

Paula de Oliveira Serafin

**Suplemento homologado do leite humano
acrescido ao leite humano de banco para
alimentação do recém-nascido de muito baixo
peso.**

Campo Grande - MS

2010

Paula de Oliveira Serafin

**Suplemento homologado do leite humano
adicionado ao leite humano de banco para
alimentação do recém-nascido de muito baixo
peso.**

Dissertação de Mestrado
apresentado ao Programa de Pós-
Graduação de Saúde e
Desenvolvimento da Região
Centro - Oeste sob orientação do
Profº Dr. Durval Batista Palhares
para obtenção do título de Mestre.

Campo Grande - MS

2010

Folha de Aprovação

Paula de Oliveira Serafin

**Suplemento homologado do leite humano acrescido ao leite humano
de banco para alimentação do recém-nascido de muito baixo peso.**

Dissertação de Mestrado apresentado ao
Programa de Pós Graduação de Saúde e
Desenvolvimento da Região Centro - Oeste
sob orientação do Profº Dr. Durval Batista
Palhares para obtenção do título de Mestre.

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____.

Banca examinadora

Prof. Dr. Durval Batista Palhares – UFMS

Prof. Dr. Joel Lamounier – UFMG

Prof. . Dr. Petr Melnikov – UFMS

Profª Drª Aby Jaine da Cruz Montes Moura

Campo Grande – MS

2010

DEDICATÓRIA

*Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!*

Ao meu pai e a minha mãe,

Dirceo e Lucia

Ensinarão-me os valores da vida.

Ao meu amor,

Carlos Cesar Ferreira

Quando eu estiver triste, simplesmente me abrace, quando eu estiver louco
subitamente se afaste, quando eu estiver farto suavemente se encaixe, quando
eu estiver morto, suplico que não me mate, dentro de ti!

Aos meus filhos,

João Pedro e Lívia

...a vocês dois, minha vida!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

“Acredito que o futuro brilhante é baseado em um passado intensamente vivido. Só temos sucesso na vida, quando perdoamos os erros e as decepções do passado. Por isso, é tempo de lutar pela felicidade. Ela é um estado de alma que precisamos aprender a cultivar dentro do nosso coração em todos os momentos de nossa vida. Não está fora de nós, e nem na presença das pessoas, por mais que as amemos. Está dentro de nós, na plenitude da vida, quando colocamos nosso amor para fora e enxergamos as coisas boas que possuímos. É benção a ser conquistada. Ela flui de dentro para fora e independe até das outras pessoas. Se você quer ser feliz, esqueça os erros do passado, esqueça sua culpa. Cultive as bênçãos do presente, e perceberá que a felicidade sempre esteve ao seu lado sem que você a deixasse entrar.”

Matheus Furtado

Ao Professor **Dr. Durval Batista Palhares**, professor titular do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, orientador deste trabalho de pós - graduação, que me ensinou muito além do que eu imaginava. Algo como, viver bem a vida e amar as coisas que fazemos.

A querida amiga companheira, sabia determinada e pacienciosa **Débora Marchetti Chaves Thomaz**. Foi meu apoio e meu caminho sem ela nada seria, meu eterno agradecimento e admiração.

A amiga de trabalho **Luciana Venhofen Martinelli Tavares**, que em sua perspicácia e organização com os números e dado e estatística. Meu muito obrigada.

As **mães e recém nascidos** que fizeram parte da pesquisa e que sem eles, nada disto valeria a pena!

AGRADECIMENTOS

A, **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**, pelo desenvolvimento do Programa de Pós Graduação Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste e pelo acolhimento para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Professor **Dr. Ricardo Dutra Aydos** coordenador do Programa de Pós Graduação Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste

Aos **funcionários da Unidade de Terapia Intensiva** do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

A Sebastiana Arminda Rodrigues de Arruda e Helaine Cristina Pereira de Almeida Vargas **funcionários do laboratório** do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

A Marcio Olívio Figueiredo Vargas pela ajuda nas dosagens e padronização de leitura dos dados.

Os **amigos** que de forma direta e indireta ajudaram a realizar esta pesquisa.

A **Fundect** pelo apóio financeiro.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Etapas de processamento do leite humano modificado.....	47
FIGURA 2 - Desnatadeira casa das desnatadeiras.....	50
FIGURA 3 – Rotaevaporador Marconi.....	50
FIGURA 4 – Centrífuga refrigerada Sigma 3K30.....	51
FIGURA 5 – Tubo cônico de plástico contendo leite humano após centrifugação e descongelamento em banho Maria, mostrando o precipitado de lactose evidenciado pela cor mais leitosa.....	51
FIGURA 6 – Precipitado de lactose após retirada do sobrenadante. Da esquerda para direita mostrando tubo cônico com leite humano, sobrenadante e precipitado de lactose, seguido do tudo sem o leite humano.....	52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Recomendações nutricionais para o crescimento de recém-nascidos pré-termo de acordo com as recomendações dos comitês de nutrição.....	25
TABELA 2 - Comparação dos macronutrientes, proteína, gordura, lactose, osmolaridade e calorias das amostras de 100ml de leite humano modificado e FM85®	63
TABELA 3 - Comparação dos minerais sódio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco, cobre das amostras de 100ml de leite humanomodificado e leite humano acrescido de FM®85	67
TABELA 4 - Velocidade de ganho de peso, comprimento e perímetro cefálico dos recém-nascidos alimentado com LHM e LHF.....	70
TABELA 5 - Comparação entre leite humano pré-termo e leite humano modificado	75

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

UFMS = Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

DHA = Ácido docosa-hexaenóico

AGPICL= ácido graxo poliinsaturado de cadeia longa

HU = Hospital Universitário

CTI = Centro de Terapia Intensiva

UTI = Unidade de Terapia Intensiva

Kg = Kilograma

G = Grama

® = Registro

ml = mililitro

mg = miligrama

cm = centímetro

RN = Recém- nascido

RNT= recém-nascido termo

RNPT = Recém-nascido Pré – termo

NPT= nutrição parenteral total

RNBMP= recém-nascido muito baixo peso

aa = Aminoácidos

LH = Leite Humano

LHB = Leite Humano de Banco

FM 85[®] = aditivo da Marca Nestlé

LHF= Leite Humano acrescido de FM85[®]

LHM = Leite Humano do Banco modificado

p = probabilidade

% = Porcentagem

rpm = Respiração por minuto

< = Menor que

> = Maior que

mmHg = Milímetros de Mercúrio

°C = Grau Celsius

mM/l = milimolar/litro

RESUMO

O leite humano não modificado por apresentar uma enorme variabilidade nutricional seja por estágio da lactação, período do dia, paridade, ingesta materna, método de estocagem, armazenamento e administração tem se mostrado inadequado para alimentar o RNPT. A utilização de aditivos de origem bovina promove melhoria dos índices de crescimento em detrimento do perfil dos aminoácidos séricos e incidência de distúrbios gastrintestinais como enterocolite necrosante. Objetivo: Desenvolver, um composto lácteo a partir de leite humano de banco modificado, através do desnate, evaporação e retirada da lactose para ser utilizado na alimentação do recém-nascido pré-termo de muito baixo peso. Método: Foram utilizadas 20 amostras de pool de leite humano divididas em duas alíquotas para compor os dois grupos do estudo: leite humano modificado pelo desnate, evaporação e retirada da lactose (LHM) e leite humano acrescido de aditivo comercial FM85[®] (LHF). A comparação entre as variáveis mensuradas nas dietas propostas foi realizada por meio do teste paramétrico t-student pareado de uma amostra. A análise estatística foi utilizado a média e o erro padrão da média para todos os resultados que foram analisados estatisticamente utilizando o Microsoft Excel 2003 para planilhamento dos dados e o “software” SigmaStat para Windows[®], na versão 2.0. Em todos os testes utilizados foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças na qual o valor de “p” foi menor que 0,05 Resultados: O LHM proposto neste estudo como aditivo para reconstituição no leite humano propicia uma dieta láctea com quantidades de micronutrientes equivalente ao leite humano pré-termo. Conclusão: Os níveis de minerais é menor no LHM do que em relação a outros aditivos comerciais, necessitando de suplementação medicamentosa e controle sérico, ainda sim, mostrando ser compatível com a alimentação do RNPT.

DESCRIPTORIOS: Recém-Nascido Pré-Termo; Leite Humano de Banco, Aditivos.

ABSTRACT

Human milk is not changed by having a huge nutritional variability is by stage of lactation, time of day, parity, maternal intake, storage method, storage and management has proven inadequate to feed preterm infants. The use of additives of bovine promotes improved growth rates over the amino acid profile of serum and the incidence of gastrointestinal disorders such as necrotizing enterocolitis. Objective: To develop a composite milk from human milk banking modified by cream, evaporation and removal of lactose for use in feeding the newborn preterm very low birth weight. Study design: We analyzed 20 samples of pooled human milk divided into two aliquots, resulting in two study groups: human milk modified by cream, evaporation and removal of lactose (LHM) and human milk plus commercial additive FM85® (LHF). The comparison between the variables measured in the diets proposals was performed using the parametric t-student test for paired sample. Statistical analysis was used to mean and mean standard error for all results were statistically analyzed using Microsoft Excel 2003 for spreadsheets of data and software SigmaStat for Windows, in version 2.0.® In all tests were considered statistically significant differences in which "p" was less than 0.05 Results: LHM proposed in this study as an additive for reconstitution in human milk provides a milk diet with equivalent amounts of micronutrients to the milk human preterm infants. Conclusion: The levels of minerals in the LHM is lower than for other commercial additives, requiring supplementation and control serum, but still showing to be compatible with the power of the premature newborn

KEY WORDS: Pre Term Newborn; Human Milk Bank, Additives

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 O recém-nascido.....	17
1.2 Características morfofuncionais.....	19
1.3 Necessidades nutricionais.....	23
1.3.1 Sódio.....	26
1.3.2 Potássio	27
1.3.3 Cálcio e Fósforo	27
1.3.4 Manganês	29
1.3.5 Zinco.....	30
1.3.6 Cobre.....	31
1.3.7 Ferro.....	32
1.4 Características do leite humano	33
2. OBJETIVOS.....	42
2.1 Geral.....	42
2.2 Específico.....	42
3. HIPÓTESES.....	43
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1 Seleção da população.....	44
4.2 Preparo do leite humano acrescido de FM85®	46
4.3 Preparo do leite humano modificado	46
4.4 Desnate do leite humano.....	48
4.5 Evaporação do leite humano.....	49
4.6 Retirada da lactose	49

4.7	Determinação de proteínas.....	52
4.8	Determinação de gordura.....	54
4.9	Determinação do conteúdo calórico	54
4.10	Determinação dos hidratos de carbono.....	55
4.11	Determinação da osmolalidade.....	56
4.12	Determinação do sódio e potássio	56
4.13	Determinação do cálcio	57
4.14	Determinação do Fósforo.....	58
4.15	Determinação do Manganês	59
4.16	Determinação do Zinco e cobre.....	60
4.17	Determinação do Ferro.....	61
4.18	Análise dos resultados	62
5.	RESULTADOS	63
5.1	Proteína.....	63
5.2	Gordura	64
5.3	Hidrato de carbono	64
5.4	Osmolalidade	64
5.5	Sódio	64
5.6	Potássio	65
5.7	Cálcio	65
5.8	Fósforo	65
5.9	Manganês	66
5.10	Zinco	66
5.11	Cobre	66
5.12	Ferro	66

5.13 Sexo	68
5.14 Idade gestacional	68
5.15 Peso de nascimento	68
5.16 Início da nutrição enteral	68
5.17 Nutrição enteral exclusiva	69
5.18 Volume de dieta total recebido	69
5.19 Caloria total recebida	69
5.20 Ventilação mecânica	69
5.21 Tolerância gástrica	70
6. DISCUSSÃO	71
7 CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
APÊNDICES	
ANEXOS	

1 INTRODUÇÃO

Para garantir o crescimento pós-natal ideal deveríamos garantir condições nutricionais que mimetizasse o que ocorre intra-útero no mesmo período de tempo (AAP, 1985; ESPGAN, 1987).

Greer no ano de 2001 faz uma análise retrospectiva mostrando o histórico da alimentação do recém-nascido termo (RNPT) iniciando seu trajeto com Berthod 1887 e Budin 1907 que popularizaram a técnica de alimentação por gavagem precoce com leite materno, e em 1913 o advento da unidade hospitalar para prematuros no Hospital Michael Reese, em Chicago. Em 1930 Gordon e colaboradores desenvolveram estudos sobre o metabolismo respiratório confirmando as exigências energéticas de 120kcal/kg/d.

Estudos traçaram perfis nutricionais, exigências energéticas, compararam dietas e ganho de peso. Hess e Lundeen em 1941 introduziram o conceito de que a alimentação deveria ser adiada.

Benjamim e colaboradores em 1943 estudaram o crescimento esquelético dos prematuros e observaram que estes cresciam mais rapidamente quando alimentados com "fórmula do leite de vaca" em comparação com o leite humano.

Ainda em seu histórico, Greer nos traz que em 1978 em estudos de Davies observaram que o atraso no início da alimentação gerava prejuízo no desenvolvimento neurológico, surgem às preocupações com hipoglicemia, hipernatremia, hiperbilirrubinemia e severa perda de peso.

Ainda na década de 60, percebeu-se que o ganho de peso com o uso de fórmulas de leite de vaca poderia ser atribuído à água corporal total aumentada secundária à retenção de eletrólitos (BABSON; BRAMHILL, 1969).

Raiha, *et al.* (1976) discutiram a importância da proteína de qualidade "e não quantidade", dando início a um novo interesse em usar leite materno em RNPT. Em 1980 houve o desenvolvimento de fórmulas especiais para os RNBP com maiores teores protéicos, minerais, vitaminas e com triglicérides de cadeia média.

Seguiram estudos sobre desenvolvimento, cognitivo, desordens clínicas como enterocolite e a preocupação com desenvolvimento socioeconômico cultural e a influência da alimentação de uma população em formação (LUCAS; 1990; 1992; 1996; MORLEY ; LUCAS,1997).

Desenvolveram em 1990 fortificantes do leite humano com ênfase no uso do leite da própria mãe e mamadas tróficas precoces.

Percebe-se um árduo trabalho na busca da compreensão do balanço metabólico onde o leite humano foi utilizado em larga escala. Percepção do crescimento ósseo inadequado do RNPT alimentados com leite humano e a busca por métodos alternativos de alimentação como o leite de vaca. A qualidade protéica, seguida da adequação nutricional de fórmulas, mostra o interesse em atingir padrões nutricionais que possibilitassem o crescimento e desenvolvimento ótimo do RNPT.

A alimentação ideal para o RNPT não está estabelecida. É consenso a utilização do leite humano na alimentação do RNPT e de RNMBP com ênfase no leite da própria mãe do RNPT devido a fatores energéticos, protéicos enzimático, fatores de crescimento e imunológicos (AAP, 1985). No entanto, os níveis de sódio, fósforo e proteína não são mantidos no decorrer da lactação necessitando da suplementação do leite humano para atender as necessidades do RNPT (ATKINSON, 2000).

Neste sentido, se faz relevante compreender de que modo características metabólicas e fisiológicas inerentes ao recém-nato prematuro interferem no seu cuidado diário e, por conseguinte, no crescimento e desenvolvimento. Segue uma revisão teórica sobre o assunto.

1.1 O recém-nascido

Os recém-nascidos termo (RNT) são aqueles nascidos no intervalo entre o começo do primeiro dia da 37ª semana de gestação e o fim do último dia da 42ª semana de gestação após o início do ciclo menstrual (260 a 294 dias de gestação). São prematuros os recém-nascidos nascidos antes da 37ª semana de gestação, ou seja, antes de 260 dias de gestação. Já os pós-termo são aqueles, cujos nascimentos ocorreram a partir do primeiro dia da 43ª semana de gestação, após 294 dias (FLETCHER, 1999).

O recém-nascido RN pode ser agrupado de acordo com o peso de nascimento: RNPT de muito baixo peso (RNMBP) são aqueles com peso inferior ou igual a 1500g; e RNPT de extremo baixo peso ou de extrema prematuridade (RNEBP) aqueles com 1000g ou menos (ALBERMAN; EVANS, 1992).

A avaliação antropométrica fornece uma visão qualitativa e quantitativa de crescimento do RN. As avaliações feitas ao nascer refletem o padrão de crescimento fetal, enquanto as avaliações longitudinais refletem o crescimento pós-natal.

A referência para um ótimo crescimento pós-natal para RNPT tem sido historicamente a taxa intra-uterina de aumento de peso, comprimento e perímetro cefálico dos fetos da mesma idade gestacional (IG). Para o acompanhamento do crescimento estudos populacionais propiciaram a construção de gráficos. Dentre esses gráficos temos o de Lubchenco *et al* (1972) e Babson e Behrman em 1970 e mais recentemente o construído por Fenton (2003).

Curvas de crescimento longitudinal baseadas nas taxas de crescimento pós-natal foram construídas e são utilizadas, baseadas no fato de que o RNPT poderiam não alcançar a taxa de crescimento intra-uterino esperada, em decorrência ao estresse do ambiente extra-uterino (BRANDT *et al*, 1989; EHRENKRANZ *et al*, 1999; XAVIER *et al*, 2004). Essas curvas evidenciaram que o crescimento dos RNPT após o nascimento apresenta grande variação, cuja intensidade e duração dependem da IG, do crescimento intra-uterino anterior ao nascimento, das condições clínicas e do suporte nutricional.

O crescimento do recém-nascido prematuro se comporta com variações segundo Brandt (1985). Período de perda de peso: fase inicial que se relaciona às modificações na distribuição de água e eletrólitos corpóreos, essa perda de peso é inversamente proporcional ao peso de nascimento. Segue o período de mínimo crescimento que apresenta-se como uma fase transitória, em que se espera que as alterações clínicas já tenham sido controladas e que uma oferta calórica mais adequada seja atingida, quanto menor o recém-nascido maior a duração.

Período de maior crescimento ou fase de crescimento acelerado, desde que seja mantido um adequado suporte nutricional, é inversamente proporcional ao peso de nascimento.

Por último, o período de normalização do crescimento, fase de crescimento normal, quando o recém-nascido cresce de acordo com o seu canal de crescimento, dentro de suas potencialidades genéticas.

A avaliação do ganho de peso é um bom indicador da avaliação do crescimento pós-natal. A taxa esperada de ganho de peso fetal durante o último trimestre da gestação é de 10 a 15g/kg/dia (PEREIRA, 2008).

O comprimento não sofre interferência do grau de hidratação e a taxa esperada de crescimento fetal, em comprimento, durante o último trimestre da gestação é de 0,75 cm/semana. O perímetro cefálico constitui uma medida indireta do crescimento cerebral, sendo importante tanto ao nascer quanto em estudos longitudinais. A taxa esperada de crescimento do perímetro cefálico durante o último trimestre da gestação é de 0,75 cm/semana (PEREIRA, 2008).

Para otimizar o crescimento do RNPT no período neonatal e atingir níveis de crescimento mais próximo do esperado, devem ser instaladas ações individuais, de acordo com a IG, desenvolvimento fisiológico, evolução clínica e necessidade nutricional específica de cada Rn, pois os agravos nutricionais ocorridos durante este período da vida podem se perpetuar na idade adulta.

1.2 Características morfofuncionais

A nutrição enteral pode ser iniciada o mais cedo após o nascimento, através da introdução de pequenas quantidades (1 mL / kg) de leite, com baixo volume, tem pouco valor nutricional, mas contribui para o desenvolvimento do trato gastrointestinal e, por isso é conhecido como "trófica", "priming", ou "nutrição enteral mínima" (MACLURE; NEWLL, 1999; GEORGIEFF *et al*, 1989; PAPAGEORGIOU; BARDIN, 1999).

As medidas de calorimetria indireta apontam que as necessidades energéticas basais são atendidas com a ingesta enteral de leite humano próximo ao limite superior (150 a 200ml/kg/dia) oferecendo valores calóricos de 120kcal/kg/dia o que freqüentemente não é atingido devido a imaturidade gastrintestinal, a motilidade intestinal não serem coordenadas, tornando o esvaziamento gástrico lento dificultando por sua vez, a utilização de grandes volumes e limitando a freqüência das dietas (AAP, 1985; PAPAGEORGIOU; BARDIN, 1999).

Dentre as inúmeras razões apontadas para não se alcançar o volume calórico desejado encontram-se, a necessidade de restrição hídrica, intolerância a infusão de soluções de glicose, limitação de ingestão de lipídeos por questões respiratórias, hiperbilirrubinemias e sepse além da necessidade da infusão de líquidos não nutritivos como drogas (CAMELO; MARTINEZ, 2005).

Por volta de 28 semanas de gestação, os níveis de atividades das dissacaridasas são iguais ao do RNT exceto da lactase, que entre 28 e 30 semanas pós-concepcional apresenta somente 30% da atividade total encontrada no RNT.

O método de administração de dieta mais freqüente no RNPT é a gavagem (sonda orogástrica) este método, minimiza as dificuldades de deglutição-respiração, esforços e risco de broncoaspiração, mas também impossibilita o contato com a lipase lingual que iniciaria o processo de quebra do glóbulo de gordura.

A conversão da alimentação por sonda para o seio materno ou copo, depende do desenvolvimento de uma ação coordenada e adequada que envolve a sucção, deglutição e respiração. A energia necessária para ingestão oral pode diminuir o peso ganho. A criança deve ser periodicamente monitorizada para avaliar se a livre demanda proporciona ganho de peso adequado ou se outros apoios serão necessários. (PAPAGEORGIOU; BARDIN 1999). Assim, o profissional de saúde deve estar atento e capacitado de modo a reconhecer estes sinais (GIUGLIANI; LAMOUNIER, 2004).

A avaliação da tolerância digestiva é um processo contínuo, com objetivo de determinar o método apropriado de alimentação, o tipo de leite e o ritmo de aumento de volume a administrar. São sinais de intolerância os resíduos gástricos, os vômitos e a distensão abdominal, a diarreia e o sangue nas fezes em qualquer combinação.

O posicionamento do RN durante a alimentação é importante para um melhor esvaziamento gástrico. RN com dificuldade respiratória em decúbito ventral têm esvaziamento gástrico mais lento, ao contrário da posição dorsal ou lateral direito. Existe uma tendência a ignorar os resíduos gástricos se o exame do RN seja inocente, pois, a interrupção da alimentação mais ou menos prolongada leva a diminuição do aporte nutricional (MARTINEZ *et al* 1988).

Com o início da alimentação enteral mínima a atividade da lactase aumenta rapidamente, e mesmo os RNPT extremos toleram bem a quantidade de lactose contida no LH.

O RNBP tem dificuldade de digerir a lactose devido à baixa atividade da lactase na mucosa intestinal, assim, concentrações maiores de lactose na parte inferior do intestino retardam o trânsito intestinal e o tempo de esvaziamento gástrico, gera resíduo gástrico, distensão abdominal, regurgitação. Ou seja, dificuldade em manter equilíbrio quando da alteração de pressão de perfusão e

presença de substrato que contribuem para formação de lesões intestinais (AAP, 1985; LAWRENCE, 2005).

Também são baixos os níveis de lipase na mucosa intestinal, esta é compensada pela lipase lingual e pela presença de lipase no próprio glóbulo de gordura do leite humano. O RNPT apresenta imaturidade dos mecanismos de adaptação ao jejum, aumento do consumo de glicose pelo cérebro, diminuição da gliconeogênese, diminuição das reservas de glicogênio hepático e cardíaco, desproporção entre o tamanho cérebro/fígado e redução da resposta de liberação de catecolaminas à hipoglicemia, portanto o principal achado com referência ao metabolismo dos glicídios é a hipoglicemia, também está sujeito a hiperglicemia em decorrência à lenta resposta insulínica à administração de glicose.

A capacidade do RNPT em concentrar urina é limitada, no entanto, a restrição de água desidrata o RN e a sobrecarga resulta em retenção acentuada, pois, a capacidade de excreção renal de água do RNPT também é lenta. Quanto ao sódio o RNPT tende a excretar mais sódio que o RNT, havendo um risco de hiponatremia nas primeiras semanas de vida. Na Segunda semana de vida a absorção de sódio aumenta período em que a maioria dos RN encontra-se em dieta plena (GOMES *et al* , 2004a; AL-DAHMAN *et al*, 2002; KLEIN, 2002).

Os minerais do leite humano são encontrados em índices aproximadamente um terço mais baixo do que o leite de vaca. Este fato, junto com o índice de proteína reduzido, conduz a uma carga mais baixa de soluto adequada para o sistema renal imaturo do recém-nascido e o volume ofertado com dietas com 120Kcal/kg/d (150ml/kg/d) fornece água suficiente para a excreção de produtos protéico (AAP, 1985; RIORDAN, 1998).

Os principais achados em relação ao metabolismo dos lipídios são: acentuada capacidade de lipólise, dificuldade de prolongar a cadeia de ácidos graxos e deficiência do sistema carnitina acil-transferase.

A composição lipídica das membranas é responsável por trocas físico-químicas importantes. Os ácidos graxos- poliinsaturados de cadeia longa (AGPICL) são essenciais para o desenvolvimento funcional da retina e sistema nervoso central, são precursores da produção de eicosanóides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos) que regulam numerosas funções celulares e teciduais (BARROS, 2004). Os AGPICL são derivados dos ácidos graxos essenciais: ácido linoléico e ácido alfa-linolênico. O ácido linoléico dá origem ao

ácido aracdônico e o ácido linolênico ao ácido docosa-hexaenóico (DHA) por meio de alongamentos e dessaturações. Pela dificuldade dos RNPT em alongar as cadeias por deficiências enzimáticas, há necessidade da oferta de AGPICL para o bom desenvolvimento cerebral (GOULART; ROZOLEN, 2004).

As enzimas lípase do endotélio capilar e tecidos extra-hepáticos, lípase hepática do endotélio dos capilares hepáticos e aciltransferase – lecitina – colesterol têm tanto menos ação quanto menor for à idade gestacional, sendo especialmente reduzidas abaixo de 26 semanas. Isso proporciona aumento dos ácidos graxos livres que pode levar a dificuldade de oxigenação, função pulmonar prejudicada pela alteração da relação ventilação/perfusão, prejuízo da função imune e o deslocamento da bilirrubina da albumina aumentando a predisposição ao Kernicterus.

No entanto a lípase lingual e gástrica, e a lípase presente no LH ajudam a compensar essas deficiências e melhoram a absorção de gorduras, porém ainda limitada. O excesso na oferta de gordura por via enteral poderá ocasionar esteatorréia.

A redução da reserva energética ao nascimento provoca um estado catabólico protéico, cuja intensidade dependerá da eficácia da terapêutica nutricional. Este estado catabólico promove um aumento plasmático de íon amônio, uréia e ácido úrico, além de creatinina em decorrência da baixa atividade do Sistema Arginino-Sintetase contribuindo para a acidose metabólica. A imaturidade do processo enzimático envolvendo o ciclo da uréia também pode contribuir para hiperamonemia, o que é extremamente desfavorável.

A fragilidade na metabolização de aminoácidos devido à imaturidade das enzimas envolvidas pode acarretar acúmulo ou carência de certos aminoácidos em função da dieta recebida. Para o RNPT os aminoácidos, cisteína e a taurina, são considerados essenciais, pois a conversão da cistationina em cisteína encontra-se prejudicada pela deficiência da cistationase, enquanto a via de conversão da cisteína em taurina também é imatura.

O RNPT tem restrita produção de ácido clorídrico, 50% da produção do adulto por diminuição das células parietais e dos receptores de gastrina, e em consequência há diminuição da ação da pepsina, porém sem comprometimento para

o processo digestivo de proteínas. Há elevação significativa dos níveis de proteases pancreática a partir da 28ª semana pós-concepcional. O tripsinogênio aparece a partir da 26ª semana pós-concepcional e a tripsina a partir daí apresenta níveis semelhantes aos do adulto. As quimiotripsinas e carbohidroxipeptidases ao nascimento apresentam 10 a 60% da atividade do adulto, as aminopeptidases não limitam o processo digestivo. Com estes dados verificamos que o processo de digestão de proteínas no pré-termo, embora limitado, não compromete de forma significativa o aproveitamento nitrogenado, uma vez que várias proteases e peptidases estão disponíveis como a gástrica, pancreática e intestinal, porém as dificuldades de metabolização nos fazem ficar atentos quanto à qualidade e quantidade de aminoácidos ofertados ao RNPT.

1.3 Necessidades nutricionais

Os depósitos de glicogênio são limitados no RNPT tornando a glicose o principal aporte energético no início da vida. O RN com peso de nascimento de 1000gr tem 2% de seu peso de depósito de gordura e menos de 0,5% de glicogênio enquanto um RN termo tem 15% de gordura e 1,2% de glicogênio, então quanto menor o peso ao nascer menor é a reserva nutricional (MARTINEZ; CAMELO Jr, 2001).

As necessidades energéticas basais iniciam com valores de 60 a 75Kcal/Kg/d essas necessidades são influenciadas por fatores clínicos, como sepse e dificuldade respiratória, medicamentos que aumentam o gasto energético como cafeína, insulina e dexametasona, elevando a taxa energética para 110 a 150kcal/kg/dia.

Espera-se que o crescimento pós-natal aproxime-se do crescimento intra-útero, sem exceder a capacidade metabólica e renal que considerando o tipo de dieta enteral escolhida, pode diferir o crescimento pós-natal que tem início na segunda semana de vida. Além de promover o crescimento adequado o que se deseja é nutrir de forma a garantir um bom desenvolvimento neurológico, e se possível ajudar a contornar os possíveis comprometimentos neurológicos que por ventura tenham sido adquiridos no periparto (AAP, 1985; MARTINEZ; CAMELO Jr, 2001).

Para manter o equilíbrio adequado de proteína se faz primordial, disponibilizar índices suficientes de todos os aminoácidos não essenciais, porque se não estiverem presentes em quantidade satisfatória os aminoácidos essenciais serão desviados para a sua produção, diminuindo a síntese protéica.

O leite humano dispõe uma adequada composição de aminoácidos, já o mesmo não se pode dizer das fórmulas e soluções parenterais, conseqüentemente, não só a quantidade de proteína é relevante, mas também a qualidade (MARTINEZ; CAMELO Jr, 2001; TSANG *et al*, 1993).

A taxa de ingestão protéica para o recém-nascido de muito baixo peso não é consenso, contudo são recomendados entre autores, devido a combinações obtidas pelas abordagens fatorial, metabólicas e do desenvolvimento que definem valores de oferta mínima de 1,0 a 1,5g/kg/dia até 3,7g/kg/dia (MICHELI; SCHUTZ, 1993; DARCIE *et al*, 2000). A Academia Americana de Pediatria (1985) indica valores proteicos de 2,9 a 3,3g/kg/dia encontra-se ainda indicações de 3 a 3,8 (GOULART; ROZOLEN, 2004) e 2,5 a 3,0g/kg/dia (PALHARES *et al*, 1990).

Devido a incorporação de gordura ocorrer no último trimestre de gestação o RNPT é vulnerável a falta de lipídeo na dieta.

A gordura deve atender as necessidades dos ácidos graxos e prevenir a falta de caloria. Envolvida no desenvolvimento cerebral e neuronal, mielinização da fibra nervosa e formação da retina (MARTINEZ; CAMELO Jr, 2001).

São necessários 3 a 4g/kg/dia de gordura para atender as necessidades energéticas (GOULART; ROZOLEN, 2004). O ganho de peso é um dos principais índices de crescimento do RNPT e RNMBP (AAP, 1985). Um modelo sustentável de ganho de peso está associado com a adequação da dieta para atender às necessidades dos RNs prematuros e promover a melhoria geral saúde.

O RNPT necessita de fonte significativa e contínua de glicose desde o primeiro dia de vida, para evitar hipoglicemia, prevenir catabolismo muscular e suprir as necessidades cerebrais (MARTINEZ; CAMELO, 2001; BAUMGART, 2006). Com a via enteral apta, inicia-se a nutrição a lactose do leite humano aos poucos substitui a glicose oferecida pela nutrição parenteral e passa a ser a fonte de hidrato de carbono.

O fornecimento de lactose deve estar em torno de 3 a 12g/dl, com o início da alimentação enteral mínima a atividade da lactase aumenta rapidamente, e mesmo

os RNPT extremos toleram bem a quantidade de lactose contida no LH, existindo relatos de diarreia osmótica e aumento da osmolalidade quando ultrapassado 8g/dl (MICHELI; SCHUTZ, 1993, MACLEAN; FINK, 1980; CURTIS *et al*, 1999; FARRAG; COWETT, 2000).

A deposição mineral ocorre nos últimos meses da gestação, portanto para manter o crescimento pós-natal de RNPT se faz necessário a monitorização e o fornecimento de fontes ricas em nutrientes a TABELA 1 mostra as necessidades dos minerais e nutrientes para o RNPT e consensos da literatura (TSANG *et al*, 1993; ESPGAN, 1987).

Tabela 1 – Recomendações nutricionais para o crescimento de recém-nascidos pré-termo de acordo com as recomendações dos comitês de nutrição.

Nutrientes por 100 Kcal*	AAP-COM**	ESPGAN-CON **	Recomendação Consenso	
			<1000g	>1000g
Água, ml		115-154	125-167	
Energia, Kcal	100	100	100	
Proteína, g	2,9-3,3	2,25-3,1	3,0-3,16	2,5-3,0
Hidrato de carbono, g	9-13	7-14		
Lactose, g			3,16-9,5	3,18-9,8
Oligossacarídeos, g			0-7,0	
Gordura, g	4,5-6,0	3,6-7		
Sódio, mg	48-67	23-53	38-58	
Potássio, mg	66-68	90-152	65-100	
Cálcio, mg	175	70-140	100-192	
Fósforo, mg	91,5	50-87	50-117	
Manganês, µg	>5	1,5-7,5	6,3	
Zinco, mg	>0,500	0,55-1,1	0,833	
Cobre, mg	0,09	0,09-0,12	0,1-0,125	
Ferro, mg	1,7-2,5	1,5	1,67	

Fonte: Tsang *et al.*, Lucas A, Uauy R, Zlotkin S, Eds. Nutritional needs of The Preterm Infants: Scientific and Practical Guidelines. Baltimore, Williams & Wilkins; 1993:296

*120kcal/kg/d conversão de recomendação por kg; ** AAP-CON: American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition; ESPGAN-CON: European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, Committee on Nutrition of the Preterm Infant.

Daremos ênfase a alguns minerais que se seguem:

1.3.1 Sódio

O balanço positivo de sódio é pré-requisito para o crescimento de RNPT. Após o nascimento há uma contração abrupta e maior do espaço extracelular em relação ao RNT em decorrência ao aumento da natriurese e diurese. A perda renal de sódio é comum em RN menor de 32 semanas de idade gestacional em decorrência da dificuldade de reabsorção no túbulo proximal e distal (YOUNG, 2009). A maturidade renal é atingida por volta da 34 semanas de gestação. O neonato necessita receber grande quantidade de sódio para manter balanço positivo.

Quanto menor a idade gestacional aumenta a taxa de excreção do sódio levando a diminuição do líquido corporal. Incapaz de acomodar expansão de volume de sal e água pela limitação da taxa de filtração glomerular o RNPT tem dificuldade de manter balanço hídrico (AL-DAHMAN *et al*, 1983a).

A absorção intestinal também é limitada (AL-DAHMAN *et al*, 1983b.) O aumento do aporte de sódio precocemente não é necessário. A suplementação deve iniciar quando ocorrer diminuição de aproximadamente 7% do peso de nascimento. A não suplementação de sódio a partir desta fase está relacionada a crescimento e desenvolvimento deficiente (AL-DAHMAN, 1984).

Para a maioria dos RNMBP a quantidade de sódio ofertada deve variar de 38 a 58 mg para cada 100kcal (45 a 69 mg/kg/dia – 3 a 4 mEq/kg/dia) nas primeiras 2 a 4 semanas e a partir de então o aporte poderá ser diminuído, em decorrência do desenvolvimento dos sistemas de excreção e retenção de sódio (AAP, 1985, ESPGAN, 1987; TSANG *et al*, 1993).

A hiponatremia relaciona-se com fator de risco para paralisia cerebral, diminuição do crescimento tecidual intestinal e da capacidade absorptiva e baixo desenvolvimento motor e neuropsicológico. O fornecimento de 4 a 5 mEq/kg/dia de sódio garante uma boa taxa de crescimento e estado bioquímico estável (AL-DAHMAN *et al*, 1983b, GOMES *et al*, 2004b).

1.3.2 Potássio

No RNMBP a quantidade de potássio sanguíneo nos primeiros dias de vida pode ser mais elevado em virtude de uma menor taxa de filtração glomerular ou pela presença de acidose metabólica, balanço calórico negativo, atividade diminuída da Na^+K^+ -ATPase nas células imaturas.

Como o potássio é predominantemente um íon intracelular o balanço de potássio não pode ser avaliado pelos níveis séricos. Recomenda-se uma oferta de 65-100 mg para cada 100 kcal (ESPAGN, 1987).

O requerimento de Potássio estimado pode ser suprido com o aleitamento materno que contém 48,8 a 62,4 mg/dl (12,5 a 16,0 mEq/l). As fórmulas oferecem quantidade maior desse nutriente, porém não há evidências de efeitos adversos pelo uso aumentado desse nutriente (AAP, 1985; ESPGAN, 1987; PEREIRA; BARBOSA, 1986).

1.3.3 Cálcio e Fósforo

O cálcio atua na transmissão de impulsos nervosos, coagulação sanguínea, ativa enzimas e confere rigidez ao esqueleto

O cálcio é o cátion mais abundante o organismo se localiza no esqueleto na forma de hidroxapatita, no compartimento extracelular ligado a albumina, e intracelular nos tecidos moles e processos metabólicos.

A vitamina D está envolvida na homeostase do cálcio e fósforo facilitando a absorção do cálcio na luz intestinal corrigindo níveis séricos. Esta relação está impedida na maioria do RNPT devido à impossibilidade de alimentação entérica total, a absorção do cálcio é deficitária originando hipocalcemia

No RNPT, o transporte passivo contribui para o transporte da maior parte do cálcio administrado na dieta. Para ser absorvido o cálcio necessita ser ionizado, sendo que formas insolúveis ou a precipitação do mesmo reduzem sua biodisponibilidade. A sua absorção sofre influência do tipo de sal utilizado: cloretos, citratos e carbonatos têm maior absorção assim como glicerofosfato e gluconato em relação aos fosfatos. A qualidade de gordura pode interferir na absorção do cálcio,

pois o palmitato, produto da degradação de triglicérides, se liga ao cálcio formando sabões de cálcio e impedindo a absorção deste mineral. A taxa média de absorção de cálcio do leite humano é de 60% (ALLEN, 1982; MATALOUN *et al*, 2008).

Quando há diminuição do cálcio plasmático a secreção de paratormônio é estimulada. Sua ação sobre a 1-alfa-hidroxilase estimula a formação de diidroxicolecalciferol, que é o metabólito ativo da vitamina D. Agindo sinergicamente no osso com o paratormônio, no intestino e no rim, aumenta a reabsorção de cálcio, fazendo com que haja aumento do nível extracelular. A vitamina D é fornecida pela dieta ou produzida pela ação do raio ultravioleta sobre o 7-diidrocolesterol.

O fósforo é o segundo mineral mais abundante no organismo, em grande parte seus depósitos encontram-se na estrutura óssea na forma de cristais insolúveis de fosfato de cálcio – apatita. Uma percentagem do fosforo livre encontra-se nas células de tecidos moles e espaço extracelular complexado a fosfolipídeos, fosproteínas e fosfocarboídratos.

O fósforo influencia processos metabólicos, na formação óssea, sistema imune, na produção e armazenamento de energia. Sua carência está relacionada com a baixa oferta ou aumento significativo do consumo durante períodos de crescimento rápido, aporte calórico elevado com alto consumo nas reações de síntese de glicose e síntese protéica. Sugerem-se aportes orais de 185-370mg/kg/dia de cálcio e 79-82mg/kg/dia de fósforo.

O cálcio é absorvido mais eficientemente devido à alta relação cálcio:fósforo do leite humano (2:1). Há maior proporção de fósforo no leite de vaca o que determina sua absorção preferencial, causando hipocalcemia neonatal, fenômeno mais comum entre bebês artificialmente alimentados. A disponibilidade de cálcio do leite de vaca é ainda menor pela formação de sabões insolúveis no intestino, que podem causar obstrução intestinal e perfuração (AKRE, 1994).

O leite materno tem conteúdo insuficiente de cálcio e fósforo para o RNPT, embora com elevada biodisponibilidade (TRINDADE, 2007).

O RNPT apresenta ao nascimento menor conteúdo mineral ósseo do que o RNT e a biodisponibilidade do cálcio e fósforo, na nutrição enteral, é limitada, o que o predispõe a doença metabólica óssea (APRILE, 2006).

O fósforo é um importante constituinte do esqueleto e componente essencial de vários processos metabólicos intracelulares. Da mesma forma que o cálcio, o fósforo é absorvido por um processo ativo associado ao sódio é um processo passivo. No RNPT em aleitamento materno 90% do fósforo é absorvido. Os fatores que podem interferir nesse processo são: sal de cálcio pouco absorvível e relação cálcio/fósforo diferente de 2:1.

As necessidades para formação do tecido ósseo e mineralização são aumentadas devido às dificuldades no fornecimento das quantidades necessárias de cálcio e fósforo, energia e proteínas e as limitações da absorção intestinal desses nutrientes (MATALOUN *et al*, 2008).

As necessidades diárias de cálcio e fósforo por quilograma de peso corpóreo são maiores de que nas crianças de termo e geralmente são baseadas nas taxas de incorporação intra-uterina e na avaliação da absorção, perda urinária e tecidual e retenção da oferta oral aos RNPT, variam quanto a quantidade sugerida pelos Comitês (ESPGAN: 70 a 140mg/kg/dia de cálcio e 50-90mg/kg/dia de fósforo e da AAP: 200 a 250mg/kg/dia de cálcio e 110 a 125mg/kg/dia de fósforo) (AAP,1985; ESPGAN,1987).

O ferro, zinco, cobre e o manganês são elementos que quantitativamente representam pequena fração do total do conteúdo mineral do organismo, porém desenvolvem importante papel em diversas vias e interações metabólicas. Devido à vasta atuação destes elementos, os sinais de deficiência se assemelham à deficiência de outros componentes, e considerando que o RNPT é privado da reserva destes nutrientes, há uma preocupação quanto da oferta adequada (AL-DAHMAN *et al*, 2002; TRINDADE, 2007; AGGET, 2000; PEREIRA; BARBOSA, 1986).

1.3.4 Manganês

O manganês apresenta funções em várias áreas do metabolismo; é ativador de enzimas neoglicogênicas; atua na proteção de membranas mitocondriais por meio da superóxido dismutase que contém manganês; ativa a glicosiltransferase e

mucopolissacaridasas necessárias para incorporação de mucopolissacarides na cartilagem, no osso e em outros tecidos conectivos (AGGET, 2000).

Durante o período de transição, estabilidade e crescimento do RNPT o manganês requerido pode ser o equivalente ao fornecido pelo leite humano (0,002 mg/dl) (BRANDT,1985; ESPGAN,1987; TSANG *et al*, 1993).

RNPT tem maior porcentagem de absorção via intestinal deste elemento que RNT, o que os deixam mais suscetíveis a intoxicação. Assim, a preocupação reside no preparo de fórmulas, o mínimo recomendado em fórmulas para RNPT é de 6,3 ug/100 kcal e o máximo 25 ug/100 kcal (KLEIN, 2002).

Outra preocupação está nas interações com outros minerais. Altas concentrações de manganês diminuem a absorção de ferro, possivelmente por competir com a lactoferrina. A quantidade de manganês no leite humano esta longe de provocar diminuição na absorção de ferro (KLEIN, 2002).

A concentração de cálcio influencia a absorção de manganês; para que ocorra absorção adequada de manganês a relação entre estes dos elementos deve ser de 50mg de cálcio para 1 µg de manganês (KLEIN ,2002).

1.3.5 Zinco

O zinco é essencial para a saúde, pois está envolvido em um grande número de processos enzimáticos; atua também como constituinte das membranas, no metabolismo dos hidratos de carbono, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos, sendo importante para o crescimento e diferenciação celular. Tem papel na estrutura hormonal e em fatores de transcrição genética e atua como antioxidante por ser componente da enzima cobre-zinco superóxido-dismutase atuando na estabilização das membranas celulares, protegendo-as da peroxidação lipídica.

Sinais de deficiência sub-clínica de zinco podem ocorrer em RNPT e assemelham-se aos da deficiência de outros componentes da dieta por sua vasta atuação. Manifestações mais características são: perda de peso, dificuldade para crescer, dermatite ao redor dos orifícios, glossite, suscetibilidade aumentada às infecções, geralmente ocorrem após três meses de idade (GILES; DOYLE , 2007).

O RNPT tem menor reserva total e estoque hepático, pois a maior parte do zinco acumula-se durante o terceiro trimestre de gestação.

A homeostase do zinco no pré-termo depende da disponibilidade das reservas, da quantidade e da biodisponibilidade do zinco da dieta e de fatores que interferem na sua absorção, bem como da excreção fecal do zinco por meio de secreções pancreáticas e bile e das células de descamação da mucosa intestinal (AGGET, 2000).

RNPT apresenta trato gastrointestinal imaturo, resultando em perda de zinco nas primeiras semanas. Podem absorver de 25 a 40% do zinco da dieta, sendo que a caseína diminui a biodisponibilidade desse elemento, assim como alto teor de ferro (GILES; DOYLE, 2007).

O crescimento é o principal fator para determinar as necessidades de zinco para pré-termos. Para formação de tecido novo há necessidade de 600ug/dia. Um RNPT de 1000g libera do tecido hepático 150ug/dia ou, assim há necessidade da oferta de aproximadamente 500 a 800ug/kg/dia ou 0,5 a 0,8 mg/kg/dia, nas primeiras duas semanas pós-natal e aumento para 1 mg/kg/dia quando o crescimento começar a estabelecer-se (TRINDADE, 2007; KLEIN, 2002).

1.3.6 Cobre

O cobre atua como intermediário na transferência de elétrons nas reações de oxiredução e é constituinte de várias enzimas, como citocromo-c oxidase (cadeia de transporte de elétrons); ceruloplasmina (libera o ferro dos depósitos e da transferrina); aminoxidases e cobre-zinco superóxido dismutase (protegem as membranas celulares contra danos oxidantes) (LONNERDAL, 1996).

A prematuridade é fator predisponente da deficiência no período neonatal e sintomas como anemia resistente a terapêutica com ferro, pode ser sinal de deficiência de cobre.

Os RNPT têm estoques reduzidos de cobre e apresentam requerimentos elevados, resultantes do crescimento rápido, portanto nutrição com conteúdo adequado deve ser ministrada para repor estoques e suprir as necessidades para o crescimento. A absorção do cobre no intestino delgado é afetada pela ligação a proteínas.

A ligação com a caseína dificulta a absorção do cobre, zinco e ferro, e interfere na captação intestinal e na transferência do cobre de dietas. Em decorrência da semelhança físico-química, altas concentrações de zinco na dieta

reduzem as concentrações séricas de cobre e de ceruloplasmina (GILES; DOYLE, 2007; TRINDADE, 2007).

1.3.7 Ferro

O ferro é necessário a praticamente todas as células do corpo, é fundamental para o crescimento e desenvolvimento e o funcionamento de todos os órgãos especialmente sistema hematopoiético e o cérebro. Sua incorporação à hemoproteínas envolvidas na divisão celular, transferências de elétrons e de oxigenação do organismo o faz ser um dos nutrientes de grande importância na nutrição de qualquer indivíduo e principalmente em RNPT considerando a velocidade de crescimento e o stress metabólico em que a maioria se encontram (EHRENZKRANZ, 1994; GEORGIEFF, 2008).

Processos fundamentais do desenvolvimento dependem do ferro, pois achados comprovam que a deficiência de ferro no início da vida, antes da idade de 3 anos, causa uma disfunção persistente de órgãos, especialmente do cérebro, apesar da reposição de ferro (GEORGIEFF, 2008).

Agente preponderante na eritropoese, envolvido na síntese do DNA, metabolismo das catecolaminas e respiratório, produção de energia das células e funcionamento enzimático. A lactoferrina e a transferrina ligam-se a duas moléculas de ferro para atuarem no sistema imune, assim o ferro disponível na fração de emulsão do leite humano está fortemente relacionado aos níveis de lactoferrina (LONNERDAL *et al*, 1981).

O RNPT é privado da reserva que se forma no último trimestre de gestação. A massa de hemoglobina é a maior reserva de ferro para este. Mesmo com estoque pequeno a deficiência de ferro não é a causa maior de anemia na prematuridade nos primeiros 2 meses de vida a não ser em decorrência de sangramento ao nascimento ou resultante de coletas de sangue para exames laboratoriais.

Quase 70% do ferro do leite materno é absorvido contra 30% do leite de vaca e 10% dos substitutos do leite materno (AKRE, 1994).

Após 6 a 8 semanas RNMBP devem receber suporte diários de 2 a 3 mg/kg de ferro por dia ou receberem fórmula contendo 1 a 2 mg/dl de ferro para prevenir deficiência de ferro. RNEBP necessitam 3 a 4 mg/kg/dia que deve ser mantida até a

idade de 12 meses corrigida. (BABSON; BERHRMAN,1970; PEREIRA, 2008). O LH não supre as demandas de ferro por conter de 0,8 a 1,1 mg para cada 100 kcal (PEREIRA; BARBOSA, 1986).

Sua deficiência gera disfunção orgânica ao passo que sua sobrecarga aumenta o potencial oxidativo relacionado com retinopatia da prematuridade e displasia-broncopulmonar. (GILES; DOYLE, 2007).

1.4 Características do leite humano

O leite humano tem sua composição bioquímica alterada de acordo com o estágio da lactação, idade gestacional, durante o curso de uma mesma mamada, entre as mamadas, ao longo do dia e por todo o período da lactação. Além disso, fatores hereditários, psicológicos, alimentares, ambientais e emocionais também contribuem para estas alterações (GROSS, 1980). Entendidas como alterações funcionais, elas estão intimamente relacionadas à fisiologia do RN (GOULART; ROZOLEN, 2004).

A lactação progride com três períodos bem-identificados, isto é, os estágios do colostro, do leite de transição e de leite maduro.

O colostro constitui-se do primeiro produto da secreção lática, obtido em média até 7 dias após o parto, é um líquido amarelado de elevada densidade, enche as células alveolares durante o último trimestre da gestação (KUNZ; LONNERDAL, 1992, AKRE, 1994).

Seu elevado teor proteico (2.5 a 4g 100/ml) constituído principalmente por lactoalbumina e caseína numa proporção de 90:10 (ESPGAN, 1987) menores concentrações de gordura 2g100/ml e de lactose 4g 100/ml, refletindo as necessidades do recém-nascido durante a primeira semana de vida (RIORDAN, 1998).

O colostro fornece 67 kcal/dl, rico em imunoglobulinas principalmente IgA secretória e lactoferrina, leucócitos, facilita o crescimento dos lactobacilos bífidos no espaço gastrointestinal e na eliminação de mecônio (RUOCCO, 1992).

O leite de transição e o produto intermediário da secreção lática da nutriz, entre o colostro e o leite maduro, obtido em média entre o 7º e o 15º dia após o parto (ALMEIDA, 1999).

A fase de transição compreende o período em que a composição do colostro muda, ocorre diminuição na concentração das imunoglobulinas e proteínas, com um aumento na lactose, em níveis gordura e no índice de energia, até alcançar as características de leite maduro.

O conteúdo energético médio de leite de mães de lactentes prematuros com idade gestacional entre 26-36 semanas e de 51-58 kcal/100 mL no primeiro dia pós-parto para cerca de, 66-75 kcal/100 mL na segunda a quarta semana de vida. O conteúdo energético do leite de mães de RNT nos primeiros meses após o parto é de 48-73 kcal/100 mL,

O teor de proteína total de leite pré-termo durante a primeira semana pós-parto é de 2,1-3,2 g/100 mL, variando de 1,4-2,4 g/100 mL 8-30 dias pós-parto (AL-DAHMAN *et al.*, 2002).

O leite da nutriz de prematuro tem nível de sódio (23,0 mEq/L) para (15,0 mEq/L) do termo e menor concentração de lactose (5,96 g/dL) pré-termo (6,16 g/dL) termo, cálcio (208 mg/L) pré-termo para (214 mg/L) no termo e fósforo (95 mg/L) no pré-termo e (110 mg/dl) no termo. Contudo, estes valores decrescem a partir da terceira a quarta semana de lactação, não atendendo as necessidades do RN. A nutriz do RNPT também apresenta uma ampla variação do volume de leite produzido, onde não atinge volume suficiente para a ingesta nas 24hs havendo necessidade de complementação láctea visto que única possibilidade via enteral do neonato é o alimento lácteo (AAP, 1985; MARTINEZ; CAMELO, 2001; ESPGAN, 1987; MENA; MILAD, 1998).

O leite humano é conveniente para alimentar o recém-nato mesmo o pré-termo com peso maior de 1500gr. No entanto, para pré-termos com peso ≤ 1500 gr a baixa densidade de nutrientes como proteína, sódio, fósforo, cálcio, faz com que busquemos alternativas para alimentarmos estes neonatos (PAPAGEORGIOU; BARDIN, 1999; KLEIN, 2002).

O Leite maduro é o leite obtido em média a partir do 15º dia após o parto, considerado na pratica clínica partir de 2 meses de lactação (ALMEIDA, 1999).

O leite humano maduro é uma mistura homogênea que consiste em três frações bem definidas. A primeira fração ejetada do leite maduro é a da solução, contém os componentes hidrossolúveis e a fração de água e fatores imunológicos. A fração de emulsão também chamada de leite posterior contém gordura e micelas de caseína (KUNZ ; LONNERDAL, 1992).

O leite humano maduro apresenta a menor concentração de proteínas entre os mamíferos o conteúdo médio de proteínas seja 1,15g/100ml, Existem, todavia, amplas variações entre mães, diferenças na composição ajudam a explicar a igualmente ampla variação na ingestão de leite observada em bebês amamentados que se desenvolvem bem, aos quais se permite autorregulação da ingestão.

Recomenda-se que o conteúdo total de proteínas dos substitutos seja reduzido ainda mais. Recém-nascidos artificialmente alimentados, tanto com fórmulas em que predomina a proteína de soro, quanto naquelas em que predomina a caseína, têm níveis elevados de uréia e aminoácidos no sangue e, portanto, cargas maiores de soluto renal.

A relação proteína do soro/caseína do leite humano é aproximadamente 80/20, a do leite bovino 20/80 enquanto que a dos substitutos do leite materno varia entre 18/82 a 60/40. Embora existam semelhanças, nenhuma proteína do leite bovino é idêntica a alguma do leite humano; na verdade elas são bem diferentes. (KUNZ; LONNERDAL, 1992; AKRE, 1994).

A proteína do soro humano consiste principalmente de α -lactoalbumina humana, componente importante do sistema enzimático da síntese de lactose. A proteína do soro dominante no leite bovino é a β -lactoglobulina bovina, sem similar no leite humano e capaz de contaminar o leite produzido por mães que bebem leite de vaca provocando resposta antigênica em bebês atópicos (KUNZ; LONNERDAL, 1992; AKRE, 1994).

A alta relação proteínas do soro/caseína no leite humano resulta na formação de coágulo gástrico mais suave. A caseína dá forma a conglomerados estáveis com cálcio e fósforo, assim favorecendo o transporte destes minerais (ALMEIDA, 1999; SILVANA *et al.*, 2000; SCHANLER, 1998).

O leite humano apresenta concentrações maiores de aminoácidos livres e cistina e menores de metionina do que o de vaca. A relação cistina/metionina do leite humano é 2/1, quase única em tecidos animais. A cistina é essencial para fetos e prematuros, pois a cistationase, enzima que catalisa a trans-sulfuração de metionina em cistina está ausente no cérebro e fígado.

A concentração de taurina, outro aminoácido, também é alta no leite humano. É necessária para conjugação de sais biliares, para absorção de gorduras, além de exercer papel de neurotransmissor e neuromodulador no desenvolvimento do sistema nervoso central. Como os bebês, são incapazes de sintetizar taurina a

partir de cistina e metionina, tem-se sugerido considerá-la aminoácido essencial para recém-nascido (AKRE, 1994; RUOCCO, 1992).

A gordura do leite humano é secretada em pequenos glóbulos, menores que as gotículas de gordura do leite de vaca, os triglicérides predominam, perfazendo 98% dos lipídios dos glóbulos. As membranas globulares são compostas por fosfolípidos, esteróis (especialmente colesterol) e proteínas. A composição de ácidos graxos é relativamente estável, cerca de 42% de ácidos graxos saturados e 57% de ácidos graxos insaturados. Embora a concentração de ácido linoléico e de outras gorduras poliinsaturadas seja influenciada tanto pela dieta quanto pela composição dos lipídios corpóreos da mãe, o leite materno é rico em ácidos graxos insaturados de cadeia longa, importantes para o desenvolvimento e mielinização do cérebro (AKRE, 1994).

O RNBP digere mal os triglicerídeos saturados do leite bovino a absorção de gordura nos Rns que recebem leite humano de 95% contra 83% daqueles que recebem formula (APRILLE, 2006).

Com teores de 3-4 g/dl a gordura representa a fonte de energia principal para o recém-nascido fornecendo 35 a 50% de sua necessidade diária (AAP, 1985). O RN começa a consumir esta dieta rica em gorduras em uma época em que tanto a secreção de lipase pancreática quanto a eficiência da conjugação de sais biliares são imaturas.

A imaturidade é parcialmente compensada por lípases linguais e gástricas, mas a presença de lipase não específica no leite humano é particularmente significativa e ativada por sais biliares no duodeno, contribui para a digestão das gorduras, característica ausente da maioria dos outros leites.

Se o leite humano fresco é a principal fonte de energia, estima-se que a lipase estimulada pelos sais biliares contribui com a digestão de 30 a 40% dos triglicerídeos em 2 horas, entretanto ela é destruída pelo aquecimento do leite humano no processo de pasteurização (AKRE, 1994).

A lactose é o principal carboidrato do leite humano, embora também estejam presentes pequenas quantidades de galactose, frutose e outros oligossacarídeos.

A lactose fornece aproximadamente 40% das necessidades energéticas e também tem outras funções, metabolizada em glicose e galactose, um constituinte dos galactolipídeos, necessário para o desenvolvimento do sistema nervoso central

facilita a absorção de cálcio e ferro e promove a colonização intestinal com *Lactobacillus bifidus*, bactérias fermentativas que promovem meio ácido no trato gastrointestinal, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas, fungos e parasitas.

O leite humano contém lactose e oligossacarídeos como fonte nutritiva além da gordura, a capacidade de absorção da lactose pelo RNPT é superior a 90% (ATKINSON, 2000; AKRE, 1994).

O leite humano é uma substância viva de grande complexidade biológica, ativamente protetora e imunomoduladora. Não apenas proporciona proteção exclusiva contra infecções e alergias, como estimula o desenvolvimento adequado do sistema imunológico do RN, além disso, contém muitos componentes antiinflamatórios. As propriedades antiinfectivas do colostro e leite maduro manifestam-se tanto através dos componentes solúveis quanto dos celulares.

O leite materno confere ação antibacteriana. A lactoferrina, a lisozima e a IgA secretória são proteínas específicas do soro lácteo humano, estando presentes em quantidades-traço no soro bovino. Esta ação é afetada pela ação do fortificante bovino, mas não pela adição de fortificante com base homóloga (CHAN; LEE, 2007).

Os componentes solúveis incluem imunoglobulinas (IgA, IgM, IgG), lisozimas e outras enzimas, lactoferrina, fator *bífidus* e outras substâncias imunoreguladoras. Os componentes celulares são os macrófagos (contém IgA, lisozima e lactoferrina), linfócitos, granulócitos neutrófilos e células epiteliais (MAY, 1988).

A IgA é a principal imunoglobulina do leite humano, confere imunidade aos patógenos que a nutriz tenha sido exposta durante toda a sua vida. Resiste a enzimas proteolíticas e pH baixo, recobre a mucosa intestinal gastrointestinal e respiratória tornando-a impermeável, por atuar na ligação do patógeno ao organismo impedindo aderências. Pode também envolver-se na neutralização das toxinas liberadas e na translocação bacteriana através da barreira epitelial. Os linfócitos auxiliam nas ações dos macrófagos aumentando a capacidade fagocítica do RN são também produtores de IgA. A IgG participa da defesa contra vírus, protozoários e toxinas pois ativa fatores do complemento. A IgM presente em pequena quantidade apresenta defesa do RN contra bactérias e vírus, tem relevância nos RN expostos a infecção materna (KUNZ; LONNERDAL, 1992; AKRE, 1994).

A lactoferrina, uma glicoproteína insaturada resistente à atividade proteolítica, assim como lisozima e a lactoperoxidase também tem ação bactericida se liga a ferro competindo com microorganismos ferro-dependentes, sendo bacteriostática.

O fator *bífidus*, presente no colostro e leite maduro é um carboidrato nitrogenado facilmente destruído pelo calor que promove a colonização intestinal com lactobacilos na presença de lactose. O baixo pH resultante na luz intestinal inibe o crescimento de *E. coli.*, bactérias Gram-negativas e fungos como *Candida albicans*.

Os leucócitos estão presentes em maior quantidade no colostro apresentam-se na forma de macrófagos, linfócitos e granulócitos seguido de neutrófilos ajudam a evitar os processos infecciosos por fagocitose e pela secreção de substâncias imunes específicas à microorganismos os quais a nutris foi exposta (KUNZ; LONNERDAL, 1992; XANTHOU, 1998; HAMOSH, 2001).

As doenças da prematuridade estão relacionadas a um desequilíbrio entre as funções de defesa antioxidante e a exposição à radicais livres liberados após a hipóxia ou injúria por reperfusão, cujo excesso, traria risco de enterocolite necrosante, displasia broncopulmonar, hemorragia intraventricular e retinopatia da prematuridade.

Como o RNPT parece não haver esta defesa contra o estresse oxidativo, o uso do leite humano torna-se vantajoso, já que oferece melhor proteção antioxidante que os leites artificiais. O leite materno protege da alergia os prematuros com história familiar de atopia. Os ácidos graxos ômega 3 são essenciais para que haja o desenvolvimento normal da retina, em especial do RNPT, assim, este lipídio juntamente com outros antioxidantes, como a vitamina E, *B*-caroteno e taurina podem ser a causa da proteção antioxidante conferida pelo LH contra a retinopatia da prematuridade (NASCIMENTO, 2004).

O LH desde o início foi o preconizado para nutrir os RNPT, mas os achados de Gordon *et al.* (1940), de que estes necessitavam maior aporte calórico que RNT, e que o conteúdo do leite não supria as necessidades requeridas, fez com que acréscimos ao LH ou modificações do leite bovino e a utilização de fórmulas com proteína derivada do leite bovino fossem estudados desde essa década.

O leite humano processado em banco de leite tem a composição de macro e micronutrientes inadequada para RNMBP, seja porque as necessidades desses nutrientes são maiores nesse grupo, seja em função de perdas associadas à coleta,

armazenagem e procedimentos da alimentação do RN. Sugere-se ainda que, devido à variação nutricional, diferentes métodos de coleta sejam utilizados, como a ordenha de 24 horas de cada mama, contudo, o “pool” de amostras mostra-se o método mais eficaz e seguro para o estudo do leite humano.

Durante o processo de pasteurização, está descrito uma perda de até 47% dos níveis de IgA, mais de 88% de perda de IgG, 41% a 47% de perda de lactoferrina e α -1-antitripsina, bem como a desnaturação de algumas proteínas e destruição da IgM e perda total dos componentes celulares. A lipase é termolábil, e sua absorção superior que do leite bovino é modificada, enquanto que a lisozima e a lactoferrina parecem estáveis a esse tratamento. A destruição dessa enzima causa uma destruição de 33% na absorção de lipídios do LH, diminuindo a oferta calórica e predispondo a esteatorréia quando elevadas quantidades de gordura são ofertados. (SCHANLER, 1995; THOMAZ *et al*, 1999).

O congelamento a 20° C negativos leva a perda progressiva de 89% da viabilidade celular e perda da atividade bacteriostática, enquanto imunoglobulinas IgA, IgG, IgM, lactoferrina, lisozima, componentes do complemento C3 e C4, aminoácidos e ácidos graxos são preservados ou muito pouco afetados.

Toda manipulação que o LH sofre até que seja oferecido aos RNPT torna a gordura instável em solução. A gordura torna-se mais aderente aos recipientes como, vidros de armazenamento, seringas ou frascos e a sonda. Estudos demonstram que as perdas de gordura podem atingir níveis próximos de 50% e para diminuir as perdas o LH deve ser pré-homogeneizado antes de fazer parte da dieta de RNPT (NEJAR *et al*, 2004).

Os bancos de leite têm como a única informação nutricional de seu produto o valor calórico advindo do crematócrito, porém este valor muitas das vezes não é utilizado como parâmetro de seleção para atender necessidades individuais de cada paciente (BORTOLOZO *et al*, 2004).

No Brasil, os bancos de leite seguem a regulamentação da rede nacional de bancos de leite e devido a falta de recursos não dispõem de tecnologia para análise das amostras e triagem de doadoras como as laminares de DNA de esfregaço da bochecha e o PCR para detecção de patógenos, tanto para melhorias e inovações em armazenagem e estocagem, obrigando o descarte de grandes volumes de leite.

A utilização de fórmulas lácteas com maior densidade protéico-calórica demonstra até a atualidade que proporciona crescimento mais rápido e tem

diminuído a incidência de doença metabólica óssea por oferecer quantidade maior de cálcio e fósforo (QUIGLEY *et al.*, 2009).

A suplementação do LH de preferência com nutrientes do próprio LH sem a adição de substâncias exógenas que podem alterar a osmolaridade e afetar propriedades intrínseca, evita a substituição total do leite humano por leite de outra espécie ou fórmulas que podem comprometer a saúde do Rn, quer relacionada a doenças metabólicas e alérgicas ou aumento da morbimortalidade entre os menores de 01 ano (NEJAR, 2004).

Atualmente, já está bem estabelecido que a quantidade e a qualidade protéica são imprescindíveis para o crescimento e desenvolvimento de RNMBP (ARSLANOGLU *et al.*, 2006).

As proteínas suprem o neonato com aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais. Mesmo o RNMBP estável clinicamente, recebendo grande quantidade de proteínas, esta suscetível a desenvolver alta concentração plasmática de fenilalanina, tirosina e metionina, em decorrência da imaturidade da atividade das enzimas cistationase e hidrolase (PALHARES *et al.*, 1990).

Para RNPT, a oferta quantitativa e qualitativa precisa respeitar a imaturidade enzimática das vias de metabolização dos aminoácidos e da amônia, para se evitar a deficiência ou o excesso, considerando que concentrações prejudiciais de um ou mais aminoácidos no sangue de uma criança pré-termo podem ocorrer sem qualquer evidência clínica (GAULL *et al.*, 1977). O perfil dos aminoácidos depende da qualidade da proteína ofertada que está relacionada ao desenvolvimento neurológico em curto e longo prazo (RAIHÄ *et al.*, 1976; GAULL *et al.*, 1977; PALHARES *et al.*, 1990; LUCAS *et al.*, 1992; ARSLANOGLU *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2007).

O final da década de 90 e o início deste novo século vêm sendo marcados por pesquisas voltadas para avaliação detalhada dos nutrientes ofertados pelo LH, qualidade dos lipídios, conformação das proteínas e fatores interferentes da absorção e metabolismo. Tem-se evidenciado que mesmo com a adição de determinados nutrientes à fórmula, o leite humano ainda promove melhores

resultados no aspecto do desenvolvimento (LUCAS, 1992; 1996; MORLEY; LUCAS, 1997; MENA & MILAD, 2008; QUIGLEY *et al.*, 2009).

É disponível uma variedade de produtos para aumentar a ingesta de nutrientes dos RNBP alimentados com leite humano, têm sido usado a proteína bovina, nas formas líquida ou pó.

Assim, a modificação industrial do próprio leite humano, acrescentando valores minerais calóricos e proteicos do leite humano vêm sendo realizada pela empresa Prolacta Bioscience®. A tabela 2 mostra a composição do leite humano pré-termo e a do aditivo comercial disponível mais utilizado em nossa realidade.

Neste sentido, a composição ótima do leite para recém-nascidos de baixo peso, o desenvolvimento de fórmulas ou complementos vem sendo largamente pesquisados. Para assegurarmos o crescimento do recém-nascido prematuro, prevenirmos distúrbios metabólicos e fisiológicos relacionados à alimentação, e em longo prazo, promover o desenvolvimento intelectual, é de fundamental importância conhecermos o perfil nutricional do leite ofertado e buscarmos alternativas que propiciem o alcance das metas referidas.

Considerando o exposto, pretendemos neste estudo analisar comparativamente a composição nutricional entre o Leite Humano de Banco de leite acrescido de uma proteína bovina (FM 85®) e o Leite Humano Modificado verificando a adequação e tolerabilidade gástrica para alimentar recém-nascidos prematuros de muito baixo peso.

2 OBJETIVO

2.1 Geral

Desenvolver, um composto lácteo a partir de leite humano de banco modificado, através do desnate, evaporação e retirada da lactose para ser utilizado na alimentação do recém-nascido pré-termo de muito baixo peso.

2.2 Específico

- 2.2.1 Conhecer a tolerabilidade gástrica, avaliar presença de distensão abdominal, obstipação, aumento do transito intestinal, estase gástrica e vômito
- 2.2.2 Avaliação dos teores de proteínas, gordura, hidratos de carbono, osmolalidade sódio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco e cobre do leite humano de banco modificado.
- 2.2.3 Avaliar os teores de proteínas, gordura, hidrato de carbono, osmolalidade sódio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco e cobre do leite humano de banco acrescido de aditivo comercial FM85[®].
- 2.2.4 Comparar a composição dos teores obtidos proteínas, gordura, hidrato de carbono, osmolalidade sódio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco e cobre entre o leite humano de banco modificado e o leite humano de banco de leite acrescido de aditivo - FM85[®].

3 HIPÓTESES

- 3.1 O composto lácteo proposto é viável para alimentação do RNMBP.
- 3.2 O composto lácteo proposto não é viável para a alimentação do RNMBP.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção da população

Após parecer favorável do Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, (ANEXO I) estudou-se RNPT com idade gestacional menor ou igual a 32 semanas avaliados pelo método de Ballard *et al*, (1997), com peso entre 800g e 1400g estáveis clinicamente e sem qualquer malformação congênita.

Após o consentimento dos pais ou responsáveis quanto à natureza do trabalho, e terem assinado o termo de consentimento informado (APENDICE 1) os RNPT foram locados aleatoriamente em um dos dois grupos de estudo.

Os RNs receberam a dieta específica do grupo que pertenciam somente se apresentarem escore de Apgar ≥ 7 no quinto minuto de vida e só iniciaram o estudo no grupo a que pertenciam, após a progressão da dieta mínima e atingiram a dieta enteral total (100ml/kg/dia), estarem ativo, reativo, hemodinamicamente estáveis, ausência de distensão abdominal, estase de conteúdo gástrico ou vômitos, sem nutrição parenteral. O uso de antibióticoterapia endovenosa não foi critério de exclusão.

O volume de leite e a progressão do volume recebido a cada 3 horas pelos RNs que fizeram parte dos grupos foi definido pelo protocolo do serviço da unidade de terapia intensiva e o leite para alimentação liberado pelo controle de microbiologia e qualidade do banco de leite.

Para que houvesse segurança no que diz respeito às concentrações de macro e micronutrientes e osmolalidade foi realizado o estudo dos componentes do leite humano modificado totalizando 20 amostras, para após alimentar os recém-nascidos.

A amostra populacional para ser testada as duas dietas propostas neste estudo foi dividida em dois grupos:

Grupo I: 5 recém-nascidos alimentados com leite humano de banco de leite aditivado com leite humano modificado (LHM);

Grupo II: 5 recém-nascidos alimentados com leite humano de banco de leite acrescido de FM 85[®] na proporção de 5% (LHF);

Cada Rn do grupo LHM e LHF foi alimentado e acompanhado por 15 dias $\pm$ 2 dias.

Para uma maior segurança e controle na execução do trabalho optou-se por dividi-lo em duas etapas, são elas:

1. Primeira etapa - modificação do leite humano por meio de desnate, evaporação e retirada da lactose seguindo da análise dos constituintes deste leite num total de 20 amostras. Esta etapa também denominada de etapa laboratorial nos forneceu dados bioquímicos a respeito da modificação do leite para que em seguida pudéssemos dar início a alimentação dos pacientes.

2. Segunda etapa – alimentação de 5 pacientes com LHM e 05 pacientes com LHF. Esta etapa teve como ênfase a avaliação de dados clínicos como tolerância alimentar, presença de distensão abdominal, obstipação, aumento do trânsito intestinal, estase gástrica e vômito. O acompanhamento clínico incluiu a aferição de dados antropométricos e metabólicos.

Nesta etapa, além da monitorização sérica, também foi colhido 01 ml após homogeneização, de cada dieta administrada ao RN a fim de dosar os constituintes das duas dietas.

O crescimento foi acompanhado por avaliação semanal de peso, perímetro cefálico e comprimento, sendo as aferições feitas pelo examinador a partir do momento em que os RNPT ingressaram nos grupos.

- I. A avaliação ponderal foi realizada em balança eletrônica pediátrica (Filizola[®], Brasil) com capacidade de 15 kg, carga mínima de 125 g e divisões de 5 g. O peso foi aferido no período da manhã, antes da primeira refeição, com a criança despida. Os pesos foram registrados em gramas (g).
- II. O comprimento foi aferido pela própria pesquisadora, posicionando o recém-nascido em decúbito dorsal, utilizando antropômetro (régua de madeira graduada em milímetros) em superfície rígida, com a extremidade fixa junto ao pólo cefálico e a parte móvel deslocada até a superfície plantar, evitando a flexão dos joelhos. Sempre com a ajuda de uma enfermeira treinada. Os valores foram registrados em centímetros (cm).

- III. A medida do perímetro cefálico foi realizada com o uso de trena de flexível inextensível, graduada em milímetros, sendo os valores anotados em cm. A trena foi ajustada à cabeça da criança, passando pela proeminência occipital e glabella.

4.2 Preparo do leite humano acrescido de FM85[®] (LHF)

O FM85[®] comercializado pela Nestlé[®] constitui-se de um módulo alimentar em pó, indicado para recém-nascidos de muito baixo peso, destinado a enriquecer o leite humano, composto de proteínas hidrolisadas hipoalergênicas, maltodextrina e minerais.

Cada envelope de 1g foi adicionado à 20ml de leite humano de banco pré-aquecido minutos antes de ser oferecido ao lactente.

4.3 Preparo do leite humano acrescido de leite humano modificado (LHM)

O leite humano empregado foi o de mães voluntárias doadoras devidamente cadastradas no banco de leite do Hospital Universitário Faculdade de Medicina Doutor Helio Mandetta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, cujos filhos nasceram a termo, com período de lactação entre 2 meses a 1 ano.

O leite humano foi obtido por meio de expressão manual em domicílio, no posto de coleta de leite humano no Hospital Regional de Mato Grosso do Sul - HRMS ou no próprio banco de leite.

Para uma melhor compreensão do processo de modificação do leite humano segue esquematicamente o processo FIGURA (1) seguido da metodologia.

Durante o processamento do leite humano sempre houve a preocupação de manter qualidade físico-química e o menor grau de contaminação, assim alguns cuidados foram tomados como se segue:

- O volume de leite é submetido a elevação de temperatura durante o descongelamento para ser desnatado. Após o desnate, segue-se a evaporação que também mantém a amostra em aquecimento. Para retirar a lactose aquece novamente a amostra e novamente para reconstituição e administração. Optou-se por manter rigor asséptico no processamento

utilizando leite humano que tinham grau acidez Dornic ≤ 2 não pasteurizado e a pasteurização ocorreu no final do processo após a reconstituição seguido da análise microbiológica para posterior administração, evitando assim que o volume fosse aquecido por mais uma vez.

- O Banho Maria que fez o descongelamento das amostras foi higienizado previamente e a água trocada a cada preparo.

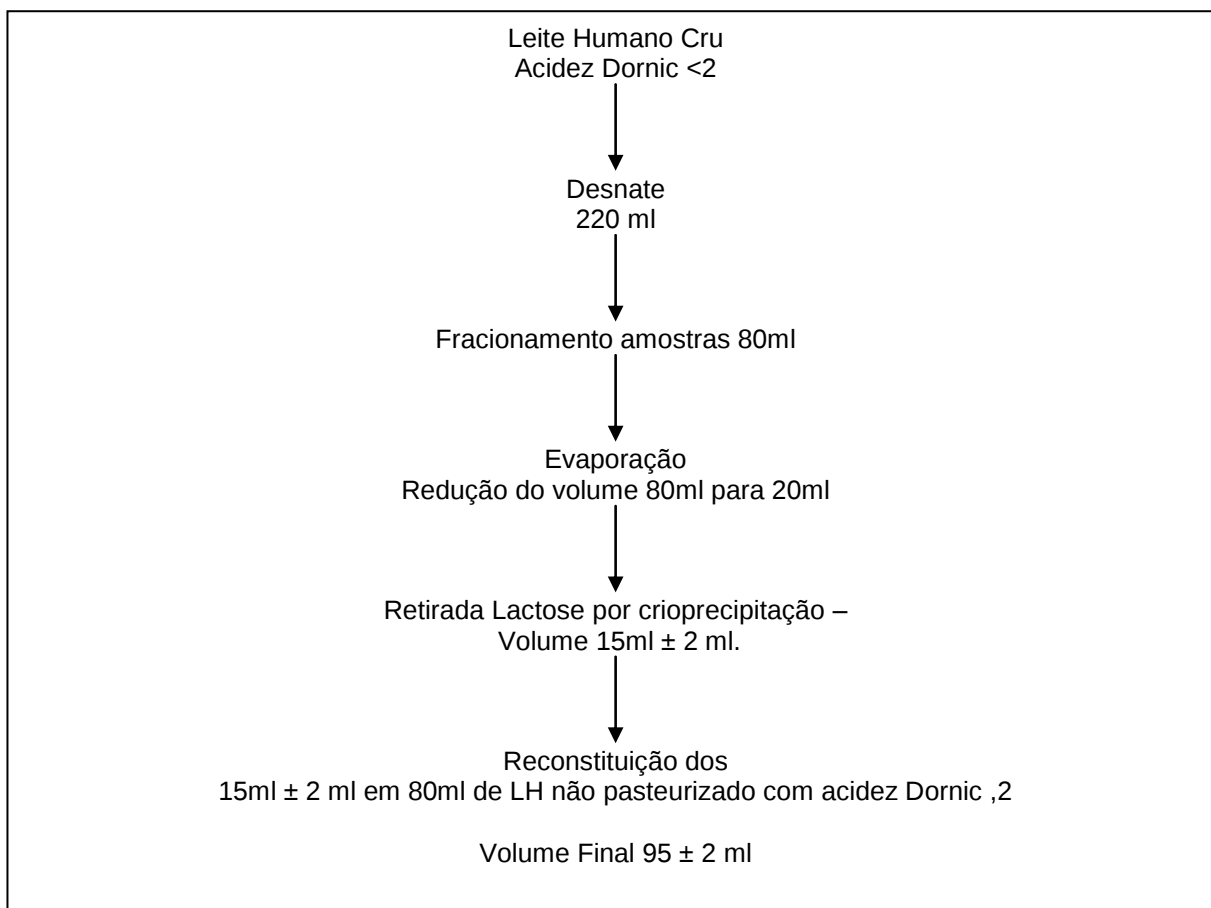


FIGURA 1 - Etapas de processamento do Leite Humano Modificado.

- A desnatadeira de aço inox onde as peças que entravam em contato com o leite foram autoclavadas.
- O fracionamento das alíquotas de 80ml para serem levadas ao evaporador ocorreu em recipientes esterilizados. Todo o procedimento de manuseio do LH foi realizado em capela de fluxo laminar (LABCONCO®), utilizando equipamento estéril e seguindo as normas para realização de procedimentos estéreis utilizando luvas, máscara, avental, gorro e desinfecção das mãos.
- O balão de vidro do evaporador que recebe a amostra de leite também era esterilizado.

- O leite evaporado a ser deslactosado era acondicionado em tubos cônicos plásticos esterilizados em óxido de etileno.
 - Com relação a possíveis contaminantes nas dosagens de macro e micro elementos as vidrarias e os recipientes plásticos que armazenaram as amostras foram lavados de acordo com recomendações do “Standard Methods for The examination of water and wastewater”:
 - Lavar os recipientes, vidros e plásticos, inicialmente em água corrente;
 - Colocar os materiais mergulhados em EXTRAN neutro a 2%, durante 24 horas. (Preparar o EXTRAN a 2% diluindo 20 ml do detergente em 1000 ml de água deionizada);
 - Colocar os materiais imersos em ácido nítrico 30%, por 24 horas. Esses materiais têm que estar totalmente mergulhados na solução de ácido. Para isso foi utilizado recipiente contendo a solução ácida, e, dentro dele recipientes menores com alça e fundo furado, como peneira para facilitar a retirada dos materiais. Após a retirada eles foram enxaguados um a um, com água deionizada, por dez vezes;
 - Secagem em estufa a 40° C; Armazenagem em recipiente e manuseio de todo o material com luvas plásticas;
- O preparo de leite humano modificado deu-se em três fases:

4.4 Desnate do leite humano

O leite humano cru com acidez Dornic <2 após descongelamento foi desnataado.

A retirada da gordura foi feita com o emprego de uma desnatadeira 18 GR – 100 litros/hora (casa das desnatadeiras), que girando em alta velocidade, submete o leite à uma elevada força centrífuga (FIGURA 2).

Devido a gordura ter menor peso, durante a rotação, fica próxima ao eixo da desnatadeira, sendo drenada por um pequeno orifício, enquanto que os seus outros componentes, mais pesados, são lançados às suas paredes e vão para o exterior por uma outra saída. O equipamento retém na câmara de desnate 150ml $\pm$ 10 ml. Por isso na primeira fase deste estudo utilizamos 20 amostras de 220ml cada para obtenção de alíquotas de 80ml.

Após desnate o volume de leite foi fracionado em 80ml vai para o evaporador.

4.5 Evaporação do leite humano

A metodologia de evaporação do leite humano segue propostos de Santos & Martinez (1996). Para evaporar o leite utilizou-se um evaporador rotativo a vácuo, marca Rotavapor-RE da “Buchi”.

O evaporador composto de um banho-maria aquecido e controlado eletronicamente contém um balão de vidro onde é acondicionado o leite.

Este balão imerso no banho-maria é conectado a um sistema de serpentina que flui água em temperatura ambiente. A serpentina envolta em uma cápsula de vidro, integrado ao balão de amostra cria-se pressão que possibilita a condensação do vapor d’água que antecipa a evaporação devido o vácuo gerado por uma bomba de vácuo acionada pelo operador (FIGURA 3).

São colocadas amostras de 80ml de leite humano de banco de leite sem gordura e evaporadas até tingirem o volume de 20 ml a temperatura de 60°C com pressão em 62 mmHg.

4.6 Retirada da lactose

As amostras são concentradas durante a evaporação tanto para concentrar em pequenos volumes o teor mineral e protéico, quanto para que ocorra saturação da lactose presente no leite e conseqüente crioprecipitação quando submetidas ao congelamento e centrifugação.

Para a precipitação e posterior retirada da lactose, o leite humano evaporado foi acondicionado a -20°C em tubos plásticos cônicos com tampa esterilizados no mínimo 24 horas. Em seguida, as amostras foram centrifugadas á temperatura de 4°C a 2000 rpm, durante 20 minutos onde formou um precipitado de lactose (FIGURA 4).

Para facilitar a retirada do precipitado, a amostra foi aquecida em banho-maria a 37 °C, com uma pipeta de vidro estéril, removeu-se o sobrenadante, desprezando a lactose (SANTOS; MARTINEZ, 1996) (FIGURA 5 E 6) .



FIGURA 2 - Desnatadeira Casa das Desnatadeiras



FIGURA 3 – Rotaevaporador MARCON



FIGURA 4 – Centrifuga Refrigerada SIGMA 3K30®



FIGURA 5 – Tubo cônico de plástico contendo leite humano após centrifugação e descongelamento em banho Maria, mostrando o precipitado de lactose evidenciado pela cor mais leitosa.



FIGURA 6 – Precipitado de lactose após retirada do sobrenadante. Da esquerda para direita mostrando tubo cônico com leite humano, sobrenadante e precipitado de lactose, seguido do tubo sem o leite humano.

Apos o desnate, evaporação e retirada da lactose, restam dos 80 ml iniciais do leite humano aproximadamente $15\text{ml} \pm 2\text{ ml}$. Este volume é então encaminhado ao banco de leite é readicionado leite humano no volume de 80ml a ser administrado ao RN um volume total reconstituído de $95 \pm 2\text{ ml}$.

Para a análise da quantidade de proteínas, gordura, conteúdo calórico hidratos de carbono, osmolalidade, sódio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, cobre e zinco, nas amostras de LHM e do LHF, foram utilizadas as técnicas, obedecendo as normas analíticas publicadas pelo Instituto Adolfo Lutz (1985), detalhadas a seguir em triplicata:

4.7 Determinação de proteínas:

Para determinação das proteínas foi utilizado a quantificação do nitrogênio protéico pelo método de microKjedahl, que necessita dos seguintes materiais e reagentes: tubos de digestão micro Kjedaahl, Erlenmeyer de 125 ml, pipetas graduadas de 10 ml, proveta de 20 ml, Bureta de 25 ml com divisão de 0,05 ml, balança analítica, destilador micro Kjedaahl., mistura catalítica de sulfato de cobre e sulfato de potássio, 1:1, ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, ácido bórico (solução saturada), ácido clorídrico 0,02 (normal) N com fator de correção, indicador vermelho

de metila e azul de metileno (vermelho de metila 0,2% alcoólico + azul de metileno 0,2% alcoólico 2:1), hidróxido de sódio (NaOH) + tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) (60 g de NaOH + 5 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ q.s.p. 100 ml).

O procedimento é realizado em três etapas:

Inicia-se pela digestão: pesa-se 50 a 60 mg de amostra finamente pulverizada em papel manteiga e sobre a amostra, acrescenta-se 2 g da mistura catalítica. Coloca-se a amostra envolvida no papel, no tubo de digestão. Acrescenta-se 3 ml de H_2SO_4 concentrado e leva-se ao aquecedor elétrico dentro da capela por 40-45 minutos.

Segue-se a destilação; após o esfriamento da amostra do tubo de digestão, transfere-se cuidadosamente com auxílio de água destilada a amostra para o aparelho de destilação. Na extremidade do condensador, coloca-se um Erlenmeyer com 5 ml de solução saturada de ácido bórico e 3 gotas de indicador vermelho de metila + azul de metileno. Completa-se com água destilada, o nível do balão gerador de vapor e aqueça à ebulição. Adiciona-se através de funil, 8-10 ml da mistura NaOH + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sobre a amostra e fecha-se o funil. A chama branda deve ser mantida até a viragem do indicador de roxo para verde. Destila-se 50 ml.

Por ultimo a titulação: titula-se o destilado do Erlenmeyer com Bureta de 25 ml com graduação de 0,05 ml até a cor voltar a roxo, para tal utiliza-se a solução de HCl 0,02 N. A solução deve ser então aquecida a 70° C e se voltar a cor verde acrescenta-se uma gota de HCl. Repete-se a operação até estabilização da cor.

Para o cálculo do conteúdo protéico da amostra utilizam-se os seguintes conhecimentos:

- Pela reação $\text{NH}_3 + \text{HCl} = \text{NH}_4\text{Cl}$, verifica-se que 0,0001g de H^+ (1ml da solução de HCl 0,1 N) reage com 0,0014g de N;
- A molécula de proteína possui de 16 a 17,5 % de nitrogênio deduz-se que 1 g de nitrogênio corresponde a 6,25 a 5,74 g de proteína. O fator universal é 6,25 quando a proteína é desconhecida ou trata-se de mistura de várias proteínas;

Para o cálculo da quantidade de proteína utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{Proteína g\%} = \frac{(\text{Va} - \text{Vb}) \times 0,02 \times \text{fc} \times 14,007 \times 6,25 \times 100}{\text{a}}$$

(a)

Va = Volume de HCL 0,02 N gastos na titulação da amostra

Vb = volume de HCL 0,02 N gastos na titulação do branco

0,02 = normalidade na solução de HCL

fc = 14,007 = fator de conversão do nitrogênio

6,25 = fator de conversão da proteína

(a) = amostra analisada em mg

Como as amostras estão na forma líquida deve-se utilizar a fórmula abaixo para o cálculo da quantidade, em miligramas, da proteína contida na alíquota:

$$\text{mg de proteína na alíquota} = (V_a - V_b) \times f_c \times 0,2802 \times 6,25$$

4.8 Determinação de gordura:

Para a determinação dos lipídeos nas amostras analisadas foi utilizado o método de Gerber que necessita dos seguintes materiais e reagentes: lactobutirômetro de Gerber, pipeta volumétrica de 11, 10 e 1ml, termômetro graduado de 0 a 100° C, centrífuga de Gerber, pêra de borracha, banho Maria, ácido sulfúrico (D=1,820-1,825), álcool amílico (D=0,815) isento de gordura.

Transfere-se 10 ml de ácido sulfúrico para um butirômetro de Gerber, adiciona-se lentamente 11 ml da amostra (sem molhar inteiramente o gargalho do butirômetro com tecido, a reação é fortemente exotérmica). Após centrifuga-se o conteúdo do butirômetro a 1200 r.p.m durante 10 minutos. Leva-se para um banho de água a 65 a 70° C por 5 a 10 minutos com rolha para baixo. Retira-se então o butirômetro, mantendo a posição vertical e maneja-se a rolha para colocar a camada amarela claro, transparente (lipídeos) dentro da haste graduada do butirômetro.

Faz-se a leitura no menisco inferior da parte graduada do butirômetro. O número de ml ocupado pela camada oleosa corresponde diretamente a porcentagem de lipídeos sendo expresso em g%.

4.9 Determinação do conteúdo calórico

O cálculo das calorias é baseado na quantidade de hidratos de carbono, lipídeos e proteínas contida nos leites suplementados de acordo com a fórmula de Atwater recomendada pela FAO (2003).

4.10 Determinação de hidratos de carbono:

Para determinar o conteúdo de hidratos de carbono das amostras foi utilizada a técnica de formação de glicídios redutores, que necessita dos seguintes materiais e reagentes:

Materiais – Balão volumétrico de 100 ml, pipetas volumétricas de 10 ml, pipeta graduada de 2 ml, frasco Erlenmeyer de 300 ml, funil de vidro, papel de filtro, balão de fundo chato de 300 ml, bureta de 25 ml, chapa aquecedora, garra de madeira.

Reagentes – Solução de sulfato de zinco a 30% m/v, solução de ferrocianeto de potássio a 15% m/v, solução de Fehling tituladas.

Para o desenvolvimento do procedimento, transfere-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 10 ml da amostra para um balão volumétrico de 100 ml, adiciona-se 50 ml de água, 2 ml da solução de sulfato de zinco a 30% e 2 ml da solução de ferrocianeto de potássio a 15%, misturando bem após cada adição. Deixa-se sedimentar durante 5 minutos e após completa-se o volume com água e agita-se. A solução é filtrada em papel de filtro, em um frasco Erlenmeyer de 300 ml. O filtrado deverá estar límpido.

Em um balão de fundo chato de 300 ml, transfere-se 10 ml de cada uma das soluções de Fehling tituladas e adiciona-se 40 ml de água, aquecendo até a ebulição em chapa aquecedora. Transfere-se o filtrado para uma Bureta de 25 ml e adicionam-se as gotas, sobre a solução do balão em ebulição e com a ajuda das garras de maneira agita-se sempre, até que esta solução mude de coloração azul à incolor (no fundo do balão deverá ficar um resíduo vermelho tijolo).

Para o cálculo da quantidade de glicídios redutores formado utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{Glicídios redutores em lactose} = \frac{V \times 0,0068 \times 100}{L \times V}$$

0,068 = nº de ml de g de lactose que corresponde a 10 ml de solução de Fehling

V = nº de ml da solução da amostra, gasto na titulação

L = nº de ml da amostra

V = nº de ml da diluição da amostra (100ml)

O resultado é expresso em g%

4.11 Determinação da Osmolalidade

Para determinação da osmolalidade, segue-se o método de osmometria por congelamento. Para a determinação das osmolalidade há necessidade dos seguintes materiais e reagentes: tubos apropriado para osmômetro, osmômetro Advanced[®], Solução padrão 100 mOsm/ Kg de água, solução padrão 500 mOsm/ Kg de água.

A determinação da osmolalidade do leite foi obtida a partir da colocação de 300 µl da amostra em tubo apropriado para o osmômetro.

Para a leitura das amostras, o osmômetro foi calibrado utilizando as soluções padrão, uma contendo 100 mOsm/ Kg de água e a outra 500 mOsm/ Kg de água. A faixa de leitura usada foi de 0 a 3000 mOsm/ Kg de água. O valor de leitura dá diretamente em mOsm/Kg de água.

4.12 Determinação de sódio e potássio:

Para a determinação de sódio e potássio nas amostras utilizou-se o método de fotometria de chama foram utilizados os seguintes materiais e reagentes: cubetas de plásticos, pipeta de vidro, fotômetro de chama marca MICRONAL B 262, solução padrão de sódio e potássio.

Dilue-se a amostra e a solução padrão de sódio e potássio em água destilada na proporção de 1:200 partes. Liga-se o fotômetro de chama e ajusta-se o compressor para 30 a 40 baries. Liga-se o gás. Zera-se o aparelho com água destilada e calibra-se o aparelho, com a solução padrão diluída, repetindo o procedimento até que o aparelho mantenha-se constante na concentração da solução padrão. Aspira-se então as amostras, e a cada 5 a 6 amostras repete-se a calibração. O resultado encontrado é expresso em mEq/l.

4.13 Determinação do cálcio:

O cálcio existente nas amostras foi determinado pelo método de cinzas utilizando colorimetria por ácido clorântrico.

Para a formação do resíduo incinerado utiliza-se os seguintes materiais: balança analítica, cápsula de porcelana, pipeta volumétrica de 20 ml, banho Maria, chapa aquecedora, mufla, dessecador com sílica-gel, pinça de metal.

Transfere-se, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 20 ml da amostra para uma capsula de porcelana. Evapora-se em banho-maria até a secagem. Carboniza-se cada amostra em chapa aquecedora na capela e incinera-se em mufla a $540 \pm 10^\circ\text{C}$ pelo período aproximado de 4 horas. O resíduo deverá ficar branco ou ligeiramente acinzentado, caso contrário, resfria-se as amostras adicionando 0,5 ml de água, e repete-se o procedimento. Resfria-se em dessecador e pesa-se cada amostra.

Para o cálculo do resíduo incinerado que será utilizado para a quantificação mineral utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\frac{100 \times p}{A} = \text{resíduo por incineração (cinzas) por cento m/v}$$

p = n° de g de resíduo

A = n° de ml da amostra

Para a determinação do cálcio nas cinzas é necessário os seguintes materiais e reagentes: balança analítica, papel filtro, pipeta graduada 1, 10 ml, centrífuga, frasco volumétrico 100ml, espectrofotômetro, solução de hidróxido de amônio a 50%, solução de bromocresol verde, solução de isopropanol a 50%, solução de ácido clorântrico, carbonato de cálcio, solução de EDTA 5%.

Pesa-se exatamente 1,1g de ácido clorântrico e dissolve-se em 10 ml de NaOH 1N, completa-se o volume para 100ml com água desmineralizada. O pH da solução deverá estar entre 3,5 e 11. Se o pH for superior a 11, adiciona-se 0,1g de ácido clorântrico. Filtra-se a solução.

Para fazer a solução padrão de cálcio (100 μg /ml), pesa-se exatamente 0,249g de carbonato de cálcio (CaCO_3) p.a e transfere-se para um frasco volumétrico de 100 ml. Adiciona-se 10 ml de HCl a 10%, e agita-se o frasco até que todo CaCO_3 esteja dissolvido. Completa-se com água desmineralizada.

Adiciona-se por intermédio de uma pipeta, 1 ml da solução de cinza em tubo de centrifuga de 15 ml. Colocam-se algumas gotas da solução de bromocresol verde e goteja-se a solução de hidróxido de amônia até a mudança da cor. Adiciona-se 1ml da solução de ácido clorânico. Completa-se com água, para 10 ml. Deixar em repouso por 30 minutos. Após esse tempo, centrifuga-se os tubos por 10 minutos a 200 rpm. Retira-se, cuidadosamente o sobrenadante. Lava-se o precipitado do clorânato de cálcio formado com 5 ml da solução de isopropanol a 50%. Centrifuga-se novamente. Caso seja necessário repete-se a operação de lavagem do precipitado. Adiciona-se 5ml da solução de EDTA a 5%. Agita-se até a completa dissolução do precipitado.

Prepara-se concomitantemente um branco e os padrões, contendo 100, 200, 400 e 600 μg de cálcio. Fazem-se as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 520 nm, acertando a marca do zero com o branco.

O cálculo do conteúdo de cálcio das amostras é feito relacionando as absorbâncias encontradas com aquelas obtidas com as soluções padrão.

Calcula-se para 100g de cinza, 100g de alimento seco e 100g de alimento integral.

4.14 Determinação de fósforo

Para determinação do fósforo fotolorimetria nas amostras são utilizados os seguintes materiais e reagente, balança analítica, papel filtro, pipeta graduada 1, 10 ml, centrifuga, frasco volumétrico 10, 50, 100 ml, tubos de ensaio, espectrofotômetro, reagentes – Solução de ácido sulfúrico contendo 10 N, solução de molibdato de amônia a 2,5%, solução redutora, fosfato ácido de sódio, ácido clorídrico, sulfito de sódio, ácido 1,2,4 aminonaftolsulfônico, bissulfeto de sódio .

Para o preparo da solução de molibdato de amônia dissolve-se 2,5g de molibdato de amônia em 30 ml de solução de ácido sulfúrico à 10 N e após adiciona-se 100 ml de água destilada.

Para o preparo da solução redutora pesa-se 0,2g de ácido 1,2,4 aminonaftolsulfônico + 1,2 do bissulfeto de sódio e 12g de sulfito de sódio. Mistura-se bem e guarda-se em frasco bem fechado. Conservação indefinida. No momento de usar prepara-se uma solução de 1,3 g dessa mistura para 50 ml de água.

Para o preparo da solução padrão de fósforo pesa-se 0,458g de Na_2HPO_4 e dissolva em cerca de 50 ml de água destilada. Completa-se o volume para 100 ml. Cada ml desta solução conterá 1mg de fósforo

Para a dosagem do conteúdo de fósforo nas amostras dissolve-se 400 mg de cinza (preparada conforme o descrito para determinação de cálcio) em 10 ml de ácido clorídrico, adicionando se necessário gotas de HNO_3 e aquecendo para facilitar a dissolução. Transfere-se 1 ml desta solução para um balão volumétrico de 10 ml. Completa-se o volume com água destilada. Transfere-se 1 ml desta solução para tubo de ensaio. Adiciona-se então 0,2 ml de molibdato de amônia a 2,5% e 0,4 ml da solução redutora. Completa-se o volume para 10ml com água destilada. Agita-se e deixe à temperatura ambiente por 10 minutos, para completo desenvolvimento de cor. Faz-se a leitura das amostras no espectrofotômetro a 660 nm.

Prepara-se concomitantemente uma curva padrão contendo 10, 20, 40 e 60 μg de fósforo.

Para o cálculo relaciona-se a absorbância obtida na amostra com aquelas da curva padrão. Os cálculos são feitos para 100g de cinza, 100g de alimento seco e 100g de alimento integral.

4.15 Determinação de manganês

Para a determinação do manganês utilizou o método oxidativo em leitura espectrofotométrica, houve a necessidade dos seguintes materiais e reagentes: balança Analítica, balão volumétrico 25, 50, 100ml, pipetas 1ml, espectrofotômetro, solução de HNO_3 a 30%, ácido fosfórico xaroposo, solução estoque de MnSO_4 , solução padrão de Mn, metaperiodato de potássio (KIO_4).

Para o preparo da solução estoque de MnSO_4 dissolve-se 0,307g de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em água em 100 ml de água destilada.

Para o preparo da solução padrão de Mn dissolve-se a solução estoque em 100 ml de água destilada. Cada ml dessa solução conterá 0,1 mg de Mn.

Para a análise do Mn nas amostras pesa-se 500 a 800 mg de cinza (preparada conforme o descrito para determinação de cálcio) e dissolva em 25 ml do HNO_3 a 30%. Adiciona-se 2 ml de ácido fosfórico xaroposo. Aqueça à ebulição. Adiciona-se cuidadosamente, evitando projeção devido a ebulição, porções de KIO_4 até completo desenvolvimento da cor púrpura do permanganato. O desenvolvimento

da cor é completo quando a adição de nova porção de KIO_4 não provocar intensificação da cor (cerca de 0,5g). Manter o aquecimento por 5 minutos, após resfriar e completar para 100 ml com água destilada. Caso a cor seja pouco intensa, completar para 25 ou 50 ml. Prepara-se paralelamente um branco e a curva padrão de Mn.

Para o preparo da curva padrão de manganês segue-se o mesmo procedimento acima, usando a solução padrão de manganês. Utiliza-se 2 ml, 4 ml, e 6 ml da solução padrão de Mn cujos pontos da curva corresponderão a 0,2; 0,4 e 0,6 mg de Mn, respectivamente.

Realiza-se a leitura das amostras em espectrofotômetro ajustando o comprimento de onda para 535 nm, acertando o zero com o branco. Relaciona-se o teor de manganês para 100 g de cinza, 100 g de alimento seco e 100 g de alimento integral.

4.16 Determinação de zinco e cobre

Para análise desses elementos traço deve-se realizar a digestão química das amostras de leite conforme a metodologia proposta por Moura (2006).

Para a determinação dos elementos traço há necessidade dos seguintes materiais e reagentes: balança analítica, tubos ensaio 40ml, bureta graduada, banho Maria, capela de exaustão, grade de cobre, alça de vidro, balão volumétrico 25ml, espectrofotômetro de absorção atômica, ácido nítrico .

Deve-se identificar as amostras de 1 a 20, conforme o tipo de suplemento utilizado. Pesa-se 4 g de leite das amostras em balança analítica e colocado-as em tubo de ensaio com capacidade para 40 ml. Adiciona-se 12 ml de ácido nítrico 65% p.a. contido em uma bureta graduada. Essas amostras irão adquirir a coloração do ácido nítrico (amarelo), porém turvo.

Devem-se manter os tubos contendo as amostras de 1 a 20 em banho-maria a 80°C durante 60 minutos em capelas com alta capacidade de exaustão. Para garantir o aquecimento uniforme, no fundo do receptáculo, coloca-se uma grade de cobre. No início do aquecimento começa a ocorrer o desprendimento de borbulhas do monóxido nitroso, que ao reagir com o oxigênio do ar se converte em vapores de cor marrom do dióxido (cor acastanhada). Ocorre o clareamento paulatino das

amostras até ficar amarelo-citrino, cor das proteínas após nitrificação. A digestão estará finalizada quando não se desprender mais vapores de coloração marrom.

Extrai-se o glóbulo de gordura resultante desse processo utilizando uma alça de vidro.

Após o resfriamento até a temperatura ambiente, utilizando um funil de vidro, transferir as amostras para balões volumétricos de 25 ml e enxágua-se os tubos de ensaio e funis com água miliequivalente usada para completar o volume.

Analisa-se as amostras por aspiração direta dos balões volumétricos dosando o zinco e cobre pelo método de espectrofotometria de absorção atômica (Perkin-Elmer Analyst 100), obtendo-se o resultado em mg/dl.

4.17 Determinação do ferro:

Para determinação do ferro nas amostras estudadas utilizou-se o método de espectrofotometria para ferro, houve a necessidade dos seguintes materiais e reagentes: evaporador, balança analítica, balão volumétrico 50,100ml, pipetas 1,10ml, espectrofotômetro, solução de Tiocianato de potássio a 10%, ácido nítrico concentrado, ácido sulfúrico concentrado, ácido clorídrico 1N, ácido clorídrico 3N, ácido clorídrico 50%, solução estoque de ferro, solução padrão de ferro, sulfato de ferro amoniacal.

Para o preparo da solução estoque de ferro 1 pesa-se 0,8628g de $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)2.12 \text{ H}_2\text{O}$ e adiciona-se 20 ml de H_2SO_4 concentrado para dissolver. Completa-se o volume para 100 ml com H_2O destilada. Cada ml irá conter 10 μg de ferro.

Para o preparo da solução padrão de ferro diluir 10 ml da solução estoque em 100 ml de água destilada. Cada ml irá conter 10 μg de ferro.

Para o preparo da solução estoque de ferro 2 dissolve-se 100 mg de ferro puro em 5ml de HCl a 50%. Evapora-se até secar e após adiciona-se 5ml de HCl 3N para dissolver o resíduo. Transfere-se a solução para um balão volumétrico de 100 ml. Completa-se o volume com água desmineralizada. Esta solução conterá 100 μg de Fe/ml.

Para o preparo da solução padrão 2 dilue-se 10 ml da solução estoque 2 em 100 ml de água destilada. Cada ml conterá 10 μg de ferro.

Prepara-se a amostra dissolvendo 400mg de cinza (preparada conforme o descrito para determinação de cálcio) em 10 ml do HCl 1N. Caso seja necessário adiciona-se gotas de HNO₃ concentrado e aqueça para facilitar a dissolução. Transfere-se a solução para um balão volumétrico completando com água destilada para um volume de 50 ml. Prepara-se, concomitante, uma curva padrão utilizando as soluções padrão, contendo 10, 20, 40 e 60 µg de ferro.

Para a leitura das absorbâncias ajusta-se o comprimento de onda em 520 nm, ajusta-se o zero com o branco. Calcula-se o teor de ferro em 100g de cinzas, 100g de alimento integral e 100g de alimento dessecado.

4.18 Análise dos resultados

Os resultados das variáveis avaliadas nos dois grupos de estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de gráficos ou tabelas por meio do teste paramétrico t-student pareado de uma amostra. A análise estatística foi realizada usando a média e o erro padrão da média para todos os resultados que foram analisados estatisticamente utilizando o Microsoft Excel 2003 para planilhamento dos dados e o “software” SigmaStat para Windows[®], na versão 2.0.

5 RESULTADOS

Para a comparação entre as variáveis mensuradas nos dois grupos foram coletadas 20 amostras a partir de 220ml de cada e seguiu-se o processo de modificação do leite humano. Estas amostras foram reconstituídas com um mesmo pool de leite humano que serviu também de substrato para a diluição de uma amostra padrão do LHF. Realizada por meio do teste paramétrico t'student pareado, foram quantificados os teores de proteína, gordura, hidrato de carbono, osmolaridade, sódio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco e cobre. Os resultados referentes estão ilustrados nas tabelas 2 e 3 descritos a seguir:

TABELA 2 – Comparação dos macronutrientes, proteína, gordura, lactose, osmolaridade e calorias das amostras de 100ml de leite humano modificado e FM85[®]

Variável/ concentração	LH + LHM X± EPM	LH +FM85 [®] X	"p"
Proteína g/dl	1,81±0,01	1,95	0,0001*
Gordura g/dl	3,75±0,16	3,73	
Hidrato de carbono g/dl	6,70±0,20	10,07	
Osmolaridade mOsmol/kgH ₂ O	391,45±7,22	431,00	
Calorias (kcal)(76)	67,88	81,65	

LH – Leite humano; LHM – Leite humano Modificado; X = Média das amostras; EPM = erro padrão da média; * Diferença significativa entre as amostras – valor $p < 0,05$.

5.1Proteína

Em relação à média de proteína encontrada no LHM das 20 amostras (100%), foi de 1,81±0,01g/dl, enquanto a média encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 1,96 g/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença estatisticamente significativa entre elas, em relação à proteína encontrada (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes à proteína são ilustrados na tabela 3.

5.2 Gordura

Em relação à média de gordura encontrada no LHM modificado das 20 amostras (100%), foi de $3,75 \pm 0,16$ g/dl, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 3,73g/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença significativa entre elas, em relação à gordura encontrada (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes a gordura são ilustrados na tabela 3.

5.3 Hidrato de carbono

Em relação à média de lactose encontrada no leite humano modificado das 20 amostras (100%), foi de $6,74 \pm 0,19$ g/dl, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 10,07 g/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença extremamente significativa entre elas, em relação à lactose encontrada (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,001$). Os resultados referentes a lactose são ilustrados na tabela 3.

5.4 Osmolalidade

Em relação à média de osmolalidade encontrada no LHM das 20 amostras (100%), foi de $391,45 \pm 7,22$ mOsm/Kg de água, enquanto que o valor padrão de referência da osmolalidade encontrada no rótulo do produto FM85[®] é de 417,00 mOsm/Kg água. A média da osmolalidade encontrada no mesmo pool de leite acrescido com FM85[®] foi de $431,0 \pm 0,5$ mOsm/kg de água. Na comparação entre as dietas, houve diferença significativa entre elas, em relação à osmolalidade encontrada (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes a osmolalidade são ilustrados na tabela 3.

5.5 Sódio

Em relação à média de sódio encontrada no leite humano modificado das 20 amostras (100%), foi de $1,43 \pm 0,69$ mEq/dl, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 2,03 mEq/dl. Na comparação entre as

dietas, houve diferença extremamente significativa entre elas, em relação ao sódio encontrado (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes ao sódio são ilustrados na tabela 4.

5.6 Potássio

Em relação à média de potássio encontrada no leite humano modificado das 20 amostras (100%), foi de $1,43 \pm 0,24$ mEq/LDL, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 1,66mEq/dl Na comparação entre as dietas, houve diferença significativa entre elas, em relação ao potássio encontrado (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes ao potássio são ilustrados na tabela 4.

5.7 Cálcio

Em relação à média de cálcio encontrada no LHM das 20 amostras (100%), foi de $36,92 \pm 1,09$ mg/dl, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 79,37 mg/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença extremamente significativa entre elas, em relação ao cálcio encontrado (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,001$). Os resultados referentes ao cálcio são ilustrados na tabela 4.

5.8 Fósforo

Em relação à média de fósforo encontrada no LHM das 20 amostras (100%), foi de $20,02 \pm 0,95$ mg/dl, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 55,97 mg/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença extremamente significativa entre elas, em relação ao fósforo encontrado (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes ao fósforo são ilustrados na tabela 4.

5.9 Manganês

Em relação à média de manganês encontrada no LHM das 20 amostras (100%), foi de $0,001 \pm 0,10$ mg/dl, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 0,002 mg/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença significativa entre elas, em relação a este elemento traço (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes ao manganês estão ilustrados na tabela 4.

5.10 Zinco

Em relação à média de zinco encontrada no LHM das 20 amostras (100%), foi de $0,21 \pm 0,007$ mg/dl, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 0,63 mg/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença estatisticamente significativa entre elas, em relação ao zinco encontrado (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes ao zinco são ilustrados na tabela 4.

5.11 Cobre

Em relação à média de cobre encontrada no LHM das 20 amostras (100%), foi de $0,16 \pm 0,01$ mg/dl, enquanto a media encontrada no mesmo pool de leite humano acrescido de FM[®]85 foi de 0,04 mg/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença estatisticamente significativa entre elas, em relação ao cobre encontrado (teste de t-student pareado de uma amostra, $p < 0,0001$). Os resultados referentes ao cobre são ilustrados na tabela 4.

5.12 Ferro

Em relação à média de ferro encontrada no LHM das 20 amostras (100%), foi de $0,15 \pm 0,01$ mg/dl, enquanto a media encontrada no LHF foi de 0,20 mg/dl. Na comparação entre as dietas, houve diferença significativa entre elas, em relação ao

ferro encontrado (teste de t-student pareado de uma amostra, $p=0,0002$). Os resultados referentes ao ferro são ilustrados na tabela 3.

TABELA 3 – Comparação dos minerais sódio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco, cobre das amostras de 100ml de leite humano modificado e leite humano acrescido de FM[®]85

Variável/concentração	LH + LHM X± EPM	LH +FM85 [®] X	"p"
Sódio mEq/dl	1,43±0,69	2,03	
Potássio mEq/dl	1,43±0,24	1,66	
Cálcio mg/dl	36,92±1,09	80,0	
Fósforo mg/dl	20,02±0,95	56,30	
Cobre mg/dl	0,16±0,01	0,04	$p<0,0001^*$
Manganês mg/dl	0,001± 0,01	0,002	
Zinco mg/dl	0,21±0,007	0,63	
Ferro mg/dl	0,15±0,01	0,20	$P=0,0002$

LH – Leite humano; LHM – Leite humano Modificado; X = Média das amostras; EPM = erro padrão da média; * Diferença significativa entre as amostras – valor $p < 0,05$.

Apesar do propósito deste estudo ter sido o de verificar a tolerabilidade gástrica da população estudada, obrigatoriamente houve a necessidade do acompanhamento do crescimento destes Rns. Por ser uma amostra reduzida, os dados do crescimento serão demonstrados a seguir como forma de descrever o comportamento destes RNs quando alimentados com as duas diferentes dietas.

Para Avaliar as medidas de crescimento de perímetro cefálico, peso e estatura o acompanhamento clínico e análise da tolerância gastrointestinal 5 recém-nascidos foram alimentados com LHM e 5 recém nascidos foram alimentados com LHF.

Os dados referentes ao estudo da amostra populacional em relação ao sexo, adequação do peso de nascimento e uso de ventilação mecânica foi feito análise percentual. Para a comparação da idade gestacional, peso de nascimento, início da nutrição enteral mínima, início da nutrição enteral exclusiva, volume de dieta total recebido, quantidade de caloria total recebida, foi realizado o teste t'student pareado para dados paramétricos.

Durante o estudo foram excluídos os RN que apresentaram condições clínicas desfavoráveis ao desenvolvimento da pesquisa, estas condições estavam em sua totalidade relacionadas com piora do nível de infecção.

5.13 Sexo

Com relação ao sexo dos recém-nascidos alimentados com LHM, 60% (n=3) eram do sexo masculino e 40% (n=2) eram do sexo feminino. Em relação aos recém-nascidos alimentados com LHF, 60% (n=3) eram do sexo masculino e 40% (n=2) eram do sexo feminino.

5.14 Idade gestacional

Com relação à idade gestacional a média e o erro padrão da média ($X \pm EPM$) dos recém-nascidos alimentados com LHM foi de $30,00 \pm 0,30$. Dos recém-nascidos alimentados com LHF foi de $29,80 \pm 0,58$. Onde $p=0,89$, não houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras.

5.15 Peso de nascimento

Com relação ao peso de nascimento a média e o erro padrão da média ($X \pm EPM$) dos recém-nascidos alimentados com LHM foi de $1126,00 \pm 98,32$. Dos recém-nascidos alimentados com LHF foi de $1070,00 \pm 69,64$. Onde $p=0,65$ não houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras.

5.16 Início da nutrição enteral

Com relação ao numero de dias para o inicio da nutrição enteral mínima, a média e o erro padrão da média ($X \pm EPM$) dos recém nascidos alimentados com LHM foi de $5,80 \pm 1,94$, os recém-nascidos alimentados com o LHF foi de $2,20 \pm 0,20$. Onde $p = 0,10$ não houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras.

5.17 Nutrição enteral exclusiva

Com relação ao número de dias para o início da nutrição enteral exclusiva a média e o erro padrão da média ($X \pm EPM$) dos recém nascidos alimentados com LHM foi de $14,20 \pm 2,87$. Dos recém nascidos alimentados com LHF foi de $25,20 \pm 5,65$. Onde $p = 0,12$ não houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras.

5.18 Volume de dieta total recebido

Em relação ao volume total de dieta recebida pelos recém-nascidos é importante ressaltar que a media foi obtida somando-se o volume total recebido durante o período de estudo dividido pelo numero de dias. Obtendo-se média e o erro padrão da média ($X \pm EPM$) dos recém-nascidos alimentados com LHM foi de $164,60 \pm 10,41$. Dos recém-nascidos alimentados com LHF foi de $187,25 \pm 7,82$. . Onde $p=0,12$ não houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras.

5.19 Caloria total recebida

Em relação à caloria diária total ingerida durante os 15 dias ± 2 , a média e o erro padrão da média ($X \pm EPM$) dos recém-nascidos alimentados com LHM foi de $111,72 \pm 7,07$. Dos recém-nascidos alimentados com LHF foi de $136,94 \pm 6,96$. Onde $p=0,0002$ há diferença estatística entre as amostras.

5.20 Ventilação mecânica

Com relação ao número de dias de uso de ventilação mecânica, a média e o erro padrão da média ($X \pm EPM$) dos recém nascidos alimentados LHM foi de $6,67 \pm 1,45$ dos recém nascidos alimentados LHF foi de $9,80 \pm 3,12$.

5.21 Adequação do peso de nascimento a Idade gestacional

Com relação adequação do peso de nascimento dos recém-nascidos alimentados com LHF 97,67% (n=9) AIG, e 11,11% (n=1) são PIG. Nos recém-nascidos alimentados com LHM 100,00% (n=5) AIG.

5.21 Tolerância gástrica

Em relação à tolerância gastrintestinal, os RNPT de ambos os grupos acompanhados não apresentaram sinais clínicos relacionados à alimentação.

Em cada um dos grupos foi excluído 01 paciente que apresentou sinal de piora clínica foram estritamente relacionados à infecção.

Em relação ao ganho de peso, comprimento e perímetro cefálico os dados são apresentados na TABELA 4.

TABELA 4 – velocidade de ganho de peso, comprimento e perímetro cefálico dos recém-nascidos alimentado com LHM e LHF.

	LH + LHM	LH +FM85 [®]	"p"*
Ganho de peso (g/kg/dia)	10,89±3,19	11,76±2,09	0,82
Ganho comprimento (cm/sem)	0,80±0,19	0,88±0,25	0,81
Ganho perímetro cefálico (cm/sem)	0,89±0,22	0,62±0,12	0,32

X = Média das amostras; EPM = erro padrão da média; * Diferença significativa entre as amostras – valor p < 0,05

6 DISCUSSÃO

No intuito de aditivar o leite humano, diferentes técnicas de manipulação e extração de componentes do leite vem sendo usadas. Atualmente o leite humano vem sendo modificado por meio de ultrafiltração e diálise pela empresa Prolacta Bioscience para produzir produtos comerciais, Prolact +4, +6, +8, +10 e NeoPro®, únicos suplementos de origem homóloga produzidos em escala comercial, porém estas técnicas são complexas e de alto custo (SCHANLER,1998; BOEHM *et al*, 1987, SANTOS; MARTINEZ 1996; BRAGA ;PALHARES 2007).

No decorrer deste trabalho houve a preocupação na elevação dos índices nutricionais. Para esse propósito, diferentes volumes de leite foram utilizados como partida para a evaporação até que encontrássemos um valor que adequasse aos níveis osmóticos e de lactose.

O LHM oferece 1,81g/dl de proteína, também utilizando a evaporação, Braga e Palhares e 2007 encontraram teores proteicos de 1,24 a 1,78 g/dl e Santos e Martinez em 1996 encontraram 1,6g/dl. Se calculados para ingestão de 150 a 200ml/kg/dia o LHM atinge 2,71 a 3,62g e o LHF 2,92 a 3,90g, o Prolacta +4® oferece de 3,45 a 4.6 g/dl. Neste sentido calculando valores de ingestão de 150 a 200ml/kg/dia o LHM atendendo as quantidades preconizadas pelos comitês de nutrição da AAP 2,9 a 3,3 g/dl e da ESPGAN 2,25 a 3,1g/dl, respectivamente (AAP, 1985; ESPGAN, 1987). O LHM oferece 2,66g/100kcal proteína e o LHF 2,38g/100kcal quando TSANG *et al*(1993) recomenda 2,5 a 3,0g/100kcal.

Moro *et al* em 1989 observaram que quando é utilizada a proteína derivada do leite humano ultrafiltrada, para enriquecer o leite humano na alimentação de RNPT, o perfil de aminoácidos sanguíneos destas crianças, se assemelha ao perfil de aminoácidos encontrado em RNT alimentados com leite humano, considerado padrão ouro. Moro *et al*, 1989, mostraram também que a modificação da proteína bovina com predomínio de proteína do soro, faz com que o perfil de aminoácidos seja semelhante ao das crianças alimentadas com proteína homóloga.

A gordura encontrada no LHM foi de 3,75g/dl e a do FM 85® 3,73 g/dl. O valor calórico encontrado no LHM foi de 67,88kcal/100ml e no LHF 81,65 kcal/100ml. Os valores de gordura e calorias fornecidos pelo LHM e do LHF são compatíveis com o

ofertado pelo leite humano pré-termo (SCHANLER, 1998). TSANG *et al* (1993) recomenda valores de 3,0 a 7g/100kcal, o LHM oferece em 100kcal 5,52g de gordura e o LHF 4,56g.

Ocorre que o LHM após ser desnatado, evaporado e retirado a lactose tem volume final de 15 ± 3 ml, este volume é adicionado a 80ml de leite humano de banco. Deste modo, não é adicionado gordura ao leite humano e o conteúdo de gordura presente no leite de banco não modificado é alterado pela adição do volume do aditivo desengordurado. Há grande preocupação por conta da aderência dos glóbulos de gordura aos recipientes e conseqüentes perdas de calorias ao oferecer esse alimento aos RN. Há necessidade de homogeneização dos frascos pela equipe do banco de leite para diminuir a perda calórica desse suplemento ao ser oferecido aos RNMBP (THOMAZ *et al*, 1999; MARTINEZ *et al*, 1988).

A osmolalidade encontrada nas amostras de LHM foi de 391,45 mOsm/Kg/H₂O e 431,00 mOsm/Kg/H₂O no LHF. Braga e Palhares em 2007 evaporando 30% do leite encontrou osmolaridade de $321,2 \pm 81$ mOsm/Kg/H₂O, Santos em 1996 evaporando 75% do conteúdo de 100ml de leite encontrou a osmolaridade de $709 \pm 120,5$ mOsm/Kg/H₂O.

A adição de suplementos ao LH está relacionada ao aumento da osmolalidade, principalmente se a oferta do alimento suplementado demorar a acontecer, pois a amilase que resiste à pasteurização quebra os polissacarídeos em mono e oligossacarídeos (CURTIS *et al.*, 1999). O leite evaporado concentra os níveis de lactose, aumenta a osmolalidade o que muitas vezes impossibilita a administração ao RNPT como em Santos & Martinez, 1996. O LHF também apresentou nível de osmolalidade elevada 417 mOsm/Kg/H₂O, valor maior que o descrito pelo fabricante. O LHM oferece 9.92g/100kcal de lactose e o LHF 12,32g/100kcal, TSANG *et al* (1993) recomenda 3,18 a 9,8g/100kcal.

A osmolalidade do LHM mostrou-se inferior a 400 mOsm/Kg/H₂O, durante a administração das dietas os recém-nascidos que receberam o LHM não apresentaram distensão abdominal, diminuição do tempo de esvaziamento gástrico, aumento no número de evacuações, mostrando boa tolerabilidade gastrointestinal (LUCAS; COLE, 1990; OLIVEIRA; MYASHI, 2005).

A necessidade de sódio de RNMBP, segundo a AAP-CON, é de 4 a 5 mEq/kg/dia, sendo necessária a reposição para crianças menores de 32 semanas de IG, até que o desenvolvimento do sistema renal e gastrointestinal propiciem um melhor balanço desse nutriente (AL-DAHMAN *et al.*, 1983; AL-DAHMAN *et al.*, 1984).

Na segunda semana de vida a absorção intestinal do sódio aumenta período em que a maioria dos neonatos encontra-se em dieta plena (AL-DAHMAN *et al.*, 1983a). O sódio no LHM apresentou valor $1,432 \pm 0,69$ mEq/dl e 2,033mEq/dl no LHF. No LHM sódio apresenta-se com teor de 2,1 mEq/100kcal e 2,48mEq/100kcal no LHF onde TSANG *et al* (1993) recomenda ingestão 1,65 até 2,52mEq/100kcal. Desta forma deve-se realizar a monitorização sanguínea de sódio, para determinar as necessidades de suplementação do mesmo.

O Potássio no LHM foi de 1,437 mEq/dl, no LHF 1,668mEq/dl. Os níveis de potássio em torno de 1,25 a 1,60 mEq/dl atingem as necessidades diárias não necessitando de suplementação deste nutriente. Considerando que a concentração média deste elemento no LHM foi semelhante ao recomendado, não há necessidade de suplementação deste mineral. (AAP-CON, 1985; ESPGAN-CON, 1987).

Cálcio tem valor encontrado no LHM de 36,92mg/dl e fósforo de 20,02 mg/dl relação 1,9:1,0 enquanto que no LHF a relação encontrada é de 2,0:1,44. A recomendação da ESPGAN é de ofertar 70 a 140mg/kg/dia de cálcio e 50 a 90mg/kg/dia de fósforo, deste modo quando atingimos o volume de 200ml/kg/dia no LHM oferecemos 73.84mg de cálcio e 40.04mg de fósforo.

O LHM oferece 54,3g/100kcal de cálcio e o LHF 97,0g/100kcal de cálcio, TSANG *et al*(1993)recomenda valores de 100 a 192g/100kcal de cálcio.Os valores encontrados indicam a necessidade de suplementação e monitorização dos níveis séricos destes minerais como prevenção da osteopenia da prematuridade.

Foi encontrado um teor de ferro de 0,15mg/dl no LHM foi de 0,20mg/dl na amostra LHF. Lonnerdal 1981 coloca que a taxa de ferro leite humano maduro e de 0,02 a 0,04 mg/ml, índice menor que as necessidades do RNPT exigindo suplementação. O recomendado pelo consenso entre AAP e ESPGAN é de 1.67 mg/kcal ferro, o LHM oferece 0,25mg/kcal e o LHF 0,333mg/kcal de ferro. O LHM oferece 0,22g/100kcal de ferro e o LHF 0,24g/100kcal TSANG *et al*(1993)recomenda valor de 1,67g/100kcal de ferro estando os valores encontrados nas duas dietas

abaixo do recomendado. Assim recomenda-se a suplementação deste nutriente nas duas dietas.

A necessidade de manganês para o RNPT varia de 0,002 a 0,1mg/dl. Na literatura encontra-se valores de 0,004 a 0,000015 mg/dl (LÖNNERDAL, 1981, 2005). Este estudo encontrou no LHM 0,001mg/dl de manganês e 0,002mg/dl no LHF. o LHM apresenta 0,001mg/100kcal de manganês e o LHF 0,002mg/100kcal, TSANG *et al*(1993) recomenda valor de 0,0065mg/100kcal de manganês. A quantidade encontrada de manganês no LHM indica haver necessidade de suplementação desse elemento traço aos RNPT alimentados com as dietas estudadas.

A concentração do zinco no leite humano maduro varia muito devido sofrer influência da dieta materna, encontrando deste modo na literatura valores de 0,05mg/dl (LONNERDAL 1981), a 0,0265mg/dl, (MORANO,2005) e concentrações maiores 0,53mg/dl (PEREIRA, 1986). Em estudos realizados em Campo Grande MS evidenciou-se índices de 0,48mg/dl (MOURA, 2006; FIGUEIREDO *et al.*, 2009). Nas amostras de LHM encontramos 0,21mg/dl e concentrações maiores no LHF de 0,63mg/dl. O LHM oferece 0,30mg/100kcal de zinco e 0,77mg/100kcal no LHF TSANG *et al*(1993) recomenda valor de 0,83mg/100kcal de zinco. Mesmo propiciando uma alta absorção, o LHM se faz necessária complementação deste elemento traço.

O nível de cobre encontrado no leite de mães de pré-termo é de 0,08 mg/dl diminuindo para 0,06mg/dl após o 1 mês de lactação, mantendo este valor no leite maduro (ALMEIDA, 1999; KLEIN, 2002). Em estudo realizado em nosso meio, a quantidade de cobre do leite maduro foi maior que a quantidade encontrada em outros estudos (0,14±0,01 mg/dl) e a encontrada no LHP_r variou de 0,05 a 0,12 mg/dl (MOURA, 2006; FIGUEIREDO *et al.*, 2009). No LHM foi encontrado 0,16 mg/dl de cobre, enquanto no LHF 0,04mg/dl. Atendendo as necessidades do mineral para a população proposta.

Na Tabela 5, observamos que a modificação de leite humano proposta neste estudo como aditivo para reconstituição no leite humano propicia uma dieta láctea com quantidades de micronutrientes equivalente ao LHP_t. O nível de minerais é menor LHM do que em relação a outros aditivos comerciais, necessitando de suplementação medicamentosa e controle sérico.

Considerando os estoques de leite humano disponível em bancos de leite em países em desenvolvimento e o alto custo dos aditivos comerciais, este preparo proposto ao ser reconstituído de leite humano ou leite da própria mãe parece ser bem indicado para a alimentação do RNPT e RNMBP.

TABELA 5 - Comparação entre leite humano pré-termo e leite humano modificado

	LHPt *	LHM	LHM	LHPr	LHF	TSANG **
	100ml		100kcal			
Energia (Kcal)	67-71	67,88				
Gordura (g)	3,6-3,9	3,75	5,52	5,4	4,56	3,6-7
Hidrato de				9,8		
carbono (g)	6,6-7,0	6,74	9,92		12,32	3,18-9,8
Proteína (g)	1,4-1,8	1,81	2,66	2,53	2,38	2,5-3,0
Cálcio (mg)	22	36,92	54,3	30,97	97	100-192
Fósforo (mg)	14	20,02	29,48	19,7	68,9	50-117
Sódio (mEq)	0,7	1,43	2,1	0,98	2,48	1,65-2,52
Potássio (mEq)	1,46	1,43	2,0	2,05	2,03	1,66-2,60
Manganês (mg)	0,0007	0,01	0,001	0,0009	0,002	0,0063
Ferro (mg)	0,12	0,15	0,22	0,16	0,24	1,67
Zinco (mg)	0,32	0,21	0,30	0,45	0,77	0,83
Cobre (mg)	0,06	0,16	0,23	0,08	0,048	0,1

Legenda: LHPt (leite humano pré-termo), LHM (leite humano modificado), LHF (leite humano acrescido de aditivo comercial FM85®)

Fonte: *Schanler RJ, 1998 Young TE, 2009. ** Tsang *et al.*, Lucas A, Uauy R, Zlotkin S, Eds. Nutritional needs of The Preterm Infants: Scientific and Practical Guidelines. Baltimore, Williams & Wilkins; 1993:

O acompanhamento clínico durante todo o período de estudo, mostrou que não houve sinais de intolerância gastrointestinal nos dois grupos. Indicando que a osmolalidade de 391,45 mOsmol/kgH₂O do LHM e 431,00 mOsmol/kgH₂O do LHF, encontrada nas amostras de leite não provocou sobrecarga osmolar.

A média de todos os parâmetros bioquímicos avaliados esteve dentro da normalidade, tanto no início quanto no final do acompanhamento.

Apesar de o propósito da pesquisa ter sido estudar a tolerabilidade gástrica de uma população semelhante de 05 RN em cada grupo LHM e LHF, observou-se que o LHM apesar de menor teor calórico e protéico que o LHF, os RNs do grupo LHM tiveram maior ganho de perímetro cefálico.

O ganho em perímetro cefálico maior no grupo LHM não pode ser explicado pelo maior aporte de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, pois teoricamente tanto o LHM quanto o FM85[®] não acrescentam gordura ao LH. A qualidade melhor dos aminoácidos ofertados pelo LHM com provável suprimento maior de determinados aminoácidos em detrimentos de outros, pode estar implicada no melhor crescimento cerebral (WHARTON *et al.*, 2004).

Lönnerdal (1985), em seu artigo de revisão expõe bem as propriedades e os benefícios das proteínas encontradas no leite humano, entre elas destacam-se fatores de defesa, enzimas digestivas, proteínas ligadoras específicas e fatores de crescimento, e observa que o significado de muitas das funções destas proteínas ainda é obscuro. Sabemos que apesar da inativação de algumas destas funções em decorrência dos processos utilizados para o preparo do LHM, outras devem estar preservadas e podem ter contribuído para o melhor aproveitamento protéico e crescimento dos RNPT alimentados com o leite humano enriquecido com o suplemento homólogo, assim pesquisas devem explorar a qualidade protéica deste suplemento e as interações nutricionais destas proteínas com outros nutrientes para conhecê-lo melhor.

O acréscimo de maior quantidade protéica está relacionado à adição de maior quantidade do LHM, o que conseqüentemente elevará a osmolalidade e inviabilidade de seu uso, ou com o aumento do volume ofertado aos RNPT. O LHM proposto neste estudo pode vir a ser melhorado quanto ao seu conteúdo energético de maneira controlada, adicionando, por exemplo, um grama de gordura extraída do próprio leite humano no processo de desnate. Haverá, assim o acréscimo de calorias e de AGPICL que proporcionará um melhor crescimento e desenvolvimento em longo prazo (TINOKO *et al.*, 2009). Outra maneira seria aumentar o conteúdo calórico, acrescentando polímeros de glicose ao LHM, sem grande interferência na osmolalidade e com boa absorção (CURTIS *et al.*, 1986).

Tempo maior de observação, estudos do perfil de aminoácidos plasmático e do leite humano suplementado e estudos de balanço metabólico deverão ser realizados para avaliar o real aproveitamento dos nutrientes pelo RNMBP.

A superioridade do LH na alimentação de RNPT já esta bem documentada. Cockerill *et al.* (2006) em estudo retrospectivo dá suporte aos estudos de Lucas *et al.* (1992); Lucas *et al.* (1994); Lucas *et al.* (1996) pela observação de que o LH tem impacto modulatório no crescimento cerebral e desenvolvimento, mesmo quando não promove grande ganho de peso, reforçando o conceito de que o ótimo crescimento pós-natal de prematuros de muito baixo peso ainda não é conhecido. Contribui para esta afirmação os achados de que acelerar o ganho de peso de RNMBP pode levar a conseqüências futuras em relação à obesidade, resistência insulínica, problemas cardiovasculares e dislipidemia (SINGHAL , 2002; 2003; SOTO *et al.*, 2003).

Neste sentido, o LHM proposto por este estudo parece ser uma alternativa a viável para a alimentação do RNMBP.

7 Conclusão

O desenvolvimento de um composto lácteo a partir de leite humano de banco modificado, através do desnate, evaporação e retirada da lactose para ser utilizado na alimentação do recém-nascido pré-termo traz as seguintes conclusões:

- Há boa tolerabilidade gástrica quando ofertado o LHM e o LHF sem presença de distensão abdominal, obstipação, aumento do trânsito intestinal, estase gástrica e vômito.
- No LHM os teores de proteína, gordura, hidrato de carbono, osmolaridade, potássio e cobre atendem as necessidades do RNMBP. Os níveis de sódio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco encontram-se abaixo dos valores recomendados para suprir os requerimentos nutricionais dos RNMBP.
- No LHF os teores de proteína, hidratos de carbono, gordura, zinco, manganês, sódio, potássio atendem as necessidades do RNMBP. Já as de, osmolaridade, cálcio, fósforo, ferro e cobre, encontram-se abaixo dos valores recomendados para suprir os requerimentos nutricionais dos RNMBP.
- Os teores obtidos proteínas, lactose, osmolaridade sódio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco são maiores no LHF do que no LHM .

Referências bibliográficas

Agget PJ. Trace elements of micropremie. Clin Perinatol 2000; 27: 119 – 129.

Akre J.; Alimentação Infantil: bases fisiológicas. IBFAN/ Instituto de Saúde de São Paulo, 1994.

Al Dahhan J, Haycock GB, Chantler C, Stimmler L. Sodium homeostasis in term and preterm neonates. II. gastrointestinal aspects. Arch Dis Child 1983; 58: 343-345. b

Al Dahhan J, Haycock GB, Nichol B, Chantler C, Stimmler L. Sodium homeostase in term and preterm neonates. II. Effect of salt supplementation. Arch Dis Child 1984; 59: 945 – 50.

Alberman E, Evans SJW. A epidemiologia da prematuridade, etiologia, frequência e prognóstico. Anais Nestlé 1992; 44: 5 – 24.

Al-Dahhan J, Haycock GB, Chantler C, Stimmler L. Sodium homeostasis in term and preterm neonates. I. Renal aspects. Arch Dis Child. 1983;58:335-42 a

Al-Dahhan J, Jannoun L, Haycock GB. Effect of salt supplementation of newborn premature infants on neurodevelopment outcome at 10-13 years of age. Arch Dis Child Fetal Neonat 2002; 86: 120 – 123.

Allen LH. Calcium bioavailability and absorption: a review. Am J Clin Nutr. 1982; 35: 783-808.

Almeida JAG, Amamentação: um híbrido natureza-cultura. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 1999.

American Academy of Pediatrics. Committee on nutrition. Nutritional needs of low birth weight infants. Pediatrics; n. 75, p. 976-86, 1985.

Aprile M M. Crescimento de recém-nascido de muito baixo peso alimentados com leite de banco de leite humano selecionado segundo o valor calórico e proteicos.(Dissertação) USP,2006.

Arslanoglu S, Moro GE, Ziegler EE. Adjustable fortification of human milk fed to preterm infants: does it make a difference. J Perinatol. 2006; 26: 614-21.

Atkinson, Human Milk feeding of the micropremie. Clinics in Perinatology, v.27. n.1, march,2000.

Babson SG, Behrman RE, Lessel R. Liveborn birth weights for gestational age of White middle-class infants. Pediatrics 1970; 45: 937 – 944.

Babson SG, Bramhill JL. Diet and growth in the premature infant. J Pediatr.1969;74: 890.

Ballard JL, Khoury J C, Wedig K, Clinical assessment of gestacional age in the newborn infant. J. Pediatrics, n.119, p. 417,1997.

Barros M C de M. *in*: Enterocolite necrosante. *in*: Kopelman B I, *et al*, Diagnóstico e tratamento em neonatologia,São Paulo , Atheneu; 2004.

Baumgart S. Sodium Intake un very low birt weigth infantis: isomer always better? J Pediatr (Rio J). 2006;82:317-9.

Boehm G, Melichar V, Muller DM, Mikova M, Senger H, Beyreiss K. The application of redissolved human Milk liophilysate for nutrition of very low birth weight infants. Acta Paediatr Hung 1987; 28 (34): 267 – 272.

Bortolozo EAFQ, Tiboni EB, Cândido LMB. Leite humano processado em bancos de leite para o recémnascido de baixo peso: análise nutricional e proposta de um novo complemento. Rev Panam Salud Publica. 2004;16(3):199–205.

Braga LP, Palhares DB. Effect of evaporation and pasteurization in the biochemical and immunological composition of human milk. J Pediatr (Rio J). 2007;83(1):59-63.

Brandt I, Altigani M, Murphy JF, Newcomb RG, Gray OP. Catch up growth in preterm infants. *Acta Paediatr Scand* 1989; 357 (suppl): 3 – 19.

Brandt I. Growth dynamics of low-birth-weight infants. *Acta Paediatr Scand* 1985; 319 (suppl): 38 – 47

Camelo Jr. JS, Martinez FE, Dilemas nutricionais no pré-termo extremo e repercussões na infância, adolescência e vida adulta, *J pediatria (Rio J)*. 2005;81(1sup)S33-S42.

Chan GM;Lee M L;Effets of a human milk deived humam milk fortifier on the antibacterial actions of human milk; *Beastfeedig Medicine*, v.2.e,2007.

Cockerill J, Uthaya S, Doré CJ, Modi N. Accelerated postnatal head growth follows preterm birth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, 91:184-187,2006.

Committee on Nutrition of Preterm Infant: European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Nutrition and feeding Preterm Infants. *Acta Paediatr Scand* 1987; 338 (Suppl): 1 – 14.

Curtis MD, Candusso M, Pieltain C, Rigo J. Effect of fortification on the osmolality of human milk. *Arch Dis child fetal Neonatal* 1999; 81: 141 – 3.

Darcie S, et al,. A proteína na nutrição do recém-nascido de muito baixo peso. Parte I: metabolismo energético-proteico. *Pediatria(São Paulo)*2000,22(4):333-359.

Ehrenkranz RA, Youn N, Lemons JA, Fanaroff AA, Donovan EF, Wright LL, et al. Longitudinal growth of hospitalized very low birthweight infants. *Pediatrics* 1999; 104: (2) 280 – 9.

Ehrenkranz RA. Iron requirements of preterm infants. *Nutrition* 1994; 10: 77 – 78.

Farrag HM, Cowett RM. Glucose Homeostasis in the micropremie. *Clin Perinatol* 2000; 27 (1): 1 – 11.

Fenton TR. A new growth chart for preterm babies: Babson and Benda's chart updated with recent data and a new format. BMC Pediatrics 2003; 3: 13.

Figueiredo CSM, Palhares DB, Melnikov P, Moura AJCM, Santos SC. Zinc and Cooper Concentration in Human Preterm Milk. Biol trace Elemen Res. In press 2009.

Fletcher MA, (1999) Chapter 20. The extremely-low-birthweight infant. In: Neonatology: physical evaluation and classification, 4th ed. (Avery, G. B., Fletcher, M. A. & MacDonald, M. G., eds.). Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, PA. pp. 269-289.

Food and Agriculture Organization of the United Nation: Rome, FAO, 2003. Food energy – methods of analysis and conversion factors. Report of a technical workshop. FAO, Food and Nutrition Paper n 77.

Gaull GE, Rassin DK, Raihä NCR, Heimnonem K. Milk protein quantity and quality in low- birth-weight infants. III. Effects on sulfur amino acids in plasma and urine. J Pediatr. 1977; 90 (3): 348-355.

Georgieff MK. Metabolismo perinatal do ferro e suplementação de ferro no Recém-nascido pré-termo extremo. In: Pereira G, Leone CR, Navantino AF, Trindade OF. Nutrição do Recém-nascido pré-termo. Rio de Janeiro: Medbook; 2008 .p.127-140.

Giles E, Doyle LW. Zinc extremely low birth weight or very preterm infant. Neoreviews 2007; 8: 165 – 172. Disponível em: [HTTP://neoreviews.aapublications.org](http://neoreviews.aapublications.org).

Giuglinani ERJ, Lamounier JÁ, Aleitamento materno: uma contribuição científica para a pratica do profissional de saúde. J Pediatr (Rio J). 2004;80(5supl);S117-S118.

Gomes A, et al. Alimentação do recém-nascido: vitaminas e minerais. Sociedade Portuguesa de Pediatria, Coimbra.2004;117-125 a.

Gomes A, et al. Nutrição entérica do recém-nascido pré-termo. Sociedade Portuguesa de Pediatria, Coimbra.2004;109-112b.

Goulart A L;, Rozolen C D de A, *in*: Nutrição enteral do recém-nascido pré-termo. *in*: Kopelman B I, *et al*, Diagnóstico e tratamento em neonatologia, São Paulo , Ateneu; 2004.

Greer FR. Feeding the premature infant in the 20th century. J Nutr 2001; 131:426 – 430.

Gross SJ, David RJ, Baumann L, Tomarelli RM, Nutritional composition of milk produced by mothers delivering preterm. J Pediatr. 1980; 96:641-4.

Hamosh M. Bioactive factors in human milk. Pediatric Clin North Am 2001; 48:69-86.

Instituto Adolfo Lutz, Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo: IMESP, 1985

Klein CJ. Nutrient requirements for preterm infant formula: Mineral trace elements. J Nutr 2002; 132 (1): 395 – 577.

Kunz C. Lonnerdal B, Re-evaluation of the Whey protein/casein ratio of human milk. Acta Pediatr 1992;107-112.

Lawrence RA, Breastfeeding in the premature infant. J. Arab Neonatologi. 2005;2:43-49

Lonnerdal B, Keen CL, Hurley LS. Iron, copper, zinc, and manganese in milk. Ann. Rev. Nutr. 1981;1:149-74.

Lonnerdal B. Bioavailability of Copper. Am J Clin Nutr 1996, 63: 821 – 9.

Lönnerdal B. Biochemistry and physiological function of human milk proteins. Am J Clin Nutr [on line]. 1985 [acesso em 5 abr 2009]. Disponível em: <http://www.ajcn.org>.

Lubchenco LO, Hasman C, Boyd E. Pediatrics, 1996;37:403.

Lucas A, Cole TJ. Breast milk and neonatal necrotizing enterocolitis. Lancet 1990;336:1519-23.

Lucas A, Fewtrell MS, Morley R, Lucas PJ, Baker AB, Lister G, Bishop NJ. Randomized outcome trial of human milk fortification and developmental outcome in preterm infants. Am J Clin Nutr 1996; 64: 142 – 51.

Lucas A, Morley R, Cole TJ et al,1992: Breast Milk and subsequent Intelligence quotient in children Born preterm. Lancet 1992; 339: 261 – 264.

Maclean Jr WC, Fink BB. Lactose malabsorption by premature infants: Magnitude and clinical significance. J Pediatrics 1980; 97: 383 – 88.

McClure RJ, Newell SJ. Randomized controlled trial of trophic feeding and gut motility. Arch Dis Child, n.80, p. 54-58, 1999

Martinez FE, Camelo Jr. JS, Alimentação do recém-nascido pré-termo. Jornal Pediatria.v.77.sup.1,2001.

Martínez, F.E; Desai, Indrajit D; Dutra de Oliveira, José E. ;Alimentación de recién nacidos pretérmino en los países en desarrollo, Rev. Cuba. Pediatr;60(6):1010-24, nov.-dic. 1988.

Mataloun MMGB, Catache M, Leone CR. Mineralização óssea e oferta Mineral de Cálcio e Fósforo em Recém-Nascidos Prétermo extremo In: Pereira GR, Leone CR, Navantino AF,

May JT, Microbial contamination and antimicrobial properties of human Milk. Microbiol. Sci, 5:42-6,1988.

Mena N. Patricia, Milad A. Marcela. Variaciones en la composición nutricional de la leche materna. Algunos aspectos de importancia clínica. Rev. chil. pediatr. [revista en la Internet]. 1998 Jun [citado 2010 Ene 04] ; 69(3): 116-121.

Morano MA, et all. Composição mineral do leite materno de bancos de leite. Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4):819 -824, out-dez, 2005.

Morley R, Lucas A. A nutrition and cognitive development. Br Med Bull 1997; 53: 123 – 34.

Moro EG, Fulconis F, Minoli I, Pohlandt F, Raiha NCR. Growth and plasma aminoacid concentrations in very low birthweight infants fed either human milk fortified with human milk protein or a whey predominant formula. Acta Paediatr Scand. 1989; 78: 18-22.

Moura ACM. Determinação de Elementos traço no Leite Materno (Tese). Campo Grande (MS): Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2006.

Nascimento M B R, Issler H, Aleitamento materno em prematuros: manejo clinico hospitalar. J. Pediatr., 2004;80(5Supl.):S163-S172.

Nejar F F, Segall-correa A M, Ferreira M, et al, *Padrões de aleitamento materno e adequação energética, Cad. Saúde Publica, jan./fev. 2004, vol. 20,n. 1,p. 64-71.*

Nutricional needs of de pretem infant. Baltimore, Wiliams & Wilkins, 29-46, 1993.
Oliveira N.D, Myashi M.H. Avanços em Enterocolite Necrosante. J. Pediatr (Rio J). 2005; 81(1): 16-22.

Palhares DB, et all. Aminoácidos plasmáticos de recém nascidos pré-termo alimentados com leite humano de banco de leite ou fórmula do leite de vaca. Jornal de Pediatria, n. 66, p. 188-92, 1990.

Papageorgiou, A. & Bardin, C. L. (1999) Chapter 26. The extremely-low-birthweight infant. In: Neonatology: Pathophysiology and Management of the Newborn. 5th ed. (Avery, G. B., Fletcher, M. A. & MacDonald, M. G., eds.). Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, PA. pp. 445–472.

Pereira G. Avaliação nutricional no Recém-nascido Pré-termo. In: Pereira GR, Leone CR, Navantino AF, Trindade OF, editors. *Nutrição do Recém-nascido Pré-termo*. Rio de Janeiro: Medbook; 2008 .p. 241 – 61

Pereira GR, Barbosa NMM. Controversies in neonatal nutrition. *Pediatr Clin North Am* 1986; 33 (1): 65 – 89.

Quigley M, Henderson G, Anthony MY, McGuire W. Formula Milk versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants (Review). Disponível em: *The Cochrane Library* 2009. Issue 4. Art. No.: CD002971. DOI: 10.1002/14651858.CD002971.pub2.

Raihä NCR, Heinonen K, Rassin DK, Gaul GE. Milk protein quantity in low birthweight infants: I. Metabolic responses and effects on growth. *Pediatrics*.1976; 57: 659-674.

Riordan J.; The biologic specificity of breastmilk. In: Riordan J.; Auerbach KG - *Breastfeeding and human lactation*. 2.ed. Boston, Jones and Bartlett Publishers, 1998, p. 121-161.

Ruocco RM.A.; Colostro humano: contribuição ao estudo da sua composição leucocitária. São Paulo, 1992. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Santos MM, MartinezFE. Human milk concentrate for preterm infants. *Nutrition Research* 1996;16;769-72.

Santos SC, Figueiredo CM, Andrade SMO, Palhares DB. Plasma amino acids in preterm infants fed different human Milk bank. *Eur J Clin Nutr Met*. 2007; 2: 51-56.

Schanler RJ, Benefícios clínicos do leite humano para lactente pré-termo in *Nutrição do Recém-nascido de muito baixo peso*. Nestle Nutrition Workshop series no. 43 p20—22.1998,

Schanler RJ. Conveniência do leite humano para o neonato de baixo peso. Clin Perinatol 1: 209, 1995.

Silvana D, et al.,. A proteína na nutrição do recém-nascido de muito baixo peso. Parte I: metabolismo energético-proteico. Pediatría(São Paulo)2000;22(4):333-359

Singhal A, Farrooqi S, O’Rahilly S, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Early nutrition and leptin concentrations in later life. Am J clin nutr 2002; 75:993-9

Singhal A, fewtren M, cole TJ *et al.*, Low nutrient intake and early growth for later insulin resistance in adolescence born preterm. Lancet 2003; 361:1089-97.

Soto N, Bazares RA, Insulin sensitivity and secretion are related to catch-up growth in small for gestational age infants at age 1 year: results from a prospective cohort. J Clin Endocrinol Metab 2003, 88: 3645-50.

Thomaz ACP, Gonçalves AL, Martinez FE. Effects of human Milk homogenization on fat absorption in very low birthweight infants. Nutr Res 1999; 19 (4): 483 – 492.

Tinoko SMB, Sichieri R, Setta CL, Moura AS, Tavares do Carmo MG. n-3 polynsaturated fatty acids in Milk is associate to weight to weight gain and growth in premature infants. Lipids in Health and Disease, 2009, 8:23-31.

Trindade CEP. Microelements and vitamins in the nutrition of very low birthweight preterm infants: a Brazilian perspective. Neoreviews 2007; 8: 3 – 13. Disponível em: [Http://neoreviews.aapublications.org](http://neoreviews.aapublications.org)

Tsang RC, Lucas A, Uay R, Zlotkin S, Eds. Nutritional Needs of The Preterm Infants: Scientific Basis and Practical Guidelines. Baltimore, Willians &Wilkins;1993:296.

Wharton B A, Morley R, Isaacs E B, Cole T J, Lucas A. Low plasma taurine and later neurodevelopment. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2004;89:F497–F498.

Xanthou M. Immune protection of humam milk. Biol Neonate 1998,74:121-33.

Xavier CC, Anchieta LM, Ornelas SL. Crescimento do recém-nascido pré-termo. São Paulo; Nestlé; 2004. 24 p. (Temas de Pediatria, 77).

Young TE. Prolact+ H²MFTM Human Milk Fortifier. NEOFAX[®] Twenty-second ed: 2009. p. 321 – 7.

APÊNDICE

Termo de Consentimento Informado

Todos os recém-nascidos precisam do leite humano para poder crescer, os prematuros precisam de leite humano, de preferência o de sua mãe. Quando isso não é possível há necessidade de utilizarmos leite do banco de leite. Alguns trabalhos têm demonstrado que acrescentar a este leite, fortificantes, pode fazer as crianças ganharem peso mais rapidamente. Os prematuros também precisam fazer exames de sangue para saber como está a sua saúde.

Estaremos juntando todos estes resultados, sobre peso, comprimento, e de análise bioquímica para servir de estudo que venha melhorar ainda mais a assistência aos prematuros.

O responsável pode retirar o seu consentimento a qualquer momento, se assim desejar, sem alterações no tratamento que receberia normalmente pela equipe da neonatologia. Serão utilizados, com sigilo, apenas os dados do paciente e não seu nome garantindo a sua privacidade. Os médicos responsáveis pelo estudo, que estarão à disposição para qualquer esclarecimento, são:

Paula de Oliveira Serafin

Hospital Universitário

3345 – 3145

Professor, Dr. Durval Batista Palhares

Chefe da Neonatologia do Hospital Universitário

3345 – 3113

Termo

Eu, responsável pelo paciente _____, RG no HU de número _____, voluntariamente dou o meu consentimento para a sua participação no estudo **“Tolerabilidade gástrica de recém-nascidos pré-termo alimentados com leite humano modificado”**. **Conheço os objetivos e estou ciente de sua duração.**

Campo Grande- MS, _____, de _____ de _____

Assinatura: _____

ANEXO

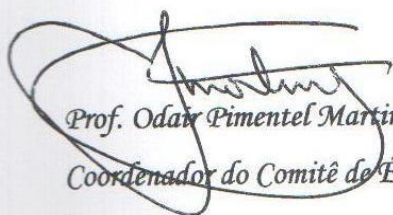
Anexo A - Aprovação Comitê de Ética



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS

*Carta de Aprovação*

A minha assinatura neste documento, atesta que o protocolo nº 820 da Pesquisadora Paula de Oliveira Serafim intitulado "Modificação do leite humano com aumento calórico, protéico e eletrolítico para alimentação do recém-nascido pré-termo", e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião Ordinária no dia 25 de setembro de 2006, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.



Prof. Odair Pimentel Martins

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 26 de setembro de 2006.

Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
<http://www.propp.ufms.br/bioetica/cep/>
bioetica@propp.ufms.br
fone 0XX67 345-7187