. 14, n. 5, p. 327-337, 2018.

OUCHI, Noriyuki et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature reviews immunology**, v. 11, n. 2, p. 85-97, 2011.

PAIXÃO, Regislane Ino da. Efeitos da suplementação com melatonina sobre a expressão de adipocinas por tecidos adiposos branco em camundongos obesos. 2017.

PANDI-PERUMAL, Seithikurippu R. et al. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. **Progress in neurobiology**, v. 85, n. 3, p. 335-353, 2008.

PARISI, Mariana Migliorini. Impacto da obesidade sobre células do sistema imune: instabilidade genômica, disfunção mitocondrial, imunossenescência e ativação inflamatória. 2018.

PAZ-FILHO, Gilberto et al. Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 56, p. 597-607, 2012.

PEREIRA, Tânia Filipa Campeão. Obesidade: a epidemia do século XXI. **Psicologia. pt. O portal dos psicólogos**, p. 14, 2007.

PÉREZ-PÉREZ, Antonio et al. Role of leptin in inflammation and vice versa. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 16, p. 5887, 2020.

PIÑEIRO, Roberto et al. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. **FEBS letters**, v. 579, n. 23, p. 5163-5169, 2005.

PIRES-LAPA, Marco A. et al. Melatonin synthesis in human colostrum mononuclear cells enhances dectin-1-mediated phagocytosis by mononuclear cells. **Journal of pineal research**, v. 55, n. 3, p. 240-246, 2013.

PLAGEMANN, Andreas; HARDER, Thomas. Breast feeding and the risk of obesity and related metabolic diseases in the child. **Metabolic syndrome and related disorders**, v. 3, n. 3, p. 222-232, 2005.

POLESE, Barbara et al. The endocrine milieu and CD4 T-lymphocyte polarization during pregnancy. **Frontiers in endocrinology**, v. 5, p. 106, 2014.

PONTES, Gerlândia N. et al. Injury switches melatonin production source from endocrine (pineal) to paracrine (phagocytes) – melatonin in human colostrum and colostrum phagocytes. **Journal of pineal research**, v. 41, n. 2, p. 136-141, 2006.

- PONTES, Gerlândia N. et al. Pineal melatonin and the innate immune response: the TNF- α increase after cesarean section suppresses nocturnal melatonin production. **Journal of pineal research**, v. 43, n. 4, p. 365-371, 2007.
- PRADO, Natalia Jorgelina et al. Anti-inflammatory effects of melatonin in obesity and hypertension. **Current hypertension reports**, v. 20, p. 1-12, 2018.
- PRADO, Wagner Luiz do et al. Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v. 15, p. 378-383, 2009.
- PREUSTING, I. et al. Obesity as a Predictor of Delayed Lactogenesis II. 2017.
- PROCHNOW, Caroline et al. Os efeitos anti-inflamatórios da melatonina na obesidade: uma revisão da literatura. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 16, n. 101, p. 409-418, 2022.
- PULGARÓN, Elizabeth R. Childhood obesity: a review of increased risk for physical and psychological comorbidities. **Clinical therapeutics**, v. 35, n. 1, p. A18-A32, 2013.
- QATANANI, Mohammed; LAZAR, Mitchell A. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. **Genes & development**, v. 21, n. 12, p. 1443-1455, 2007.
- RASMUSSEN, Kathleen M. et al. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. 2009.
- RASMUSSEN, Kathleen M.; KJOLHEDE, Chris L. Prepregnant overweight and obesity diminish the prolactin response to suckling in the first week postpartum. **Pediatrics**, v. 113, n. 5, p. e465-e471, 2004.
- ROCHA, Viviane Zorzanelli; LIBBY, Peter. The multiple facets of the fat tissue. **Thyroid**, v. 18, n. 2, p. 175-183, 2008.
- ROJAS-OSORNIO, Sandra Angélica et al. Immunity to influenza: impact of obesity. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 13, n. 5, p. 419-429, 2019.
- ROLLINS, N. C. et al. Group, TLBS (2016). **Why invest, and what it will take to improve breastfeeding practices**, p. 491-504.
- RONTI, Tiziana; LUPATTELLI, Graziana; MANNARINO, Elmo. The endocrine function of adipose tissue: an update. **Clinical endocrinology**, v. 64, n. 4, p. 355-365, 2006.
- RUGINĂ, Cosmin et al. Gestational obesity and subclinical inflammation: The pathway from simple assessment to complex outcome (STROBE-compliant article). **Medicine**, v. 100, n. 20, 2021.
- RUTTER, Harry. The complex systems challenge of obesity. **Clinical chemistry**, v. 64, n. 1, p. 44-46, 2018.

SABEN, Jessica L. et al. Human milk oligosaccharide concentrations and infant intakes are associated with maternal overweight and obesity and predict infant growth. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 446, 2021.

SAINI, Neetu et al. Notch1 modulation of cellular calcium regulates mitochondrial metabolism and anti-apoptotic activity in T-regulatory cells. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2022.

SALUSTIANO, Eugênia Maria Assunção et al. Maternal serum hormonal factors in the pathogenesis of preeclampsia. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 68, n. 2, p. 141-150, 2013.

SANKAR, M. J. et al. Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: a systematic review and meta-analysis. **Acta paediatrica** (Oslo, Norway: 1992), 104(467), 3–13, 2015.

SANTOS, Caroliny Fernandes de Melo Santos et al. Influência do estado nutricional materno e concentração de precursores de oligossacarídeos não digeríveis no colostro. 2022.

SAVINO, F. et al. Advances on human milk hormones and protection against obesity. **Cellular and Molecular Biology**, v. 59, n. 1, p. 89-98, 2013.

SAVINO, F. et al. Evaluation of leptin in breast milk, lactating mothers and their infants. **European journal of clinical nutrition**, v. 64, n. 9, p. 972-977, 2010.

SCHENKER, S. et al. Antioxidant transport by the human placenta. **Clinical Nutrition**, v. 17, n. 4, p. 159-167, 1998.

SCHERER, Philipp E. et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 45, p. 26746-26749, 1995.

SCHWARZ, Eleanor Bimla et al. Lactation and maternal risk of type 2 diabetes: a population-based study. **The American journal of medicine**, v. 123, n. 9, p. 863. e1-863. e6, 2010.

SILVA JUNIOR, José Sinesio da. **Os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a síntese de melatonina pineal em ratos**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SILVA, Carolina Solon da. A ação do TNF-alfa na glândula pineal de roedores está envolvida na redução da produção de melatonina na obesidade. 2016. 92 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmacologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

SILVA, J. A. Estado Antropométrico Materno e Concentração de Zinco no Leite Produzido aos 6 meses da lactação. 2010. 100 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde), - Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, Salvador/BA, 2010.

SILVA-NUNES, Jose et al. Anthropometric determinants of adiponectin levels in obese and non obese premenopausal women. In: **Endocrine Abstracts**. Bioscientifica, 2009.

SIPSMA, Heather L. et al. Effect of breastfeeding on postpartum depressive symptoms among adolescent and young adult mothers. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 31, n. 11, p. 1442-1447, 2018.

SMITH, Daniel J.; TAUBMAN, Martin A. Ontogeny of immunity to oral microbiota in humans. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 3, n. 1, p. 109-133, 1992.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA (SBEM). Posicionamento da SBEM sobre a melatonina. 2015.

SOUZA, Ana Carolina Menezes de. Obesidade. 2022.

SPRENGER, Norbert; BINIA, Aristeia; AUSTIN, Sean. Human milk oligosaccharides: factors affecting their composition and their physiological significance. In: **Human Milk: Composition, Clinical Benefits and Future Opportunities**. Karger Publishers, 2019. p. 43-56.

STADLER, Julia T. et al. Obesity Affects Maternal and Neonatal HDL Metabolism and Function. **Antioxidants**, v. 12, n. 1, p. 199, 2023.

STEPHENSON, Judith et al. Before the beginning: nutrition and lifestyle in the preconception period and its importance for future health. **The Lancet**, v. 391, n. 10132, p. 1830-1841, 2018.

STUMVOLL, Michael et al. Association of the TG polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 51, n. 1, p. 37-41, 2002.

ŠVEC, P. et al. Do regulatory T cells contribute to Th1 skewness in obesity?. **Experimental and clinical endocrinology & diabetes**, v. 115, n. 07, p. 439-443, 2007.

TAN, Dun-Xian et al. Ebola virus disease: potential use of melatonin as a treatment. **Journal of pineal research**, v. 57, n. 4, p. 381-384, 2014.

THRUM, S. Obesity and autoimmunity: Adipose tissue as an immune organ?. **Zeitschrift fur Rheumatologie**, v. 76, n. 4, p. 348-350, 2017.

TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, Helena; KVERKA, Miloslav; HRDÝ, Jiří. Immunomodulatory components of human colostrum and milk. **Milk, Mucosal Immunity and the Microbiome: Impact on the Neonate**, v. 94, p. 38-47, 2020.

TORELLY, Ana Luiza. Leptina e Grelina: ações hormonais e sua relação com o comportamento alimentar em pessoas obesas. 2021.

TOSCANO, Marco et al. Impact of delivery mode on the colostrum microbiota composition. **BMC microbiology**, v. 17, n. 1, p. 1-8, 2017.

TRAYHURN, Paul. Adipocyte biology. **Clinical Obesity in Adults and Children**, p. 103-114, 2009.

TRELLAKIS, Sokratis et al. Low adiponectin, high levels of apoptosis and increased peripheral blood neutrophil activity in healthy obese subjects. **Obesity facts**, v. 5, n. 3, p. 305-318, 2012.

TRIANANTIS, Vassilis; BODE, Lars; VAN NEERVEN, RJ Joost. Immunological effects of human milk oligosaccharides. **Frontiers in pediatrics**, v. 6, p. 190, 2018.

TSUDA, Hiroko; DICKEY, W. Daryl; GOLDMAN, Armond S. Separation of human colostrum macrophages and neutrophils on gelatin and collagen-serum substrata. **Cell structure and function**, v. 8, n. 4, p. 367-371, 1983.

TURCKIN, Rivka et al. Maternal obesity and breastfeeding intention, initiation, intensity and duration: a systematic review. **Maternal & child nutrition**, v. 10, n. 2, p. 166-183, 2014.

UYSAL, F. K. et al. Breast milk leptin: its relationship to maternal and infant adiposity. **Clinical nutrition**, v. 21, n. 2, p. 157-160, 2002.

VAINER, Alessandra Meyer; ROCHA, Victória Silvino; JUVENALE, Michelangelo. Melatonina e sistema imune: uma relação com duas vias regulatórias. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 1, p. 2906-2929, 2021.

VALSAMAKIS, G. et al. The effects of adipose tissue and adipocytokines in human pregnancy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1205, n. 1, p. 76-81, 2010.

VAN DER HELM-VAN MIL, Annette HM et al. No influence of melatonin on cerebral blood flow in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 12, p. 5989-5994, 2003.

VAN DER WEERD, K. et al. 534 Kiewiet RM, van Aken MO, van Huisstede A, van Dongen JJ, van der Lelij AJ, Staal FJ, and van 535 Hagen PM. **Morbidly obese human subjects have increased peripheral blood CD4+ T cells with skewing**, v. 536, p. 401-408.

VELLA, Laura A.; HERATI, Ramin S.; WHERRY, E. John. CD4+ T cell differentiation in chronic viral infections: the Tfh perspective. **Trends in molecular medicine**, v. 23, n. 12, p. 1072-1087, 2017.

VERTERAMO, Rosita et al. The Role of Melatonin in Pregnancy and the Health Benefits for the Newborn. **Biomedicine**, v. 10, n. 12, p. 3252, 2022.

VON DER OHE G. Benefits of Breastfeeding. **Deutsches Arzteblatt international**, 115(26), 453, 2018.

VON KRIES, R. et al. Does Breast-Feeding Protect Against Childhood Obesity?. **Short and long term effects of breast feeding on child health**, p. 29-39, 2002.

VUONG, Jennifer et al. Reference intervals of complete blood count constituents are highly correlated to waist circumference: should obese patients have their own “normal values?”. **American journal of hematology**, v. 89, n. 7, p. 671-677, 2014.

WAN, Chok P.; SIGH, Robert V.; LAU, Benjamin HS. A simple fluorometric assay for the determination of cell numbers. **Journal of immunological methods**, v. 173, n. 2, p. 265-272, 1994.

WANG, Guoying; BARTELL, Tami R.; WANG, Xiaobin. Preconception and prenatal factors and metabolic risk. *Handbook of life course health development*, p. 47-59, 2018.

WANG, Lianlian; LI, Jingxi; SHI, Zhan. Association between breastfeeding and endometrial cancer risk: evidence from a systematic review and meta-analysis. **Nutrients**, v. 7, n. 7, p. 5697-5711, 2015.

WATERLAND, Robert A.; GARZA, Cutberto. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 69, n. 2, p. 179-197, 1999.

WEIR DW, Stewart J. *Imunologia Básica Aplicada*. 8 Ed. Revinter, 2002, p. 356.

WENSVEEN, Felix M. et al. The “Big Bang” in obese fat: Events initiating obesity-induced adipose tissue inflammation. **European journal of immunology**, v. 45, n. 9, p. 2446-2456, 2015.

WEYER, Christian et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 5, p. 1930-1935, 2001.

WHO. *Global strategy for infant and young child feeding*. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2003.

WINER, Shawn et al. Obesity predisposes to Th17 bias. **European journal of immunology**, v. 39, n. 9, p. 2629-2635, 2009.

WITT-ENDERBY, Paula A. et al. Melatonin receptors and their regulation: biochemical and structural mechanisms. **Life sciences**, v. 72, n. 20, p. 2183-2198, 2003.

WOLF, Anna M. et al. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 323, n. 2, p. 630-635, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION 2022. WHO European Regional Obesity Report 2022. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. ISBN: 978-92-890-5773-8

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Facts in pictures. Detail. Obesity. WHO 2021. Disponível em: < <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/6-facts-on-obesity>>. Acesso em: 23, janeiro de 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Health topics. Obesity. WHO 2023. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1>. Acesso em: 23, janeiro de 2023.

YI, Dae Yong; KIM, Su Yeong. Human breast milk composition and function in human health: from nutritional components to microbiome and microRNAs. **Nutrients**, v. 13, n. 9, p. 3094, 2021.

YOO, Yeong-Min et al. Pharmacological advantages of melatonin in immunosenescence by improving activity of T lymphocytes. **Journal of biomedical research**, v. 30, n. 4, p. 314, 2016.

ZANGIROLAMI-RAIMUNDO, Juliana; ECHEIMBERG, J. de O.; LEONE, Claudio. Tópicos de metodologia de pesquisa: Estudos de corte transversal. **J Hum Growth Dev**, v. 28, n. 3, p. 356-60, 2018.

ZHANG, Hong-Mei; ZHANG, Yiqiang. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. **Journal of pineal research**, v. 57, n. 2, p. 131-146, 2014.

ZHANG, Yiyi et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425-432, 1994.

ZHOU, Ying et al. Association between breastfeeding and breast cancer risk: evidence from a meta-analysis. **Breastfeeding medicine**, v. 10, n. 3, p. 175-182, 2015.

ANEXOS

ANEXO 1. Comitê de Ética Aprovado

USP - FACULDADE DE SAÚDE
PÚBLICA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FSP/USP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ATIVIDADE FUNCIONAL DE CÉLULAS MONONUCLEARES DO COLOSTRO DE MÃES COM SOBREPESO E OBESIDADE E O PAPEL DOS AGENTES IMUNOMODULADORES: ADIPONECTINA, LEPTINA E MELATONINA.

Pesquisador: TASSIANE CRISTINA MORAIS

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 46643515.0.0000.5421

Instituição Proponente: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - FSP/USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa: Envio de relatório parcial, conforme solicitado na emenda deste projeto pelo Comitê

Data do Envio: 19/08/2017

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.358.133

Apresentação da Notificação:

Trata-se de relatório parcial de projeto de doutorado com adaptações do cronograma inicial.

Objetivo da Notificação:

Apresentar o andamento do estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Foi incluída mais uma medida de antropométrica no estudo, que não oferece nenhum risco adicional às participantes.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Último parecer de relatório parcial enviado há 6 meses. Relatório bem informativo em que se mostra que o estudo está sendo conduzido sem problemas, datado de junho.

Endereço: Av. Doutor Arnaldo, 715

Bairro: Cerqueira César

CEP: 01.246-904

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3061-7779

Fax: (11)3061-7779

E-mail: coep@fsp.usp.br

ANEXO 2. Artigo Publicado



Article

Leptin, Adiponectin, and Melatonin Modulate Colostrum Lymphocytes in Mothers with Obesity

Gabrielle do Amaral Virginio Pereira ¹, Tassiane Cristina Moraes ^{2,3}, Eduardo Luzia França ⁴, Blanca Elena Guerrero Daboin ^{5,6}, Italla Maria Pinheiro Bezerra ², Rafael Souza Pessoa ⁴, Ocilma Barros de Quental ⁶, Adenilda Cristina Honório-França ^{4,*} and Luiz Carlos de Abreu ^{1,3,6}

¹ Medical Clinic Department, Faculty of Medicine, Universidade de São Paulo, São Paulo 01246-903, Brazil

² Postgraduate Program in Public Policies and Local Development, Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória EMESCAM, Vitória 29045-402, Brazil

³ Departamento de Educação Integrada em Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória 29040-090, Brazil

⁴ Institute of Biological and Health Science, Federal University of Mato Grosso, Barra do Garças 78605-091, Brazil

⁵ Master of Public Health Program, School of Medicine, University of Limerick, V94 T9PX Limerick, Ireland

⁶ Laboratório de Delimitação em Estudos e Escrita Científica, Centro Universitário FMABC, Santo André 09060-870, Brazil

* Correspondence: adenilda.franca@ufmt.br



Citation: Pereira, G.d.A.V.; Moraes, T.C.; França, E.L.; Daboin, B.E.G.; Bezerra, I.M.P.; Pessoa, R.S.; de Quental, O.B.; Honório-França, A.C.; Abreu, L.C.d. Leptin, Adiponectin, and Melatonin Modulate Colostrum Lymphocytes in Mothers with Obesity. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 2662. <https://doi.org/10.3390/ijms24032662>

Academic Editor: Osoto Guallio

Received: 31 October 2022

Revised: 20 December 2022

Accepted: 27 January 2023

Published: 31 January 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Pregnancy complicated by obesity is associated with adverse triggered gestational and neonatal outcomes, with reductions in the subtypes of CD4+ T-lymphocytes representing the modulators of inflammation. It needs to be better established how maternal nutritional statuses impact the neuroendocrine-immune system's action and affect the immunological mechanisms of the maternal-infant relationship via breastfeeding. This study examined the effects of maternal obesity on human colostrum lymphocytes and the intracellular mechanisms of lymphocyte modulation in the presence of leptin, adiponectin, and melatonin via cell proliferation; the release of intracellular calcium; and apoptosis induction. This cross-sectional study analyzed colostrum samples from 52 puerperal splits and divided them into overweight and eutrophic groups. Colostrum lymphocytes underwent immunophenotyping and cell proliferation by flow cytometry and intracellular calcium release and apoptosis assays by immunofluorescence in the presence or absence of hormones. Significant differences were considered when $p < 0.05$ by the chi-square or *t*-test. Maternal obesity reduced the population of T-lymphocytes and TCD4+ in human colostrum and proliferative activities ($p < 0.05$). These hormones restore lymphocyte proliferation to a level similar to the eutrophic group ($p < 0.05$). Leptin, adiponectin, melatonin hormones, and biological actions consolidated in the scientific literature also represent maternal and infant protection mechanisms via colostrum and the modulation of human colostrum lymphocytes.

Keywords: adiponectin; breast milk; colostrum; hormones; leptin; lymphocytes; melatonin; obesity

1. Introduction

Obesity is highly prevalent in the global population. The aftermath of obesity during pregnancy is associated with neonatal complications that mainly arise from obesity-induced inflammation and changes in immune response mechanisms [1,2].

Obesity promotes changes in the profiles of cytokines and complement system proteins and immunoglobulins [3,4], hormones that regulate energy metabolism [5,6], and the functional activity of mononuclear colostrum cells by increasing intracellular calcium, promoting a higher basal rate of apoptosis [6,7]. In addition, it triggers changes in inflammatory mediators associated with adiposity [7,8].

In obese individuals, changes in the leukocyte population can be observed, emphasizing differences in the percentage of lymphocyte subtypes [9,10]. In addition, reductions in