

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM PSIQUIATRIA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
CONCENTRAÇÕES DO FATOR NEUROTROFICO DERIVADO DO
CÉREBRO (BDNF) EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES
SAUDÁVEIS E A DURAÇÃO DO ALEITAMENTO MATERNO

JULIANA SILVEIRA ANDRADE

Orientadora: Prof^ª. Dra. Adriane Ribeiro Rosa

Co-orientadora: Prof^ª. Dra Cristina Toscani Leal Dornelles

Porto Alegre, dezembro de 2012.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM PSIQUIATRIA**



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CONCENTRAÇÕES DO FATOR NEUROTROFICO DERIVADO DO

CÉREBRO (BDNF) EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

SAUDÁVEIS E A DURAÇÃO DO ALEITAMENTO MATERNO

Juliana Silveira Andrade

Dissertação apresentada a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, como requisito parcial para a obtenção do título e Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Adriane Ribeiro Rosa

Porto Alegre, Brasil, 2012.

CIP - Catalogação na Publicação

Andrade, Juliana Silveira
CONCENTRAÇÕES DO FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO
CÉREBRO (BDNF) EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES SAUDÁVEIS E
A DURAÇÃO DO ALEITAMENTO MATERNO / Juliana Silveira
Andrade. -- 2012.
79 f.

Orientadora: Adriane R Rosa.

Coorientadora: Cristina Toscani Leal Dornelles.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria,
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Aleitamento materno. 2. BDNF. 3. Criança e
adolescente. 4. Desenvolvimento. 5. Desmame precoce.
I. Rosa, Adriane R, orient. II. Dornelles, Cristina
Toscani Leal, coorient. III. Título.

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens,
e sim em ter novos olhos.”
(Marcel Proust)

A meus pais, Paulo e Sonia, pela compreensão e pelo suporte irrestrito às minhas decisões pessoais e profissionais. A minha irmã Bruna pela ajuda incondicional. Ao meu namorado Marcelo por sempre me entender e me apoiar. Sem a ajuda e o apoio de vocês eu não teria conseguido.

Eternamente, obrigada

AGRADECIMENTOS

À profª Clarissa Gama pela oportunidade de realizar este trabalho, pela orientação, ensinamento e agradável convívio.

À minha orientadora Adriane Rosa que conheci este ano e já tenho grande admiração, pela dedicação, paciência e constante disposição em me orientar.

À minha co-orientadora Cristina Dornelles, pelo convite, incentivo e exemplo.

À Inês Wilasco que me cedeu o banco de dados da sua pesquisa e sempre me ajudou e apoiou.

À profª Keila Ceresér pela acolhida, generosidade e disposição.

A todos os colegas da bancada do Laboratório de Psiquiatria Molecular pela receptividade, parceria e ajuda que me deram principalmente o Gabriel Fries, o André Contri Paz e a Laura Stertz que realizaram a análise do BDNF.

À Dra. Marta Osório pela colaboração na elaboração do projeto de pesquisa.

Aos colegas, pessoas muito especiais que me fizeram crescer pessoal e profissionalmente.

Aos professores e funcionários da UFRGS, pelo acolhimento e ensinamentos que vou levar para a vida.

A minha família, pelo incentivo e preocupação.

As instituições que me possibilitaram desenvolver este trabalho, a UFRGS e o HCPA.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

APRESENTAÇÃO

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	18
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1 ALEITAMENTO MATERNO	19
2.2 PROPRIEDADES DO LEITE MATERNO.....	23
2.3 AMAMENTAÇÃO E SOBREPESO/OBESIDADE.....	27
2.3.1 Antropometria	29
2.4 AMAMENTAÇÃO E COGNIÇÃO	31
2.5 DESMAME PRECOCE.....	33
2.6 FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF)	35
2.7 BDNF E ALEITAMENTO MATERNO	39
3 REFERÊNCIAS.....	41
4 OBJETIVOS.....	51
4.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....	51
4.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO.....	51
5 METODOLOGIA	52

5.1 DELINEAMENTO	52
5.2 POPULAÇÃO.....	52
5.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA	54
5.3.1 Critérios de Inclusão.....	54
5.3.2 Critérios de Exclusão	54
5.3.3 Instrumentos de pesquisa.....	54
5.4 ANÁLISE LABORATORIAL	56
5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
6 ASPECTOS ÉTICOS	58
7 LOGÍSTICA.....	59
8 CARTA AO EDITOR.....	60
8.1 VERSÃO EM INGLÊS	60
8.2 VERSÃO EM PORTUGUÊS.....	63
9 RESULTADOS	66
10 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
11 ANEXOS.....	73
ANEXO A. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	74
ANEXO B. QUESTIONÁRIO	76
ANEXO C. ROTEIRO TELEFONEMA	78
ANEXO D. CARTA CHAMAMENTO	79

ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido Araquidônico
AME	Aleitamento materno exclusivo
BDNF	<i>Brain-derived neurotrophic factor</i> (Fator neurotrófico derivado do cérebro)
BNF	Fundação Britânica para Nutrição
DEP	Desnutrição energética proteica
DHA	Ácido Docosahexaenóico
DP	Desvio padrão
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ESPGAN	Sociedade Europeia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GDNF	Fator Neurotrófico Derivado da Glia
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
IL	Interleucina
IHAC	Iniciativa Hospital Amigo da Criança
IMC	Índice de massa corporal
NGF	Fator de crescimento neural
NT-3	Neurotrofina 3
NT -4	Neurotrofina 4
OMS	Organização Mundial da Saúde

PNIAM	Programa nacional de incentivo ao aleitamento materno
PUFAS	<i>Polyunsaturated Fatty Acids</i>
QI	Quociente de inteligência
SNC	Sistema nervoso central
SPSS	<i>Statistical Product and Service Solutions</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF-a	Fator de necrose tumoral
TrkB	Tirosina Cinase B
WASI	Escala abreviada de inteligência Wechsler para crianças
ω-3	Ômega-3
ω-6	Ômega-6

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Receptor tirosina quinase e as neurotrofinas	38
Figura 2	Fluxograma de triagem	53
Figura 3	Duração do aleitamento materno e valores de Z_escore	68
Figura 4	Box-Plot dos níveis séricos de BDNF e a duração do aleitamento materno nos dois momentos de coleta.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização da amostra.....	67
Tabela 2	Frequência da duração do aleitamento materno da amostra.....	67

APRESENTAÇÃO

Este trabalho consiste na dissertação de mestrado intitulada “**Concentrações do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em crianças e adolescentes saudáveis e a duração do aleitamento materno**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 17 de dezembro de 2012. O trabalho é apresentado em três partes, na ordem que segue:

1. Introdução, fundamentação teórica, objetivos e metodologia
2. Carta ao editor da Revista Brasileira de Psiquiatria
3. Resultados, conclusões e considerações finais.

Documentos de apoio estão apresentados nos anexos.

RESUMO

Introdução

O aleitamento materno possui reconhecidos benefícios nutricionais, imunológicos, cognitivos e socioeconômicos ao lactente. A amamentação é preconizada pela OMS por pelo menos seis meses de vida. O leite materno apresenta propriedades específicas destacando-se os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, componente essencial das membranas neuronais. O crescimento cerebral acontece durante o terceiro trimestre de gestação até os dois primeiros anos de vida, coincidindo com o período de lactação. Portanto, o leite materno tem sido considerado o alimento padrão para o desenvolvimento cerebral, tornando o desmame precoce um fator de risco para o desenvolvimento cognitivo. O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é uma neurotrofina que está presente no tecido cerebral e periférico. A redução dos níveis de BDNF deixa o cérebro vulnerável à ação dos radicais livres, provocando maior toxicidade, podendo levar à morte celular.

Objetivo

Avaliar se existem diferenças nas concentrações séricas de BDNF em crianças e adolescentes saudáveis amamentadas por < 6 meses e por ≥ 6 meses. Secundariamente, avaliaremos o efeito do tempo de aleitamento materno e o índice de massa corporal (IMC).

Métodos

Trinta e sete crianças e adolescentes foram recrutadas no ambulatório de pediatria do Hospital de Clínicas e classificadas de acordo com a duração do aleitamento materno: < 6 meses e ≥ 6 meses. A duração do aleitamento materno menor de seis meses é definida pela OMS como desmame precoce. Os participantes foram submetidos a uma anamnese, verificação do peso e estatura, e coleta de sangue para análise laboratorial do BDNF. Foram realizadas duas consultas: a coleta basal (T0) e a coleta de seguimento ao longo dos quatro anos (T1). Os níveis séricos de BDNF foram dosados por ELISA-sanduíche. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Resultados

Nenhuma diferença foi observada entre ambos os grupos quanto ao sexo. Os níveis séricos de BDNF em T0 foram significativamente menores no grupo amamentado por ≥ 6

meses ($p=0,044$), sendo que este não teve diferença entre os grupos em T1 ($p=0,770$). O IMC em T1 foi maior no grupo amamentado por < 6 meses quando comparado com os amamentados por ≥ 6 meses ($p=0,007$).

Conclusão

Os níveis de BDNF não diferiram entre crianças amamentadas por < 6 meses ou aquelas amamentadas por ≥ 6 meses, sugerindo que o tempo de aleitamento materno não interferiu nas concentrações de BDNF medidas em longo prazo. Provavelmente, existam outros mecanismos neuroquímicos envolvidos nos benefícios oferecidos pela amamentação. Assim como demonstrado na literatura, nós encontramos que o desmame precoce estava associado com maiores valores de IMC, e consequentemente sobrepeso e/ou obesidade em longo prazo.

ABSTRACT

Introduction

The breastfeeding has recognized nutritional, immune, cognitive and socio-economic benefits to the infant. Breastfeeding is recommended by WHO for at least six months. Breast milk has specific properties standing out the polyunsaturated fatty acids with long chain essential component of neuronal membranes. The brain growth occurs during the third trimester of pregnancy to the first two years of life, coinciding with the period of lactation. Therefore, breast milk has been considered the standard food for brain development, making early weaning a risk factor for cognitive development. The brain-derived neurotrophic factor (BDNF), is one neurotrophin that is present in brain and peripheral tissues. The reduced levels of BDNF makes the brain vulnerable to the action of free radicals, causing greater toxicity, which can lead to cell death.

Objective

Assess whether there are differences in serum BDNF in healthy children and adolescents breastfed for < 6 months and ≥ 6 months. Secondly, we will evaluate the effect of breastfeeding duration and body mass index (BMI).

Methods

Thirty-seven children and adolescents were recruited in a pediatric outpatient unit of Hospital de Clínicas and classified according to the duration of breastfeeding: < 6 months and ≥ 6 months. The duration of breastfeeding less than six months is defined by WHO as early weaning. Participants underwent an interview, verification of weight and height, and blood samples for laboratory analysis of BDNF. There were two queries: gathering baseline (T0) and the collection of follow-up over four years (T1). Serum levels of BDNF were measured by sandwich ELISA. P values < 0.05 were considered significant.

Results

No difference was observed between both groups regarding gender and age. Serum levels of BDNF in T0 were significantly lower in group breastfed for ≥ 6 months ($p = 0.044$), and this did not differ between groups at T1 ($p = 0.770$). The BMI was higher in T1 group breastfed for < 6 months compared with those breastfed for ≥ 6 months ($p = 0.007$).

Conclusion

BDNF levels did not differ between children breastfed for < 6 months and those breastfed for ≥ 6 months, suggesting that the duration of breastfeeding did not interfere the concentrations of BDNF in long-term measures. Probably, there are other neurochemical mechanisms involved in the benefits of breastfeeding. Just as shown in the literature, we found that early weaning was associated with higher BMI, and consequently overweight and/or obesity in the long term.

1. INTRODUÇÃO

Os benefícios da amamentação, tanto nutricionais, imunológicos, cognitivos como sócio-econômicos são bem reconhecidos (Chaves *et al.*, 2007). É preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Associação Dietética Americana que as crianças devem ser exclusivamente amamentadas até os seis meses de idade. O leite materno contém uma série de citocinas que ajudam no desenvolvimento e na maturação das células imunes nas crianças (Garofalo, 2010), além da presença de altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, nutriente fundamental para o bom desenvolvimento neurológico do lactente (Farquharson *et al.*, 1992; Lanting *et al.*, 1994).

O pico de crescimento do cérebro humano começa durante o terceiro trimestre de gestação e continua nos dois primeiros anos de vida, o que coincide com o período de lactação (Viberg *et al.*, 2008). Com isso, os estudos vem salientando a importância do leite materno para o desenvolvimento cerebral (Uauy e Andraca, 1995; Dee *et al.*, 2007), descrevendo uma associação positiva entre aleitamento materno e um melhor desenvolvimento na infância, adolescência e vida adulta (Clark *et al.*, 2006; Morley *et al.*, 2004).

O *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) é uma importante proteína membro da família das neurotrofinas e está presente de forma abundante no tecido cerebral e periférico (Duffau, 2006; Karege *et al.*, 2002). O BDNF atua no crescimento celular, na conectividade sináptica, na diferenciação e reparo neuronal (Tapia-Arancibia *et al.*, 2004). A secreção de BDNF é aumentada por estimulação intelectual e diminuída em situações de estresse (Russo-Neustadt *et al.*, 2000; Gomez-Pinilla *et al.*, 2008).

Com base no exposto, nossa hipótese é que o BDNF seja um dos possíveis mecanismos de neuroproteção envolvidos nos benefícios do aleitamento materno. O objetivo principal deste trabalho foi avaliar as concentrações séricas de BDNF entre crianças saudáveis conforme a duração do aleitamento materno.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ALEITAMENTO MATERNO

O aleitamento materno mantém a ligação imunológica materno-fetal após o nascimento, favorecendo a transmissão de imunocompetência da mãe para o bebê, e é considerado um fator importante para a defesa do sistema imune neonatal durante um período crucial para o desenvolvimento imunológico (Chirico *et al.*, 2008). O aleitamento materno apresenta claros benefícios e efeito protetor de curto prazo para a saúde infantil, principalmente protegendo contra a morbidade e mortalidade por doenças infecciosas (WHO, 2000; Bittencourt *et al.*, 2005).

Os efeitos benéficos da amamentação se estendem a todo o ciclo vital, reduzindo o risco e a gravidade de ocorrência de doenças crônicas que se manifestam tardiamente, tais como: diabetes mellitus tipo 2, problemas cardiovasculares e suas complicações, sobrepeso / obesidade e osteoartropatias (Fewtrell *et al.*, 2007; Marques *et al.*, 2004). Além disso, o aleitamento materno previne contra diarreias, diminui a incidência de alergias e amigdalites, e é importante no desenvolvimento da mandíbula, prevenindo disfunções crânio mandibulares, deglutição atípica e dificuldades na fonação (Pérez *et al.*, 1998; Fuchs e Victora, 2002; Neiva *et al.*, 2003). Apesar de haver algumas divergências na literatura sobre as consequências em longo prazo do aleitamento materno, estudos relatam que indivíduos amamentados apresentam maior nível de rendimento escolar e desempenho em testes de inteligência, além de apresentarem pressão arterial regular, níveis reduzidos de colesterol total e menor prevalência de sobrepeso e obesidade (Horta *et al.*, 2007; Joseph e Kramer, 1996).

O leite humano é muito mais do que um conjunto de nutrientes, ele é um alimento vivo e dinâmico por conter substâncias com atividades protetoras e imunomoduladoras, que atendem perfeitamente às necessidades do lactente (Chaves *et al.*, 2007). A maior parte dos órgãos da criança se forma e se desenvolve durante a concepção até os três anos de idade, período que se delinea o seu potencial físico e intelectual. No entanto, como o desenvolvimento humano ocorre com muita rapidez nos primeiros 18 meses de vida, o “status” nutricional das gestantes, nutrizes e lactentes durante este período é fundamental

para o desenvolvimento físico, mental e social da criança em longo prazo. Portanto o tempo de aleitamento materno é de crucial importância, já que é este o alimento que integra nutrição, saúde e cuidado após a gestação (UNICEF, 1998).

Dentre os benefícios nutricionais do aleitamento materno para as crianças, sabe-se que o mesmo possui nutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento desta fase da vida, sendo mais facilmente digerido e protegendo contra a desnutrição energética-proteica (DEP). Sob a perspectiva psicológica pode-se ressaltar o aumento do laço afetivo mãe-filho, o estímulo do olhar e do odor facilitando o processo de identificação, o incremento do desenvolvimento psicomotor, importantes fatores na formação da individualidade e do desenvolvimento de maiores índices de quociente de inteligência (QI) (Lucas *et al.*, 1992).

A partir da década de 70 iniciou-se um verdadeiro movimento mundial para aumento da conscientização dos benefícios da amamentação. A compreensão do comportamento favorável das mulheres brasileiras em relação à amamentação passa pela análise do contexto sócio-político e cultural do país. Em especial, destaca-se a criação do Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno (PNIAM) em 1981, onde políticas institucionais consistentes de promoção e apoio à amamentação foram implantadas no país (Rea, 2003). O Brasil também aderiu, a políticas internacionais relacionadas com a pró-amamentação, assinando a Declaração de Innocenti em 1990, incorporando a Iniciativa Hospital Amigo da Criança (IHAC) da OMS/UNICEF (OMS, 1989), às atividades do PNIAM, e promovendo anualmente, a Semana Mundial da Amamentação (Venâncio e Monteiro 1998).

As dúvidas e controvérsias sobre a duração apropriada da amamentação exclusiva persistiram até o ano de 2001, quando a OMS recomendou o aleitamento materno exclusivo (AME) até os seis meses de vida, sendo a amamentação continuada até dois anos ou mais. A introdução de alimentos complementares em torno dos seis meses de idade também foi uma importante mudança nas recomendações nutricionais para a saúde coletiva global (Monte e Giugliani, 2004).

A Organização Mundial de Saúde adota as seguintes nomenclaturas para as categorias do aleitamento materno: (OMS, 1991).

- Aleitamento materno exclusivo, quando a criança recebe somente leite

materno, diretamente da mama ou extraído, e nenhum outro líquido ou sólido, com exceção de gotas ou xaropes de vitaminas, minerais e/ou medicamentos.

- Aleitamento materno predominante, quando o lactente recebe, além do leite materno, água ou bebidas à base de água, como sucos de frutas e chás.

- Aleitamento materno, quando a criança recebe leite materno, diretamente do seio ou extraído, independente de estar recebendo qualquer alimento ou líquido, incluindo leite não-humano.

A questão do aleitamento materno é considerada uma prioridade de Saúde Pública, pois seus benefícios já estão bem comprovados, além de estabelecer um hábito alimentar nos primeiros anos de vida, o que repercuti nas práticas alimentares, no estado de saúde e nutrição ao longo da vida (Vitolo *et al.*, 2010; Fall *et al.*, 2011).

Embora haja controvérsias em relação à associação entre a exposição precoce ao leite de vaca e a prevalência de algumas doenças como, por exemplo, o diabetes mellitus tipo 1 (Gerstein, 1994; Couper *et al.*, 1999; Medeiros, *et al.*, 2003), a Academia Americana de Pediatria tem recomendado o aleitamento materno como um fator de proteção contra o aparecimento de doenças crônico-degenerativas tais como a doença de Crohn, linfoma, retocolite ulcerativa e a diabetes mellitus insulino-dependente (Rea, 1998; Lawrence, 2002; Coutinho, 2003).

Os dados mais recentes sobre a ocorrência do aleitamento materno no Brasil são da II Pesquisa de Prevalência de Aleitamento Materno nas Capitais Brasileiras e Distrito Federal, no qual apresentaram dados referentes ao AME, com um aumento da prevalência em menores de quatro meses, de 35,5% para 51,2% de 1999 a 2008. A comparação do percentual de crianças entre 9 e 12 meses amamentadas, entre 1999 e 2008, também mostrou um importante aumento, passando de 42,4%, para 58,7%. Destaca-se nesta pesquisa uma introdução precoce de líquidos e alimentos, pois foi observada uma mediana de AME de 54,1 dias (1,8 mês) e de aleitamento materno de 341,6 dias (11,2 meses) para as crianças residentes nas capitais brasileiras e no Distrito Federal.

De 1990 a 2007 a taxa de mortalidade infantil no Brasil apresentou uma tendência de queda, passando de 47,1/1.000 nascidos vivos em 1990 para 19,3/1.000 em 2007, com uma redução média de 59,0%. O declínio da mortalidade infantil no Brasil é resultado de um conjunto de fatores, em especial o aumento das taxas de amamentação, visto que, em

todo o mundo o aleitamento materno reduz em até 13% as mortes de crianças menores de cinco anos por causas evitáveis (Ministério da Saúde, 2012).

2.2 PROPRIEDADES DO ALEITAMENTO MATERNO

Uma série de fatores imunológicos, hormonais, tróficos, enzimáticos e bioativos estão presentes no leite materno e devem ser responsáveis pelos benefícios oferecidos pelo leite em curto e longo prazo (Hamosh, 2001). Sabe-se que a amamentação fornece nutrientes necessários para o rápido desenvolvimento do cérebro imaturo, melhorando assim a função neurológica desses indivíduos (Farquharson *et al.*, 1992; Lanting *et al.*, 1994).

Um dos nutrientes que parece ter um papel chave no desenvolvimento neurológico são os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS). Esses ácidos podem ser classificados quanto ao tamanho da molécula, em ácidos graxos de cadeia curta, média ou longa. A presença de dupla ligação o caracteriza como insaturado e a ausência desta, o classifica como saturado. Os insaturados podem ainda ser classificados como monoinsaturados, com apenas uma dupla ligação ou como poliinsaturados, quando existe mais de uma dupla ligação (Nobre *et al.*, 2010).

Os ácidos graxos da série ômega 3 ($\omega-3$) e ômega 6 ($\omega-6$) são exemplos de PUFAS que exercem uma importante ação no desenvolvimento da área cortical do cérebro e na formação das sinapses. Os lipídios constituem 60% do tecido cerebral humano, sendo o ácido docosaexaenóico (DHA) e ácido araquidônico (AA) os principais componentes lipídicos (Neuringer e Connor, 1986; Farguharson *et al.*, 1995). O DHA e o AA são formados no fígado a partir da metabolização dos $\omega-3$ e $\omega-6$ (Koo, 2003). Tem sido sugerido que o DHA afeta diretamente a formação das sinapses, enquanto que o AA atua de forma indireta, já que ele afeta os eventos de transdução de sinais que regulam a atividade de crescimento e formação de sinapses (Nobre *et al.*, 2010). Esses ácidos graxos são acumulados durante toda a infância e participam do metabolismo do sistema nervoso central (SNC), da formação de mielina e maturação da visão, e do desenvolvimento neuropsicomotor (Koo, 2003; Uauy e Peirano, 1999; Innis *et al.*, 2001).

O DHA tem um papel protetor através de seus efeitos sobre a inflamação, oxidação no estresse e liberação de citocinas. Em contrapartida, a diminuição de DHA no cérebro em desenvolvimento, está associada a prejuízos na neurogênese, no metabolismo dos neurotransmissores, aprendizagem e memória (Daucey, 2009).

Embora a concentração de ácido linolênico (da família do $\omega-3$) e de outras gorduras poliinsaturadas sejam influenciadas tanto pela dieta como pela composição dos lipídios corporais da mãe, o leite materno é rico em PUFAS, importantes para o desenvolvimento e mielinização cerebral (Fonseca, 1999). Na gordura do leite humano a composição de ácido graxo é relativamente estável, cerca de 42% de ácidos graxos são saturados e 57% dos ácidos graxos são insaturados (Akre, 1994).

A utilização de PUFAS é recomendada por vários Organismos em todo o mundo, como por exemplo: a *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA, assim como a Fundação Britânica para a Nutrição (BNF), a Sociedade Europeia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica (ESPGAN), a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e a Fundação para a Saúde Infantil.

Como o feto não tem a capacidade de sintetizar os PUFAS através de seus precursores $\omega-3$ e $\omega-6$, a sua necessidade é suprida unicamente pela placenta que transfere DHA e AA especialmente no último trimestre de gestação (Corria, 2001). Portanto, o aporte dos PUFAS deve ser garantido pelas reservas da mãe. Algumas situações como a nutrição inadequada, o consumo de gordura e óleos com alta proporção de $\omega-6$ e baixo aporte de $\omega-3$, gestações frequentes e múltiplas podem alterar o aporte destes ácidos graxos durante a gestação (Valenzuela e Nieto, 2003).

Após o nascimento, o lactente continua incapaz de sintetizar os PUFAS, devido à imaturidade hepática. Neste momento a placenta é substituída pelo leite materno como meio de oferta desses ácidos graxos (Gaete e Atalah, 2003). O leite materno apresenta três vezes mais AA e DHA que o leite de vaca, reforçando a importância da amamentação para atender as necessidades do lactente. Os neonatos prematuros são os que apresentam maior vulnerabilidade à deficiência de PUFAS devido a sua baixa reserva lipídica e calórica (Corria, 2001).

As crianças alimentadas com fórmulas infantis enriquecidas, comparadas com as alimentadas com leite materno têm níveis parecidos de AA e DHA em eritrócitos e no plasma. Entretanto, uma quantidade desbalanceada de $\omega-6$ e $\omega-3$ em fórmulas pode ocasionar um neurodesenvolvimento reduzido naquelas crianças em relação às alimentadas com leite materno (Koo, 2003). Estudos *post mortem* em crianças indicaram que aquelas que foram amamentadas têm maiores concentrações cerebrais de DHA que

as crianças alimentadas com fórmula (Farguharson *et al.*, 1995; Maktrides *et al.*, 1994). Além disso, Maktrides *et al.*, 1994, observou que o conteúdo de DHA do córtex cerebral de bebês aumenta significativamente com a maior duração do aleitamento materno.

O leite humano não só fornece proteção passiva, como também pode diretamente modular o desenvolvimento imunológico do lactente, através de uma série de citocinas que estão presentes no leite materno, tais como supressores de imunoglobulinas, concentrações elevadas de fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucinas (IL): IL1, IL6 e IL10 (Garofalo, 2010).

Alguns minerais presentes no leite materno, tais como o zinco, o cobre, o iodo, o ferro e o selênio também merecem atenção por terem uma ação protetora para os neurônios, impedindo a ação dos radicais livres. O zinco, por exemplo, participa da síntese de DNA e de neurotransmissores que fazem parte da formação do sistema nervoso autônomo, hipocampo e cerebelo. O cobre atua na formação de neurotransmissores e no metabolismo das células gliais e cerebelo. O iodo é um mineral que compõe os hormônios tireoidianos, substâncias que ajudam no controle do metabolismo energético. A diminuição da ingestão de iodo pode levar à redução do metabolismo cerebral com consequente lesão dos neurônios. O ferro é uma metaloenzima que participa do metabolismo de ácidos nucléicos do neurônio, ou seja, uma redução nos estoques de ferro pode levar a uma piora no desenvolvimento neurológico (Nobre *et al.*, 2010).

A colina é outro bioativo do leite e exerce importante papel para a sinalização de membranas, transporte e metabolismo de colesterol e desenvolvimento normal do cérebro (Zeisel, 2000). Fatores de crescimento, hormônios (insulina, citocinas, tiroxina, cortisol, prolactina), nucleotídeos e ácidos nucléicos, aminoácidos (taurina e cisteína) além de minerais, colesterol, caroteno e oligossacarídeos, também exercem algum papel para o desenvolvimento do cérebro do lactente (Uauy e Andraca, 1995; Koo, 2003; Vohr *et al.*, 2006).

Casabiell *et al.*, 1997 identificaram a presença da leptina no leite humano, a qual poderia desempenhar um papel regulador no metabolismo do lactente, visto que é um hormônio regulador do apetite, diminuindo as vias anabólicas e aumentando as catabólicas (Hoppin e Kaplan, 1999). Estudos têm demonstrado diferentes respostas endócrinas, no que diz respeito à liberação de hormônios pancreáticos e intestinais entre

recém-nascidos alimentados com leite materno e com fórmula infantil (Lucas *et al.*, 1980).

Por fim, o catabolismo da lactose em glicose e galactose gera nutrientes usados como fonte de energias pelo cérebro. Em suma, todos estes nutrientes parecem exercer ações específicas no cérebro e, quando em níveis baixos, podem reduzir ou atrasar o desenvolvimento neurológico (Mahan e Escott-Stump, 2005).

2.3 AMAMENTAÇÃO E SOBREPESO/OBESIDADE

Durante o crescimento somático e de compartimentos corporais (massa magra, óssea e gorda), os componentes da dieta são os principais fatores ambientais e devem influenciar o genoma humano. A maioria dos nutrientes tem efeitos indiretos sobre a expressão gênica e proteica (metilações) e, conseqüentemente, sobre o metabolismo. Esta interação ao longo da vida, em grande parte, define o estado de saúde ou de doenças de um indivíduo. Neste contexto, o leite materno é um importante nutriente e parece ter efeito protetor e dose-dependente na redução do risco de obesidade na vida adulta (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2008).

O aleitamento materno representa a experiência nutricional mais precoce do recém-nascido, dando continuidade à nutrição iniciada na vida intra-uterina. Como discutido previamente, vários fatores bioativos presentes no leite humano vão atuar sobre o crescimento, a diferenciação e a maturação funcional de órgãos específicos, afetando vários aspectos do desenvolvimento (Hamosh, 2001; Casabiel *et al.*, 1997). A composição única do leite materno poderia, portanto estar implicada no processo de "imprinting metabólico", alterando, por exemplo, o número e/ou tamanho dos adipócitos ou induzindo o fenômeno de diferenciação metabólica (Balaban e Silva, 2004).

Diversos trabalhos defendem a ideia de que o leite materno quando usado como alimento prioritário por pelo menos seis meses de vida deve prevenir contra o sobrepeso e obesidade em longo prazo (Kramer, 1981; Harder *et al.*, 2005; Simon *et al.*, 2009).

Em 1981, Kramer publicou o resultado de dois estudos de caso-controle realizados com adolescentes de 12 a 18 anos no Canadá onde ambos mostravam o efeito protetor do aleitamento materno contra a obesidade. Na mesma linha, estudos realizados na Alemanha com crianças de 9 e 10 anos ressaltam a importância da lactação duradoura contra o sobrepeso. Tanto os os comportamentos alimentares adquiridos pelo lactente quanto os efeitos metabólicos do leite materno parecem contribuir para os benefícios do mesmo contra o sobrepeso em crianças (Liese *et al.*, 2001). Ainda, Toschke *et al.*, 2002, mostraram que o tempo de aleitamento materno estava associado com uma menor prevalência de sobrepeso sugerindo algumas explicações para isto: a) o fato de que o consumo varia em cada refeição durante a amamentação b) uma menor densidade de

energia do leite humano em comparação com o leite em pó e c) melhor auto-controle do consumo alimentar em crianças amamentadas. Outros autores confirmam a associação negativa entre o aleitamento materno e a obesidade em crianças (Arenz *et al.*, 2004; Frye e Heinrich, 2003).

Uma coorte de sete anos de duração, realizada com 8.500 crianças pela OMS em 6 países (Brasil, Gana, Índia, Noruega, Omã e EUA) mostrou que aqueles exclusivamente amamentados (por pelo menos seis meses) estavam mais saudáveis e mais magros do que os bebês alimentados artificialmente (Onis e Victora, 2004). Outra coorte com crianças norueguêsas demonstrou que o aleitamento parece proteger contra o sobrepeso e a obesidade na adolescência (Kvaavik *et al.*, 2005).

A duração da amamentação é um importante fator no controle do sobrepeso e evidências demonstram uma relação entre o tempo de aleitamento a redução do risco de sobrepeso futuro (Harder *et al.*, 2005). Neste sentido, Balaban e Silva, 2004 observaram que crianças que receberam AME por menos de quatro meses tiveram uma prevalência maior de sobrepeso (22,5%), comparadas àquelas que receberam AME por quatro meses ou mais (13,5%).

Birsh e Fisher em 1998 relataram que em situações nas quais os pais têm um maior controle sobre a alimentação dos filhos, pode haver prejuízo para o desenvolvimento dos mecanismos de auto-regulação da ingestão energética da criança, pois os mecanismos externos de controle podem superar os sinais internos de fome e de saciedade. Portanto, a alimentação com a mamadeira, por exemplo, poderia favorecer o desenvolvimento do sobrepeso por promover uma ingestão excessiva de leite e/ou por prejudicar o desenvolvimento dos mecanismos de auto-regulação. O leite materno poderia influenciar o desenvolvimento de um perfil de sabor de receptores que promove uma preferência para as dietas de baixa energia mais tarde na vida.

No entanto, muitos destes estudos apresentaram algumas limitações metodológicas já que não controlaram fatores que poderiam estar interferindo nos resultados, tais como: peso da criança ao nascer, ingestão energética atual, nível de atividade física da criança, escolaridade da mãe e IMC materno, que também poderiam interferir na relação entre o tempo de aleitamento e o sobrepeso da criança (Hediger *et al.*, 2001; Zive *et al.*, 1992; Kramer, 1981).

Embora, mais trabalhos precisam ser feitos, as evidências epidemiológicas sugerem fortemente que a amamentação representa uma janela de oportunidade ideal para a prevenção da obesidade.

2.3.1 Antropometria

Para a avaliação das condições de saúde e de nutrição em estudos populacionais, a antropometria é considerada uma ferramenta importante (Waterlow et al., 1977; WHO, 1986). Entre as suas vantagens, incluem-se os baixos custos, a facilidade de execução e a relativa sensibilidade e especificidade dos indicadores. Destaca-se a avaliação antropométrica, mesmo quando restrita ao peso e estatura assumindo grande importância no diagnóstico nutricional da criança. Isto se deve a facilidade de realização, objetividade da medida e possibilidade de comparação com um padrão de referência de manuseio relativamente simples, principalmente em estudos populacionais (WHO, 1995).

Indicadores de crescimento:

- Estatura para a idade

Estatura para a idade refere-se a um crescimento linear adequado em uma determinada idade. Esse indicador ajuda a identificar se a criança apresenta baixa estatura devido a um processo prolongado de desnutrição ou a episódios repetidos de doença. Crianças altas também podem ser identificadas, o que raramente é problema, exceto na presença de doenças endócrinas.

- Peso para a idade

Peso para a idade reflete massa corporal relativa à idade cronológica. Esse indicador pode ser utilizado para avaliar se a criança apresenta baixo peso ou baixo peso grave, mas não pode ser utilizado para avaliar sobrepeso e obesidade. É influenciado pela estatura da criança, e sua interpretação é mais complexa.

- Peso para estatura

Peso para a estatura refere-se ao peso corporal relacionado ao crescimento linear da criança. Esse indicador avalia a proporcionalidade da criança, ou seja, uma criança pode apresentar baixa estatura por razões genéticas ou por doenças sem ser desnutrida.

- IMC para a idade (IMC/idade)

O IMC/idade (kg/m^2) também conhecido como índice de Quetelet, é a medida que expressa o peso (kg) por metro quadrado (m^2) de estatura em determinada idade. Em geral esse índice está relacionado com a gordura corporal, motivo pelo qual é especialmente útil para avaliar sobrepeso e obesidade. Em alguns casos, o excesso de massa muscular pode levar a um aumento do IMC/idade sem indicar sobrepeso; nessas situações devem-se associar outros indicadores para uma avaliação correta.

- O sistema de escore-z ou desvio padrão (DP)

O escore-z expressa os valores antropométricos em números de DP ou escore-z abaixo ou acima da média ou mediana de referência. Um valor fixo de escore-z em determinada faixa de tempo implica estatura e/ou peso fixos para crianças de uma determinada idade, ou seja, não está havendo o crescimento esperado (Frisancho, 2008).

2.4 AMAMENTAÇÃO E COGNIÇÃO

Muitos estudos demonstram uma associação entre a amamentação e um adequado desempenho cognitivo em crianças (Angelsen *et al.*, 2001; Clark *et al.*, 2006; Gomez-Sanchiz *et al.*, 2004; Kramer *et al.*, 2008), principalmente em relação à performance em testes de funções executivas (Julvez *et al.*, 2007). Abaixo descreveremos algumas evidências que confirmam esta hipótese.

Um dos primeiros estudos longitudinais de desenvolvimento mental comparando capacidade cognitiva entre crianças amamentadas e aquelas que recebiam fórmula infantil, mostrou melhores resultados nos testes de inteligência visual, aritmética e capacidade verbal para os amamentados, ainda após controlar por variáveis sócio-econômicas (Rodgers, 1978).

Anderson *et al.*, 1999, também relataram diferenças de QI, favorecendo os infantes (6-23 meses de idade) amamentados em comparação aos alimentados com fórmulas. Segundo esta meta-análise, os prematuros amamentados têm mais benefícios no desenvolvimento cognitivo do que os nascidos a termo. Ainda com prematuros de 30 semanas de gestação e baixo peso ao nascer (aproximadamente 1,3 kg), foi observado que aqueles que recebiam leite humano apresentavam altos escores no teste de acuidade visual em comparação com aqueles que usavam fórmula (O'Connor *et al.*, 2003).

Um estudo com 300 crianças britânicas de 7,5 a 8 anos de idade, revelou que as crianças que consumiram leite materno nas primeiras semanas de vida tinham significativamente maiores escores de QI (diferença de 8 pontos) comparadas com as que não foram amamentadas, usando uma versão abreviada da Escala de Inteligência Wechsler para crianças (WASI), (Lucas *et al.*, 1992). Kramer *et al.*, 2008, utilizando semelhante metodologia (WASI) também verificaram que as crianças amamentadas apresentaram QI superior, principalmente nos quesitos verbal além de desempenho. Essas observações foram válidas tanto para crianças em AME como àquelas em aleitamento materno.

Em duas coortes de crianças de 4 e 11 anos de idade, os autores mostraram uma associação entre o tempo de aleitamento materno e os resultados de QI após aplicação de escalas de habilidade, teste de Peabody Picture Vocabulary e a WASI. Apresentaram que

as crianças amamentadas na primeira infância tiveram escores significativamente mais altos em testes de QI em ambas as idades, mesmo após ajuste para classe social e educação. No entanto, o efeito da amamentação não foi mais significativo após o ajuste do QI materno, sugerindo que as vantagens observadas do aleitamento materno sobre o QI podem estar também relacionadas a fatores genéticos e sócio-ambientais, e não somente aos benefícios nutricionais do aleitamento humano sobre o neurodesenvolvimento (Jacobson *et al.*, 1999).

Um grande estudo multicêntrico de acompanhamento de mais de 1000 recém-nascidos de extremo baixo peso de 18 a 22 meses de idade, determinou a relação entre a ingestão de leite materno e o desenvolvimento neurológico. Seus resultados mostraram que o peso ao nascer, a idade gestacional, o estado de hemorragia intraventricular, a sepse, a displasia broncopulmonar e a internação hospitalar foram semelhantes entre aqueles que nunca receberam leite materno (25,1%) e os que foram amamentados (74,9%) (Vohr *et al.*, 2006).

Segundo Tagawa, 2004 a amamentação deve gerar estímulos neurais adequados para o crescimento e desenvolvimento facial do bebê e prevenção dos distúrbios miofuncionais da face. Há fortes evidências de que o leite materno possui substâncias que otimizariam o desenvolvimento cerebral (Duncan *et al.*, 2004). Em estudo de Nobre *et al.*, 2010, os autores concluíram que os constituintes do leite materno favorecem o desenvolvimento neurológico e, conseqüentemente, o motor.

Em suma, evidências sugerem que os nutrientes presentes no leite materno devam ter um efeito positivo no desenvolvimento neurológico, e conseqüentemente na capacidade cognitiva dos lactentes. No entanto, fatores relacionados com a mãe, como por exemplo, QI, comportamento materno ou a interação mãe-bêbe poderiam também exercer alguma influência no desenvolvimento do lactente. Futuros estudos são necessários para esclarecer esta questão (Anderson *et al.*, 1999; Angelsen *et al.*, 2001; Der *et al.*, 2006).

2.5 DESMAME PRECOCE

Em vários países, a má nutrição, problemas de crescimento, desenvolvimento e mortalidade de recém-nascidos e lactentes estão associados ao desmame precoce e às práticas inadequadas de complementação alimentar. Isso acontece porque alimentos não nutritivos são introduzidos precocemente (nos países desenvolvidos e em desenvolvimento) ou muito tarde (nos países em desenvolvimento). Cresce o consenso de que a maior ameaça às crianças, em termos nutricionais, ocorre durante o período entre os seis e os 24 meses de idade, quando acontece a transição da amamentação exclusiva para o consumo da dieta familiar e quando as taxas de doenças infecciosas, como, por exemplo, a diarreia, são mais altas (Brasil, 2003).

O desmame é definido quando acontece a introdução de qualquer tipo de alimento na dieta de uma criança que, até então, se encontrava em AME. Conseqüentemente, o período de desmame é aquele compreendido entre a introdução de um novo alimento até a supressão completa do leite materno (Palma, 1998). A OMS preconiza o AME até seis meses e 24 meses para o aleitamento materno, sendo considerada precoce a interrupção antes deste período.

Evidências indicam que o desmame precoce causa prejuízos no desenvolvimento cognitivo, com conseqüências que perdurariam até a vida adulta (Horwood e Fergusson, 1998; Kramer *et al.*, 2008). Além de prejuízo cognitivo, estudos revelam que a anemia no primeiro ano de vida deva-se, entre outros fatores, ao desmame precoce visto que a biodisponibilidade do ferro no leite materno é elevada (50%). Observa-se ainda, que a introdução de outros alimentos à dieta do lactente contribui para uma diminuição de até 80% no ferro biologicamente disponível (Souza *et al.*, 1997).

Muitos trabalhos têm proposto explicações do por que da inserção precoce de alimentos ao lactente. No estudo conduzido por Frota *et al.*, 2009 alguns fatores como o choro, a fome da criança, a insuficiência do leite materno, o trabalho das mães fora de casa, os problemas relacionados às mamas e recusa do seio por parte da criança foram apontados como as principais razões para a introdução de outros alimentos precocemente. Outro fator salientado é a resistência por parte das mães em alimentar seus filhos usando somente o leite materno, interferindo na duração do AME (Araújo *et al.*, 2008). Ainda, o

uso da mamadeira parece ser um fator crucial assim como demonstrado no estudo brasileiro realizado por Lima e Osório 2003, onde os autores observaram que a duração de aleitamento diminuía de 563 dias para 145 dias no grupo que fazia uso deste recurso.

A baixa escolaridade materna, ausência de hospital amigo da criança, primiparidade, maternidade precoce, também são descritos como fatores de risco para o desmame precoce (Venâncio *et al.*, 2002). Além destes fatores, o nível de conhecimento das mães sobre questões relacionadas à amamentação parece contribuir para o insucesso do AME e, conseqüentemente, para o desmame precoce (Sandre-Pereira *et al.*, 2000; Percegoni *et al.*, 2002).

As crenças das mães sobre as propriedades do leite materno também parece interferir na duração do aleitamento. Por exemplo, Abrão *et al.*, 1997, demonstraram em seu estudo que 48% das mães que desmamaram precocemente alegaram que o seu leite era fraco e não sustentava a criança. Outra pesquisa realizada em Fortaleza, também mostrou que 32% das mães entrevistadas acreditavam que o leite materno era aguado e 62% delas não souberam como resolver o ingurgitamento mamário (Ribeiro *et al.*, 2004). Ainda, com relação à associação entre trabalho materno e aleitamento, um estudo mostrou que mães que possuem um trabalho formal com creche no local de trabalho, sala de coleta e estocagem de leite, e aquelas com bom nível sócio-econômico eram as que amamentavam por mais tempo (Issler *et al.*, 1994; Rea *et al.*, 1997). Por fim, Júnior e Martinez, 2007 estudaram o efeito da intervenção sobre o aleitamento materno mostrando que a taxa de desmame (na ocasião da alta) foi de 19,5% no grupo que recebeu a intervenção, comparado com 61,1% de desmame no grupo sem intervenção.

2.6 FATOR NEUROTROFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF)

O BDNF é uma importante proteína membro da família das neurotrofinas e está presente de forma abundante no tecido cerebral e periférico, podendo ser encontrado em neurônios e plaquetas (Duffau *et al.*, 2006 e Karege, 2002), além de ser sintetizado em células do sistema imune (Noga *et al.*, 2003). Esta neurotrofina atua em distintas regiões cerebrais promovendo o crescimento celular, a conectividade sináptica, a diferenciação celular e reparo neuronal (Tapia-Arancibia *et al.*, 2004), além de participar na expressão de diferentes neurotransmissores (Karege, 2002).

O BDNF pertence a uma família de neurotrofinas que inclui: fator de crescimento neural (NGF), o BDNF, a neurotrofina-3 (NT-3) e a neurotrofina-4 (NT-4), todas elas desempenham um papel importante no crescimento e desenvolvimento de neurotransmissores centrais e periféricos, e protegem contra a perda neuronal por morte celular (Miller e Kaplan, 2001) (Ver Figura 1).

O gene que codifica o BDNF está localizado no braço curto do cromossomo 11, no limite das regiões p13 e p14. Em humanos o gene BDNF ultrapassa 70 kb e tem uma estrutura genômica extremamente complexa (Pruunsild *et al.* 2007).

O polimorfismo val66met do gene BDNF tem sido associado com alterações na função do hipocampo (Egan *et al.*, 2003). Essa descoberta tem atraído grande interesse, principalmente nos estudos de transtorno de humor bipolar, aparecendo como uma possível explicação para pacientes com prejudicado desempenho cognitivo, pois a função cognitiva desses pacientes, parece piorar com a progressão da doença (Torres *et al.*, 2007), apresentando um impacto significativo sobre o funcionamento dos marcadores periféricos (Kapczinski *et al.*, 2008).

Estudo realizado por Pan *et al.* 1998, demonstrou que o BDNF pode atravessar a barreira hematoencefálica, existindo uma correlação entre os níveis séricos e cerebrais. Posteriormente, Karege *et al.*, 2005, demonstraram que as concentrações dos níveis séricos e cerebrais de BDNF são semelhantes. Mostrando que a dosagem da concentração sérica de BDNF é uma maneira indireta de demonstrar o nível de BDNF no cérebro.

O aumento das neurotrofinas tem a função prioritária de proteger os neurônios da excitotoxicidade (Lessmann *et al.*, 2003). Por tanto, as neurotrofinas têm sido descritas como

moduladoras da plasticidade sináptica, com papel na neuroproteção e reorganização, atuando como um mecanismo de compensação endógeno para promover regeneração e reparação no SNC e periférico (Felderhoff-Mueser *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2005).

A redução dos níveis de BDNF deixa o cérebro mais vulnerável à ação dos radicais livres, provocando maior toxicidade e levando à apoptose. A administração de BDNF exógena foi mostrada para atenuar as várias formas de lesão cerebral em animais e seres humanos (Miller e Kaplan, 2001). Estudos têm demonstrado uma redução na concentração do BDNF em pacientes com transtorno depressivo maior em relação aos controles e um aumento nos níveis após o tratamento crônico com antidepressivos (Shimizu *et al.*, 2003).

Alterações nas concentrações de BDNF também se correlacionam com o curso da doença e a resposta terapêutica em várias condições clínicas (Schulte-Herbruggen *et al.*, 2007). Por exemplo, alguns trabalhos mostram redução da proteína total em cérebro de ratos após serem submetidos ao modelo de estresse (Franklin e Perrot-Sinal, 2006 e Angelucci *et al.*, 2000), enquanto outros mostram ausência de alteração em relação aos controles (Gronli *et al.*, 2006 e Rosenborck *et al.*, 2005).

Estudos mostraram que variantes no gene BDNF podem aumentar o risco de esquizofrenia e transtorno bipolar. A administração crônica de drogas usadas para tratar estes transtornos, como o lítio, o valproato, a quetiapina, a clozapina e a olanzapina, aumentam a expressão de BDNF no cérebro de ratos. Assim como em humanos, os níveis séricos de BDNF se apresentam significativamente maiores em pacientes com esquizofrenia, quando comparados com controles ou pacientes eutímicos e transtorno bipolar. Ou seja, a medicação psiquiátrica aumenta a síntese de BDNF, melhorando a conectividade entre os neurônios e protegendo o cérebro contra o excesso de radicais livres, e agindo como neuroprotetores contra o envelhecimento cerebral acelerado (Kunz *et al.*, 2008).

Além dos efeitos locais no SNC e periférico, o BDNF desempenha papel importante em vários tecidos não-neurais. Por exemplo, a administração de BDNF exógeno tem sido mostrada modulando a secreção de glucagon e a homeostase da glicose (Schulte-Herbruggen *et al.*, 2007).

O BDNF também tem sido implicado na regulação do peso corporal, tendo sua

expressão reduzida pelo jejum (Xu *et al.*, 2003). O estudo de Pelleymounter *et al.*, 1995, mostrou que a administração de BDNF causou a perda de peso em camundongos do tipo selvagem através de uma redução na ingestão de alimentos. Baixos níveis de BDNF no plasma foram encontrados em pacientes obesos com diabetes tipo 2 e síndrome metabólica (Geroldi *et al.*, 2006).

Guimarães *et al.*, 2008 avaliaram o efeito de uma intervenção dietética sobre os níveis séricos de BDNF em 67 pacientes com esquizofrenia. Estes níveis apresentaram-se significativamente aumentados nos pacientes com dieta hipocalórica ($P= 0,023$), comparado aos com normocalórica. Isto sugere que uma dieta hipocalórica, incluindo mudanças dietéticas quantitativas e qualitativas, poderiam modificar importantes marcadores de plasticidade cerebral.

O estudo de Thaddeus *et al.*, 2007 foi destinado a diferenciar o papel do BDNF no rato adulto, às suas funções de desenvolvimento, impactando o controle do apetite. Este estudo evidenciou que a glicose, um sinal calórico, direciona a transcrição de BDNF e TrkB no hipotálamo ventromedial e que o BDNF induz a atividade neuronal nos centros de equilíbrio hipotalâmico de energia. Como resultado deste estudo, de acordo com um papel na regulação do comportamento alimentar, o aumento de BDNF RNAm foi apenas transitório. Até 6 horas após a administração de glicose, o índice de BDNF RNAm retornou aos níveis de jejum. Estes resultados demonstram que o BDNF é um componente integral de mecanismos centrais mediadores da saciedade no rato adulto.

Estudos sugerem que a sinalização através do BDNF/via receptor do tipo tirosina cinase B (TrkB) promove saciedade no animal adulto. Por exemplo, uma perfusão de BDNF no cérebro de ratos maduros reduziu significativamente a ingestão de alimentos (Lapchark e Hefti, 1992). Além disso, os níveis de BDNF RNAm estão reduzidos em jejum no hipotálamo ventromedial e núcleo do trato solitário (Tran *et al.*, 2008). A expressão do BDNF nessas regiões também é regulada pela leptina, fatores periféricos de saciedade e colecistocinina (Komori *et al.*, 2006).

Figura 1

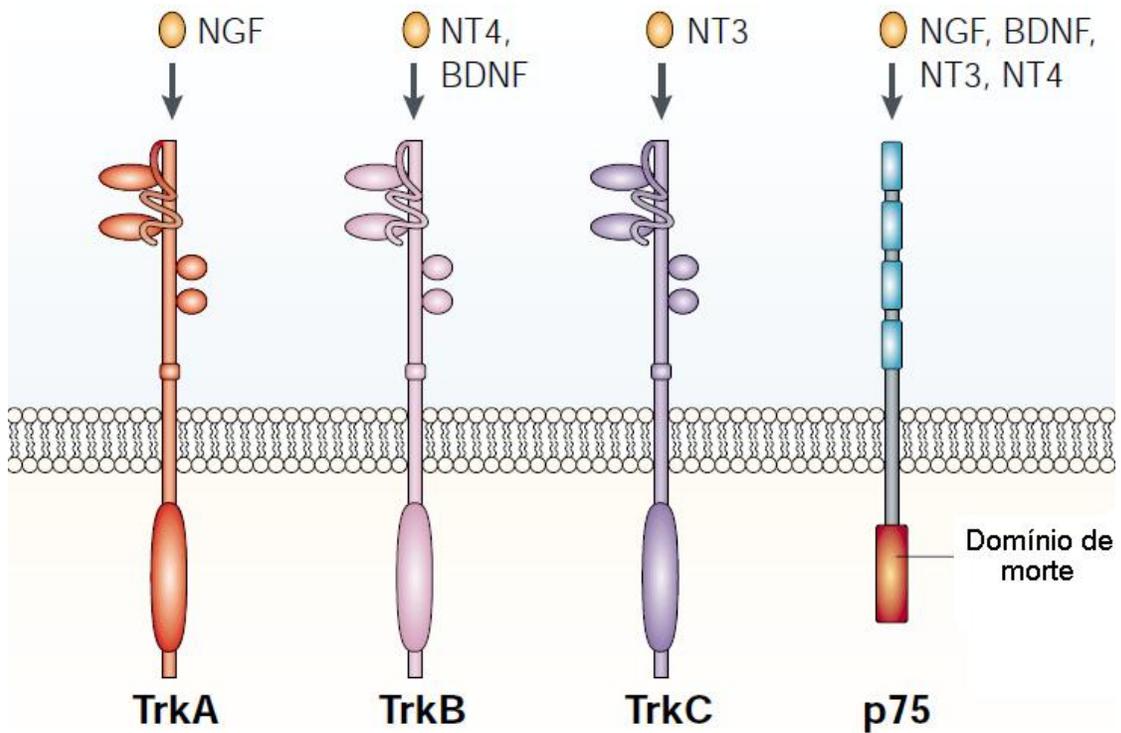


Figura 1. Esquema mostrando os tipos de receptor tirosina quinase (Trk) e suas diferentes afinidades para as neurotrofinas. (Modificado de: Chao MV. *Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. Nature reviews: Neuroscience*, 4:299-309, 2003).

2.7 BDNF E ALEITAMENTO MATERNO

Há evidências crescentes que o teor de PUFAS (AA; DHA e outros) não podem ser os únicos responsáveis pelas propriedades do leite materno, e autores levantam a hipótese de que outras moléculas de grande interesse, nomeadas ‘fatores tróficos’ poderiam estar envolvidas nos benefícios da amamentação, principalmente no processo de desenvolvimento. Entre estes fatores, estão os biomarcadores oxidativos e as proteínas neurotróficas (Serpero *et al.*, 2012; Gazzolo *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010).

Luisi *et al.*, 2001 descreveram a presença da ativina A no leite humano, uma neurotrofina que junto com seus receptores estão amplamente distribuídos por todo o cérebro humano. Estudos em modelos experimentais e em seres humanos de lesão cerebral tem demonstrado forte correlação da expressão da ativina A como uma resposta comum a lesão neuronal aguda de várias origens, além disso, esta proteína pode exercer um efeito neuroprotetor e modular o crescimento celular e tecidual. Autores concluíram que a ativina A no leite materno pode estar atuando na regulação do crescimento e função de tecidos cerebrais e cardíacos do lactente (Luisi *et al.*, 2001; Florio *et al.*, 2007).

Recentemente Li *et al.*, 2011 relataram concentrações da proteína S100B, do fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) e do BDNF no leite de mulheres chinesas lactantes. Resultados deste estudo indicaram que a concentração dessas citocinas pode ser adicionado à lista de fatores bioativos, como por exemplo: IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, lactoferrina e transferrina, presentes no leite humano.

Estudos demonstraram que muitos aspectos da cognição são afetados pela nutrição, incluindo memória, QI, déficit de atenção e hiperatividade, dislexia, depressão, esquizofrenia, demência de Alzheimer e doença de Parkinson (Barberger-Gateau *et al.*, 2007; Van Der Beek e Kamphui, 2008).

O único estudo publicado até o momento envolvendo dosagem de BDNF e amamentação foi realizado recentemente por Nassar *et al.*, 2011. Os autores investigaram o papel do BDNF em curto prazo em crianças amamentadas e àquelas recebendo fórmula infantil.

Com o objetivo de entender um pouco mais sobre os mecanismos neuroquímicos envolvidos na amamentação, este estudo pretende investigar se as concentrações de

BDNF podem variar em função do tempo de aleitamento materno. Para isto, serão recrutadas crianças amamentadas por ≥ 6 meses, tempo de amamentação mínimo recomendado pela OMS e crianças amamentadas por um tempo inferior a 6 meses.

3. REFERÊNCIAS

- Abrão ACFV, Barros SMO, Almeida AM. Desmame precoce: estudos das causas em crianças de 0 a 6 meses de idade: Dourados-MS. *Acta Paulista de Enfermagem* 1997; 10, (2): 30-39.
- Akre J. Alimentação Infantil: bases fisiológicas. IBFAN/ Instituto de Saúde de São Paulo, 1994.
- Anderson JW, Johnstone BM, Remley DT. Breastfeeding and cognitive development: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(4):525-35.
- Angelsen NK, Vik T, Jacobsen G, Bakketeig LS. Breast feeding and cognitive development at age 1 and 5 years. *Arch Dis Child*. 2001;85(3):183-188.
- Angelucci F, Aloe L, Vasquez PJ, Mathe AA. Mapping the differences in the brain concentration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth-factor (NGF) in an animal model of depression. *Neuroreport*. 2000; 11 (6):1369-1373.
- Araújo OD. et al. Aleitamento materno: Fatores que levam ao desmame precoce. *Revista Brasileira de Enfermagem*, Brasília, 2008;61(4): 488-92.
- Arenz S, Rückerl R, Koletzko B, Von KR. Breast-feeding and childhood obesity - a systematic review *International Journal of Obesity* 2004; 28, 1247–1256.
- Balaban G, Silva GAP. Efeito protetor do aleitamento materno contra a obesidade infantil. *J Pediatr*. 2004;80(1):7-16.
- Barberger-Gateau P, Raffaitin C, Letenneur L, Berr C, Tzourio C, Dartigues JF, Alpérovitch A. Dietary patterns and risk of dementia. *Neurology* 2007; 69; 1921–1930.
- Birch LL, Fisher JO. Development of eating behaviors among children and adolescents. *Pediatrics* 1998; 101:539-49.
- Bittencourt LJ, Oliveira JS, Figueiroa JN, Batista FM. Aleitamento materno no estado de Pernambuco: prevalência e possível papel das ações de saúde. *Rev. Bras Saude Matern Infant*. 2005;5(4):439-48.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS) Brasil. Amamentação. Informativo atualizado em junho de 2003.
- Casabiel X, Pineiro V, Tome MA, Peinoro R, Deiguez C, Casanueva FF. Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82:4270-3.
- Chaves RG; Lamounier JA; César CC. Fatores associados com a duração do aleitamento materno. *J. Pediatr*. 2007, 83; 241-246.
- Chao MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(4):299-309.

Chirico G, Marzollo R, Cortinovis S, Fonte C, Gasparoni A. Antiinfective properties of human milk. *J Nutr* 2008; 138:1801–1806.

Clark KM, Castilho M, Calatroni A, Walter T, Cayazzo M, Pino P, et al. Breastfeeding and mental and motor development at 5 ½ years. *Ambulatory Pediatrics* 2006;6(2):65-71.

Corria V. Deficiência de ácidos grasos essenciais en el feto y en el recién nacido pretérmino. *Rev Cuba Pediatr* 2001; 73: 43-50.

Couper JJ, Steele C, Beresford S, Powell T, Mccaul K, Pollard A, et al. Lack of association between duration of breastfeeding or introduction of cow's milk and development of Islet auto immunity. *Diabetes* 1999; 48, (11): 2145-9.

Coutinho SB. Aleitamento materno exclusivo: um estudo de intervenção randomizado na Zona da mata Meridional de Pernambuco. 2003. 200p. Tese (Doutorado em Nutrição) – Centro de Ciências da Saúde, universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Dauncey MJ. New insights into nutrition and cognitive neuroscience. *Proceedings of the Nutrition Society* 2009; 68; 408-415.

Dee DL, Li R, Lee L, Grummer-Strawn LM. Associations between breastfeeding practices and young children's language and motor skill development. *Pediatrics*. 2007;119 (sup 1):92-8.

Der G, Batty GD, Deary IJ. Effect of breast feeding on intelligence in children: prospective study, sibling pairs analysis, and meta-analysis. *BMJ* 2006;333:945.

Duffau H. Brain plasticity: from pathophysiological mechanisms to therapeutic applications. *J Clin Neurosci* 2006; 13(9):885-97.

Duncan BB, Schmidt MI, Giugliani ERJ. Medicina Ambulatorial: condutas de atenção primária baseadas em evidências. Porto Alegre, Artmed 2004.

Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 2003;112(2):257-69.

Fall CH, Borja JB, Osmond C, Richter L, Bhargava SK, Martorell R, et al. Infant-feeding patterns and cardiovascular risk factors in young adulthood: data from five cohorts in low- and middle-income countries. *Int J Epidemiol* 2011; 40:47-62.

Farquharson J, Cockburn F, Patrick WA, Jamieson EC, Logan RW. Infant cerebral cortex phospholipid fatty acid composition and diet. *Lancet* 1992; 240:810-3.

Farquharson J, Jamieson EC, Abbasi KA, Patrick WJA, Logan RW, Cockburn F. Effects of diet on fatty acid composition of the major phospholipids of infant cerebral cortex. *Arch Dis Child* 1995; 72: 198-203.

Felderhoff-Mueser U, Sifringer M, Pesditschek S, Kuckuck H, Moysich A, Bittigau P, Ikonomidou C. Pathways Leading to Apoptotic Neurodegeneration Following Trauma to the Developin Rat Brain. *Neurobiology of Disease* 2002;11; 231-245.

Fewtrell MS, Morgan JB, Duggan C, Gunnlaugsson G, Hibberd PL, Lucas A, et al. Optimal duration of exclusive breastfeeding: what is the evidence to support current recommendations? *Am J Clin Nutr* 2007;85(2):635S-8.

Florio P, Gazzolo D, Luisi S, Petraglia F. Activin A in brain injury. *Adv Clin Chem* 2007; 43:117–30.

Fonseca FCS. Aleitamento Materno numa população do Concelho de Chaves. Tese de Mestrado em promoção/ educação para a saúde. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1999.

Franklin TB, Perrot-Sinal TS. Sex and ovarian steroids modulate brain derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in rat hippocampus under stressful and nonstressful conditions. *Psycho neuroendocrinology* 2006; 31 (1):38-48.

Frisancho AR. Anthropometric standards: an interactive nutritional reference of body composition for children and adults. Ann Arbor The University of Michigan Press 2008;149-55.

Frota MA, Costa FL, Soares SD, Filho OAS, Albulquerque CM, CASIMIRO CF. Fatores que interferem no aleitamento materno. *Rev. Rene* 2009; 61-67.

Frye C, Heinrich J. Trends and predictors of overweight and obesity in East German children. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27(8):963-969.

Fuchs SC, Victora CG. Risk and prognostic factors for diarrheal disease in Brazilian infants: a special case-control design application. *Cadernos de Saúde Pública* 2002; v18(3):773-82.

Gaete MG, Atalah ES. Niveles de LC-PUFA n-3 en la leche materna después de incentivar el consumo de alimentos marinos. *Rev Chil Pediatr* 2003; 74: 158-65.

Garofalo R. Cytokines in Human Milk. *J Pediatr* 2010;156:36-40.

Gazzolo D, Abella R, Frigiola A, Giamberti A, Tina G, Nigro F, et al. Neuromarkers and unconventional biological fluids. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010;23:66–9.

Geroldi D, Minoretti P, Emanuele E. Brain-derived neurotrophic factor and the metabolic syndrome: more than just a hypothesis. *Med Hypotheses* 2006; 67; 195–196.

Gerstein HC. Cow's milk exposure and type I diabetes mellitus. A critical overview of the clinical literature. *Diabetes Care* 1994;17:13-9.

Gomez-Pinilla F, Vayman S, Ying Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *European Journal of Neuroscience* 2008; 28, 2278-2287.

Gomez-Sanchiz M, Canete R, Rodero I, Baeza Je, Gonzalez JA. Influence of breast-feeding and parental intelligence on cognitive development in the 24-month-old child. *Clinical pediatrics*, 2004; 43(8):753-761.

Gronli J, Bramham C, Murison R, Kanhema T, Fiske E, Bjorvatn B, Ursin R, Portas CM. Chronic

mild stress inhibits BDNF protein expression and CREB activation in the dentate gyrus but not in the hippocampus proper. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 85:842-849.

Guimarães LR, Jacka FN, GAMA CS, Leitão-Azevedo CL, Belmonte de Abreu MG, Lobato MI, Andreatza AC, Ceresér KM, Kapczinski F, Belmonte AP. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia on a hypocaloric diet. *Prog. Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 8; 1595-1598.

Hamosh M. Bioactive factors in human milk. *Pediatr Clin North Am* 2001;48:69–86.

Harder T, Bergmann R, Kallischnigg G, Plagemann A. Duration of Breastfeeding and Risk of Overweight: A Meta-Analysis. *Am. J. Epidemiol* 2005;162:397–403.

Hediger ML, Overpeck MD, Kuczmarski RJ, Ruan J. Association between infant breastfeeding and overweight in young children. *JAMA* 2001; 285: 2453-60.

Hoppin AG, Kaplan LM. The leptin era: new insight into the mechanisms of body weight homeostasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29: 250-64.

Horta BL, Bahl R, Martines JC, Victora CG. Evidence on the long-term effects of breastfeeding. Systematic reviews and meta-analyses. WHO 2007.

Horwood LJ, Fergusson DM. Breastfeeding and later cognitive and academic outcomes. *Pediatrics* 1998; 101(1):9.

Innis SM, Gilley J, Werker J. Are human milk longchain polyunsaturated fatty acids related to visual and neural development in breast-fed term infants? *J Pediatr* 2001; 139; 532-538.

Issler RMS, Enk I, Azeredo PR, Moraes JA. Estudo comparativo do período de aleitamento materno de crianças em creches internas e externas. *Jornal de Pediatria* 1994; 70,(5):287-90.

Jacobson SW, Chiodo LM, Jacobson JL. Breastfeeding effects on intelligence quotient in 4- and 11-year-old children. *Pediatrics* 1999;103(5):71.

Joseph KS, Kramer MS. Review of the evidence on fetal and early childhood antecedents of adult chronic disease. *Epidemiologic Reviews* 1996; 18(2):158-74.

Julvez J, Ribas-Fito N, Forns M, Garcia-Esteban R, Torrent M, Sunyer J. Attention behaviour and hyperactivity at age 4 and duration of breast-feeding. *Acta Paediatr* 2007; 96(6):842-847.

Júnior WS, Martinez FE. Impacto de uma intervenção pró-aleitamento materno nas taxas de amamentação de recém-nascidos de muito baixo peso. *Jornal de Pediatria* 2007; 83(6):541-546.

Kapczinski F, Frey BN, Kauer-Sant'anna M, Grassi-Oliveira R. Brain-derived neurotrophic factor and neuroplasticity in bipolar disorder. *Expert Rev Neurother* 2008; 8(7):1101-13.

Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwalda M, Aubry JM, Bertschy G. Low Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biological Psychiatry* 2005; 1068-1072.

Karege F, Perret G, Bondolfi G, Schwald M, Bertschy G, Aubry JM. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry* 2002; 15;109(2):143-8.

Komori T, Morikawa Y, Nanjo K, Senba E. Induction of brain-derived neurotrophic factor by leptin in the ventromedial hypothalamus. *Neuroscience* 2006; 139;1107–1115.

Koo WW. Efficacy and safety of docosahexaenoic acid and arachidonic acid addition to infant formulas: can one buy better vision and intelligence? *J Am Coll Nutr* 2003; 22(2):101-7.

Kramer MS. Do breast-feeding and delayed introduction of solid foods protect against subsequent obesity? *J Pediatr* 1981; 98: 883-7.

Kramer MS, Aboud F, Mironova E, Vanilovich I, Platt RW, Matush L, et al. Breastfeeding and child cognitive development. New evidence from a large randomized trial. *Arch Gen Psychiatry* 2008; 65; 578–584.

Kunz M, Gama CS, Andrezza AC, Salvador M, Ceresér KM, Gomes FA, Belmonte APS, Berk M, Kapczinski F. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32; 1677-1681.

Kvaavik E, Tell GS, Klepp KI. Surveys of Norwegian youth indicated that breastfeeding reduced subsequent risk of obesity. *J Clin Epidemiol* 2005; 58:849-55.

Lanting CI, Fidler V, Huisman M, Touwen BC, Boersma ER. Neurological differences between 9-year-old children fed breast-milk or formula-milk as babies. *Lancet* 1994; 12;344 (8933):1319-22.

Lapchark PA, Hefti F. BDNF and NGF treatment in lesioned rats: effects on cholinergic function and weight gain. *Neuroreport* 1992; 3; 405–408.

Lawrence RA. Peer support: making a difference in Breast-feeding duration. *Canadian Medical Association Journal* 2002; Ottawa, 166(1)42-3.

Lessmann V; Gottmann K; Malcangio M. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Progress in Neurobiology* 2003; 69; 341-374.

Li R, Xia W, Zhang Z, Wu K. S100B Protein, Brain-Derived Neurotrophic Factor, and Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor in Human Milk 2011; 6, 6.

Li VG, Galvano FFA, Guccione S, Di GC, Forte S, et al. Potential immunoregulatory role of hemoxygenase-1 in human milk: a combined biochemical and molecular modeling approach. *J Nutr Biochem* 2010; 21:865–71.

Liese AD, Hirsch T, Mutius EV, Keil U, Leupold W, Weiland SK. Inverse association of overweight and breast feeding in 9 to 10-y-old children in Germany. *International Journal of Obesity* 2001; 25, 1644–1650.

Lima TM, Osório MM. Perfil e fatores associados ao aleitamento materno em crianças menores de 25 meses da Região Nordeste do Brasil. *Rev Bras Saude Matern Infant* 2003; 3(3):305-14.

Lucas A, Blackburn AM, Aynsley-Green A, Sarson DL, Adrian TE, Bloom SR. Breast vs bottle: endocrine responses are different with formula feeding. *Lancet* 1980; 14: 1267-9.

Lucas A, Morley R, Cole TJ, LISTER G, Leeson-Payne C. Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet* 1992; 339:261–264.

Luisi S, Florio P, Reis FM, Petraglia F. Expression and secretion of activin A: possible physiological and clinical implications. *Eur J Endocrinol* 2001;145:225–36.

Mahan LK, Escott-Stump S Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia. 11ª ed. São Paulo: Roca 2005.

Makrides M, Neumann MA, Byard RW, Simmer K, Gibson RA. Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast- and formula-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1994; 60(2):189-94.

Marques RFSV, Lopez FA, Braga JAP. O crescimento de crianças alimentadas com leite materno exclusivo nos primeiros 6 meses de vida. *J Pediatr* 2004; 80(2):99-105.

Medeiros JS, Rivera MAA, Benigna MJC, Cardoso MAA, Costa MJC. Estudo caso-controle sobre exposição precoce ao leite de vaca e ocorrência de Diabetes Mellitus tipo 1 em Campina Grande, Paraíba. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil* 2003; 3(3):271-80.

Miller FD, Kaplan DR. Neurotrophin signalling pathways regulating neuronal apoptosis. *Cell Mol. Life Sci* 2001; 58; 1045-1053.

Ministério da Saúde. Aleitamento Materno, Distribuição de Leites e Fórmulas Infantis em Estabelecimentos de Saúde e a Legislação do País. 2012.

Monte CMG, Giugliani ERJ. Recomendações para alimentação complementar da criança em aleitamento materno. *Jornal de Pediatria* 2004; 80(5):131-141.

Morley R, Fewtrell MS, Abbott RA, Stephenson T, Macfadyen U, Lucas A. Neurodevelopment in children born small for gestational age: a randomized trial of nutrient-enriched versus standard formula and comparison with a reference breastfed group. *Pediatrics*. 2004;113(3):515-21.

Nassar MF, Younis NT, El-Arab SE, Fawzi FA. Neuro-developmental Outcome and Brain Derived Neurotrophic Factor Level in Relation to Feeding Practice in Early Infancy. *Matern Child Nutr* 2011; 7(2):188-97.

Neiva FCB, Cattoni DM, Ramos JLA, Issler H. Desmame precoce: implicações para o desenvolvimento motor-oral. *J. Pediatr* 2003; 79; 7-12.

Neuringer M, Connor WE. Omega-3 fatty acids in the brain and retina: evidence for their essentiality. *Nutr Rev* 1986; 44:285-94

Nobre EB, Issler H, Ramos JLA, Grisi SJFE. Aleitamento materno e desenvolvimento neuropsicomotor: uma revisão da literatura. *Pediatria* 2010; 32(3):204-10.

Noga O, Englmann C, Hanf G, Grutzkau A, Seybold J, Kunkel G. The production, storage and

release of the neurotrophins nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 by human peripheral eosinophils in allergics and non-allergics. *Clin Exp Allergy* 2003; 33, 649–654.

O'Connor DL, Jacobs J, Hall R, Adamkin D, Auestad N, Castillo M, et al. Growth and development of premature infants fed predominantly human milk, predominantly premature infant formula, or a combination of human milk and premature formula. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;37:437-46.

Onis M, Victora CG. Growth charts for breastfed babies. *J Pediatric* 2004;80:85-7.

Organização Mundial da Saúde. Indicadores para avaliar las prácticas de lactancia materna. Ginebra: OMS 1991.

Organização Mundial da Saúde. Proteção, promoção e apoio ao aleitamento materno: o papel especial dos serviços de saúde. Ginebra 1989.

Palma D. Alimentação da criança nos primeiros anos de vida. *Revista Paulista de Pediatria* 1998; 16:112-117.

Pan W, Banks WA, Kastin AJ. Permeability of the blood-brain barrier to neurotrophins. *Brain Res* 1998; 788, 87-94.

Pelleymounter MA, Cullen MJ, Wellman CL. Characteristics of BDNF-induced weight loss. *Exp Neuro* 1995; 1131, 229 –238.

Percegoni N, Araújo RMA, Silva AASS, Euclides MP, Tinôco ALA. Conhecimentos sobre aleitamento materno de puérperas atendidas em dois hospitais de Viçosa, Minas Gerais. *Revista de Nutrição, Campinas* 2002; 15 (1):29-35.

Pérez AV, Pita JL, Batista JR. Factores de riesgo de desnutrición proteico-energética en niños menores de 1 año de edad. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 1998; 12(2):82-5.

Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T. Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics* 2007;90:397-406.

Rea MF. A amamentação e o uso de leite humano: o que recomenda a Academia Americana de Pediatria. *Jornal de Pediatria* 1998; 74(3):171-3.

Rea MF. Reflexões sobre a amamentação no Brasil: de como passamos a 10 meses de duração. *Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro* 2003; 19(1):37-45.

Rea MF, Venâncio SI, Batista LE, Santos RG, Greiner T. Possibilidades e limitações da amamentação entre mulheres trabalhadoras formais. *Revista de Saúde Pública* 1997; 31(2):149-56.

Ribeiro EM, Said RA, Vieira MPG, Rocha ILF, Gomes DM. O conhecimento das mães sobre aleitamento materno no hospital São Lucas-Juazeiro do Norte (CE) - *Revista Brasileira de Promoção da Saúde, Universidade de Fortaleza* 2004; 17(4):170-176.

Rodgers B. Feeding in infancy and later ability and attainment: a longitudinal study. *J Dev Med Child Neurol* 1978; 20:421-426.

Rosenbrock H, Koros E, Bloching A, Podhorna J, Borsini F. Effect of chronic intermittent restraint stress on hippocampal expression of marker proteins for synaptic plasticity and progenitor cell proliferation in rats. *Brain Res* 2005;1040(1-2):55-63.

Russo-Neustadt AA, Beard RC, Huang YM, Cotman CW. Physical activity and antidepressant treatment potentiate the expression of specific brain-derived neurotrophic factor transcripts in the rat hippocampus. *Neuroscience* 2000; 101(2):305-312.

Sandre-Pereira G, Colares LGT, Carmo MGT, Soares EA. Conhecimentos maternos sobre amamentação entre puérperas inscritas em programa de pré-natal. *Cadernos de Saúde Pública* 2000; 16(2):457-466.

Schulte-Herbruggen R, Folster-Holst M, Von E, Augustin M, Hellweg R. Clinical Relevance of Nerve Growth Factor Serum Levels in Patients with Atopic Dermatitis and Psoriasis. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 144; 211-216.

Serpero LD, Frigiola A, Gazzolo D. Human milk and formulae: Neurotrophic and new biological factors. *Early Human Development* 2012; 88,9-12.

Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, Nakazato M, Watanabe H, Shinoda N, Okada S, Iyo M. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry* 2003; 54(1):70-5.

Simon VGN, Souza JMP, Souza SB. Aleitamento materno, alimentação complementar, sobrepeso e obesidade em pré-escolares. *Rev Saúde Pública* 2009;43(1):60-9.

Sociedade Brasileira De Pediatria. Departamento de Nutrologia. Manual de orientação para a alimentação do lactente, do pré-escolar, do escolar, do adolescente e na escola. São Paulo: SBP 2008; 11-53.

Souza SBS, Szarfarc SC, Souza JMP. Anemia no primeiro ano de vida em relação ao aleitamento materno. *Revista de Saúde Pública* 1997; 31(1):15-20.

Tagawa PT. Aleitamento Materno: Mecanismo de Prevenção da Maloclusão? *Revista Pediatria Atual* 2004; 17(4):28-35.

Tapia-Arancibia L, Rage F, Givalois L, Arancibia S. Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Front Neuroendocrinol* 2004, 25:77-107.

Thaddeus JU; German AC; Bradley LC; Sena-Esteves M; Rios M. Selective Deletion of Bdnf in the Ventromedial and Dorsomedial Hypothalamus of Adult Mice Results in Hyperphagic Behavior and Obesity. *The Journal of Neuroscience* 2007; 27,14265-14274.

Torres IJ, Boudreau VG, Yatham LN. Neuropsychological functioning in euthymic bipolar disorder: a meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 2007;434:17-26.

Toschke AM, Vignerova J, Lhotska L, Osancova K, Koletzko B, Von KR. Overweight and obesity in 6- to 14-year-old Czech children in 1991: protective effect of breastfeeding. *J Pediatr* 2002; 141: 764-9.

Tran PV, Carlson ES, Fretham JB, Georgieff MK. Life Iron Deficiency Anemia Alters Neurotrophic Factor Expression and Hippocampal Neuron Differentiation in Male Rats. *The Journal of Nutrition* 2008; 138, 2495–2501.

Uauy R, Andraca I. Human milk and breast feeding for optimal mental development. *J Nutr* 1995;125(8):2278-80.

Uauy R, Peirano P. Breast is best: human milk is the optimal food for brain development. *Am J Clin Nutr* 1999;70(4):433-4.

UNICEF. Fundo das Nações Unidas para a Infância. Situação Mundial da Infância 1998. A Nutrição em foco. Brasília-DF.

Valenzuela AB, Nieto SK. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: su importancia em el desarrollo del sistema nervioso y visual. *Rev Chil Pediatr* 2003; 74: 149-57.

Van Der Beek EM, Kamphuis JGH. The potential role of nutritional components in the management of Alzheimer's Disease. *Eur J Pharmacol* 2008; 585, 197–207.

Venâncio SI, Escuder MML, Kitoko P, Rea MF, Monteiro CA et al. Frequência e determinantes do aleitamento materno em municípios do Estado de São Paulo. *Revista de Saúde Pública* 2002, 36(3):313-8.

Venâncio SI, Monteiro CA. A tendência da prática da amamentação no Brasil nas décadas de 70 e 80. *Rev. Bras. Epidemiol* 1998; 1(1):40-49.

Viberg H, Mundy W, Eriksson P. Neonatal exposure to decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) results in change in BDNF, CaMKII and GAP-43, biochemical substrates of neuronal survival, growth, and synaptogenesis. *Neurotoxicology* 2008; 29, 152-159.

Vitolo MR, Rauber F, Campagnolo PD, Feldens CA, Hoffman DJ. Maternal dietary counseling in the first year of life is associated with a higher healthy eating index in childhood. *J Nutr* 2010; 140:2002-7.

Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, Mckinley LT, Wright LL, Langer JC, et al. Beneficial effects of breast milk in the neonatal intensive care unit on the developmental outcome of extremely low birth weight infants at 18 months of age. *Pediatrics* 2006;118:115-23.

Waterlow JC, Buzina R, Keller W, Lane JM, Nichaman NZ, Tanner JM. The presentation and use of height and weight for comparing nutritional status of groups of children under the age of 10 years. *Bulletin of the World Health Organization* 1977; 55:489-498.

WHO Multicentre growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva: World Health Organization, 2006.

World Health Organization. AnthroPlus for personal computers Manual: Software for assessing

growth of the world's children and adolescents. Geneva: WHO, 2009. Disponível em: (<http://www.who.int/growthref/tools/en/>). Acesso em 09/04/2012.

World Health Organization. Anthro for personal computers, version 3, 2009: Software for assessing growth and development of the world's children. Geneva: WHO, 2009. Disponível em: (<http://www.who.int/childgrowth/software/en/>). Acesso em 09/04/2012.

World Health Organization. Collaborative Study Team on the Role of Breastfeeding on the Prevention of Infant Mortality. Effect of breastfeeding on infant and child mortality due to infectious diseases in less developed countries: a pooled analysis. *Lancet* 2000;355(9202):451-5.

World Health Organization. Innocenti Declaration on the protection, promotion and support of breastfeeding. *Ecol Food Nutr* 1991; 26: 271-3.

World Health Organization. Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry. WHO Technical Report Series 1995; 854. Genève: WHO.

World Health Organization. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. *Bulletin of the World Health Organization* 1986; 64:929-41.

Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, Jones KR, Tecott LH, Reichardt LF. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci* 2003; 6,736–742.

Zeisel SH. Choline: needed for normal development of memory. *J Am Coll Nutr* 2000;19(5):528-31.

Zhao LY, Ye TH, Zhang YZ, Zhao H. Combination of morphine with lowdose naloxone for intravenous patient-controlled analgesia. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2005; 27; 228-231.

Zive MM; McKay H; Frank-Spohrer GC; Broyles SL; Nelson JA; Nader PR. infant-feeding practices and adiposity in 4-y-old Anglo-and Mexican-Americans. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 1104-8.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Avaliar as concentrações séricas de BDNF em crianças e adolescentes e saudáveis amamentadas por < 6 meses e aquelas amamentadas por ≥ 6 meses.

4.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO

Avaliar a influência do tempo de aleitamento materno sobre o índice de massa corporal (IMC) das crianças.

5. METODOLOGIA

5.1 DELINEAMENTO

Estudo longitudinal de 4 anos de duração.

5.2 POPULAÇÃO

A população constitui-se de 44 crianças de 3 a 15 anos de idade, saudáveis, recrutadas a partir do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) (projeto 100-390). Deste total, sete crianças foram excluídas, por não realizarem a coleta de sangue, totalizando 37 participantes. Os participantes foram classificados de acordo com a duração do aleitamento materno em dois grupos: < 6 meses de amamentação e \geq 6 meses, conforme o fluxograma a seguir (Figura 2). A duração do aleitamento materno menor de seis meses é definida pela OMS como desmame precoce (Horta *et al.*, 2007).

Figura 2

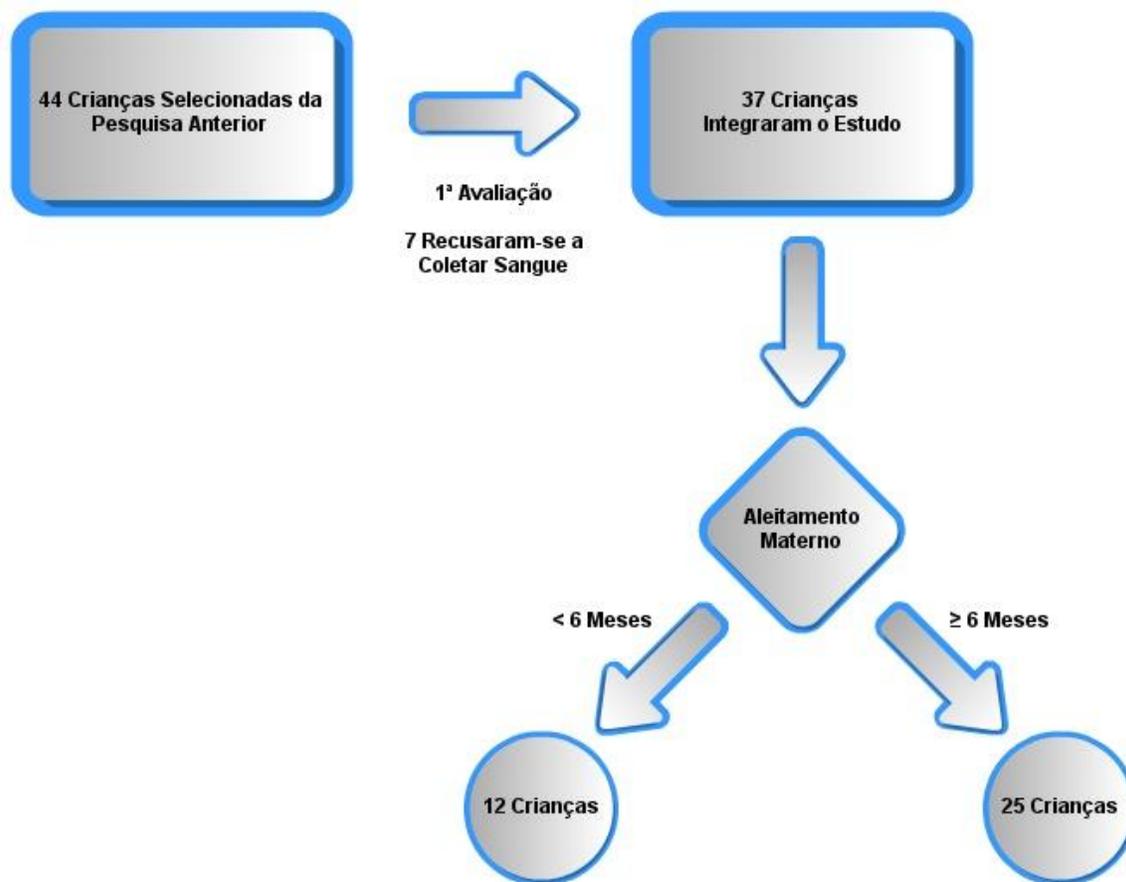


Figura 2. Fluxograma de triagem.

5.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA

5.3.1 Critérios de inclusão

Crianças de 3 a 15 anos de idade, saudáveis, que participaram de uma pesquisa anterior (n° 06-458) e cujos responsáveis concordaram na participação das crianças no presente estudo.

5.3.2 Critérios de exclusão

- Idade gestacional < 37 semanas para crianças com até dois anos de idade.
- Idade gestacional < 28 semanas e/ou abaixo 1.000 g de peso, para crianças com até três anos de idade.
- Utilização de medicação à exceção de sulfato ferroso e polivitamínico em doses profiláticas.
- Dieta para perda de peso nos últimos 30 dias.
- Processo infeccioso nos últimos sete dias.
- Impossibilidade de realização da avaliação antropométrica.
- Não assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

5.3.3 Instrumentos de pesquisa

Foi aplicado um questionário aos responsáveis e participantes, com dados sócio-demográficos, informações sobre aleitamento materno e outros dados clínicos relevantes (ver Anexo B).

- Foi realizada a avaliação antropométrica com verificação de peso e estatura. As variáveis foram apresentadas como os escores z de estatura em relação a idade (E/I), IMC em relação a idade (IMC/I) de acordo com padrões da OMS (WHO, 2006). OMS software AnthoPlus foi utilizado durante 5 a 19 anos de dados de crescimento de

referência 2007 (WHO, 2009).

- O protocolo de pesquisa foi realizado nas duas visitas: basal e de seguimento (T0 e T1).

- A primeira amostra de sangue foi obtida no período compreendido entre dezembro de 2006 e maio de 2009 e a segunda amostra foi obtida no período compreendido entre maio de 2011 e agosto de 2011.

5.4. ANÁLISE LABORATORIAL

Foram coletados cinco mililitros de sangue por punção venosa de cada participante nos dois momentos da pesquisa. O sangue foi imediatamente centrifugado a 4000 rpm por 10 minutos, e o soro congelado a -80°C até ser analisado. Níveis séricos de BDNF foram dosados em duplicata por *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) - sanduíche, usando kits comerciais segundo instruções do fabricante (Millipore, USA). Resumidamente, placas com 96 poços pré-sensibilizadas com anticorpo de captura foram incubadas durante 24h com as amostras diluídas (1:50) em diluente específico e com a curva padrão. Após, os poços foram lavados quatro vezes com tampão de lavagem e incubados com anticorpos monoclonais de coelho anti-BDNF diluídos 1:1000 por 3h a temperatura ambiente. Após mais uma lavagem, foi feita uma incubação com estreptavidina conjugada com biotina diluída 1:1000, e foi feita uma incubação de 1h a temperatura ambiente. Depois da adição de substrato e solução de parada, a quantidade de BDNF foi determinada por leitura de absorbância a 450 nm. A curva padrão demonstrou uma relação direta entre densidade óptica e concentração de BDNF. Proteínas totais foram dosadas pelo método de Lowry usando albumina bovina como padrão, e foram utilizadas na normalização dos resultados do BDNF (para uma concentração final em pg de BDNF/ug de proteína total). Os ensaios foram realizados junto ao laboratório de psiquiatria, do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada usando *Statistical Product and Service Solutions 18.0 Version* (SPSS) (Chicago, IL). A normalidade das variáveis foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilks. As variáveis contínuas foram expressas como média \pm desvio padrão ou mediana e intervalo interquartilico (percentis 25 e 75), conforme apresentassem ou não distribuição normal. Para as variáveis categóricas foram utilizadas as frequências absolutas (n) e relativas (%). Para a comparação das variáveis assimétricas foram empregados os testes de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney. As variáveis com distribuição normal foram comparadas pelo teste *t* de Student e pela Análise de Variâncias (ANOVA). Coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para avaliar possíveis associações entre duração da amamentação e variáveis clínicas. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

6. ASPECTOS ÉTICOS

Todos os responsáveis pelos participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo A) previamente ao estudo.

Este estudo abrangeu os princípios bioéticos de autonomia, beneficência, não-maleficência, veracidade e confidencialidade, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob o protocolo de número 100-390.

7. LOGÍSTICA

A pesquisadora responsável de posse do banco de dados da pesquisa anterior entrou em contato com os participantes através de contato telefônico, roteiro telefonema (Anexo C) e quando não encontrados por meio de cartas (Anexo D), para convidá-los a dar continuidade na pesquisa, agendando uma data para a realização da assinatura do novo termo de consentimento, preenchimento de um questionário, antropometria e coleta de nova amostra de sangue, realizada no Centro de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

As amostras de sangue da primeira coleta para dosagem plasmática de BDNF estavam armazenadas em laboratório, em temperatura -80 C. Os responsáveis pela determinação da concentração de BDNF foram cegados em relação às amostras analisadas.

8. CARTA AO EDITOR

8.1 VERSÃO EM INGLÊS

Manuscript was submitted to Revista Brasileira de Psiquiatria on 11.12.2012.

Breastfeeding duration is not associated with BDNF levels in childhood and adolescence

Juliana Silveira Andrade,^{1,2} Maria Inês de A. Wilasco,³ Cristina Toscani Dornelles,^{3,4} Clarissa S Gama,^{1,2} Adriane R Rosa^{1,2}

¹Laboratory of Molecular Psychiatry and INCT for Medicine Translational, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

²Medicine Postgraduation Program: Psychiatry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

³Medicine Postgraduation Program: Health of Children and Adolescents, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

⁴Nutrition and Dietetic Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil.

Dear editor,

Maternal milk supplies nutrients needed for the quick development of the brain, thereby improving the neurological function of the infant¹. The World Health Organization advocates that infants must be exclusively breastfed up to six months of age, since most grow within standards of normality and are healthy.

The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a neurotrophin abundantly present in the brain and peripheral tissue that plays an important role in neuron survival, structure and function². Studies demonstrate that breastfeeding may trigger the secretion of BDNF,

which must contribute to the development of the infant³.

The goal of this study is to evaluate the serum levels of BDNF in children depending on the duration of breastfeeding.

Thirty-seven healthy children were recruited from the pediatric outpatient clinic, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), and monitored for a period of approximately four years (3.32 ± 0.74). Nutritional evaluation, anthropometric measures and socio-demographic data were collected for all participants. Five milliliters of venous blood was collected from each child on two evaluations. Serum BDNF levels were measured by a sandwich ELISA, in accordance with the manufacturer's instructions (Millipore, USA).

The study was approved by the Hospital de Clínicas e Porto Alegre (HCPA) Research and Ethics Committee and a Free Informed Consent Form was obtained from all responsible parties.

Our results show that serum BDNF levels were increased among in the groups of children breastfed for < 6 months compared to those breastfed for ≥ 6 months, at the baseline visit. However, this difference disappeared over time (after four years), which suggests a lack of association between breastfeeding time and BDNF levels in the long term. There was no difference in relation to gender, age and race between the two groups (see Table 1).

Few investigators have evaluated the relationship between BDNF and breastfeeding. In a recent study conducted by Nassar et al., (2011)⁴, with 4-6-month-old children, the authors showed a positive association between breastfeeding time and BDNF concentrations. The disagreement between these results and ours is probably due to methodological differences, particularly regarding the age of the children under study. On the other hand, other neurochemical mechanisms must be involved in the benefits provided by breastfeeding. For example, long-chain polyunsaturated fatty acids seem to be one of the biological factors present in maternal milk¹. These fatty acids, especially Omega-3, play a key role in central nervous system formation and the prevention of psychopathology⁵.

Further studies are needed to investigate the relationship between breastfeeding and biomarkers in the long term.

Table 1. Characteristics of the sample

	<6 months (n =12)	≥6 months (n = 25)	p-value
Gender			0.487
Male	5 (41.70)	15(60.00)	
Female	7 (58.30)	10(40.00)	
Race			1.00
Caucasian	9 (75.00)	20 (80.00)	
Not caucasian	3 (25.00)	5 (20.00)	
Age (years)			
Baseline	6.09 ± 3.17	5.92 ± 3.10	0.877
Follow-up visit	9.96 ± 3.45	9.64 ± 3.31	0.786
BDNF levels			
Baseline	34.74 ± 11.38	28.50 ± 9.06	0.044
Follow-up visit	36.89 ± 10.09	35.91 ± 12.12	0.770

Data were expressed as mean ± standard deviation, median (P25 - P75) or absolute number (%) when indicated.

References

- 1- Nobre EB, Issler H, Ramos JLA, Grisi SJFE. Aleitamento materno e desenvolvimento neuropsicomotor: uma revisão da literatura. *PEDIATRIA* 2010;32(3):204-10.
- 2- Viberg H; Mundy W; Eriksson P. Neonatal exposure to decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) results in change in BDNF, CaMKII and GAP-43, biochemical substrates of neuronal survival, growth, and synaptogenesis. *Neurotoxicology* 2008; 29(1):152-159.
- 3- Gomez-Pinilla F, Vaynman S. A deficient environment in prenatal life may compromise systems important for cognitive function by affecting BDNF in the hippocampus. *Experimental Neurology* 2005; 192(2):235–24.3.
- 4- Nassar MF, Younis NT, El-Arab SE, Fawzi FA. Neuro-developmental Outcome and Brain Derived Neurotrophic Factor Level in Relation to Feeding Practice in Early Infancy. *Matern Child Nutr.* 2011; 7(2):188-97.
- 5- Gama CS, Canever L, Panizzutti B, Gubert C, Stertz L, Massuda R, Pedrini M, de Lucena DF, Luca RD, Fraga DB, Heylmann AS, Deroza PF, Zugno AI. Effects of omega-3 dietary supplement in prevention of positive, negative and cognitive symptoms: A study in adolescent rats with ketamine-induced model of schizophrenia. *Schizophr Res.* 2012;14(2):162-167.

8.2 VERSÃO EM PORTUGUÊS

Submetido a Revista Brasileira de Psiquiatria em 11.12.2012.

A duração do aleitamento materno não está associada com níveis de BDNF em crianças e adolescentes

Juliana Silveira Andrade,^{1,2} Maria Inês de A. Wilasco,³ Cristina Toscani Dornelles,^{3,4} Clarissa S Gama,^{1,2} Adriane R Rosa^{1,2}

¹Laboratório de Psiquiatria Molecular e INCT por Medicina Translational, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

²Programa de Pós graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

³Programa de Pós graduação em Ciências Médicas: Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

⁴Serviço de Nutrição e Dietética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil.

Caros editores,

O leite materno fornece nutrientes necessários para o rápido desenvolvimento do cérebro, melhorando assim, a função neurológica dos latentes¹. É preconizado pela Organização Mundial de Saúde que as crianças devem ser exclusivamente amamentadas até os seis meses de idade, haja visto que a maioria delas cresce dentro dos padrões de normalidade e são saudáveis.

O *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) é uma neurotrofina presente de forma abundante no tecido cerebral e periférico, e exerce um importante papel na sobrevivência, estrutura e função neuronal². Estudos demonstram que a lactação pode desencadear a secreção de BDNF, o que deve contribuir para o desenvolvimento do lactente³.

O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis séricos de BDNF em crianças amamentadas conforme a duração do aleitamento materno.

Trinta e sete crianças saudáveis foram recrutadas do ambulatório de pediatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e reavaliadas após um período de aproximadamente quatro anos ($3,32 \pm 0,74$). Avaliação nutricional, medidas antropométricas e os dados sócio-demográficos foram coletados para todos os participantes. Cinco mililitros de sangue venoso de cada criança nas duas avaliações. Os níveis séricos de BDNF foram medidos por ELISA sanduíche, de acordo com as instruções do fabricante (Millipore, EUA).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nossos resultados mostraram os níveis séricos de BDNF elevados no grupo de crianças amamentadas por < 6 meses quando comparado com o grupo amamentado por ≥ 6 meses, na primeira avaliação. No entanto, esta diferença desapareceu com o passar do tempo (após quatro anos), sugerindo uma falta de associação entre o tempo de aleitamento materno e os níveis de BDNF em longo prazo. Não houve diferença em relação ao sexo, idade e raça entre os dois grupos (ver Tabela 1).

Poucos estudos avaliaram a relação entre BDNF e amamentação. Em um recente estudo conduzido por Nassar *et al.*, (2011)⁴ com crianças de 4-6 meses de idade, os autores mostraram uma associação positiva entre o tempo de aleitamento materno e as concentrações de BDNF. Provavelmente, a divergência entre estes resultados e o nosso se deva a diferenças metodológicas, particularmente no que se refere a idade das crianças analisadas. Por outro lado, outros mecanismos neuroquímicos devem estar envolvidos nos benefícios oferecidos pela amamentação. Por exemplo, os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa parecem ser um dos fatores biológicos presentes no leite materno¹. Estes ácidos graxos, principalmente o ômega-3 exerce um papel fundamental na formação do Sistema Nervoso Central e prevenção de psicopatologia⁵.

Futuros estudos são necessários, para investigar a relação entre o tempo de aleitamento materno e biomarcadores em longo prazo.

Tabela 2. Características da amostra

	<6 meses (n =12)	≥6 meses (n = 25)	Valor de p
Sexo			0,487
Masculino	5 (41,70)	15(60,00)	
Feminino	7 (58,30)	10(40,00)	
Raça			1,00
Caucasiano	9 (75,00)	20 (80,00)	
Não caucasiano	3 (25,00)	5 (20,00)	
Idade (anos)			
Coleta inicial	6,09 ± 3,17	5,92 ± 3,10	0,877
Coleta seguimento	9,96 ± 3,45	9,64 ± 3,31	0,786
Níveis de BDNF			
Coleta inicial	34,74 ± 11,38	28,50 ± 9,06	0,044
Coleta seguimento	36,89 ± 10,09	35,91 ± 12,12	0,770

Os dados foram expressos como média ± desvio padrão, mediana (P25 - P75) ou número absoluto (%) quando indicado.

Referências

- 1- Nobre EB, Issler H, Ramos JLA, Grisi SJFE. Aleitamento materno e desenvolvimento neuropsicomotor: uma revisão da literatura. *PEDIATRIA* 2010;32(3):204-10.
- 2- Viberg H; Mundy W; Eriksson P. Neonatal exposure to decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) results in change in BDNF, CaMKII and GAP-43, biochemical substrates of neuronal survival, growth, and synaptogenesis. *Neurotoxicology* 2008; 29, 152-159.
- 3- Gomez-Pinilla F, Vaynman S. A deficient environment in prenatal life may compromise systems important for cognitive function by affecting BDNF in the hippocampus. *Experimental Neurology* 192; 2005, 235 – 24.3.
- 4- Nassar MF, Younis NT, El-Arab SE, Fawzi FA. Neuro-developmental Outcome and Brain Derived Neurotrophic Factor Level in Relation to Feeding Practice in Early Infancy. *Matern Child Nutr.* 2011; 7(2):188-97.
- 5- Gama CS, Canever L, Panizzutti B, Gubert C, Stertz L, Massuda R, Pedrini M, de Lucena DF, Luca RD, Fraga DB, Heylmann AS, Deroza PF, Zugno AI. Effects of omega-3 dietary supplement in prevention of positive, negative and cognitive symptoms: A study in adolescent rats with ketamine-induced model of schizophrenia. *Schizophr Res.* 2012;14(2):162-167.

9. RESULTADOS

As características gerais da amostra estão resumidas na Tabela 1. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos quanto ao sexo ($p = 0,487$) e em relação à idade na coleta basal ($p = 0,877$). Também não encontramos diferença quanto aos anos de repetência escolar entre os grupos ($p = 1,00$).

A tabela 2 mostra a duração do aleitamento materno entre os grupos, chamando a atenção que somente 32,4% do grupo amamentado por ≥ 6 meses, seguia a recomendação da OMS, ou seja, foram exclusivamente amamentados por 6 meses.

Em relação aos níveis séricos de BDNF, nossos resultados mostraram que crianças amamentadas por < 6 meses apresentaram maiores níveis séricos de BDNF que o grupo amamentado por ≥ 6 meses na T0 ($34,74 \pm 11,38$ vs. $28,50 \pm 09,06$; $p = 0,044$). No entanto, esta diferença desapareceu ao longo dos quatro anos de seguimento na T1 ($36,89 \pm 10,09$ vs. $35,91 \pm 12,12$; $p = 0,770$) (Figura 4).

O grupo amamentado por < 6 meses apresentou IMC superior àqueles amamentados por ≥ 6 meses ($p = 0,007$). Assim como os valores de média e desvio padrão utilizando medidas de Z score do IMC na T0 apresentaram uma tendência de serem maiores no grupo amamentado por < 6 meses ($p = 0,053$) (Figura 3). Na T1, houve um aumento significativo do Z score do IMC no grupo amamentado por < 6 meses quando comparado com ≥ 6 meses ($p = 0,037$). Analisando separadamente os grupos, não houve diferenças na mediana e intervalo interquartil de Z score do IMC entre a T0 e T1 tanto no grupo com < 6 meses de amamentação $0,575$ ($-0,43$; $0,98$) vs. $0,965$ ($0,03$; $1,82$; $p = 0,071$) quanto no grupo amamentado por ≥ 6 meses $-0,270$ ($-0,675$; $0,695$) vs. $0,130$ ($-0,375$; $0,625$; $p = 0,013$).

Tabela 1. Características da Amostra

	< 6 Meses (n =12)	≥ 6 Meses (n = 25)	Valor de p
Gênero			0,487
Masculino	5 (41,70)	15(60,00)	
Feminino	7 (58,30)	10(40,00)	
Idade (anos)			
Coleta Inicial	6,09 ± 3,17	5,92 ± 3,10	0,877
Coleta Seguimento	9,96 ± 3,45	9,64 ± 3,31	0,786
Tempo acompanhamento (anos)	3,87 ± 0,64	3,72 ± 0,64	0,508
Raça			1,00
Caucasiano	9 (75,00)	20 (80,00)	
Não Caucasiano	3 (25,00)	5 (20,00)	
*IMC para a idade			
Coleta Seguimento	19,11 ± 2,39	16,96 ± 1,72	0,007
Z escore (IMC)			
Coleta inicial	0,35 ± 0,68	-0,17 ± 0,76	0,053
Coleta Seguimento	0,84 ± 1,04	0,15 ± 0,82	0,037
Repetência escolar	2 (16,70)	5 (20,00)	1,00

*IMC (*índice de massa corporal*)

Os dados foram expressos como média ± desvio padrão, mediana (P25 - P75) ou número absoluto (%) quando indicado.

Tabela 2. Frequência da duração do aleitamento materno na amostra estudada.

	Mediana	P25-P75	Mín-Máx.
AM (meses)	10	4,5 - 24	0 - 60
AME (meses)	4	1,5 - 5,5	0 - 8

Os dados de aleitamento materno (AM) e aleitamento materno exclusivo (AME) foram expressos em mediana (P25 - P75).

Figura 3

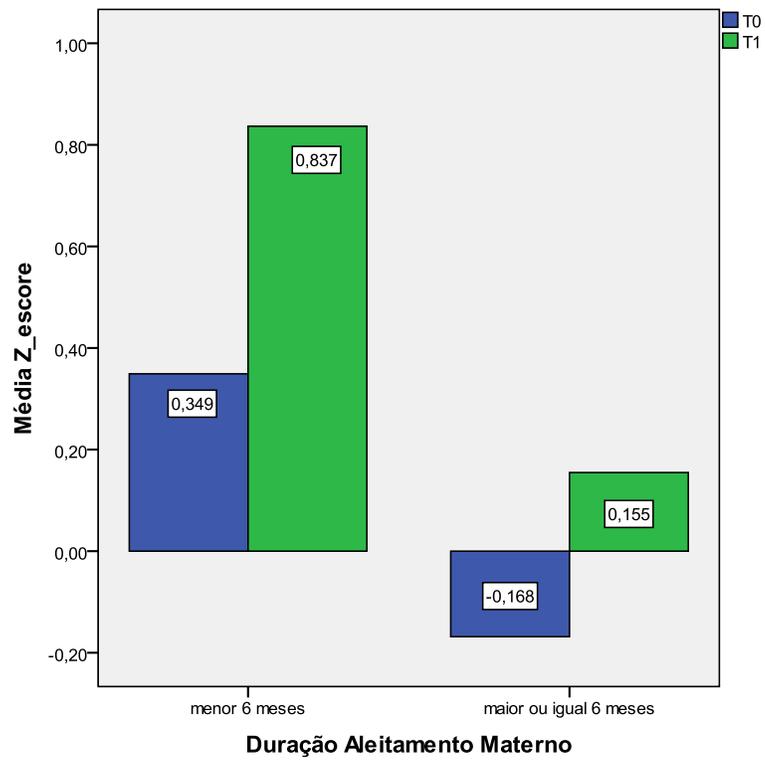


Figura 3. Duração do aleitamento materno e valores de Z_escore no T0 e T1.

Os dados são apresentados com a média.

Figura 4

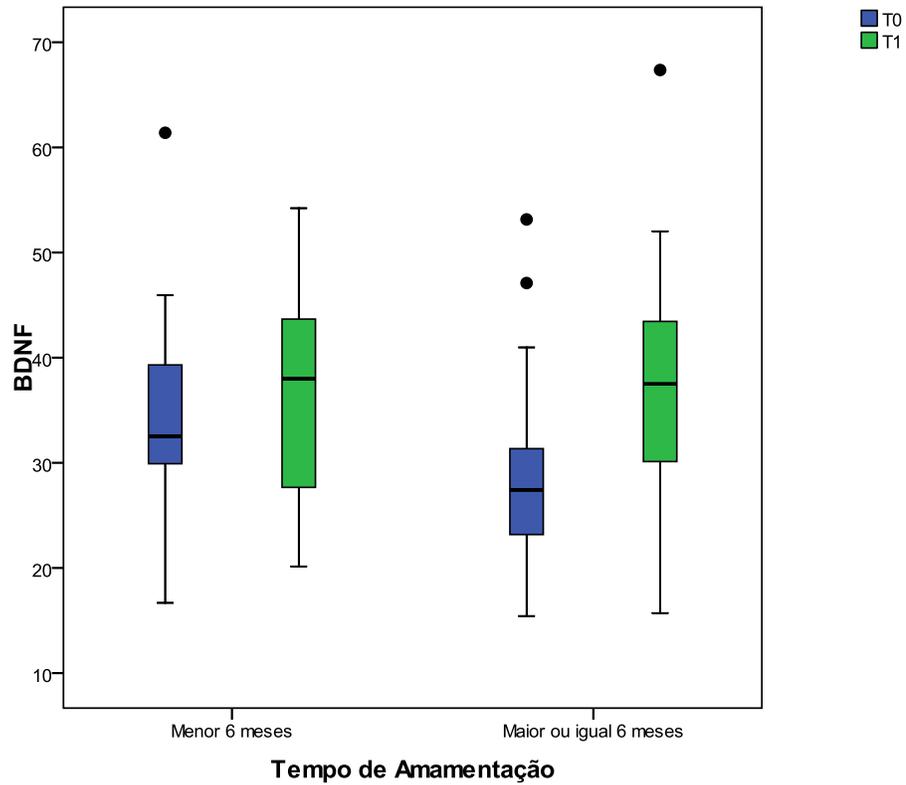


Figura 4. Box-Plot dos níveis séricos de BDNF conforme a duração do aleitamento materno nos dois momentos de coleta (T0 e T1).

Os dados são apresentados como mediana (25-75 Intervalo Interquartil).

10. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados mostraram um aumento dos níveis séricos de BDNF no grupo amamentado por < 6 meses comparado com o grupo amamentado por \geq 6 meses, na coleta basal. No entanto, esta diferença desapareceu com o passar do tempo (T1). Estes resultados não confirmam nossa hipótese inicial de que o BDNF poderia ser um dos mecanismos neuroquímicos em longo prazo envolvidos no processo de aleitamento materno. Diferentemente dos nossos achados, Nassar *et al.*, 2011 mostrou que as concentrações de BDNF aumentavam com a maior duração do aleitamento em uma amostra de crianças de 4-6 meses de idade. É possível que a divergência entre esses resultados e o nosso se deva à diferença de idade da amostra analisada, já que nosso estudo foi realizado com crianças com uma média de idade em T0 $5,97 \pm 3,08$ e em T1 $9,74 \pm 3,11$ anos.

Poucos estudos tem avaliado a associação do BDNF com o aleitamento materno. Conforme já relatado anteriormente, Li *et al.*, 2011 demonstraram a presença do BDNF no leite de mulheres lactantes, indicando que esta neurotrofina é um dos fatores bioativos do leite materno. Embora a sua exata função no leite ainda não esteja clara, estes achados sugerem que a função fisiológica dessa citocina possivelmente inclui um papel trófico.

Estudos avaliando o desenvolvimento cognitivo de crianças prematuras, mostraram vulnerabilidade da nutrição precoce, onde as crianças amamentadas apresentaram QI elevado comparadas as que utilizaram fórmula infantil (Lucas *et al.*, 1992; Jacobson *et al.* 1999; Kramer *et al.*, 2008).

Revisando a literatura, encontramos outros fatores biológicos que parecem estar relacionados com os benefícios da amamentação, tais como: são os ácidos graxos poliinsaturado de cadeia longa (Lanting *et al.*, 1994). Ressaltando, nos achados de Makrides *et al.*, 1994 e Farquharson *et al.*, 1995, observaram um aumento significativo de PUFAS no córtex cerebral de crianças amamentadas comparando com aquelas alimentadas com fórmula infantil, o que estava diretamente relacionado com a duração do aleitamento materno. Recentemente, nosso grupo mostrou que os PUFAS, principalmente o ômega-3, exerce um papel fundamental na formação do SNC, agindo como protetor cerebral (Gama *et al.*, 2012). Nutrientes também importantes para o desenvolvimento do

recém-nascido são os fatores de crescimento neuronal (células gliais - fator neurotrófico derivado da linha, NT-3, e NT-4). Eles atuam no desenvolvimento do sistema nervoso entérico do lactente, e, possivelmente, também para o desenvolvimento adequado do SNC (Li *et al.*, 2011).

Nosso estudo também mostrou que a duração do aleitamento materno foi associada a um menor ganho de peso da criança. Estes dados são consistentes com a literatura que tem demonstrado que com a maior duração do aleitamento materno, menor é o IMC (Kramer, 1981; Birch e Fisher, 1998; Balaban *et al.*, 2004; Onis e Victoria, 2004; Kvaavik *et al.*, 2005). Ambos os comportamentos alimentares adquiridos pelo lactente assim como os efeitos metabólicos podem contribuir para a associação inversa observada do aleitamento materno e sobrepeso em crianças (Liese *et al.*, 2001). Existem várias hipóteses que explicam os benefícios da amamentação na prevenção da obesidade na infância. Uma delas está relacionada com a densidade, indicando que o leite materno apresenta uma menor densidade de energia em comparação com fórmulas, o que permite que o lactente apresente um melhor auto-controle de ingestão de energia alimentar (Toschke *et al.*, 2002). Em contraste com os lactentes alimentados no peito que podem precisar ativamente mamar, crianças alimentadas com fórmula têm maior probabilidade de ser passivo na alimentação. Acredita-se que o controle dos cuidadores possa prejudicar a capacidade dos bebês de auto-regulação, dos indícios internos de fome e saciedade. Embora, mais trabalhos precisem ser realizados, as evidências epidemiológicas sugerem que a amamentação contribui enormemente para a prevenção da obesidade.

A interpretação dos resultados do presente estudo deveria levar em consideração algumas limitações, tais como: a) o erro do tipo II, pelo reduzido tamanho da amostra, podendo ter comprometido os resultados; b) níveis de BDNF terem sido dosados no soro e não no cérebro, apesar de que as mudanças dos níveis de BDNF no SNC e líquido cefalorraquidiano podem ser acompanhadas por alterações dos níveis de BDNF no soro; c) a falta de instrumentos para avaliar a cognição ou o neurodesenvolvimento na infância, para buscar entender melhor a relação entre BDNF e aspectos do desenvolvimento.

Concluindo, os resultados do nosso estudo mostraram semelhanças entre os níveis séricos de BDNF medidos em longo prazo, entre crianças amamentadas por mais ou menos de 6 meses. Isto sugere que outros mecanismos neuroquímicos devam estar

envolvidos com os benefícios associados com o tempo de aleitamento materno a longo prazo. No entanto, os efeitos benéficos da amamentação por pelo menos seis meses sobre o IMC, e conseqüentemente, sobrepeso e/ou obesidade ficou evidente neste estudo. Em suma, o aleitamento materno deve ser a primeira escolha de alimentação para recém-nascidos, devendo as mães serem encorajadas a amamentar por pelo menos 6 meses. Futuros estudos são necessários, para investigar a relação entre o tempo de aleitamento materno e outros biomarcadores em longo prazo.

11. ANEXOS

ANEXO A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ANEXO 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nome do estudo: CONCENTRAÇÃO DO FATOR NEUROTROFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES SAUDÁVEIS E DESMAME PRECOCE

Instituição: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Pesquisadores responsáveis: Dra. Clarissa Severino Gama, Dra Cristina Toscani Leal Dornelles e Nutricionista Juliana Silveira Andrade

Telefone para contato: (51) 3359-8845, Dra Clarissa, (51) 9626-8883 - Dra Cristina, (51) 9974-9781 - Nutricionista Juliana; (51) 3359-8000 – HCPA e (51) 3359-8304 –CEP.

1. Justificativa e objetivo deste estudo:

O BDNF é uma neurotrofina, proteína mais abundante do cérebro, considerada uma proteína muito importante para doenças psiquiátricas. Esta proteína desempenha papéis na proteção, funcionamento e reparação do Sistema Nervoso. Além disso, também tem sido estudada na regulação do peso corporal e na ingestão alimentar. Pelo exame de sangue podemos saber se essa proteína está diminuída ou não no organismo.

A proposta deste estudo é medir no sangue a concentração desta proteína, (BDNF) e verificar informações quanto à amamentação e desmame precoce.

2. Procedimento:

Será coletado 2ml de sangue para uma nova dosagem do BDNF das crianças que participaram da pesquisa anterior (grélina e leptina) no ambulatório do Serviço de Pediatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, e assinarem o TCLE. Também será verificado o peso e o comprimento ou estatura dos participantes.

Uma via deste documento será fornecida ao participante.

3. Possíveis riscos e desconfortos:

Os riscos e desconfortos são aqueles associados à coleta de sangue de rotina: dor ou sintomas locais de desconforto.

4. Possíveis benefícios deste estudo:

O entendimento da neurotrofina mais abundante do cérebro (BDNF) que age principalmente no Sistema Nervoso Central, atua também na regulação do peso corporal, e uma possível proteção do aleitamento materno mantendo a concentração do BDNF elevado, o que poderá trazer benefícios futuros.

5. Direito de desistência:

A participação no estudo é inteiramente voluntária, podendo desistir de participar em qualquer momento, sem prejuízos no atendimento médico e nutricional.

HCPA / GPPG
VERSÃO APROVADA
03/07/2010
300390 TKV

6. Confidencialidade:

As informações e identidade das crianças e dos pais serão consideradas, confidenciais e utilizadas apenas com finalidade científica.

7. Perguntas:

Uma das pesquisadoras responsável discutiu as informações e ofereceu-se para responder perguntas e/ou dúvidas. No decorrer do estudo, poderei contatá-la no fone: 9974-9781 (Juliana).

8. Consentimento:

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa.

Autorizo o armazenamento do sangue coletado por até 5 anos.

Será aplicado um novo TCLE no caso de uma nova pesquisa com o material armazenado (conforme resolução 347/2005).

Só serão realizadas outras pesquisas, após aprovação da Comissão de Ética e Pesquisa.

() SIM () NÃO

ASSINATURA DO(A) RESPONSÁVEL PELA CRIANÇA: _____

Assinatura do(a) participante (acima 7 anos):

Assinatura do investigador responsável:

Porto Alegre, __/___/___

HCPA / GPPG
VERSÃO APROVADA
03/DEZ/2010
100390 TAV

ANEXO B

Questionário

1. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO:

Ficha nº: _____ G/L: _____

Nome do paciente: _____

Nome do responsável: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____ Estado: _____

Telefones de contato: _____

Data de nascimento: _____ Idade: _____ Escolaridade: _____ Série: _____

Repetência escolar: () SIM () NÃO

Data 1ª coleta (T0) _____

Data 2ª coleta (T1) _____

2- AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Peso ao nascer: _____ Kg Estatura do nasc.: _____

Nota apgar: 1º minuto: _____ 5º minuto: _____

a) Como você avalia o peso de seu filho hoje? _____

Peso Atual: _____ Kg Estatura: _____ cm IMC: _____ Kg/m²

	Percentil	Escore-Z
P/E		
P/I		
E/I		

Classificação do estado nutricional: _____

3- ALEITAMENTO MATERNO:

a) Seu filho foi amamentado? () sim () não

b) Até que idade seu filho recebeu aleitamento materno exclusivo, isto é, até que idade (dias/meses) recebeu apenas leite materno como único alimento? _____

() 0 – 1 meses () 2 – 3 meses () 4 - 5 meses () ≥ 6 meses

c) Com qual idade seu filho deixou de mamar no peito?

Introdução da alimentação complementar	Idade em que recebeu pela 1ª vez
Água e/ou Chás	
Suco e/ou Fruta	
Leite de vaca	
Fórmulas 1º semestre (Aptamil®, Nestogeno®, NAN®, entre outras.)	
Alimentação da família	

d) Seu filho foi amamentado no momento da coleta do trabalho anterior? () Sim () Não

4 DADOS CLÍNICOS :

a) Seu filho apresenta alguma doença? () sim () não, qual? _____

b) Algum problema psiquiátrico (doença dos nervos)? () sim () não - Qual? _____

c) Utilizando alguma medicação? () sim () não - Qual? _____

d) Seu filho ou alguém na família utiliza alguma substância química (drogas como álcool, crack)?

() sim () não - Qual? _____ Com que frequência? _____

ANEXO C

Roteiro telefonema:

Bom dia ou Boa tarde!

Meu nome é _____(Juliana/ Cristina) sou nutricionista e estou fazendo um contato telefônico com os familiares e/ou responsáveis das crianças que participaram de uma pesquisa no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a qual avaliou o peso e altura e dosou no sangue do seu filho os hormônios da fome e do apetite (grelina e leptina). Gostaria de agendar um dia e horário para dar o retorno dos resultados obtidos nesse estudo e os valores desses hormônios no sangue de seu filho.

Nesse dia também iremos convidá-los a participar de uma nova pesquisa e a responder um questionário sobre a amamentação, desmame e a realizar uma nova avaliação do peso e altura. A nova pesquisa é muito importante na aquisição de novos conhecimentos sobre relação da amamentação com a inteligência e o aprendizado das crianças. Estarei à disposição para esclarecer todos os detalhes e dúvidas que possam surgir.

A participação é totalmente voluntária, ficando os responsáveis e a criança livres para decidir se irão ou não participar. E não afetará em nada se possivelmente seu filho (a) estiver em tratamento no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Agradecemos sua atenção, obrigada!

ANEXO D

Carta chamamento

Prezado responsável _____

Estamos entrando em contato com os familiares e/ou responsáveis das crianças que participaram de uma pesquisa no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a qual avaliou o peso e altura e dosou no sangue do seu filho os hormônios da fome e do apetite (grelina e leptina). Gostaria de agendar um dia e horário para dar o retorno dos resultados obtidos nesse estudo e convidá-los a participar de uma nova pesquisa e a responder a um questionário sobre amamentação e realizar uma nova avaliação do peso e altura. A nova pesquisa é muito importante na aquisição de novos conhecimentos sobre relação da amamentação com a inteligência e desenvolvimento das crianças. Estaremos à disposição para esclarecer todos os detalhes e dúvidas que possam surgir.

A participação é totalmente voluntária, ficando os responsáveis e a criança livres para decidir se irão ou não participar.

Tentamos fazer novo contato telefônico, porém os números que constam no prontuário de seu filho não estão atualizados, pedimos a gentileza que entre em contato pelo telefone – número: 99749781 (nutricionista Juliana), para agendarmos um dia para a participação dessa nova pesquisa. Ou responda esta carta com um número de telefone atual para o endereço abaixo, que entraremos em contato:

Para: Laboratório de Psiquiatria Molecular HCPA – A/C: Juliana Andrade
Endereço: Av. Ramiro Barcelos, 2350 – Porto Alegre-RS - CEP: 90035-903

Agradecemos sua atenção, obrigada!