

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DO GLUTAMATO

O GLUTAMATO NO LEITE MATERNO E NO DESENVOLVIMENTO DO INTESTINO DO LACTENTE

*Manuel E. Baldeón
Nancy Flores*

1. INTRODUÇÃO

O leite materno é o alimento exclusivo e ideal para bebês até os seis meses de idade. Além dos componentes nutricionais necessários para o crescimento e desenvolvimento do lactente, contém muitos fatores bioativos que complementam os efeitos benéficos do leite materno (Castellote *et al.*, 2011). Organizações internacionais como a Organização Mundial da Saúde promovem a implementação de políticas locais, regionais e globais que favorecem a prática do aleitamento materno (OMS, 2003). A estratégia global que apoia o aleitamento materno está baseada em muitos estudos científicos de vários anos sobre este tema (OMS, 2003).

O leite materno fornece ao lactente alimento e proteção imunológica a baixo custo em ambiente seguro. A composição nutricional do leite materno (carboidratos, lipídios, proteínas, vitaminas, minerais e água) é feita para suprir as demandas nutricionais durante os primeiros meses de vida. A composição do leite em cada espécie é específica, o que significa que leites de outras espécies de mamíferos não são adequados para o consumo humano. O leite bovino, por exemplo, não é recomendado até que o bebê tenha um ano de idade.

O leite materno contém componentes imunomoduladores que não estão presentes em nenhuma das fórmulas infantis disponíveis atualmente. Os componentes imunes do leite materno protegem o bebê de infecções e modulam a resposta imune intestinal, limitando o processo inflamatório a “alimentos exógenos”, assim como também à microbiota intestinal (Riveron, 1995). Além disso, contém componentes humorais e celulares cuja função é proteger o lactente de micro-organismos externos: bactérias, vírus e parasitas (Riveron, 1995). O leite materno possui uma variedade de aminoácidos e fatores de crescimento que regulam o desenvolvimento da mucosa intestinal, sua função de barreira contra elementos externos e a resposta imune na mucosa do lactente (Lønnerdal, 2003). Assim, a alimentação do lactente durante os primeiros seis meses de vida com outro alimento diferente do leite materno o priva de sua apropriada nutrição e o põe em risco de desnutrição e infecções (Zinkernagel, 2001); ou seja, o aleitamento materno assegura o crescimento e desenvolvimento normal dos lactentes.

2. COMPOSIÇÃO DO LEITE MATERNO

As secreções que se produzem na glândula mamária têm uma composição que se modifica e se ajusta às necessidades do lactente durante seu crescimento nos primeiros meses de vida. O fluido que começa a ser produzido na proximidade do parto se denomina colostro e é produzido até os primeiros sete dias depois do nascimento. Depois desse período, esse fluido muda de consistência e composição e passa a ser denominado leite de transição, produzindo-se por aproximadamente quinze dias, tempo a partir do qual a glândula mamária produz leite maduro (Lawrence, 2007).

Nascimento				
Semanas	1	2	3	
	Colostro	Transição	Maduro	Desmame

O colostro é um fluido espesso e amarelado que fornece, aproximadamente, 67 Kcal/100 mL. A Tabela 6.1 resume as mudanças que ocorrem ao longo do tempo na composição das secreções mamárias, incluindo o colostro. O colostro tem altas concentrações de aminoácidos livres, proteínas e imunoglobulinas (Ig), é rico em vitaminas lipossolúveis como A e E, e seu conteúdo é pobre em lipídeos e lactose. O colostro facilita a expulsão do mecônio, fornece

à criança abundantes anticorpos e antioxidantes e inicia o estabelecimento da microbiota intestinal.

Tabela 6.1 – Composição e volume das secreções da glândula mamária no primeiro mês após o parto

Composição	Dias pós-parto						
	1	2	3	4	5	14	28
Proteínas (g/dL)	32	17	12	11	11	8	9
Lípidios (g/dL)	12	15	20	25	24	23	29
Carboidratos (lactose) (g/dL)	20	25	31	32	33	35	35
Volume (mL/dia)	50	190	400	625	700	1.100	1.250

Fonte: tabela modificada de Lawrence, 2007.

O leite materno de transição é produzido depois do colostro por aproximadamente duas semanas. Nesse leite, as concentrações de lactose, lipídios e vitaminas hidrossolúveis aumentam e os níveis de imunoglobulinas, proteínas e vitaminas lipossolúveis diminuem (Tabela 6.1). O leite que se produz depois desse período se chama leite maduro, aportando aproximadamente 75 Kcal/100 mL. Sua composição é bastante estável (Tabela 6.2).

Tabela 6.2 – Composição do leite materno maduro

	COMPONENTES	CONTEÚDO
Fase Aquosa		
Solução aquosa e soro	Ca, Mg, Na, K, Cl, fosfatos, citrato, caseína, α -lactoalbumina, lactoferrina, IgA, lisozimas, seroalbumina, lactose, oligossacarídeos, nitrogênio não proteico: glucosamina, ureia, glutamato, vitaminas do complexo B, ácido ascórbico	87%
Fase coloidal	Caseínas, Ca, fosfatos	0,30%
Emulsão: glóbulos de gordura	Triglicérides, ésteres do colesterol	4%
Interfase: membrana dos glóbulos de gordura	Proteínas, fosfolipídios, colesterol, enzimas, oligoelementos, vitaminas lipossolúveis	2%
Células	Macrófagos, neutrófilos, linfócitos, células epiteliais	1 x 10 ⁶ /mL
Macronutrientes (g/L)	Carboidratos	72
	Proteínas	10
	Lipídios	39

	COMPONENTES	CONTEÚDO
Micronutrientes (mg/L)	Cálcio	280
	Cloro	420
	Magnésio	35
	Fósforo	140
	Potássio	525
Elementos traço (µg/L)	Ferro	300
	Cobre	250
	Zinco	1.200
	Iodo	110
	Cromo	50
	Manganês	6
	Selênio	20
Vitaminas (mg/L)		
Lipossolúveis	A	670 ± 200 µg/L
	D	0,55 ± 0,10 µg/L
	E	2,3 ± 1,0 g/L
	K	2,1 ± 0,10 µg/L
Hidrossolúveis	B6	93 ± 8 g/L
	B12	0,97 µg/L
	Biotina	4 ± 1,0 µg/L
	B1	0,21 ± 0,03 g/L
	Riboflavina	0,35 ± 0,02 g/L
	B3	1.500 ± 0,20 g/L
	B5	1.800 ± 0,20 g/L
	Vitamina C	40 ± 10 g/L
Folato	85 ± 37 µg/L	
Outras Proteínas (mg/L)	IgA	50-100
	IgM	2
	IgG	1
	Lactoferrina	100-300
	Lisozimas	5,0-25,0
	Lactoalbumina	200-300
	Caseína	200-300

Fonte: tabela modificada de Lawrence, 2007; e Polin *et al.*, 2004.

No leite maduro, os carboidratos e os lipídeos fornecem a maioria da energia. O leite materno é rico em ácidos graxos essenciais, e ácidos linoleico e linolênico que têm um papel importante no desenvolvimento cerebral e do sistema imune

dos lactentes (Sherman, 2000). Por outro lado, as proteínas do leite são fonte de aminoácidos e contribuem para a digestão e absorção de outros nutrientes por ação de enzimas como amilase, lipase, lactoferrina, haptocorrina e β -caseína. A maioria das proteínas presentes no leite é sintetizada na glândula mamária e outras, como a albumina, são provenientes do sangue materno.

O conteúdo proteico do leite muda com o tempo; durante os primeiros períodos de aleitamento, a concentração de proteínas está entre 14-16 g/L, enquanto que, seis meses depois do nascimento, sua concentração é de 7-8 g/L. É interessante notar que nem todas as proteínas do leite são completamente digeridas no intestino do lactente; algumas são parcialmente processadas ou mantêm sua estrutura intacta devido às importantes funções que elas cumprem no crescimento e desenvolvimento intestinal, assim como também mantêm propriedades imunológicas, como é o caso da lactoferrina e da imunoglobulina A, IgA (Ward *et al.*, 2002).

3. COMPONENTES IMUNOLÓGICOS DO LEITE MATERNO

Além de suprir as necessidades nutricionais, o leite materno promove proteção imunológica ao lactente, propriedade que tem motivado muitas pesquisas nos últimos anos (Li *et al.*, 2019). São numerosas as células e os fatores imunológicos no leite materno que promovem proteção contra infecções (Tabela 6.3). Esses componentes produzem uma cascata de efeitos que ajudam o desenvolvimento e o funcionamento do sistema imunológico do lactente (Castellote *et al.*, 2011). Estima-se que o leite materno contenha aproximadamente 1×10^6 células/mL e a maioria de suas células são polimorfonucleares e macrófagos que fagocitam e matam micróbios como *Candida*, *Clostridium difficile* e *Klebsiella* (Li *et al.*, 2019).

O segundo grupo de células mais importantes são os linfócitos, produtores de imunoglobulinas, como os linfócitos B e T; estes últimos são os mais abundantes (Tabela 6.3). Os linfócitos T do leite são células de memória que podem ser facilmente ativados. Por outro lado, os linfócitos B do leite produzem IgA, o qual protege diretamente o lactente. Outros peptídeos solúveis com atividade antimicrobiana e imunológica do leite incluem a lactoferrina, lactoperoxidase, lisozima e a N-acetil- β -D-glicosaminidase, citosinas, interferons, entre outros (Lønnerdal, 2003). O leite materno fornece agentes antimicrobianos, anti-inflamatórios e imunorreguladores que favorecem o crescimento e o desenvolvimento do recém-nascido e o protegem em longo prazo de doenças infecciosas durante a infância (Goldman, 2007).

Tabela 6.3 – Componentes imunes do leite materno

Componentes	Número aproximado ou concentrações
Células	1 x 10 ⁶ /mL
Macrófagos	75% de células mononucleadas
Linfócitos	25% de células mononucleadas
Linfócitos B: IgG, IgA, IgM	20% dos linfócitos
Linfócitos T	80% dos linfócitos
Citosinas	
Interleucinas	
IL-1b	1.130 pg/mL
IL-6	150 pg/mL
Interferons	
IFN- γ	400 ng/mL
Outros	
TNF- α	600 pg/mL

Fonte: tabela modificada de Baldeón & Gaskins, 2000.

O leite materno é o meio mais importante de imunidade passiva para o recém-nascido (Field, 2005). As proteínas do leite incrementam a função imune e inibem infecções causadas por vírus, bactérias e fungos. A IgA do leite, ao se ligar ao antígeno microbiano específico, bloqueia a sua adesão, produz fagocitose, ativa a resposta imune local e o elimina, sem afetar a colonização normal da microbiota intestinal (Castellote *et al.*, 2011). A IgA também inativa entero-toxinas e interfere com a absorção de antígenos potencialmente danosos dos alimentos, contribuindo para sua eliminação (Li *et al.*, 2019). Foram identificados IgAs no leite materno contra patógenos muito comuns, como *Haemophilus influenza*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Vibrio cholerae*.

Outra proteína com propriedades antimicrobianas de amplo espectro é a lactoferrina. Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram que a lactoferrina tem propriedades antimicrobianas contra *E. coli*, *Streptococcus*, *H. Pylori*, *S. aureus*, vírus da herpes, vírus da hepatite C, rotavírus e vírus da imunodeficiência humana (Newburg & Street, 1997). É importante considerar que a proteção imune conferida pelo leite materno ao lactente ocorre na ausência de inflamação, provavelmente devido à presença de fatores anti-inflamatórios e antioxidantes em sua composição.

As glândulas mamárias são consideradas parte do chamado tecido linfóide associado à mucosa (MALT, pela sua sigla em inglês). Semelhante a outros componentes do MALT, o epitélio da glândula mamária produz glicoproteínas e

peptídeos imunes que limitam o contato e regulam a composição da microbiota da glândula mamária (Liu & Newburg, 2013). Além disso, células-tronco epiteliais mamárias (hMSCs) foram recentemente descritas com a capacidade de dar origem a células produtoras de leite e, em teoria, provocar no lactente tolerância a antígenos maternos (Cacho & Lawrence, 2017). Atualmente, estão sendo realizados estudos para caracterizar esses hMSCs e determinar suas funções na dupla mãe-lactente.

Outro aspecto importante relacionado ao componente imune nas glândulas mamárias é a presença da microbiota da glândula. Nos últimos anos tem sido descrita a presença de bactérias anaeróbias facultativas (espécies de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterim*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*) e anaeróbias (espécies de *Bifidobacterium* e *Bacteroides*) (Gomez-Gallego *et al.*, 2016). Será importante determinar a origem da microbiota mamária, seu efeito no desenvolvimento de MALT local e a função fisiológica do lactente (ver seção 6). Esses dados demonstram que o leite materno promove várias formas de proteção imunológica ao lactente.

4. O GLUTAMATO NO LEITE MATERNO

Além dos nutrientes e dos fatores imunológicos que já foram indicados anteriormente, o leite materno contém uma proporção alta de substâncias que compreendem o chamado nitrogênio não proteico (NNP). O NNP do leite materno inclui aminoácidos livres, pequenos peptídeos, ureia, ácido úrico, íons amônio, creatina, creatinina, ácidos nucleicos, amino-açúcares, entre os mais importantes. Estudos demonstram que vários desses compostos influenciam no crescimento e desenvolvimento do intestino do lactente (Koletzko *et al.*, 1998). Estima-se que os aminoácidos livres constituem entre 3 e 5% dos aminoácidos totais do leite. A quantidade de aminoácidos no leite muda conforme o tempo: são mais abundantes no início do aleitamento, exceto o glutamato e a glutamina, cujas concentrações aumentam com o progresso da amamentação (Agostoni *et al.*, 2000a).

As concentrações de glutamato e glutamina aumentam durante o aleitamento, chegando a constituir, aproximadamente, 50% dos aminoácidos livres do leite nos três meses depois de iniciado o aleitamento (Agostoni *et al.*, 2000a). O glutamato, precursor da glutamina, é o aminoácido mais abundante do leite materno (Singh & Saxena, 2004; Spitzer, 1996). Portanto, o lactente é continuamente exposto a concentrações crescentes de glutamato e glutamina que podem ter um papel importante no desenvolvimento e manutenção do intestino e do

bem estar do bebê (Agostoni *et al.*, 2000a). As altas concentrações de glutamato e glutamina do leite materno poderiam ser benéficas para o bebê alimentado com leite materno, visto que tem um papel importante no desenvolvimento do intestino do bebê (Burrin & Stoll, 2002).

A análise de aminoácidos livres presentes no leite de humanos, outros primatas e não primatas demonstra que o glutamato é o aminoácido livre mais abundante: leite humano (1.339-2.157 $\mu\text{mol/L}$), primatas não humanos (423-2.528 $\mu\text{mol/L}$), elefantes (1.332 $\mu\text{mol/L}$), cavalos (1.119 $\mu\text{mol/L}$) e vacas (349 $\mu\text{mol/L}$) (Sarwar *et al.*, 1998). Os padrões únicos das concentrações de aminoácidos livres nas diferentes espécies de mamíferos poderiam indicar a importância relativa de alguns grupos desses compostos durante o aleitamento. As altas concentrações de ácido glutâmico livre no leite materno poderiam estar relacionadas com funções fisiológicas importantes no lactente (Neu, 2001).

Estudos dos anos 1980, delineados para determinar as concentrações de aminoácidos livres no leite de mães que haviam tido seus filhos prematuros e não prematuros, demonstraram que as concentrações de ácido glutâmico e taurina são os aminoácidos mais abundantes no leite materno (Pamblanco *et al.*, 1989). Esses estudos também indicam que o leite de mães com filhos prematuros apresenta concentrações mais altas de ácido glutâmico do que o leite de mães com filhos não prematuros. A alta concentração de glutamato tem sido, desde então, associada a importantes funções intestinais, como o metabolismo energético e maturação intestinal (Pamblanco *et al.*, 1989). Um estudo recente sobre o conteúdo de glutamina no leite materno demonstrou que esse aminoácido está presente em concentrações similares, tanto no leite de mães com filhos nascidos prematuramente quanto no leite de mães com filhos não prematuros, e isso se manteve durante todo o período de aleitamento, 4.960 vs. 5.000 $\mu\text{mol/L}$ de leite, respectivamente (Jochum *et al.*, 2006). No entanto, a concentração de glutamina livre foi aumentada no final da lactação, possivelmente para contribuir com o desenvolvimento intestinal através da disponibilidade contínua desse aminoácido (107 $\mu\text{mol/L}$ no leite de transição, para 291 $\mu\text{mol/L}$ no leite maduro). Os autores desse estudo estimaram que um recém-nascido de 3,5 kg de peso, que consuma 500 mL de leite por dia, consumiria 370 mg/dia de glutamina e a glutamina livre representa entre 5-7% da glutamina total do leite (Jochum *et al.*, 2006). Os mecanismos fisiológicos que regulam a síntese e secreção da glutamina na glândula mamária não foram, todavia, elucidados. Esse conhecimento será de muita utilidade para avaliar o impacto da glutamina na fisiologia e nos estados de doença intestinal.

Pesquisas realizadas na década de 1950 demonstraram a importância do ácido glutâmico e da glutamina na síntese das proteínas do leite (Barry, 1956). Com o uso de glutamina e glutamato radioativos, demonstrou-se que a glutamina e o glutamato presentes na caseína provinham da glutamina e do glutamato livres do plasma sanguíneo materno (Barry, 1956). Desde então, muitos estudos demonstraram que os aminoácidos do plasma materno são extraídos pela glândula mamária durante o aleitamento (Viña *et al.*, 1981). Os carbonos do glutamato e da glutamina extraídos do plasma materno são, então, utilizados para a síntese de ácidos graxos e proteínas do leite e alguns desses aminoácidos aparecem no leite como compostos livres (Viña *et al.*, 1981; Viña *et al.*, 1987; Viña & Williamson, 1981). É importante apontar que as concentrações de muitos aminoácidos livres presentes no leite materno diminuem depois de um jejum de aproximadamente 10 h (jejum durante o sono noturno), exceto as concentrações de tirosina, aspartato, asparagina, glutamato e glutamina (Viña *et al.*, 1987). Isso indicaria que, no jejum, a disponibilidade e transporte de aminoácidos livres na glândula mamária diminui, resultando em uma diminuição de aminoácidos livres no leite materno. No entanto, as concentrações de aminoácidos com funções fisiológicas importantes, como o glutamato e a glutamina, se mantêm. Isso indica que existem mecanismos locais que privilegiam a síntese e liberação de glutamato e glutamina no leite materno para não interromper a administração contínua dos mesmos ao lactente (Viña *et al.*, 1987).

Em um estudo realizado no Equador, que comparou a concentração de aminoácidos livres presentes no leite materno de mães adolescentes e adultas, verificou-se que as concentrações de glutamato, glutamina, alanina e serina livres aumentavam com o tempo de lactação nos dois grupos de estudo. As concentrações desses aminoácidos aos quatro meses de lactação tenderam a ser mais elevadas no leite de mães adultas, embora as diferenças não fossem estatisticamente significativas (Baldeón *et al.*, 2014). Da mesma forma, observou-se que a concentração de aminoácidos totais e aminoácidos não essenciais aumentam com o tempo de lactação e suas concentrações não estão relacionadas à idade das mães (Baldeón *et al.*, 2014). Os dados demonstram que a composição do leite materno não depende da idade da mãe. Um estudo recente que avaliou os níveis de aminoácidos livres totais e as concentrações de proteínas no leite materno durante os primeiros seis meses de aleitamento materno e sua possível associação com o gênero dos lactentes, constatou uma associação entre as lactentes meninas e concentrações mais elevadas de proteínas e aminoácidos totais durante os primeiros três meses de amamentação (van Sadelhoff *et al.*, 2018). Os autores concluíram que a composição dos aminoácidos no leite materno varia com o

gênero do bebê. Em um estudo de coorte realizado em mulheres equatorianas, em que foram estudadas as concentrações de aminoácidos livres no leite materno, foram verificadas concentrações significativamente mais altas de Glu 14,40 (1,35, 27,44), Gly 1,82 (0,24, 3,4), Cys 0,36 (0,03, 0,68) e Tyr 0,24 (0,02, 0,46) no leite destinado para crianças (Baldeón *et al.*, 2019). Os aminoácidos livres Glu, Gly, Cys e Tyr aumentaram com o tempo de amamentação. Nesse estudo, também foi observado que houve maiores concentrações de Glu 28,62 (1,78, 55,46) e Ala 7,16 (1,26, 13,06) no leite das crianças que tiveram um ganho de peso maior do que no leite das crianças que tiveram um menor ganho de peso. Os autores do estudo concluíram que existem diferenças nos níveis de aminoácidos livres no leite materno destinado às crianças e para aquelas que crescem mais rapidamente (Baldeón *et al.*, 2019). Mais estudos devem ser realizados sobre essa nova associação e as possíveis consequências fisiológicas dessas diferenças. Tem sido indicado que as concentrações de glutamato e glutamina ajudam no desenvolvimento das crianças após o nascimento durante o período de amamentação. Por outro lado, esses dados especificam que nem todos os leites maternos devem ser considerados iguais; portanto, o gerenciamento de bancos de leite que misturam o leite de mães jovens e adultas deve ser revisto.

Os substitutos do leite materno (fórmulas infantis) disponíveis no mercado são elaborados para imitar a composição do leite materno em seu conteúdo de macro e micronutrientes. Poucos estudos compararam a concentração de aminoácidos livres das fórmulas infantis comerciais com as concentrações desses aminoácidos no leite materno (Chuang *et al.*, 2005; Ferreira, 2003). Um desses estudos demonstrou que a concentração de aminoácidos livres do leite materno foi significativamente mais alta que a concentração desses aminoácidos em todas as fórmulas estudadas: 8.139 $\mu\text{mol/L}$ para o leite materno de bebês prematuros; 3.462 $\mu\text{mol/L}$ para o leite materno de bebês não prematuros; 720 $\mu\text{mol/L}$ para a fórmula A; 697 $\mu\text{mol/L}$ para a fórmula B; e 820 $\mu\text{mol/L}$ para a fórmula elaborada para bebês prematuros (Chuang *et al.*, 2005). Os aminoácidos essenciais e não essenciais estiveram em concentrações mais altas no leite materno do que nas fórmulas infantis (Chuang *et al.*, 2005). O estudo também demonstrou que, ainda que os aminoácidos mais abundantes no leite materno sejam o ácido glutâmico e a taurina, as concentrações desses aminoácidos nas fórmulas infantis não mantiveram esse padrão (Chuang *et al.*, 2005). A diferença na composição das fórmulas infantis, no conteúdo de aminoácidos livres como glutamato, glutamina e taurina em relação ao leite materno, poderia alterar a proteção da mucosa intestinal do lactente naqueles que se alimentam com as fórmulas infantis comerciais (Agostoni *et al.*, 2000b). Esses estudos indicam que, para que as fórmulas

infantis agora disponíveis tentem imitar a composição do leite materno, elas têm que ser reformuladas para representar melhor a composição dos aminoácidos livres presentes no leite materno. Por tanto, o leite materno é a melhor fonte de nutrição e proteção imune do lactente.

5. O GLUTAMATO DO LEITE MATERNO E O TRATO GASTROINTESTINAL DO LACTENTE

O glutamato cumpre um papel essencial no metabolismo humano (Melbourne *et al.*, 2001). É um dos aminoácidos não essenciais mais comuns existentes na natureza. É o principal componente de muitas proteínas e peptídeos da dieta e está presente basicamente em todos os tecidos do organismo. Como já discutido, também é um dos aminoácidos livres mais abundantes no leite materno. O glutamato mantém o crescimento celular, tem um papel importante no fluxo de energia entre tecidos, é um neurotransmissor excitatório no cérebro, contribui para a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico nos rins e faz parte do ciclo da ureia no fígado, é o precursor de ácidos nucleicos para a síntese do DNA, e, além disso, é o substrato mais importante para a produção de energia nas células epiteliais intestinais (Marante *et al.*, 2005; Reeds *et al.*, 2000; Albarracin *et al.*, 2016).

No intestino, o glutamato também é importante para a síntese local de aminoácidos essenciais como a prolina e arginina. Como parte da glutathione, o glutamato atua como agente antioxidante (Wu, 1998). Pelo descrito anteriormente, o glutamato é um aminoácido indispensável para o funcionamento normal do organismo.

No momento do nascimento, o trato gastrointestinal do ser humano deve estar capacitado para digerir e absorver os nutrientes do leite materno, proteger o hóspede de toxinas e patógenos microbianos e manter o equilíbrio hidroeletrólítico. O nascimento determina que a nutrição para a manutenção do bebê mude, drasticamente, do transporte de nutrientes através da placenta e do consumo de líquido amniótico para consumo oral de leite materno. Para isso, o estado estrutural e funcional do intestino deve estar suficientemente desenvolvido em um recém-nascido (Commare & Tappenden, 2007).

O crescimento e desenvolvimento do intestino no período fetal e neonatal estão finamente regulados. No período neonatal, a maturação e crescimento do aparato gastrointestinal estão influenciados por vários fatores fisiológicos e ambientais. O líquido amniótico e o leite materno provêm fatores tróficos

necessários para o intestino. Esses fatores incluem nutrientes, fatores de crescimento peptídico, hormônios peptídicos intestinais, esteroides, hormônios tireóideos e estímulos nervosos.

Outros compostos no leite que modulam o desenvolvimento intestinal são células imunes e seus produtos, oligossacarídeos não digeríveis que possibilitam o estabelecimento da microbiota intestinal (Burrin & Stoll, 2002; Perin *et al.*, 1995; Castellote *et al.*, 2011). A colonização microbiana do intestino, por exemplo, permite o desenvolvimento do tecido linfóide (também conhecido como tecido linfático) associado ao intestino, que é um componente importante do sistema imunológico do bebê (De La Cochetière *et al.*, 2007).

As células do mesênquima intestinal são também fonte de vários fatores de crescimento, como o fator de crescimento para os fibroblastos, fator de crescimento hepático, fator de crescimento queratinocítico, fator de crescimento similar à insulina (IGF-I). Da mesma forma, as células do mesênquima também produzem os componentes da matriz extracelular como o colágeno e os proteoglicanos, necessários para a manutenção e desenvolvimento do intestino. Os mecanismos pelos quais os fatores endógenos, como os hormônios, ou exógenos, como os componentes da dieta (leite materno), que regulam a maturação do intestino ao nascimento, têm sido uma área de ativa investigação (Gree, 2001; Commare & Tappenden, 2007).

Há ampla evidência que demonstra que os aminoácidos não essenciais, como o glutamato e a glutamina, contribuem para o funcionamento metabólico da mucosa intestinal. Esses aminoácidos, além de contribuírem para a geração de energia para o funcionamento celular, são precursores de várias vias metabólicas para a síntese de outros aminoácidos, nucleotídeos, amino-açúcares etc. (Reeds & Burrin, 2001). Nas células especializadas na absorção e secreção de substâncias e com o tempo de vida curto como o das células epiteliais intestinais, a geração de DNA e os produtos de suas secreções, como a mucina, obrigatoriamente, demandam compostos ou substratos que possam produzir energia e, ao mesmo tempo, fazer parte da geração de novas células e seus produtos, como é o caso do glutamato e da glutamina. É importante enfatizar que esses aminoácidos essenciais que são utilizados para a manutenção da mucosa intestinal são provenientes da dieta, do plasma sanguíneo e também podem ser gerados dentro das células da mucosa intestinal (Reeds *et al.*, 2000).

Os aminoácidos livres presentes no leite materno são facilmente utilizáveis no intestino porque podem ser absorvidos rapidamente no intestino dos lactentes. Os transportadores de glicose e aminoácidos nas células epiteliais intestinais

se formam no período fetal e ao nascimento são completamente funcionais. O transporte de glutamato no epitélio intestinal é sódio-dependente, o que indica que requer a presença de sódio para sua absorção. Isso é importante devido à alta demanda de energia do lactente no momento do nascimento. Se existem diferentes usos para os aminoácidos essenciais produzidos localmente e para aqueles que chegam pela dieta ou via sanguínea, isso ainda não foi estabelecido.

Uma das funções importantes do epitélio intestinal é servir de barreira entre o conteúdo da luz intestinal (grande número de micróbios e antígenos) e a lâmina própria da parede do tubo digestório (interior do organismo, incluindo as células imunes). Essa barreira está conformada por uma capa única de células epiteliais, as mesmas que estão unidas entre si por complexos proteicos que, em seu conjunto, se denominam *tight junctions*. A função de barreira é possível devido a que as células caliciformes do epitélio e as fortes uniões que ocorrem entre essas células epiteliais, *tight junctions*, secretam ativamente muco para a luz intestinal. O muco secretado limita a interação dos componentes do conteúdo intestinal, alimentos e micro-organismos com as células epiteliais, facilitando sua eliminação (Newburg & Walker, 2007). Considera-se que as *tight junctions* fazem parte do sistema imune não específico e servem para impedir o ingresso dos componentes intestinais para o interior do organismo. A glutamina tem um papel importante tanto para a produção de muco quanto para a manutenção das *tight junctions*, o que permite que o epitélio intestinal cumpra com sua função de barreira (Newburg & Walker, 2007; Li *et al.*, 2004). Na formação do muco, a glutamina é necessária para a síntese de aminoaçúcares, como N-acetilglucosamina e N-acetilgalactosamina, presentes na matriz extracelular e no muco intestinal.

Por outro lado, a glutamina é necessária para a expressão das proteínas que formam as *tight junctions* e que mantêm a estrutura do epitélio intestinal (Li *et al.*, 2004). Esses estudos indicam que os aminoácidos não essenciais como o glutamato e a glutamina, além de servir como fontes de energia, cumprem funções específicas na mucosa intestinal mantendo sua integridade (Li *et al.*, 2004).

Estudos de complementação, com glutamato ou glutamina no alimento de leitões normais, demonstram que a presença desses aminoácidos melhora o comportamento zootécnico nesses animais (Liu *et al.*, 2002). A presença do glutamato ou glutamina melhora a morfologia e função do intestino, favorecendo o crescimento. Devido às importantes funções atribuídas ao glutamato e à glutamina na fisiologia intestinal, vários estudos clínicos de complementação com esses aminoácidos têm sido realizados. No entanto, lamentavelmente, até o

momento, não existe um consenso no uso de glutamina sob essas circunstâncias, devido à falta de consistência dos resultados nesses estudos (Plauth *et al.*, 1999; Hall *et al.*, 2003).

6. O GLUTAMATO DO LEITE MATERNO, A MICROBIOTA E A RESPOSTA IMUNE INTESTINAL

Quando uma criança nasce, os componentes imunológicos do intestino já estão presentes (Newburg & Walker, 2007). Tradicionalmente, a resposta imune de defesa do organismo se divide em resposta imune inata e resposta imune adquirida (Mackay *et al.*, 2001). A resposta imune inata é constituída por barreiras físicas e químicas como o epitélio intestinal, o ácido clorídrico do estômago, a produção de criptidinas no intestino, assim como também fatores humorais como as proteínas plasmáticas do sistema complemento e proteínas de fase aguda, entre outras. Os elementos celulares da resposta imune inata incluem as células dendríticas, células *natural killer* (NK) e células fagocíticas como os polimorfonucleares e os macrófagos. Esse tipo de resposta é semelhante para todos os agentes patógenos e não consegue discriminar especificamente o agente agressor. Por outro lado, a resposta imune adquirida é mediada pelos linfócitos B e linfócitos T e seus produtos. Esta resposta imune é específica e pode criar uma resposta imune mais rápida e mais potente se o hospedeiro é infectado mais de uma vez pelo mesmo patógeno. Apesar de todos os componentes do sistema imune intestinal estar presentes ao nascimento, os recém-nascidos têm um maior risco de infecção que crianças maiores e adultos, o que indicaria uma aparente imaturidade da resposta imune intestinal ao momento do nascimento. Em outras espécies, como nos ratos, por exemplo, o sistema imune também completa seu desenvolvimento depois do nascimento. A imaturidade do sistema imune no nascimento colocaria o recém-nascido em risco de infecções. Entretanto, para compensar essa debilidade parcial, anticorpos da mãe (IgG) passam ao feto pela placenta, reforçando, dessa forma, o sistema imunológico do recém-nascido. Por outro lado, o leite materno garante uma imunidade passiva ao lactente por meio de células fagocíticas e proteínas com propriedades antimicrobianas de amplo espectro diminuindo, assim, o risco de infecção do lactente (Howie *et al.*, 1990; Chantry *et al.*, 2006). Daí a importância da alimentação com o leite materno.

Por outro lado, um dos componentes mais importantes do sistema imunológico é o denominado tecido linfóide associado ao intestino, comumente

chamado GALT por sua sigla em inglês (*gut-associated lymphoid tissue*). A superfície mucosa do intestino está exposta a uma grande quantidade de agentes externos como o alimento e micro-organismos que compõem a microbiota intestinal e, portanto, é um sítio potencialmente vulnerável à entrada de agentes infecciosos. Não é surpreendente, então, saber que a maioria dos agentes patógenos ingressa no organismo por superfícies mucosas, como a intestinal. O tecido linfóide do intestino deve então cumprir com uma especial função de defesa contra organismos patógenos, porém, ao mesmo tempo deve permitir/tolerar a presença de agentes externos como os alimentos e a microbiota intestinal que coexistem em simbiose com o hospedeiro. O GALT é composto por agregados linfáticos que estão sob o epitélio do intestino desde a boca até o ânus; exemplos desses agregados incluem as amídalas, as adenoides, o apêndice, nódulos linfáticos situados ao longo do intestino delgado e grosso, além das denominadas placas de Peyer.

As placas de Peyer são agregados de células imunes através das quais se induz (inicia) a resposta imune. As placas de Peyer estão cobertas com um epitélio especializado que as permite recolher constantemente amostras do conteúdo intestinal e, por interação com as células do sistema imune, estabelecem, ou não, uma resposta imunológica. Se o conteúdo intestinal não é uma ameaça para o organismo, este é “tolerado” e não se estabelece uma resposta imune. No entanto, se existir um agente infeccioso no intestino, é iniciada uma forte resposta imune intestinal que se expressa não somente no nível das placas de Peyer, como também ao longo do intestino por meio dos linfócitos e outras células imunológicas efectoras da própria lâmina. O GALT está encarregado de processar os antígenos que atuam na mucosa intestinal e disseminar a resposta imune.

Portanto, os alimentos que o lactente consome inicialmente em sua vida são fonte de antígenos, aos quais se deve “tolerar” e que, normalmente, estão no leite materno (Calder *et al.*, 2006). Entretanto, a alimentação inicial também deve prover fatores (incluindo nutrientes) que ajudem a modular a resposta imunológica e a favorecer o estabelecimento da microbiota intestinal. A microbiota intestinal, por sua vez, ajuda na maturação do sistema imune (Calder *et al.*, 2006). Por outro lado, a resposta imune do recém-nascido se complementa com a imunidade passiva que o lactente adquire pela passagem de IgG da mãe durante a fase fetal, e pelos componentes imunes presentes no leite materno no aleitamento (Gil & Rueda, 2002). Além disso, o leite materno também contém elementos que modulam a resposta frente a antígenos que não constituem um perigo para o hospedeiro e, dessa maneira, evita uma reação imune que

potencialmente pudesse causar dano ao intestino. Tanto o estabelecimento da microbiota intestinal quanto os fatores imunes moduladores do leite materno têm um papel crítico na maturação do intestino e de seu sistema imune (ver discussão posterior). O efeito modulador da resposta imune pelo leite materno, no início da vida, poderia explicar o efeito benéfico que esta tem em doenças autoimunes como a diabetes tipo 1, alergias, doenças crônicas não transmissíveis, que aparecem mais tarde na vida. Esses dados indicam que o leite materno, rico em glutamato e glutamina, tem um papel protetor frente ao desenvolvimento de doenças crônicas como as alergias (Calder *et al.*, 2006).

Outros componentes presentes no leite materno e que influenciam no GALT são os aminoácidos e as proteínas (Gil & Rueda, 2002). Assim, os aminoácidos livres (treonina, cisteína, glutamato e glutamina) são indispensáveis para a síntese de glicoproteínas (do muco intestinal), proteínas produzidas pelas células imunes, síntese de glutathione (ver seção 5). A glutathione é um tripeptídeo constituído por glutamato, glicina e cisteína que atua como transportador de aminoácidos e como antioxidante. Em situações de estresse, por exemplo, durante períodos de nutrição parenteral e presença de infecções, as concentrações de glutathione podem diminuir e a demanda de glutamato e glutamina aumentam. A administração desses aminoácidos em situações de estresse melhora o estado do GALT (Gil & Rueda, 2002). Foi demonstrado que a administração de glutamina previne a atrofia da mucosa intestinal que se observa na nutrição parenteral; da mesma forma, em um modelo animal de endotoxemia foi demonstrado que a administração oral de glutamina melhorou os níveis das células imunes intestinais (Li *et al.*, 1998; Manhart *et al.*, 1999). Esses estudos indicam que o leite materno, além de proporcionar imunidade passiva, contém nutrientes que modulam a resposta imune intestinal.

O estímulo mais importante para o desenvolvimento do sistema imune intestinal é a colonização microbiana do intestino (De La Cochetière *et al.*, 2007). No nascimento, o intestino do recém-nascido é estéril. Durante o processo do parto e posteriormente, os micro-organismos da mãe e do meio ambiente circundante colonizam o intestino até constituir o ecossistema microbiano chamado microbiota intestinal. Esse ecossistema microbiano é formado por, aproximadamente, 400 espécies bacterianas e, uma vez estabelecido, é muito estável em sua composição. A microbiota intestinal cumpre com funções fisiológicas, nutricionais e de defesa do organismo (Tabela 6.4). A microbiota ajuda na digestão de macronutrientes, produção de ácidos graxos de cadeia curta e na síntese de vitaminas; além disso, a microbiota é uma barreira de defesa

contra micro-organismos patógenos, limitando seu crescimento e melhorando a imunidade intestinal ao estimular o GALT.

Tabela 6.4 – Importância da microbiota intestinal

Favorece o desenvolvimento do sistema imune intestinal
Favorece o desenvolvimento do sistema nervoso intestinal
Compete com micro-organismos patógenos
Metaboliza macronutrientes que chegam ao intestino grosso
Produce ácidos graxos de cadeia curta
Degrada a mucina intestinal
Converte o urobilinogênio em urobilina
Converte o colesterol em coprostanol
Degrada a ureia
Permite a circulação entero-hepática de ácidos biliares, bilirrubina, entre outros
Pode gerar metabólitos carcinogênicos
Pode causar dano direto da mucosa em condições anormais

Existem vários fatores que modulam o estabelecimento da microbiota intestinal como o tipo de parto, a dieta, a carga genética do hospedeiro, o uso de medicamentos (antibióticos), entre outros (Vance *et al.*, 2001). O parto normal implica que a colonização inicial da boca e estômago do recém-nascido se faça pelas espécies microbianas presentes nas fezes e na microbiota vaginal da mãe (Mackie *et al.*, 1999). As crianças que nascem por cesariana se expõem à microbiota da mãe, mas também são expostas às bactérias presentes nos equipamentos cirúrgicos e nos profissionais da saúde presentes no momento do procedimento cirúrgico. Isso determina que a composição da microbiota intestinal seja distinta em crianças nascidas por parto normal ou por cesariana. Em termos gerais, o recém-nascido pela via vaginal é colonizado nos primeiros dias por *Enterobacteriaceae* e por cocos Gram positivos, os mesmos que criam um meio ambiente adequado para o estabelecimento de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Clostridium* (Vance *et al.*, 2001).

Por outro lado, o consumo de leite materno facilita a colonização intestinal principalmente por *Bifidobacterium* e também por *Lactobacillus* e *Streptococcus*, enquanto que em crianças alimentadas com fórmulas infantis, sua microbiota contém predominantemente coliformes e enterococos, *E. Coli* e *Klebsiella* (Harmsen *et al.*, 2000). O leite materno contém complexos de oligossacarídeos (frutanos, inulina) que não são suscetíveis à degradação pelas

amilases do lactente, mas que acabam atuando como prebióticos, facilitando a proliferação de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, abundantes na microbiota normal do bebê (De La Cochetière, 2007). Além disso, componentes da microbiota intestinal, como bifidobactérias e lactobacilos, podem produzir compostos biologicamente ativos a partir de aminoácidos da dieta. Esses aminoácidos são utilizados como substratos na geração de ácidos graxos de cadeia curta, histamina e GABA (Devaraj *et al.*, 2013). Os componentes do leite materno, incluindo aminoácidos livres, contribuem ativamente para o estabelecimento e manutenção da microbiota intestinal, bem como para o desenvolvimento do intestino do lactente.

A microbiota intestinal estimula o desenvolvimento normal da resposta imune intestinal (Cebra, 1999). Além disso, estimula a produção de muco, a síntese e secreção de IgA por parte dos linfócitos B e estimula também aos linfócitos T da lâmina própria intestinal. Tanto o muco quanto a IgA secretadas no lúmen do intestino cobrem e protegem a superfície intestinal contra patógenos intestinais (Field, 2005). Por outro lado, a microbiota intestinal e os componentes celulares e proteicos do leite materno modulam a resposta imune intestinal, limitando a inflamação e atingindo um equilíbrio na resposta mediada pelas células T auxiliares (*T-helper cells*) (Lönnerdal, 2003; Coëflier *et al.*, 2001). Alterações na resposta mediada pelas células T auxiliares no intestino estão associadas a doenças como alergias, doenças inflamatórias intestinais, entre outras.

Já foi indicado que componentes do nitrogênio não proteico do leite materno, como o glutamato e a glutamina, contribuem na defesa do intestino ao favorecer a manutenção da barreira intestinal, impossibilitando o ingresso de possíveis agentes patógenos. Falhas na barreira intestinal no período neonatal também têm sido associadas com atopia e alergias, doença inflamatória intestinal, doença celíaca, doenças autoimunes como o diabetes tipo 1 (Newburg & Walker, 2007). A administração de glutamina a pacientes com alterações da barreira intestinal, como as complicações de sepsia, doença inflamatória intestinal, melhora a resposta ao estresse metabólico e ao balanço nitrogenado (Fontana *et al.*, 2006).

Apesar do evidente efeito benéfico do leite materno na nutrição e desenvolvimento do lactente, os mecanismos moleculares desses efeitos não estão completamente estabelecidos. Assim, mais estudos são necessários para identificar os efeitos do glutamato no intestino da criança e no sistema imunológico.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento normal do recém-nascido está influenciado pelo consumo do colostro e do leite materno, particularmente evidente na maturação do aparato gastrointestinal e do sistema imune associado (GALT). Os componentes do leite materno proporcionam os compostos necessários para que essa maturação seja possível. Os aminoácidos livres como o glutamato e a glutamina, presentes em altas concentrações no leite materno, têm um papel importante nesses processos de maturação e manutenção do bebê e de seus sistemas imune e intestinal. A presença de um sistema específico de estimulação do glutamato em nível gástrico poderia ajudar a esclarecer como componentes únicos do leite materno (glutamato livre) contribuem na maturação e desenvolvimento do bebê.

8. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos membros do Centro de Investigación Biomédica da Universidad UTE, Quito, Equador, pelo apoio na elaboração deste capítulo.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTONI, C. *et al.* “Free glutamine and glutamic acid increase in human milk through a three-month lactation period”. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 31: 508-512, 2000a.
- AGOSTONI, C. *et al.* “Free amino acid content in standard infant formulas: comparison with human milk”. *J. Am. Coll. Nutr.* 4: 434-438, 2000b.
- ALBARRACIN, S. L. *et al.* “L-glutamate: a key amino acid for sensory and metabolic functions”. *Arch Latinoam Nutr.* 66: 101-112, 2016.
- BALDEÓN, M. E. & GASKINS, H. R. “Diabetes and immunity”. In: GERSHWIN, M. E.; GERMAN, B. & KEEN, C. L. *Nutrition and Immunology Principles and Practice*. Totowa, Humana Press, 2000, pp. 301-311.
- BALDEÓN, M. E. *et al.* “Free amino acid content in breast milk of adolescent and adult mothers in Ecuador”. *Springerplus.* 3: 104, 2014.
- BALDEÓN, M. E. *et al.* “Free Amino Acid Content in Human Milk is Associated with Infant Gender and Weight Gain during the First Four Months of Lactation”. *Nutrients.* 11(9): 2239, 2019.

- BARRY, J. M. “The use of glutamine and glutamic acid by the mammary gland for casein synthesis”. *Biochem. J.* 63: 669-676, 1956.
- BURRIN, D. G. & STOLL, D. “Key nutrients and growth factors for the neonatal gastrointestinal tract”. *Clin.Perinatol.* 29: 65-96, 2002.
- CACHO, N. T. & LAWRENCE, R. M. “Innate Immunity and Breast Milk”. *Front Immunol.* 8: 584, 2017.
- CALDER, P. C. *et al.* “Early nutrition and immunity - progress and perspectives”. *Br. J. Nutr.* 96: 774-790, 2006.
- CASTELLOTE, C. *et al.* “Premature Delivery Influences the Immunological Composition of Colostrum and Transitional and Mature Human Milk”. *J. Nutr.* 141: 1181-1187, 2011.
- CEBRA, J. “Influences of microbiota on intestinal immune system development”. *Am. J. Clin. Nutr.* 69(5): 1046S-1051S, 1999.
- CHANTRY, C. J.; HOWARD, C. R. & AUINGER, P. “Full breast feeding duration and associated decrease in respiratory tract infection in US children”. *Pediatrics.* 117: 425-432, 2006.
- CHUANG, C-K. *et al.* “Free amino acids in full-term and pre-term human milk and infant formula”. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 40: 496-500, 2005.
- COËFFIER, M. *et al.* “Influence of glutamine on cytokine production by human gut in Vitro”. *Cytokine.* 13: 148-154, 2001.
- COMMARE, C. E. & TAPPENDEN, K. A. “Development of the infant intestine: implications for nutrition support”. *Nutr. Clin. Pract.* 22(2): 159-173, 2007.
- DE LA COCHETIÈRE, M. F. *et al.* “Intestinal microbiota in neonates and pre-term infants: a review”. *Curr. Pediatr. Rev.* 3: 21-34, 2007.
- DEVARAJ, S.; HEMARAJATA, P. & VERSALOVIC, J. “The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes”. *Clin Chem.* 59: 617-628, 2013.
- FERREIRA, I. M. “Quantification of non-protein nitrogen components of infant formulae and follow-up milks: comparison with cow’s and human milk”. *Br. J. Nutr.* 7: 1-23, 2003.

- FIELD, C. J. “The Immunological components of human milk and their effect on immune development in infants”. *J. Nutr.* 135:1-4, 2005.
- FONTANA, L. *et al.* “Compuestos nitrogenados de interés en nutrición clínica”. *Nutr. Hosp.* 21: 15-29, 2006.
- GIL, A. & RUEDA, R. “Interaction of early diet and the development of the immune system”. *Nutr. Res. Rev.* 15: 263-292, 2002.
- GOLDMAN, A. “The Immune System in Human Milk and the Developing Infant”. *Breastfeed Med.* 2(4): 195-204, 2007.
- GOMEZ-GALLEGO, C. *et al.* “The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity”. *Semin Fetal Neonatal Med.* 21: 400-405, 2016.
- GREE, F. R. “Feeding the premature infant in the 20th century”. *J. Nutr.* 131: 426S-430S, 2001.
- HALL, J. C. *et al.* “A prospective randomized trial of enteral glutamine in critical illness”. *Intensive Care Med.* 29: 1710-1716, 2003.
- HARMSSEN, H. J. *et al.* “Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods”. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 30(1): 61-67, 2000.
- HOWIE, P. W. *et al.* “Protective effect of breast feeding against infection”. *Br. Med. J.* 300: 11-16, 1990.
- JOCHUM, F. *et al.* “Total glutamine content in human milk is not influenced by gestational age”. *Acta Paediatrica.* 95(8): 985-990, 2006.
- KOLETZKO, B. *et al.* “Growth, development and differentiation: a functional food science approach”. *Br. J. Nutr.* 80(Suppl 1): S5-S45, 1998.
- LAWRENCE, R. *Lactancia Materna: Una Guía para la Profesión Médica.* 6. ed., Elsevier-Espana, 2007, p.111.
- LI, J. *et al.* “Glycyl-L-glutamine enriched total parenteral nutrition maintains small intestine gut associated lymphoid tissue and upper respiratory tract immunity”. *Journal of Parenteral and Enteral Nutr.* 22: 31-36, 1998.
- LI, N. *et al.* “Glutamine regulates Caco-2 tight junction protein”. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 287: G729-G733, 2004.

LI, S. *et al.* “Characterization of stem cells and immune cells in preterm and term mother’s milk”. *Journal of Human Lactation*. 35: 528-534, 2019.

LIU, B. & NEWBURG, D. S. “Human milk glycoproteins protect infants against human pathogens”. *Breastfeed Med*. 8: 354-362, 2013.

LIU, T. *et al.* “Effects of dietary glutamine and glutamate supplementation on small intestinal structure, active absorption and DNA, RNA concentration in skeletal muscle tissue of weaned piglets during d 28 to 42 of age”. *Asian-Aust J. Anim. Sci*. 15: 238-242, 2002.

LÖNNERDAL, B. “Nutricional and physiologic significance of human milk proteins”. *Am. J. Clin. Nutr*. 77(6): 1537S-1543S, 2003.

MACKAY, I. R.; ROSEN, F. S. & ZINKERNAGEL, R. M. “Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases”. *N. Engl. J. Med*. 345: 1331-1335, 2001.

MACKIE, R.; SGHIR, A. & GASKINS, H. R. “Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract”. *Am. J. Clin. Nutr*. 69S: 1035S-1045S, 1999.

MANHART, N. *et al.* “Effects of orally administered glutamine on lymphocyte subpopulations in Peyer’s patches in endotoxin boosted mice”. *Immunol. Lett*. 69: 25-33, 1999.

MARANTE, J. *et al.* “Usos de la glutamina en pediatría”. *MedUNAB*. 8(1 Supl. 1): S37-S42, 2005.

MELBOURNE, T. *et al.* “The glutamine/glutamate couplet and cellular function”. *News. Physiol. Sci*. 16: 157-160, 2001.

NEU, J. “Glutamine in the fetus and critically ill low birth weight neonate: metabolism and mechanism of action”. *J. Nutr*. 131(9 Sppl): 2585S-2589S, 2001.

NEWBURG, D. S. & STREET, J. M. “Bioactive materials in human milk, milk sugars sweeten the argument for breast-feeding”. *Nutr. Today*. 32: 191-201, 1997.

NEWBURG, D. S. & WALKER, W. A. “Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk”. *Pediatr. Res*. 61: 2-8, 2007.

OMS. Organización Mundial de la Salud. *Estrategia Mundial para la Alimentación del Lactante y del Niño pequeño*. Ginebra, 2003.

- PAMBLANCO, M. *et al.* “Free aminoacids in preterm and term milk from mothers delivering appropriate- or small-for-gestational-age infants”. *Am. J. Clin. Nutr.* 50: 778-781, 1989.
- PERIN, N. M.; CLANDININ, T. & THOMSON, B. R. “Importance of milk and diet on the ontogeny and adaptation of the intestine”. *J Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 24: 419-425, 1995.
- PLAUTH, M. *et al.* “Effects of vascular or luminal administration and of simultaneous glucose availability on glutamine utilization by isolated rat small intestine”. *Int. J. Colorect. Dis.* 14: 95-100, 1999.
- POLIN, R. A.; FOX, W. W. & ABMAN, S. H. *Fetal and Neonatal Physiology*. 3. ed., Philadelphia, Elsevier, 2004, p. 275.
- REEDS, P. J. *et al.* “Intestinal glutamate metabolism”. *J. Nutr.* 130: 978S-982S, 2000.
- REEDS, P. J. & BURRIN, D. G. “Glutamine and the Bowel”. *J. Nutr.* 131: 2505S-2508 S, 2001.
- RIVERON CORTEGUERA, R. “Valor inmunológico de la leche materna”. *Rev Cubana Pediatr.* 67(2), 1995.
- SARWAR, G. *et al.* “Free amino acids in milks of human subjects, other primates and non-primates”. *Brit. J. Nutr.* 79: 129-131, 1998.
- SHERMAN, M. P. “Human milk, fatty acids, and the immune response: a new glimpse”. *Am. J. Clin. Nutr.* 72(5): 1071-1072, 2000.
- SINGH, P. & SAXENA, S. K. “Free Glutamic acid content of milk in Indian Mothers”. *Indian J. Physiology Pharmacology.* 48: 365-369, 2004.
- SPITZER, A. R. *Intensive care of the fetus and neonate*. St. Louis, Mosby-yea, 1996, p. 843.
- VAN SADELHOFF, J. H. J. *et al.* “Longitudinal variation of amino acid levels in human milk and their associations with infant gender”. *Nutrients.* 10(9): 1233, 2018.
- VANCE, J.; MCCRACKEN, V. J. & LORENZ, R. G. “The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota”. *Cell. Microbiol.* 3: 1-11, 2001.

VIÑA, J. *et al.* “Involvement of gamma-glutamyltransferase in amino-acid uptake by the lactating mammary gland of the rat”. *Biochem. J.* 194: 99-102, 1981.

VIÑA, J. R. & WILLIAMSON, D. H. “Utilization of L-arginine and L-glutamine by lactating mammary gland of the rat”. *Biochem. J.* 196: 757-762, 1981.

VIÑA, J. R. *et al.* “Effect of fasting on amino acid metabolism by lactating mammary gland: studies in women and rats”. *J. Nutr.* 117: 533-538, 1987.

WARD, P. P.; URIBE-LUNA, S. & CONNEELY, O. M. “Lactoferrin and host defense”. *Biochem. Cell Biol.* 80: 95-102, 2002.

WU, G. “Intestinal mucosal amino acid catabolism”. *J. Nutr.* 128: 1249-1252, 1998.

ZINKERNAGEL, R. M. “Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases”. *N Engl. J. Med.* 345: 1331-1335, 2001.