

**Diversidade dos oligossacarídeos
no leite materno humano e o
impacto na microbiota de recém-
nascidos e lactentes**

***Oligosaccharides diversity in human
breast milk and the impact on the
infant microbiota***

Margarida Paiva Rito

ORIENTADO POR: Mestre Marlene Marques Morgado

REVISÃO TEMÁTICA

I.º CICLO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO | UNIDADE CURRICULAR ESTÁGIO

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DA UNIVERSIDADE DO PORTO

TC

PORTO, 2024



Resumo

Compreender a interação dieta-microbiota-recém-nascido e futuro lactente, é fundamental para prever, diagnosticar e manipular a microbiota ao longo da vida, com o intuito de reduzir o risco de desenvolvimento de futuras doenças e potenciar a sua saúde. Os oligossacarídeos do leite humano materno (HMOs) têm sido os compostos mais investigados deste biofluido, sendo conhecidos como fatores bifidogénicos, devido ao papel que demonstram ter na colonização e modulação da microbiota intestinal. Para além de atuarem como prebióticos, através da promoção do crescimento de bactérias benéficas, promovem também um ambiente intestinal saudável. Atuam assim como moduladores imunológicos que conferem proteção contra infeções e possíveis doenças comuns, particularmente em contextos específicos como prematuridade, bebés nascidos por cesariana e bebés expostos a profilaxia intraparto. Dada variabilidade dos HMOs e a interação complexa destes com a microbiota intestinal, é fundamental ressaltar que a prática da amamentação é uma das principais abordagens, e a mais acessível, para a promoção de uma microbiota intestinal saudável. Esta revisão fornece assim uma visão geral sobre a diversidade dos HMOs, qual a sua variação, e de que forma estes influenciam a microbiota intestinal do recém-nascido, futuro lactente.

Palavras-chave: oligossacarídeos do leite humano, aleitamento materno, microbiota, microbiota intestinal infantil

Abstract

Understanding the diet-microbiota-newborn and future infant interaction is fundamental to predicting, diagnosing, and manipulating the microbiota throughout life, to reduce the risk of developing future diseases and boosting their health. Human breast milk oligosaccharides (HMOs) have been the most researched compounds in this biofluid. They are known as "bifidogenic factors" due to their role in colonizing and modulating the intestinal microbiota. They also act as prebiotics by promoting the growth of beneficial bacteria and a healthy intestinal environment. Accordingly, they act as immune modulators that protect against infections and possible common diseases, particularly in contexts such as premature babies born by cesarean section, and babies exposed to intrapartum prophylaxis. Given the variability of HMOs and their complex interaction with the gut microbiota, it is essential to emphasize that breastfeeding is one of the main and most accessible approaches to promoting a healthy gut microbiota. This review provides an overview of the diversity of HMOs, how they vary, and how they influence the intestinal microbiota of the newborn and future infant.

Keywords: human milk oligosaccharides, prebiotics, breastfeeding, microbiota, infant gut microbiota

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

(Le) - gene de Lewis

(Se) - gene Secretor

2'-FL – 2'-fucosilactose

3'-FL – 3'-fucosilactose

3'-SL - 3'- sialilactose

6'-SL - 6'- sialilactose

ácido siálico - N-acetil-neuramínico [NeuAc]

CS - parto por cesariana

DSLNT - disialilacto-N-tetraose

FII – fórmulas infantis industriais

Fuc - fucose

FUT2 - fucosiltransferase-2

FUT3 - fucosiltransferase-3

Gal – galactose

Glc - glucose

GlcNAc - N-acetil-glucosamina

HMOs – oligossacarídeos do leite materno humano

LDFT - lactodifucosiltetraose

LMH - leite materno humano

LNDFH I - lacto-N-difucohexaose I

LNFP I - lacto-N-fucosilpentose I

LNnT - lacto-N-neotetraose

LNT - lacto-N-tetraose

LST - sialilacto-N-tetraose

MI - microbiota intestinal

OMS - Organização Mundial da Saúde

PT - pré-termo

PV - parto vaginal

SCFAs - ácidos gordos de cadeia curta

SNPs – polimorfismos de nucleotídeo único

Índice

Resumo	i
Abstract.....	ii
Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos.....	iii
Índice	iv
Introdução.....	1
Métodos.....	2
Desenvolvimento	4
Oligossacarídeos do leite materno humano - estrutura e função	4
Variação dos oligossacarídeos no leite materno humano.....	5
Período de lactação	6
Genética da mãe.....	7
Tipo de Parto.....	9
Período de gestação.....	10
Impacto dos oligossacarídeos na microbiota infantil.....	10
Relação simbiótica entre o recém-nascido, futuro lactente e a sua microbiota intestinal	13
Discussão/Análise Crítica e Conclusão	14
Agradecimentos	16
Referências.....	17
Sumário de Apêndices	23

Introdução

A evidência tem vindo a demonstrar que a amamentação está associada a uma ampla gama de benefícios para a saúde do recém nascido e lactante⁽¹⁾. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS)⁽²⁾ e a Academia Americana de Pediatria⁽³⁾ a amamentação exclusiva é recomendada nos primeiros seis meses de vida, até aos dois anos. Todavia, esta prática apresenta inúmeros obstáculos, essencialmente sociais, económicos e políticos, não sendo a amamentação praticada universalmente⁽¹⁾. Segundo a OMS, a taxa global de amamentação exclusiva para lactentes com menos de seis meses de idade é de apenas 40%. Portugal apresentou uma taxa de amamentação de 87,1%, mas somente 21% das mães amamentaram exclusivamente durante seis ou mais meses⁽⁴⁾. Para além dos obstáculos referidos é importante destacar outras condições clínicas específicas em que a amamentação não é aconselhável, tais como por exemplo a exposição materna a tratamentos farmacológicos ou quimioterápicos. É assim crucial haver alternativa ao leite materno para garantir que os recém-nascidos tenham acesso aos benefícios normalmente associados à amamentação⁽¹⁾. O leite materno humano (LMH) apresenta uma composição única e complexa, na qual os oligossacarídeos (HMOs) são a fração de moléculas mais representada, entre os compostos bioativos⁽⁵⁾.

A pesquisa de HMOs, tem sido impulsionada pela ideologia de averiguar se estes eram os principais responsáveis pelos benefícios do LMH para a saúde do lactente e da mãe⁽⁵⁾. Em 1931, dois bioquímicos franceses, Polonowski e Lespagnol, relataram a presença de um conjunto de hidratos de carbono no LMH que denominaram de ginolactose. Em 1954 esta mesma equipa conseguiu separar

este gíolactose em oligossacarídeos individuais⁽⁶⁾. Nas últimas décadas, graças ao progresso da biotecnologia, foi possível isolar e produzir grandes quantidades de HMOs autênticos⁽⁷⁾. Tendo presente a necessidade significativa e persistente de inovações na composição das fórmulas infantis industriais (FII), os HMOs, representam a mais significativa inovação na tecnologia de fortificação de FII⁽⁸⁾. Salientar que a 2'-fucosilactose (2'-FL) e a lacto-N-neotetraose (LNnT) foram os primeiros HMOs a ser considerados seguros e eficazes para a fortificação das FII, contudo atualmente já outros formam caracterizados de igual forma, nomeadamente 3-fucosilactose (3'-FL), 3'-sialilactose (3'-SL), 6'-sialilactose (6'-SL) e lacto-N-tetraose (LNT)^(1, 9).

O desenvolvimento e respetivo estabelecimento da microbiota intestinal (MI) é um fenómeno complexo, sensível e dinâmico com implicações cruciais na saúde do recém-nascido^(10, 11). Um crescente conjunto de evidências revelou que a colonização da MI neonatal é condicionada por diversos fatores perinatais, especificamente pelo tipo de parto, tempo de gestação, o uso de antibióticos (profilaxia intraparto) e amamentação⁽¹²⁾. Contudo a amamentação, tende a ser o fator chave na modulação da microbiota infantil^(10, 11, 13, 14), sendo os HMOs, o composto bioativo com maior destaque.

Métodos

A pesquisa foi realizada em três bases de dados eletrónicas, PubMed, Scopus e Web of Science, nos últimos cinco anos (2019-2024), com verificação final a 20 de maio de 2024. A expressão de pesquisa utilizada foi: ("oligosaccharides" OR "human milk carbohydrates" OR "non-digestible carbohydrates" OR "human milk oligosaccharides" OR "Milk Bioactive Compounds" OR "prebiotics" OR "2'-

fucosyllactose" OR "lacto-N-neotetraose" OR "trisaccharides" OR tetrasaccharide OR "oligosaccharides, branched-chain") AND ("Breastfeeding" OR "breast fed" OR "Breastfed" OR "Breastmilk" OR "breast milk" OR "direct breastfeeding" OR "Human milk" OR "Child nutrition science" OR "Maternal-to-infant transfer") AND ("Gastrointestinal Microbiome" OR "infant gut microbiota" OR "Gut Microbiota" OR "microbiota" OR "Lactobacillus" OR "Bifidobacteria" OR "probiotics" OR "Lactobacillus" OR "Bifidobacteria" OR "Bifidobacterium"). Esta expressão permitiu recuperar um total 452 artigos, com base no título, resumo e palavras-chave e após eliminação dos duplicados. Destes artigos apenas 51 foram incluídos nesta revisão, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão detalhados seguidamente na tabela 1.

Tabela 1 - Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de Inclusão	Critérios de exclusão
• Artigos sobre a diversidade dos HMOs no LMH; • Estudos em que a exposição aos HMOs teria de ser obrigatoriamente através da amamentação, podendo ou não ser avaliada também a exposição através de fórmulas Industriais; • Artigos e estudos que avaliem o impacto dos HMOs na MI, direta ou indiretamente (através da influência do LMH); • Artigos publicados na língua inglesa.	• Artigos com texto completo indisponível; Estudos conduzidos exclusivamente em animais; Artigos e estudos que abordassem somente outros compostos bioativos do LMH, não retratando os HMOs; • Artigos e estudos que abordassem HMOs conjugados ou sintéticos como galacto-oligosacarídeos (GOS) ou oligossacarídeos não digeríveis (NDOs) respetivamente; • Artigos com foco na prematuridade ou em condições patologias específicas (como como dermatite atópica, alergias alimentares entre outras)
As únicas exceções aos critérios supramencionados são o artigo que inclui a taxa de amamentação geral e exclusiva e os artigos referenciados na bibliografia dos artigos selecionados (de acordo com os critérios anteriormente definidos).	

Desenvolvimento

Oligossacarídeos do leite materno humano - estrutura e função

Os HMOs são a terceira estrutura mais abundante no LMH, depois da lactose e dos lípidos^(13, 15), sendo a maior fração de moléculas secretadas e a mais representada, tanto em termos de quantidade como de diversidade estrutural⁽⁵⁾. Geralmente estão presentes em glicanos da mucosa e da superfície celular, desempenhando papéis moduladores importantes nas interações célula-célula e hospedeiro-microbiota, estimulando seletivamente o crescimento de bactérias específicas, nomeadamente as do género *Bifidobacterium*⁽¹⁴⁾. Além da sua abundância única no leite humano, há evidências de que os HMOs estão presentes, ao longo da gravidez, no soro materno no sangue do cordão umbilical e no líquido amniótico^(14, 16).

Do ponto de vista químico e estrutural, todos os HMOs conhecidos são alongamentos da lactose, com um ou vários dos seguintes monossacarídeos: galactose (Gal), glucose (Glc), N-acetil-glucosamina (GlcNAc), fucose (Fuc) e ácido siálico (N-acetil-neuramínico [NeuAc])^(7, 17). Estruturas estas que variam entre três a catorze monossacarídeos⁽¹⁸⁾, já tendo sido até ao momento, identificadas no LMH cerca de 200 estruturas⁽¹⁴⁾. A diversificação estrutural ocorre através de reações de fucosilação ou sialilação, apresentando assim três classificações: HMOs neutros fucosilados, HMOs neutros não fucosilados e HMOs ácidos sialilados que corresponde a 35-50%, 42-55% e 12-14% respetivamente⁽¹⁸⁻²⁰⁾.

Fisiologicamente os HMOs são biossintetizados na glândula mamária, pela ação sucessiva de glicosiltransferases específicas⁽¹¹⁾. Aquando da sua ingestão, estes compostos resistem à digestão gastrointestinal, não fazendo parte dos

componentes nutritivos do LMH^(7, 15, 21). Na área distal do intestino delgado e no cólon, estes são usados como uma fonte de energia pelas bactérias comensais, tendo desse modo um profundo impacto na modulação da MI do lactente⁽¹⁷⁾. Aquando da sua ingestão pelo recém-nascido e lactente, apenas 1% dos HMOs é absorvido, chegando à circulação sistémica do lactente⁽¹⁵⁾, os restantes 99% atingem a área distal do intestino delgado e do cólon praticamente intactos, tendo em conta que o intestino humano não possui a maquinaria enzimática necessária para metabolizar os HMOs, devido à falta da enzima necessária a glicosidase^(16, 22, 23). Dos 99% dos HMOs mencionados anteriormente, cerca de 45% são fermentados pela MI e os restantes 54% são excretados pela urina e pelas fezes, respetivamente 1-4% e 40-50%⁽¹⁶⁾. Além disso, em contraste com a ideologia tradicional de que a criança só tinha contato com os HMOs da mãe por meio da alimentação pós-natal, alguns estudos colocam a hipótese da exposição ocorrer antes do nascimento, dada a presença de HMOs nos fluidos corporais da mãe durante a gravidez, ao longo da gestação e no parto^(12, 13, 16).

Variação dos oligossacarídeos no leite materno humano

A história evolutiva humana tem exercido uma forte pressão seletiva, que moldou tanto a produção materna de HMOs como a utilização destes pelo lactente, a favor, respetivamente, de uma melhor reprodução e sobrevivência⁽¹⁾. Esta variação pode ser atribuída de forma geral a fatores major como o período de lactação e a genética da mãe. Embora a seleção natural tenha favorecido fortemente a presença de um conjunto robusto e diversificado de HMOs, a composição específica no LMH varia amplamente entre indivíduos e entre populações globais⁽¹⁾, sendo a concentração destes constituintes altamente

dinâmica⁽²⁴⁾. Salientar desde já que, ao longo deste artigo serão apenas abordados de forma aprofundada os fatores genéticos e fisiológicos mais estudados até ao momento, tendo em conta que são os que possuem um impacto evidente na composição dos HMOs. Contudo estudos emergentes referem que outros fatores complexos e interrelacionados podem também influenciar dos HMOs, nomeadamente fatores maternos como o estado nutricional e idade⁽⁵⁾; índice de massa corporal, dieta e respetiva qualidade da mesma⁽²⁵⁾; o tipo de entrega do LMH ou seja a amamentação exclusiva ou parcial⁽¹³⁾ e influências ambientais como localização geográfica e a sazonalidade⁽²⁵⁾. Contudo até então as conclusões ainda são limitadas.

Período de lactação

Relativamente à composição total de HMOs, sabe-se que esta sofre um declínio gradual à medida que a lactação avança. O colostro é o primeiro leite a ser produzido pela glândula mamária e o mais rico em compostos bioativos, nomeadamente em HMOs⁽¹³⁾. As concentrações médias de HMOs variam entre 9-22 g/L e 6-15 g/L, no colostro e no leite de transição ou maduro, respectivamente⁽²⁶⁾. No entanto, a ingestão total de HMOs permanece estável, tendo em conta que a ingestão do lactente aumenta ao longo do tempo⁽²⁷⁾.

Quanto à composição individual, embora o LMH contenha um perfil diversificado de HMOs, os 15 HMOs individuais mais abundantes são 2'-FL, 3'-FL, lacto-N-difucohexaose I (LNDFH I), LNT, lacto-N-fucosilpentose I (LNFP I), Lacto-N-fucopentaose II (LNFP-II), 6'-SL, LNnT, lactodifucosiltetraose (LDFT), LST, Lacto-N-fucopentaose III (LNFP-III), Trifucosilacto-Nhexaose (TF-LNH)⁽¹⁴⁾, correspondendo a 75% dos HMOs totais. A maioria das estruturas individuais

diminui ao longo lactação, ou seja, no período pós-colostro, nomeadamente o 2'-FL. Embora existam exceções, algumas permanecem estáveis e outras aumentam, como é o caso do 3-FL⁽¹⁴⁾. Embora a razão para isso seja desconhecida até o momento, existe uma especulação de que o 3-FL possa ter um papel particularmente importante para além do período de amamentação exclusiva⁽¹⁴⁾.

Especificamente no colostro o 2'-FL é o oligossacarídeo (HMO) mais abundante, representando cerca de 20-40% dos HMOs totais. Em segundo surge 3-FL, LNT LNDFH I e LNFP I e 3-FL representando cada um cerca de 10 -30% do total de HMOs e em terceiro surge 3'-SL, 6'-SL, LST, disialilacto-N-tetraose (DSLNT), LNnT e LDFT representando cada um cerca de 2-7% do total de HMOs⁽²⁶⁾(Figura 1).

Genética da mãe

Embora a síntese de oligossacarídeos não seja diretamente codificada geneticamente (ao contrário de DNA, RNA e proteínas), a variabilidade dos HMOs é fortemente dependente dos genótipos e respetivos fenótipos maternos⁽²⁸⁾. Variabilidade genética esta já mapeada no cromossoma 19, apresentando mutações identificadas nos cromossomas 4, 8, 10 e 11⁽²⁹⁾. Variações estas designadas de polimorfismos de nucleotídeo único (SPNs) nos genes Secretor (Se) e Lewis (Le), que codificam respetivamente o estado secretor e o grupo sanguíneo maternos. Polimorfismos estes que ocorrem com frequência variável em diferentes populações e possuem uma história evolutiva complexa resultante de pressões seletivas concorrentes^(1, 27).

O perfil dos HMOs entre mães, varia devido às diferenças na expressão de dois genes na glândula mamária^(1, 30), (Se) e (Le) que codificam a atividade de duas enzimas específicas, fucosiltransferase-2 (FUT2) e fucosiltransferase-3 (FUT3)

respetivamente^(13, 14). Com base na genética e no respetivo fenótipo da mãe, o perfil de HMOs do LMH pode ser dividido em 4 grupos: (Se) e (Le) ativos (Se+ Le+); (Se) inativo e (Le) ativo (Se-Le+); (Se) ativo e (Le) inativo (Se+Le-) e (Se) e (Le) inativos (Se-Le-). Apresentando desse modo, cada grupo, concentrações específicas de HMOs individuais ^(5, 13, 14, 17, 27) (Tabela 2). Relativamente ao perfil total de HMOs, estudos referem que mães do grupo 1, que expressem ambos os genes, (Se) e (Le), em comparação com os restantes grupos, apresentam perfis mais complexos de HMOs, tanto em diversidade como em quantidade⁽⁵⁾. Mães do grupo 2 ou 4, que não expressam o (Se), sendo consideradas não secretoras, tendem a secretar uma menor quantidade de HMOs em comparação com mães secretoras, grupo 1 ou 3⁽¹³⁾.

No que toca à transmissão à descendência, estudos evidenciam que a probabilidade de partilhar o genótipo, (Se) e (Le), entre mãe e filho é de pelo menos 25%⁽¹⁾. A maioria dos estudos assume uma regra relativamente à prevalência de mães secretoras e não secretoras, 80% e 20% respetivamente, de modo a conseguirem determinar uma distribuição bimodal. Distribuição esta que fornece uma estimativa das concentrações médias de HMOs de uma mãe saudável, independente do estado secretor, contudo é certo que esta prevalência varia amplamente entre populações a nível geográfico ^(13, 14, 16, 18, 26, 29, 31).

Em suma é evidente que os SPNs nos (Se) e (Le), determinam os perfis gerais dos HMOs no LMH. Contudo é certo que mães com a mesma expressão genética destes genes, apresentam um perfil de HMOs altamente variável verificando-se que, para além dos fatores principais anteriormente referidos, existem outros condicionantes perinatais que afetam indiretamente a trajetória específica dos

HMOs tendo em conta o impacto destes na microbiota neonatal, nomeadamente o tipo de parto e o período de gestação^(27, 32, 33).

Tipo de Parto

No parto vaginal (PV) o recém-nascido entra em contacto com a MI e vaginal materna, ocorrendo uma transmissão vertical da MI materna para o recém nascido. No entanto, no parto por cesariana (CS), a transmissão vertical da MI materna tende a ser interrompida e o recém-nascido entra em contacto com o sistema tegumentar materno (microbiota da pele e oral materna) e com o meio exterior, particularmente o ambiente hospitalar^(23, 34). Todavia a MI materna é a principal fonte de transmissão, correspondendo respetivamente a 72% e 41% das bactérias intestinais do recém-nascido⁽¹⁰⁾.

De acordo com vários estudos, é certo que recém-nascidos nascidos por CS, ao invés de PV, apresentam uma MI neonatal menos diversificada e uma colonização retardada nos géneros benéficos como *Bifidobacterium*^(10, 12), *Bacteroides* e *Lactobacillus*⁽²³⁾, e aumentada em bactérias potencialmente patogénicas como *Clostridium perfringens*, *Escherichia*^(33,35), *Staphylococcus*⁽³⁴⁾, *Corynebacterium*⁽¹⁰⁾, *Enterococcus*, *Enterobacter* e *Klebsiella*⁽²³⁾. Colonização esta que condiciona tanto a utilização como a metabolização futura dos HMOs.

Por fim é certo que a ausência do contacto materno pelo canal vaginal pode explicar parcialmente as principais diferenças na MI neonatal, contudo há outros fatores que condicionam esta colonização, nomeadamente dieta do lactente e a exposição a antibióticos, especialmente por profilaxia intraparto⁽³⁶⁾.

Período de gestação

O período de gestação tem uma influência significativa na composição específica dos HMOs no LMH, especialmente em casos de nascimentos pré-termo^(12, 26). Os bebês pré-termo (PT) são caracterizados por apresentarem baixo peso ao nascer e uma imaturidade acentuada a nível do trato gastrointestinal, adicionalmente a maioria destes bebês PT nasce por CS e é sujeito a profilaxia intraparto, fatores estes que condicionam à partida o normal desenvolvimento da MI^(34, 37).

Estudos verificaram que o leite de mães de bebês PT apresenta concentrações de HMOs totais inferiores, nomeadamente em HMOs α 1-2-fucosilados, como 2'-FL, LNFP I e LNH contudo é sobre representado por HMOs sialilados, nomeadamente 3'-SL e DSLNT^(12, 13), em comparação com leite de mães de bebês a termo. Estas variações justificam a ideologia de que a composição LMH, especificamente em HMOs, reflete as necessidades de crescimento e desenvolvimento específicas do recém-nascido^(5, 11, 31). Porém as variações referidas anteriormente, podem ainda variar consoante a genética da mãe. Destacando que mães não secretoras não produzem de todo HMOs α 1-2-fucosilados, todavia apresentam maior prevalência de outros HMOs específicos⁽³⁰⁾.

Impacto dos oligossacarídeos na microbiota infantil

Os primeiros 1000 dias de vida, vida intrauterina e primeiros dois anos de vida, são uma janela de oportunidade para a colonização e respetiva evolução benéfica da MI infantil. Esta colonização é um processo sensível e dinâmico^(27, 34), que tende a ser impactado por inúmeros fatores, nomeadamente o tipo de parto, a idade

gestacional, a dieta do lactente e o uso de antibióticos⁽³⁸⁾. Todavia a amamentação é o fator mais preponderante, seguido do tipo de parto.

Os HMOs conferem efeitos prebióticos na MI infantil, atuando como uma vantagem nutricional seletiva para as bactérias comensais, através da promoção do crescimento e da colonização de bactérias benéficas (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus*) e da inibição de bactérias patogénicas (*Clostridium* e *Escherichia*)^(9, 39-42).

Inicialmente a MI do recém nascido é colonizada por bactérias anaeróbias facultativas do género *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* e outros membros da família Enterobacteriaceae⁽¹¹⁾. Bactérias estas que criam gradualmente um ambiente de oxigénio reduzido, que facilita a colonização de bactérias anaeróbias obrigatórias como: *Bifidobacterium*, *Bacteroides* ou *Clostridium*⁽²³⁾. Sendo a prevalência destas bactérias, anaeróbias obrigatórias, condicionada essencialmente pela dieta do lactente⁽³³⁾. Estudos relatam que em recém-nascidos amamentados predominam as *Bifidobacterium* do tipo infantil, nomeadamente as espécies *B. breve*, *B. bifidum*, *B. longum* e *B. longum subsp. infantis*⁽⁴³⁾ e *Bacteroides*. Enquanto que em recém-nascidos e bebés não amamentados, alimentados com FII, é notória uma maior prevalência de géneros como *Clostridium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Veillonella*^(13, 24).

As *Bifidobacterium* do tipo infantil predominam, tal como referido anteriormente na MI de recém nascidos saudáveis amamentados^(23, 28), devido à sua capacidade única de metabolizar os HMOs^(11, 23, 33). Esta capacidade é justificada pela predisposição genética e respetiva adaptação evolutiva deste

grupo de bactérias, sendo a *Bifidobacterium longum subsps. infantis* a bactéria que mais reflete esta evolução^(11, 42, 44, 45) e a que impulsiona grande parte do metabolismo destes compostos bioativos^(24, 46). Através da atividade desta bactéria, são libertados e sintetizados subprodutos e produtos finais que condicionam a atividade de outras bactérias, tanto do seu género como de outros⁽³⁸⁾. Géneros como *Lactobacillus* e *Bacteroides*^(13, 47) beneficiam dos subprodutos enquanto géneros como *Clostridium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*⁽²³⁾ beneficiam dos produtos finais, distinção esta que se deve ao facto das primeiras terem capacidade, embora limitada (em comparação com as *Bifidobacterium*), de metabolizar HMOs específicos enquanto os segundos géneros mencionados não possuem esta vantagem enzimática⁽⁹⁾. No seu conjunto, estes factos realçam a cooperação da comunidade bacteriana no intestino neonatal e do lactente para maximizar a utilização de HMOs, de modo a manter o equilíbrio imunológico intestinal dos recém-nascidos, futuros lactentes. Sugerindo uma ligação evolutiva clara entre a MI neonatal e do lactente, a subespécie *Bifidobacterium longum subsps. Infantis* e o metabolismo de HMOs⁽²³⁾.

As altas concentrações de HMOs no LMH e a prevalência das *Bifidobacterium* do tipo infantil, tanto pela vantagem nutricional seletiva como quer pela vantagem genética característica desta espécie, representam a coevolução da relação simbiótica da MI com o recém-nascido, futuro lactante⁽⁴⁸⁾. O benefício dos HMOs depende maioritariamente da sua absorção celular e da presença específica de determinadas bactérias intestinais benéficas na MI infantil, tendo em conta que a sua metabolização seletiva⁽¹⁷⁾.

Relação simbiótica entre o recém-nascido, futuro lactente e a sua microbiota intestinal

Claramente que para o desenvolvimento de uma MI saudável, deve coexistir uma relação de simbiose, entre as bactérias comensais da MI e o recém-nascido, futuro lactente^(10, 13), sendo os HMOs os principais intervenientes nesta relação⁽¹⁶⁾.

O recém-nascido, futuro lactente, através da dieta, LMH ou FII, faculta os HMOs às bactérias comensais da MI, como substrato energético. Bactérias estas que através da sua utilização produzem compostos “pós-bióticos”, nomeadamente ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs) como acetato, propionato e butirato, que demonstram produzir inúmeros benefícios na saúde do lactente^(10, 32, 39). Sendo assim estabelecida uma relação de simbiótica mutualista entre as o lactente e sua MI. As concentrações destes SCFAs e a prevalência das bactérias do género *Bifidobacterium* no intestino permitem prever o risco inúmeras doenças típicas na infância, sendo a abundância de ambos associados a proteção^(23, 33, 49, 50).

Esta relação inicia-se após o nascimento, com a modalidade de parto e com a dieta do lactente. Aquando da presença inadequada ou ausência dos HMOs, a colonização e respetiva modulação da MI é alterada, sendo visível em casos específicos como bebés PT, nascidos por CS e bebés expostos a antibióticos. Casos que por si só são caracterizados por uma abundância reduzida de espécies do género *Bifidobacterium*. No entanto é certo que todos estes casos beneficiam, da prática de amamentação, tornando-se assim esta um fator crítico para um desenvolvimento benéfico e atempado da MI, sendo até considerada como um fator preditor da saúde a curto e a longo prazo da criança^(23, 51). Sendo deste modo

a presença e respetiva prevalência das *Bifidobacterium* do tipo infantil crítica para o desenvolvimento saudável da MI^(10, 23, 34, 45, 47, 52).

Discussão/Análise Crítica e Conclusão

Os HMOs possuem um impacto profundo e multifacetado na MI do recém-nascido, futuro lactente. Demonstrada a variabilidade de HMOs no LMH e a própria interação complexa destes com a MI, é fundamental ressaltar que a prática da amamentação é uma das principais abordagens, e a mais acessível, para a promoção de uma MI saudável e é o no início de vida que reside a oportunidade de promover a colonização e respetiva modulação ideal. Destacar que algumas práticas clínicas atuais, como o CS e o uso de antibióticos, devem ser, sempre que possível evitados^(45, 48).

Uma das principais limitações identificadas nos artigos incluídos, foi a heterogeneidade dos métodos de avaliação utilizados. Relativamente ao método de avaliação da variação dos HMOs no LMH, os estudos variavam na localização geográfica, no tamanho da amostra, na metodologia de quantificação utilizada (variações no tratamento da amostra e nas ferramentas analíticas utilizadas) e pelas unidades estatísticas utilizadas. Limitação esta que culmina numa quantificação limitada de HMOs. Pressupõe-se que a abundância destes compostos sugere a importância da função biológica. Contudo não podemos deduzir que os HMOs menos abundantes, não desempenhem também papéis fisiológicos relevantes. Em relação à variabilidade da avaliação do impacto dos HMOs na MI, a maioria dos estudos recorre à colheita de amostras fecais⁽⁴⁸⁾ e/ou à diversidade alfa (α) e beta (β) das bactérias presentes na MI de recém-nascidos e lactentes⁽⁵¹⁾ para averiguar quais as diferenças na MI, de modo a conseguirem deduzir

potenciais relações com os HMOs específicos. Contudo esta só colheita não é suficiente para desvendar o verdadeiro impacto destes compostos na MI. Outras abordagens adicionais têm sido usadas, sendo as ômicas as que permitem produzir resultados mais fiáveis⁽¹⁷⁾. A adaptação do LMH, ao longo da lactação é incontestável^(5, 11), sendo imperativo conjugar diferentes metodologias de avaliação de modo a tentar clarificar a relação de simbiose entre os HMOs e a MI. Por fim, outra limitação desta revisão foi a exclusão de artigos que relatassem a exposição de HMOs através de outras vias, especialmente através das FII, exclusão esta, que poderá ter limitado as conclusões do impacto destes compostos, tendo em conta que dos artigos incluídos gera-se a ideia de que grande parte dos impactos específicos destes compostos se evidenciam aquando da sua inclusão em FII. Atualmente a prática de adicionar prebióticos às FII tornou-se comum em todo o mundo⁽⁴⁸⁾, sendo 2'-FL, LNnT, LNT, 3'-SL e 6'-SL o conjunto proposto de 5 HMOs principais usados na fortificação^(1, 9, 48, 53, 54). No entanto é essencial considerar o custo da fortificação, as evidências limitadas a longo prazo e a possibilidade de efeitos secundários.

Em suma, os HMOs são componentes críticos no LMH e desempenham um papel vital, na colonização e respetiva modulação de MI saudável. Estes compostos permitem estabelecer uma nutrição personalizada, especialmente para recém-nascidos e lactentes, que não possam ser amamentados ou aqueles cuja intervenção clínica não tenha sido a ideal. É claro que a manipulação através da dieta é uma ferramenta potencialmente útil para o tratamento de distúrbios internos e externos, através da modulação da MI que determina por sua vez a saúde infantil.

Agradecimentos

Agradecer à minha orientadora, Mestre Marlene Morgado, por toda a orientação e confiança em mim depositada, ao longo de todo o processo.

Referências

1. Hill DR, Chow JM, Buck RH. - Multifunctional Benefits of Prevalent HMOs: Implications for Infant Health. 2021; - 13(- 10)
2. Haroon S, Das JK, Salam RA, Imdad A, Bhutta ZA. Breastfeeding promotion interventions and breastfeeding practices: a systematic review. BMC public health. 2013; 13:1-18.
3. Breastfeeding So, Eidelman AI, Schanler RJ, Johnston M, Landers S, Noble L, et al. Breastfeeding and the use of human milk. Pediatrics. 2012; 129(3):e827-e41.
4. Rito AI, Buoncristiano M, Spinelli A, Salanave B, Kunešová M, Hejgaard T, et al. Association between characteristics at birth, breastfeeding and obesity in 22 countries: The WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative-COSI 2015/2017. Obesity facts. 2019; 12(2):226-43.
5. Corona L, Lussu A, Bosco A, Pintus R, Marincola FC, Fanos V, et al. - Human Milk Oligosaccharides: A Comprehensive Review towards Metabolomics. 2021; - 8(- 9)
6. Chouraqui JP. - Does the contribution of human milk oligosaccharides to the beneficial effects of breast milk allow us to hope for an improvement in infant formulas? 2021; - 61(- 9):- 1514.
7. Sprenger N, Tytgat HLP, Binia A, Austin S, Singhal A. Biology of human milk oligosaccharides: From basic science to clinical evidence. J Hum Nutr Diet. 2022; 35(2):280-99.
8. Selma-Royo M, Calvo-Lerma J, Bäuerl C, Esteban-Torres M, Cabrera-Rubio R, Collado MC. Human milk microbiota: what did we learn in the last 20 years? Microbiome Res Rep. 2022; 1(3):19.
9. Kiely LJ, Busca K, Lane JA, van Sinderen D, Hickey RM. Molecular strategies for the utilisation of human milk oligosaccharides by infant gut-associated bacteria. FEMS Microbiol Rev. 2023; 47(6)
10. Toca MDC, Burgos F, Fernández A, Giglio N, Orsi M, Sosa P, et al. Gut ecosystem during infancy: The role of "biotics". Arch Argent Pediatr. 2020; 118(4):278-85.

11. Davis EC, Castagna VP, Sela DA, Hillard MA, Lindberg S, Mantis NJ, et al. Gut microbiome and breast-feeding: Implications for early immune development. *J Allergy Clin Immunol.* 2022; 150(3):523-34.
12. Vandenplas Y, Carnielli VP, Ksiazek J, Luna MS, Migacheva N, Mosselmans JM, et al. Factors affecting early-life intestinal microbiota development. *Nutrition.* 2020; 78:110812.
13. Boudry G, Charton E, Le Huerou-Luron I, Ferret-Bernard S, Le Gall S, Even S, et al. The Relationship Between Breast Milk Components and the Infant Gut Microbiota. *Front Nutr.* 2021; 8:629740.
14. Soyyilmaz B, Miks MH, Röhrig CH, Matwiejuk M, Meszaros-Matwiejuk A, Vignæs LK. - The Mean of Milk: A Review of Human Milk Oligosaccharide Concentrations throughout Lactation. 2021; - 13(- 8)
15. Hanau S, Almugadam SH, Sapienza E, Cacciari B, Manfrinato MC, Trentini A, et al. Schematic overview of oligosaccharides, with survey on their major physiological effects and a focus on milk ones. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications.* 2020; 1 C7 - 100013
16. Zhang S, Li T, Xie J, Zhang D, Pi C, Zhou L, et al. Gold standard for nutrition: a review of human milk oligosaccharide and its effects on infant gut microbiota. *Microb Cell Fact.* 2021; 20(1):108.
17. Zhang B, Li LQ, Liu F, Wu JY. Human milk oligosaccharides and infant gut microbiota: Molecular structures, utilization strategies and immune function. *Carbohydr Polym.* 2022; 276:118738.
18. Sudarma V, Hegar B, Hidayat A, Agustina R. Human Milk Oligosaccharides as a Missing Piece in Combating Nutritional Issues during Exclusive Breastfeeding. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2021; 24(6):501-09.
19. Thai JD, Gregory KE. Bioactive Factors in Human Breast Milk Attenuate Intestinal Inflammation during Early Life. *Nutrients.* 2020; 12(2)
20. Moubareck CA. Human Milk Microbiota and Oligosaccharides: A Glimpse into Benefits, Diversity, and Correlations. *Nutrients.* 2021; 13(4)
21. Selvamani S, Kapoor N, Ajmera A, El Enshasy HA, Dailin DJ, Sukmawati D, et al. Prebiotics in New-Born and Children's Health. *Microorganisms.* 2023; 11(10)

22. Chambers SA, Townsend SD. Like mother, like microbe: human milk oligosaccharide mediated microbiome symbiosis. *Biochem Soc Trans.* 2020; 48(3):1139-51.
23. Lin C, Lin Y, Zhang H, Wang G, Zhao J, Zhang H, et al. Intestinal 'Infant-Type' Bifidobacteria Mediate Immune System Development in the First 1000 Days of Life. *Nutrients.* 2022; 14(7)
24. Yang L, Zhu Y, Meng J, Zhang W, Mu W. Recent progress in fucosylated derivatives of lacto-N-tetraose and lacto-N-neotetraose. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2023:1-13.
25. Biddulph C, Holmes M, Kuballa A, Davies PSW, Koorts P, Carter RJ, et al. Human milk oligosaccharide profiles and associations with maternal nutritional factors: A scoping review. *Nutrients.* 2021; 13(3 C7 - 965):1-20.
26. Thum C, Wall CR, Weiss GA, Wang W, Szeto I-Y, Day L. Changes in HMO Concentrations throughout Lactation: Influencing Factors, Health Effects and Opportunities. *Nutrients.* 2021; 13(7)
27. Kijner S, Kolodny O, Yassour M. Human milk oligosaccharides and the infant gut microbiome from an eco-evolutionary perspective. *Curr Opin Microbiol.* 2022; 68:102156.
28. Wang J, Chen MS, Wang RS, Hu JQ, Liu S, Wang YY, et al. Current Advances in Structure-Function Relationships and Dose-Dependent Effects of Human Milk Oligosaccharides. *J Agric Food Chem.* 2022; 70(21):6328-53.
29. Mulinge MM, Abisi HK, Kabahweza HM, Okutoyi L, Wamalwa DC, Nduati RW. - The Role of Maternal Secretor Status and Human Milk Oligosaccharides on Early Childhood Development: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2024
30. Carr LE, Virmani MD, Rosa F, Munblit D, Matazel KS, Elolimy AA, et al. Role of Human Milk Bioactives on Infants' Gut and Immune Health. *Front Immunol.* 2021; 12:604080.
31. Wiciński M, Sawicka E, Gębalski J, Kubiak K, Malinowski B. Human Milk Oligosaccharides: Health Benefits, Potential Applications in Infant Formulas, and Pharmacology. *Nutrients.* 2020; 12(1)

32. Hu M, Li M, Li C, Miao M, Zhang T. Effects of Human Milk Oligosaccharides in Infant Health Based on Gut Microbiota Alteration. *J Agric Food Chem.* 2023; 71(2):994-1001.
33. Sakanaka M, Gotoh A, Yoshida K, Odamaki T, Koguchi H, Xiao JZ, et al. Varied Pathways of Infant Gut-Associated Bifidobacterium to Assimilate Human Milk Oligosaccharides: Prevalence of the Gene Set and Its Correlation with Bifidobacteria-Rich Microbiota Formation. *Nutrients.* 2019; 12(1)
34. Biagioli V, Volpedo G, Riva A, Mainardi P, Striano P. From Birth to Weaning: A Window of Opportunity for Microbiota. *Nutrients.* 2024; 16(2)
35. Princisval L, Rebelo F, Williams BL, Coimbra AC, Crovesy L, Ferreira AL, et al. - Association Between the Mode of Delivery and Infant Gut Microbiota Composition Up to 6 Months of Age: A Systematic Literature Review Considering the Role of Breastfeeding. 2022; - 80(- 1):- 127.
36. Pivrcova E, Kotaskova I, Thon V. - Neonatal Diet and Gut Microbiome Development After C-Section During the First Three Months After Birth: A Systematic Review. 2022; - 9
37. Aguilar-Lopez M, Dinsmoor AM, Ho TTB, Donovan SM. - A systematic review of the factors influencing microbial colonization of the preterm infant gut. 2021; - 13(- 1):- 33.
38. Ma J, Palmer DJ, Geddes D, Lai CT, Stinson L. Human Milk Microbiome and Microbiome-Related Products: Potential Modulators of Infant Growth. *Nutrients.* 2022; 14(23)
39. Gallo V, Arienzo A, Tomassetti F, Antonini G. - Milk Bioactive Compounds and Gut Microbiota Modulation: The Role of Whey Proteins and Milk Oligosaccharides. 2024; - 13(- 6)
40. Hegar B, Wibowo Y, Basrowi RW, Ranuh RG, Sudarmo SM, Munasir Z, et al. The Role of Two Human Milk Oligosaccharides, 2'-Fucosyllactose and Lacto-N-Neotetraose, in Infant Nutrition. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2019; 22(4):330-40.
41. Li W, Wang J, Lin Y, Li Y, Ren F, Guo H. How far is it from infant formula to human milk? A look at the human milk oligosaccharides. *Trends in Food Science and Technology.* 2021; 118:374-87.

42. Andres SF, Scottoline B, Good M. Shaping infant development from the inside out: Bioactive factors in human milk. *Semin Perinatol.* 2023; 47(1):151690.
43. Stewart CJ. 2022 Fleming Prize Lecture: diet-microbe-host interaction in early life. *J Med Microbiol.* 2023; 72(4)
44. Masi AC, Stewart CJ. - Untangling human milk oligosaccharides and infant gut microbiome. 2022; - 25(- 1)
45. Zeinali LI, Giuliano S, Lakshminrusimha S, Underwood MA. Intestinal Dysbiosis in the Infant and the Future of Lacto-Engineering to Shape the Developing Intestinal Microbiome. *Clin Ther.* 2022; 44(2):193-214.e1.
46. Orczyk-Pawilowicz M, Lis-Kuberka J. The Impact of Dietary Fucosylated Oligosaccharides and Glycoproteins of Human Milk on Infant Well-Being. *Nutrients.* 2020; 12(4)
47. Sánchez C, Fente C, Regal P, Lamas A, Lorenzo MP. Human Milk Oligosaccharides (HMOs) and Infant Microbiota: A Scoping Review. *Foods.* 2021; 10(6)
48. Donovan SM. Evolution of the gut microbiome in infancy within an ecological context. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2020; 23(3):223-27.
49. Singh RP, Niharika J, Kondepudi KK, Bishnoi M, Tingirikari JMR. Recent understanding of human milk oligosaccharides in establishing infant gut microbiome and roles in immune system. *Food Res Int.* 2022; 151:110884.
50. Yahagi K. Fucosylated human milk oligosaccharide-utilizing bifidobacteria regulate the gut organic acid profile of infants. *Biosci Microbiota Food Health.* 2024; 43(2):92-99.
51. Sakarya E, Sanlier NT, Sanlier N. - The relationship between human milk, a functional nutrient, and microbiota. 2023; - 63(- 21):- 4854.
52. Rousseaux A, Brosseau C, Le Gall S, Piloquet H, Barbarot S, Bodinier M. Human Milk Oligosaccharides: Their Effects on the Host and Their Potential as Therapeutic Agents. *Front Immunol.* 2021; 12:680911.
53. Hu MM, Miao M, Li KW, Luan QM, Sun GL, Zhang T. - Human milk oligosaccharide lacto-N-tetraose: Physiological functions and synthesis methods. 2023; - 316

54. Zhu Y, Zhang J, Zhang W, Mu W. Recent progress on health effects and biosynthesis of two key sialylated human milk oligosaccharides, 3'-sialyllactose and 6'-sialyllactose. *Biotechnol Adv.* 2023; 62:108058.

Sumário de Apêndices

Figura 1 7

Tabela 2 8

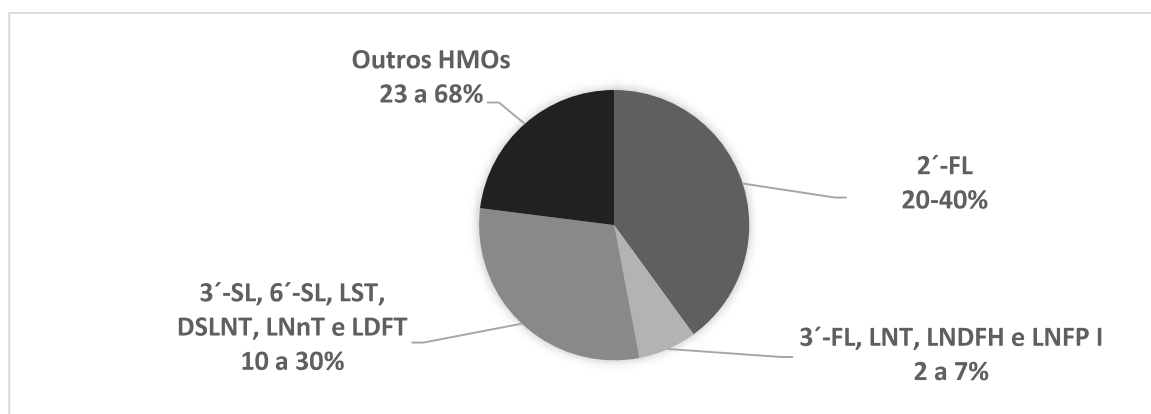


Figura 1 - Distribuição dos HMOs no colostro

Tabela 2 - Variação do perfil individual dos HMOs em função da expressão genética de (Se) e (Le)

Gene	Fucosiltransferase		HMOs fucosilados		
	(FUT2)	(FUT3)	2'FL + LNP-I	3'FL + LNP-III	LNP-II
	α 1-2	α 1-3/4	α 1-2	α 1-3	α 1-4
(Se)	+		+		
(Le)		+		+	+
Genótipo		Fenótipo			
Se+Le+	+	+	+	+	+
Se-Le+	-	+	-	+	+
Se+Le-	+	-	+	+	-
Se-Le-	-	-	-	-	-

Legenda: (Se+ Le+) - (Se) e (Le) ativos; (Se-Le+) - (Se) inativo e (Le) ativo; (Se+Le-) - (Se) ativo e (Le) inativo e (Se-Le-) - (Se) e (Le) inativos.

