VIRGINIA SPINOLA QUINTAL

Avaliação da mineralização óssea em recém-nascidos pré-termo e termo adequados para a idade gestacional, alimentados com leite humano.

Tese apresentada a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Pediatria

Orientadora: Prof. Dra. Edna Maria de Albuquerque Diniz

SÃO PAULO

2009

Dedicatória

Dedico esta tese a meus pais Ruth e Aldo, pelo apoio, encorajamento, amor e pelos ensinamentos que formaram os alicerces de minha história.

Ao meu esposo Antonio, por todo seu amor, compreensão e pela companhia ao longo da trajetória que me levou à concretização deste sonho.

A Lais e Fernando, meus filhos, fontes de toda força e vontade que carrego comigo ao despertar de cada manhã.

Aos meus irmãos Adriana e José Carlos que sempre me apoiaram com carinho e incentivaram minha vida profissional.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Edna Maria de Albuquerque Diniz

Exemplo de mestre cuja bagagem e conhecimento contribuíram para a conclusão deste trabalho e, com sua sabedoria, valorizou e enriqueceu as idéias da aluna.

À Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira

Chefe do Laboratório de Investigação Médica (LIM-17) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela receptividade, apoio e orientação desta pesquisa, sempre com grande brilhantismo.

À Dra. Maria Teresa Zulini da Costa

Amiga, que com muita seriedade e dedicação foi quem iniciou a orientação desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Flávio Adolfo Costa Vaz

Pelo apoio e oportunidade na realização desta pesquisa.

À Sra. Valeria de Falco Caparbo

Pela execução dos exames de densitometria óssea que fazem parte desta pesquisa.

À Sra. Marlene de Freitas Madeira

Bioquímica do Serviço de Laboratório Clínico do Hospital Universitário pelo auxílio nos exames laboratoriais que fazem parte desta pesquisa.

Ao Sr. Rogério Ruscitto do Prado

Pela realização da análise estatística**.**

À Dra. Silvia Maria Ibidi e equipe neonatal do Hospital Universitário

Dra. Ana Maria A. G. P. Melo
Dra. Denise Gomes Miyazato
Dr. Euler João Kernbichler
Dr. Gabriel Alberto Brasil Ventura
Dra. Gisele Garcia Origo Okada
Dra. Juliana Bottino Navarro
Dra. Karen M. Koga Sakano
Dr. Marco Antonio Cianciarullo
Dra. Michele da S. J. Faleiros

Pelo coleguismo na colaboração para que esta pesquisa pudesse ser realizada.

Às equipes de enfermagem da Unidade Neonatal e do Alojamento Conjunto do Hospital Universitário

Que prestaram sua colaboração durante a realização desta pesquisa.

À Sra. Maria Alice de França Rangel Rebello

Diretora do Serviço de Biblioteca e Documentação Científica do Hospital Universitário, pela correção das referências.

À Sra. Maria Olívia Chaves Spinola

Pela revisão da língua portuguesa.

Às mães e pais

Que aceitaram participar deste estudo e estiveram presentes em todo o período necessário para a pesquisa

Aos recém-nascidos

Sem os quais este estudo não teria sido realizado.

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed.

São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus.*

Sumário

Lista de abreviaturas

Lista de símbolos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO 01

CONCEITO 02
CRESCIMENTO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEOS NO PERÍODO FETAL .. 02
METABOLISMO MINERAL NO PERÍODO NEONATAL 04
NUTRIÇÃO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEA 06
ALTERAÇÕES DA MINERALIZAÇÃO – Doença Metabólica Óssea 08
EXAMES DE IMAGEM – DENSITOMETRIA ÓSSEA 20
PROPOSTA DO ESTUDO – HIPÓTESE 29

2. OBJETIVOS 30

3. CASUÍSTICA 32

4. METODOLOGIA 35

5. RESULTADOS 48

6. DISCUSSÃO 64

7. CONCLUSÕES 83

8. ANEXOS 86

9. REFERÊNCIAS 108

Lista de Abreviaturas

AIG	Adequado para a idade gestacional
ANOVA	Análise de variância
DXA	Dual energy X-ray absorptiometry
BLH-HU	Banco de Leite Humano do Hospital Universitário
BMC	Conteúdo mineral ósseo
BMD	Densidade mineral óssea
Ca	Cálcio
Ca u	Cálcio urinário
Ca/Cr u	Relação cálcio e creatinina urinários
CE	Corticosteróides
Cr	Creatinina
CV	Coeficiente de variação
DBP	Displasia broncopulmonar
DMO	Doença metabólica óssea
ECN	Enterocolite necrosante

et al.	e outros
F	Feminino
FA	Fosfatase alcalina
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
gl num	Graus de liberdade numerador
gl den	Graus de liberdade denominador
HU-USP	Hospital Universitário da Universidade de São Paulo
IG	Idade gestacional
M	Masculino
MVS	Mínima variação significativa
p	Índice de probabilidade
P	Fósforo
PIG	Pequeno para a idade gestacional
PN	Peso de nascimento
PTH	Hormônio da paratireóide
P u	Fósforo urinário
RCUI	Restrição de crescimento intra-uterino
RMSSD	Raiz quadrada da média dos desvios padrões

RNMBP	Recém-nascido de muito baixo peso
RNPT	Recém-nascido pré-termo
RNT	Recém-nascido de termo
SD	Desvio padrão
VS	Versus

Lista de Símbolos

cm^2	centímetro quadrado
d	dia
dl	decilitro
kg	quilograma
L	litro
mg	miligrama
ml	mililitro
mmol	milimol
mrad	milirad
UI	unidade internacional
µSV	micro Sievert
<	menor que
>	maior que

RESUMO

Quintal VS. *Avaliação da mineralização óssea em recém-nascidos pré-termo e termo adequados para a idade gestacional, alimentados com leite humano* [tese]. São Paulo. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.

INTRODUÇÃO: A Doença Metabólica Óssea é uma patologia caracterizada por alterações da mineralização esquelética decorrente do acréscimo deficiente do conteúdo mineral ósseo do recém-nascido pré-termo (RNPT). A densitometria óssea tem sido o método de escolha para avaliar o conteúdo mineral ósseo, particularmente no RNPT alimentado ou não com leite humano. **OBJETIVOS:** 1. Comparar os resultados do conteúdo e densidade minerais ósseos obtidos do corpo inteiro através da densitometria óssea em RNPT adequados para a idade gestacional (AIG) com os valores obtidos em recém-nascidos de termo (RNT), alimentados com leite humano exclusivo; 2. Comparar os parâmetros bioquímicos ósseos sanguíneos (cálcio, fósforo e fosfatase alcalina) entre os RNPT e RNTAIG; 3. Analisar a excreção urinária de cálcio e fósforo no RNPTAIG, alimentado com leite humano exclusivo. **MÉTODOS**: Estudo coorte prospectivo realizado na Unidade Neonatal da Divisão de Clínica Pediátrica do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (USP). Durante o período de julho de 2006 a setembro de 2008 foram estudados 28 RN sendo 14 RNPT com idade gestacional inferior a 34 semanas e 14 RNT, em 3 momentos: 40 semanas de idade pós-concepcional corrigida, 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida, alimentados com leite humano exclusivo da própria mãe ou procedente do banco de leite. Foi realizada a densitometria óssea através da técnica de dupla emissão de fonte de Raio-X (DXA) em um aparelho da marca Hologic, modelo Discovery A, no laboratório de metabolismo ósseo da Faculdade de Medicina da USP, sendo avaliados: conteúdo mineral ósseo (BMC), densidade mineral óssea (BMD) e massa magra. Foram também realizados: cálcio, fósforo e fosfatase alcalina séricos nas idades de 40 semanas pós-concepcionais (RNPT e RNT) e com 6 meses de idade pós-natal corrigida (RNPT). Além disso, analisou-se a concentração de cálcio e fósforo na urina de 6 horas dos RNPT entre a 3ª e a 4ª semanas de vida. **RESULTADOS**: O BMC do RNPT foi inferior ao obtido no RNT na mesma idade de 40 semanas pós-concepcionais ($p<0,001$), o mesmo ocorreu com o BMD ($p<0,001$) e com a massa magra ($p=0,047$). Destacamos que houve uma importante aceleração para que os pré-termos atingissem os valores normais encontrados nos recém-nascidos de termo aos 6 meses de idade corrigida, ie, BMC (137,14±22,46 vs. 152,86±20,92 g, $p=0,054$), BMD (0,22±0,02 vs. 0,23±0,02 g/cm^2, $p=0,618$) e massa magra (5.750,13±765,11 vs. 5.745,88±726,52g, $p=1,00$) que foram comparáveis nos dois grupos. Os

parâmetros bioquímicos séricos foram semelhantes entre os RNPT e os RNT. Entre os RNPT, três (21,4%) apresentaram exames urinários sugestivos de Síndrome da Deficiência de Fósforo sendo indicado o uso da solução oral de cálcio e fósforo. **CONCLUSÕES**: A avaliação da mineralização óssea através da DXA do corpo inteiro pode ser utilizada em RNPT constituindo exame de excelência, com precisão elevada e exposição baixa à radiação para detecção de alterações ósseas quando há risco de Doença Metabólica Óssea. Neste estudo, a alimentação com leite humano seja da própria mãe ou do banco de leite pode proporcionar um crescimento ósseo adequado, no RNPT, semelhante ao do RNT nos primeiros 6 meses de vida. Os parâmetros bioquímicos urinários (cálcio e fósforo) foram de utilidade para detecção precoce de hipofosfatúria e risco de deficiência mineral nos RNPT, entretanto requerem coleta de urina de 6 horas, tornando difícil a investigação após a alta hospitalar. Mesmo os RNPT, com exames urinários normais, apresentaram na densitometria óssea um BMC inferior aos valores encontrados nos RNT mostrando que a DXA se constitui em um método sensível e que poderá ser utilizada para o seguimento destes RNPT.

Descritores: 1.Densidade óssea, 2.Densitometria, 3.Prematuro, 4.Recém-nascido pré-termo, 5. Leite humano.

SUMMARY

Quintal VS. *Evaluation of bone mineralization in breastfed preterm and full-term newborns* [thesis]. Sao Paulo. University of Sao Paulo Medical School; 2009.

BACKGROUND: Metabolic Bone Disease is a pathology characterized by skeletal mineralization changes resulting from insufficient increase of the bone mineral content in preterm newborns (PTNB). Bone densitometry has been the method of choice to evaluate the bone mineral content, particularly in the PTNB that is or is not fed with human milk. **OBJECTIVES:** 1. To compare the bone mineral content and density results obtained from the whole body using bone densitometry in appropriate-for-gestational-age (AGA) PTNB with the values obtained from full-term newborns (FTNB), exclusively fed with human milk; 2. To compare blood bone biochemical parameters (calcium, phosphorus, and alkaline phosphatase) obtained from PTNB and AGA FTNB; 3. To analyze calcium and phosphorus urinary excretion in AGA PTNB exclusively fed with human milk. **METHODS**: Prospective cohort study conducted at the University of Sao Paulo (USP) University Hospital Pediatric Clinic Neonatal Unit. From July 2006 to September 2008, 28 NB were studied, with 14 of them being PTNB of gestational age inferior to 34 weeks and 14 being FTNB, in 3 timepoints: 40 weeks of corrected post-conception age, and 3 and 6 months of corrected postnatal age, exclusively fed with human milk from their own mothers or from a human milk bank. Bone densitometry was performed by using the dual-energy X-ray absorption (DXA) technique in a Hologic device, Discovery A model, at USP Medical School bone metabolism laboratory, and the following were evaluated: bone mineral content (BMC), bone mineral density (BMD), and lean mass. Also, the following were performed: serum calcium, phosphorus, and alkaline phosphatase at 40 weeks post-conception (PTNB and FTNB) and 6 months of corrected postnatal age (PTNB). In addition, calcium and phosphorus concentrations in PTNB's 6-hour urine were analyzed at 3 and 4 weeks of life. **RESULTS**: The BMC of preterm newborn was lower than in fullterm at the same 40 weeks' postconceptional age ($p<0.001$), the same occurred with the BMD ($p<0.001$) and the lean mass ($p=0.047$). Interestingly, there was an important acceleration to achieve the normal values seen in fullterm at six months age, ie, BMC (137.14±22.46 vs. 152.86±20.92 g, $p=0.054$), BMD (0.22±0.02 vs. 0.23±0.02 g/cm^2, $p=0.618$) and lean mass (5,750.13±765.11 vs. 5,745.88±726.52g, $p=1.00$) were comparable in both groups. PTNB and FTNB's serum biochemical parameters were similar. Among PTNBs, three (21.4%) had urinary exams suggesting Phosphorus Deficiency Syndrome, with the use of oral calcium and phosphorus solution being indicated. **CONCLUSIONS**: The bone

mineralization evaluation using whole-body DXA may be used in PTNBs, being an optimal exam of high precision and low radiation exposure to detect bone changes when there is a risk for MBD. In this study, being fed with human milk, either from the own mothers or from a human milk bank is able to provide appropriate bone growth in PTNBs, similar to that seen in FTNBs in the first 6 months of life. Urinary biochemical parameters (calcium and phosphorus) were useful for the early detection of hypophosphaturia and mineral deficiency risk in PTNBs; however, the collection of 6-hour urine is required, as the investigation becomes difficult after hospital discharge. Even PTNBs with normal urinary exams showed, upon bone densitometry, a BMC inferior to the values found in FTNBs, which supports that DXA presents a sensitive method that can be used to follow up these PTNBs.

Key words: 1. Bone density, 2. Densitometry, 3. Premature infant, 4. Preterm newborn, 5. Human milk.

1 INTRODUÇÃO

CONCEITO

A Doença Metabólica Óssea (DMO) é uma patologia caracterizada por alterações de mineralização esquelética decorrente do deficiente acréscimo do conteúdo mineral ósseo do recém-nascido pré-termo (RNPT). A DMO está relacionada ao aporte inadequado de cálcio e fósforo na vida extra-uterina sendo inversamente proporcional ao peso de nascimento e à idade gestacional.

CRESCIMENTO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEOS NO PERÍODO FETAL

A homeostase metabólica do cálcio e do fósforo e a mineralização do esqueleto são funções complexas que dependem de uma adequada oferta nutricional, do desenvolvimento do processo de absorção intestinal e de vários hormônios como o da paratireóide (PTH), da vitamina D e da calcitonina (Rigo et al., 2000). A formação óssea requer proteína e energia para a síntese da matriz de colágeno e um aporte adequado de cálcio e fósforo para o processo de mineralização.

O último trimestre de gestação é caracterizado por um crescimento fetal acelerado, com rápida mineralização à custa de transporte ativo, por via transplacentária, de vários elementos entre eles o cálcio (Ca) e o fósforo (P). Esta passagem ativa de Ca em ação conjunta com o PTH mantém o feto em

estado de hipercalcemia. A vitamina D e seus compostos ativos atuam na manutenção dos níveis séricos de Ca, estimulando sua absorção intestinal, promovendo a mobilização óssea e aumentando a reabsorção renal de Ca em ação conjunta com o PTH. O PTH aumenta a atividade e o número de osteoclastos, intensifica a reabsorção tubular de Ca, diminui a reabsorção de P e aumenta a atividade da 25(OH)D-1α hidroxilase, levando à produção da 1,25$(OH)_2$D, elevando desta forma a calcemia. A calcitonina tem seu papel mais importante na mineralização intra-uterina, inibindo a ação absortiva de osteoclastos induzida pelo PTH, diminuindo a mobilização óssea de Ca e P (Figura 1).

A associação da ação dos fatores hormonais PTH, calcitonina e a vitamina D levam ao aumento da formação óssea e a diminuição da sua reabsorção com rápido ganho de conteúdo mineral ósseo. Na idade gestacional entre 34 e 36 semanas ocorre um pico máximo da incorporação de cálcio em torno de 100-120 mg/Kg/dia e de fósforo de 60-75 mg/Kg/dia (Lapillonne et al., 1994). Ao nascimento, o conteúdo corpóreo total de cálcio e de fósforo no recém-nascido (RN) de termo é de aproximadamente 30 g e 16 g respectivamente (Rigo e Senterre, 2006). Assim, as crianças nascidas antes do termo, perdem uma parte ou todo o período de crescimento e mineralização óssea rápidos necessitando receber uma nutrição adequada que lhes assegure aporte suficiente destes elementos, a fim de manterem suas taxas de crescimento e mineralização óssea.

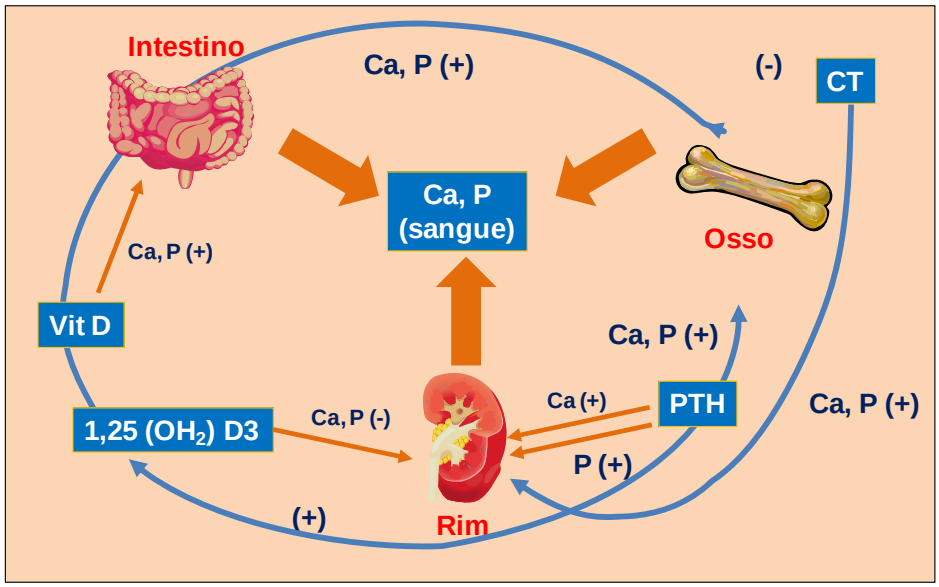


Figura 1 – Homeostase metabólica do Ca e do P (Modificado de Bikle, 1993).

www.pediatriasaopaulo.usp.br

Vários estudos têm descrito um conteúdo mineral ósseo significativamente menor no RNPT em relação ao RN de termo (Horsman et al., 1989; Pittard et al., 1990; Ávila-Diaz et al., 2001). O conteúdo mineral ósseo em prematuros com idade gestacional inferior a 32 semanas pode chegar a ser 50% inferior ao do termo (Rigo et al., 1998; Faerk et al., 2000).

Acredita-se ainda que a atividade física também desempenhe papel importante na formação óssea, a movimentação fetal do terceiro trimestre parece estimular o crescimento ósseo (Miler, 2003).

METABOLISMO MINERAL NO PERÍODO NEONATAL

Após o nascimento, o cálcio é absorvido no intestino delgado por processo ativo e passivo com redução de sua biodisponibilidade. Vários fatores interferem em sua absorção: a vitamina D é essencial no processo

ativo, a solubilidade dos sais de cálcio, a qualidade e a quantidade da gordura ingerida (Rigo e Senterre, 2006). A absorção de Ca em RNPT alimentado com leite humano chega a ser de 60 a 70%, enquanto que a sua retenção está relacionada ao aporte de P. Quando o leite humano é suplementado apenas com fósforo, a calciúria se torna normal e a retenção de Ca chega a ser de 35 mg/kg/d. Quando Ca e P são oferecidos juntos, a retenção de Ca é de 60 mg/kg/d e se o suplemento contiver o glicerofostato de Ca a retenção passa a ser de 90 mg/kg/d (Rigo et al., 2000). Em crianças alimentadas com fórmulas infantis a absorção de Ca é da ordem de 35 a 60% da ingesta (Rigo e Senterre, 2006).

Em nível renal, o Ca é reabsorvido principalmente no túbulo proximal (50%), sendo excretado apenas 1-2% do Ca filtrado. Pode sofrer influência de medicamentos diuréticos como a furosemida que aumenta a sua excreção e os tiazídicos que reduzem a calciúria (Demarini, 2005).

O P é absorvido principalmente no jejuno, sua absorção depende da quantidade de P da dieta e da concentração relativa de Ca e P, sendo considerada ideal entre 1,7:1 e 2:1. Depende da ação da 1,25 vitamina D e é elevada chegando a 80 a 90% do P ingerido, independentemente do tipo de leite utilizado, exceto no leite de soja. Sua regulação é feita no rim podendo ocorrer grande reabsorção tubular da ordem de 90%. No período neonatal os níveis urinários de P são muito baixos podendo chegar a ser indetectáveis.

No RN, devido à importância da dieta como fonte de Ca e P, devemos levar em consideração estes dados na programação da oferta nutricional de RN de risco para DMO.

NUTRIÇÃO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEA

De acordo com o Comitê da Academia Americana de Pediatria (AAP), a meta do suporte nutricional do RNPT é garantir um crescimento semelhante aquele observado na vida intra-uterina normal (Schanler, 2001). Neste aspecto Lucas et al. consideram que o verdadeiro objetivo seria aquele padrão que mais rapidamente ofereça condições de melhor adaptação da criança ao meio exterior (Lucas et al., 1989). Recentemente foi sugerido, pela “Life Sciences Research Office”, que as fórmulas utilizadas para prematuros tenham um conteúdo de cálcio de 123 a 185 mg/100 kcal e de fósforo de 82 a 109 mg/100 kcal (Klein, 2002).

É fato conhecido que o leite humano é o alimento ideal para a alimentação do recém-nascido, particularmente para o RNPT cujo leite da mãe é o mais indicado para sua nutrição (Vinagre e Diniz, 2001).

A utilização do leite humano como fonte nutricional para recém-nascidos de muito baixo peso requer considerações especiais no que diz respeito ao conteúdo mineral. O cálcio do leite humano tem uma melhor biodisponibilidade em relação ao cálcio das fórmulas, pois o ácido graxo mais comum é o ácido palmítico e está na posição *sn*-2, o que permite uma melhor absorção do cálcio em nível intestinal (Faerk et al., 2000).

As recomendações da AAP sugerem suplementação rotineira de cálcio e fósforo para o recém-nascido de muito baixo peso (RNMBP) que recebe leite humano, pois os teores destes elementos no leite seriam insuficientes para uma mineralização óssea adequada, podendo comprometer também o ganho ponderal (American Academy of Pediatrics, 1985). Considera-se que a incorporação de Ca, quando utilizamos suplementação do leite humano com compostos altamente solúveis, chegue a 90mg/Kg/d muito próximos dos 100 a 120 mg/Kg/d obtidos no último trimestre da gestação (Rigo e Senterre, 2006). Por outro lado, quando o RNPT atinge um volume de ingesta de 180 a 200 ml/kg/d, com o leite humano, torna-se desnecessária a suplementação do mesmo (Faerk et al., 2000).

Sempre que possível, deve-se preferencialmente oferecer o leite da própria mãe do prematuro e, quando este não for suficiente, leite humano de banco, pasteurizado, ficando as fórmulas como uma última opção. Para os RNMBP o leite humano pode ser adicionado de suplementos, os quais têm sido utilizados em vários países e estão disponíveis no Brasil. A composição do leite materno com suplemento está descrita no anexo C. Foi verificado que o uso de suplemento é capaz de complementar as deficiências de minerais do leite humano na alimentação do RNMBP, proporcionando uma melhora do crescimento e da mineralização óssea em curto prazo (Alkalay et al., 2003).

A suplementação de vitamina D é essencial particularmente no recém-nascido uma vez que ela está presente no leite humano em

quantidades insuficientes (McIntosh et al., 1982). Para obtenção de níveis séricos adequados de 25(OH)D e 1,25 $(OH)_2D$, uma oferta diária de 400 UI/dia são suficientes como suplemento para qualquer idade gestacional (Cooke et al., 1990; Backström et al., 1999). Em 1999, Backtröm et al. compararam duas doses diferentes de vitamina D (400 UI/dia e 960 UI/dia) administradas a RNPT com idade gestacional inferior a 33 semanas e não observaram diferença significativa ao avaliarem os níveis séricos dos metabólitos da vitamina D e os valores de conteúdo e densidade minerais ósseos, em várias idades até 6 meses de idade corrigida.

ALTERAÇÕES DA MINERALIZAÇÃO – DOENÇA METABÓLICA ÓSSEA

A DMO pode se apresentar como osteopenia em grande parte dos RN de risco, particularmente naqueles com idade gestacional inferior a 32 semanas. Formas graves foram descritas em 20-32% dos RN de muito baixo peso (peso de nascimento <1500g) e de 50-60% naqueles nascidos com menos de 1000g (Greer, 1994). A ocorrência de fraturas foi descrita em cerca de 24% dos casos, quando não se utilizavam fórmulas ou suplementos com elevado conteúdo mineral (Catache e Leone, 2001), e mais recentemente, segundo Demarini (2005), a ocorrência de suspeita clínica de fraturas é de 16%.

FISIOPATOLOGIA

O fator principal para o desenvolvimento da DMO é a presença de estoques baixos de minerais em RNPT ao nascimento (Rigo et al., 1998). Além disso, a presença de fatores de risco relacionados a esta patologia como: muito baixo peso ao nascer, restrição de crescimento intra-uterino, uso prolongado de nutrição parenteral, uso de diuréticos e corticosteróides, displasia broncopulmonar, retardo na introdução da alimentação, baixa oferta mineral na dieta e longos períodos de imobilização levam à diminuição da oferta de minerais para uma adequada mineralização óssea (Faerk et al., 2000; Catache e Leone, 2001; Harrison et al., 2008).

Deste modo, o RNPT desenvolve a síndrome de deficiência de fósforo. Nesta síndrome a diminuição do mineral P estimula o aumento da produção de 1,25$(OH)_2$D, resultando em aumento da absorção intestinal de Ca e de P. Além disso, existe uma inibição da liberação de PTH que leva à diminuição das perdas renais de P, bem como a um aumento das perdas renais de Ca, levando à hipercalciúria. Esta inibição da liberação de PTH teria um efeito protetor na mobilização óssea. No entanto, o efeito da 1,25 vitamina D continua presente, estimulando a mobilização de Ca e de P pela ativação dos osteoclastos.

A oferta deficiente de mineral continuada leva a uma mobilização cada vez maior de Ca e de P, com conseqüente intensificação da perda óssea. Nesta situação, apesar de existir também uma deficiência de Ca pela baixa oferta nutricional, observa-se uma perda renal importante deste íon,

pela ausência de deposição óssea decorrente da relação Ca:P inadequada, conforme podemos observar na figura 2.

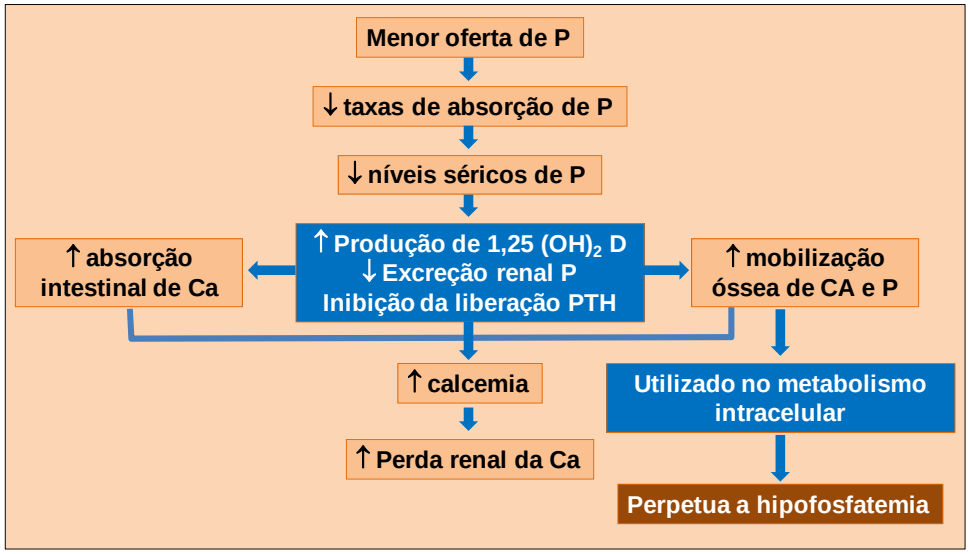


Figura 2 - Fisiopatologia da deficiência de cálcio e fósforo no pré-termo (modificado de Rowe et al., 1987)

Os estudos de Cooke et al. (1990) mostraram que os níveis séricos de 25OH vitamina D e 1,25$(OH)_2$ D encontram-se normais quando se administra suplemento de 400UI/dia de vitamina D, reforçando a hipótese de que a deficiência dessa vitamina pós-natal não seja fator determinante da DMO.

A partir de 24 semanas de idade gestacional, o ganho de peso fetal é de aproximadamente 30 g/dia. A placenta apresenta função importante, pois é responsável pela conversão da vitamina D em 1,25 $(OH)_2$D que contribui para o transporte de P e de Ca ao feto. O comprometimento crônico placentário nos casos de restrição de crescimento intra-uterino altera o transporte de P e de Ca e leva a uma maior ocorrência de DMO. O estudo de Beltrand et al. (2008) mostrou que o conteúdo mineral ósseo do RN pode

ser influenciado pelo crescimento fetal. A restrição de crescimento intra-uterino (RCIU) foi um determinante importante na redução dos valores do conteúdo mineral ósseo em relação aos valores obtidos em RN normais. Neste estudo a RCIU foi definida como uma falha em alcançar o potencial genético de crescimento.

Estudos que avaliam o acréscimo mineral ósseo no RNPT mostram que existe uma rápida incorporação mineral entre 40 e 60 semanas de idade pós-concepção. Os resultados obtidos por Congdon et al. (1990) confirmam que neste período de rápida deposição mineral o ritmo de acréscimo chega a ser 5 vezes maior no RNPT em relação ao RN de termo. Os autores também observaram que nos RNPT houve uma ingesta mineral maior comparada à do termo sugerindo que este maior aporte mineral deva ser o responsável por uma maior incorporação óssea.

Estudos longitudinais mostram que RNMBP que recebem nutrição parenteral prolongada ou que apresentam Displasia Broncopulmonar apresentam um risco aumentado de DMO. A oferta inadequada de Ca e P presente nas soluções parenterais e a restrição de fluidos necessária nos pacientes broncodisplásicos levam a um atraso na mineralização óssea (Pittard et al., 1990; Harrison et al., 2008).

Condições neonatais tais como sepse, doenças neurológicas, doenças musculares e asfixia grave podem levar a um longo período de imobilização. Até mesmo no RNPT, que não apresenta tais intercorrências, é comum adotar-se medidas como a posição no “ninho” e a redução dos estímulos sensoriais e físicos na prática clínica diária. A menor atividade

física extra-uterina, assim como a menor movimentação fetal descrita por Miller em 2003, podem ser fatores importantes na gênese da DMO. Existem estudos publicados sobre o efeito benéfico da fisioterapia motora na diminuição dos efeitos da imobilização do RNPT (Moyer et al., 2000; Litmanovitz et al., 2003). De acordo com Moyer et al. (2000), exercícios físicos diários durante um período de 4 semanas produziram uma melhora significativa no conteúdo e na densidade minerais ósseos medidos através da desitomentria óssea.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da DMO se baseia na associação de fatores de risco, quadro clínico, alterações bioquímicas e alterações da mineralização esquelética observadas em RNMBP.

QUADRO CLÍNICO

A DMO não tem apresentação clínica característica, suas manifestações surgem entre a sexta e a décima segunda semana de vida. Os sintomas clínicos são raros em decorrência do uso rotineiro de soluções parenterais balanceadas, suplemento do leite humano e fórmulas especiais para prematuros. Pode-se observar desde uma parada no crescimento longitudinal com manutenção do perímetro cefálico até o raquitismo na sua forma mais grave, com alterações radiológicas e fraturas espontâneas. Fraturas, que são o maior sintoma, foram descritas em 24% dos RNMBP na

década de 80, porém mais recentemente esta incidência caiu para 10% (Dabezies e Warren, 1997; Rigo e De Curtis, 2006). Em estudo de revisão realizado por Dabezies e Warren (1997) com acompanhamento de 247 RNMBP, em 96 (39%) foi diagnosticado raquitismo com idade média de 50 dias. Além disso, foram observadas fraturas em 26 RNPT (10,5%) com idade média de 75 dias.

Frequentemente a DMO se manifesta por volta dos 2 meses de idade e nesta ocasião as alterações de mineralização já podem ser vistas através da densitometria óssea. O raio-X de ossos longos não representa uma avaliação precisa da mineralização óssea, as fraturas muitas vezes são difíceis de serem visualizadas. Além disso, as alterações radiológicas são detectadas tardiamente, quando a perda ossea é superior a 40%, por esta razão ele está indicado quando não se dispõe da densitometria sendo realizado com 6 a 8 semanas de idade pós-natal (Salle e Glorieux, 1993; Faerk et al., 2002).

Os RN portadores da DMO podem apresentar desconforto respiratório tardio pela falta de sustentação da caixa torácica e pelo desenvolvimento de atelectasias, desta forma agravando quadros de displasia broncopulmonar, patologia frequente nestes pacientes (Catache, 2008). Portanto torna-se necessária a prevenção da DMO através da detecção precoce e intervenções terapêuticas adequadas.

DIAGNÓSTICO DA DEFICIÊNCIA MINERAL

DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS URINÁRIAS

Cálcio e Fósforo

Nos RN com deficiência mineral, observa-se hipofosfatúria importante, decorrente do aumento da reabsorção tubular de P até valores próximos de 100%. Enquanto a excreção esperada seria de aproximadamente 2,0 - 2,3 mmol/L para o RNPT os valores encontrados chegam próximos a zero. A deficiência de P é definida pela presença de hipofosfatúria (< 1mg/Kg/dia) entre a 3ª e a 5ª semana de vida (Catache e Leone, 2001). A reabsorção renal de P tem sido considerada por alguns autores como o melhor índice para se obter uma suplementação adequada de fósforo ao RN. Valores de reabsorção tubular superiores a 95% indicam uma suplementação inadequada (Harrison et al., 2008).

Além disso, observa-se uma fração de excreção de Ca elevada na deficiência de P, sendo maior do que 4mg/Kg/dia. A hipercalciúria paradoxal observada nos RNPT com risco de DMO indica que, apesar da deficiência do mineral, ela é inferior à deficiência do P e apenas uma parte do Ca é assimilada com formação da hidroxiapatita do osso e o restante é excretado. À medida que melhora a oferta mineral, particularmente a do P, vai aumentado a fosfatúria e diminuindo a calciúria, refletindo um aumento da incorporação óssea. O objetivo da suplementação mineral é o de atingir o

suficiente para uma excreção urinária de pelo menos 1 a 2 mmol/L de ambos os íons (Pohland, 1994).

As alterações bioquímicas urinárias antecedem o aparecimento das alterações de densitometria óssea e radiológicas como também das alterações nos níveis séricos de Ca, P e fosfatase alcalina, sendo constatadas em torno da terceira semana de vida (Catache e Leone, 2001). A suplementação de Ca e de P deve ser individual e criteriosa para evitar o risco de nefrocalcinose devido à superdosagem, e a forma mais fácil de monitorização dessa suplementação é a análise da excreção urinária (Pohland, 1994).

Preconiza-se a monitorização dos valores de calciúria e fosfatúria, em coletas de urina de 6 horas. A coleta por período de 6 horas é mais fácil e reduz o erro induzido pelas perdas urinárias. Essa coleta tem como objetivo adequar a oferta mineral nas situações em que a excreção urinária de P esteja reduzida (<1 mg/Kg/dia), isolada ou associada a uma elevação da excreção de Ca (>4mg/Kg/dia) (Catache e Leone, 2003).

Relação Ca/creatinina

Nas crianças assim como nos adultos quase todo o Ca filtrado é reabsorvido em nível renal, fato que não ocorre nos RN, principalmente nos RNPT. A relação Ca/creatinina média é de 0,22 nos primeiros seis meses de vida, resultados superiores a 0,6 ocorrem na DMO pelo aumento na excreção de Ca (Senterre e Salle, 1988; Demarini, 2005).

Senterre e Salle, em 1988, publicaram sua experiência baseada em estudos de balanço metabólico realizado em 200 RNPT. A baixa ingesta de fósforo nestas crianças levou à síndrome da depleção de fosfato caracterizada por uma diminuição das concentrações séricas de fósforo, uma relação urinária de Ca e P superior a 1 (mg/mg) ou uma relação urinária de Ca e creatinina superior a 0,6 (mg/mg).

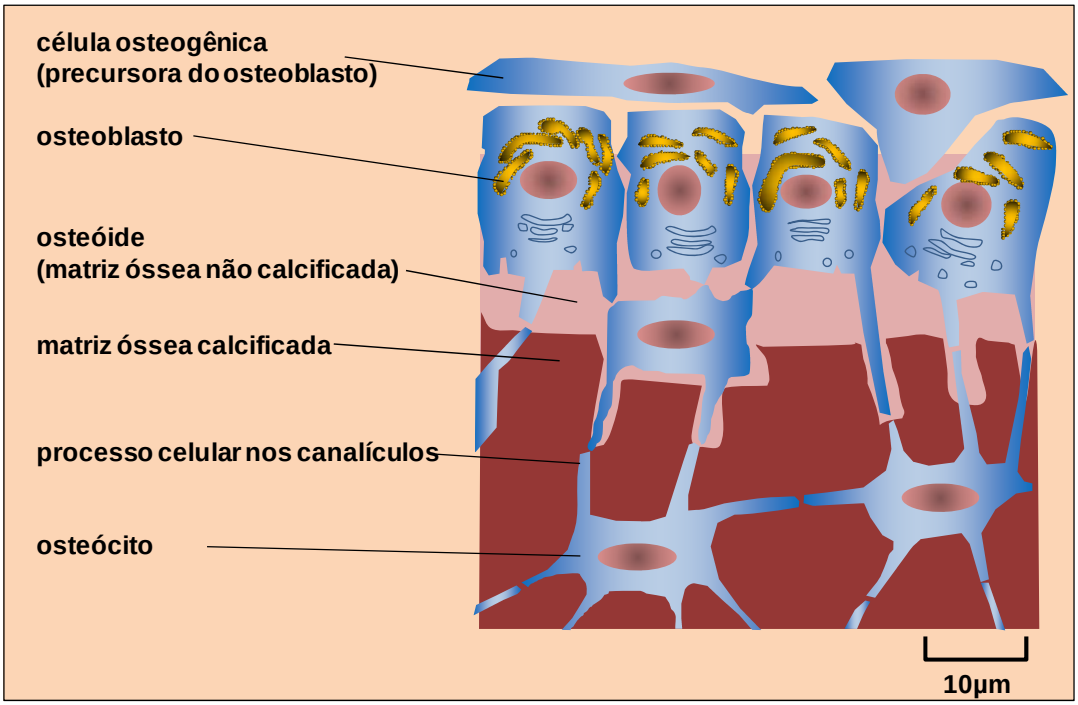
DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS SÉRICAS

Fosfatase alcalina

O tecido ósseo está em constante remodelação através de um processo de reabsorção por osteoclastos e formação por osteoblastos. A fosfotase alcalina é uma enzima glicoprotéica produzida por vários tipos de tecidos, mas 90% de sua origem é óssea e reflete o “turnover” ósseo. Os seus níveis se elevam em todos os RN nas primeiras duas a três semanas de vida e se mantém elevados se a oferta mineral for insuficiente (Harrison et al., 2008).

Kovar et al. (1982) introduziram o uso da fosfatase alcalina para “screening” da DMO em 1982. Os autores sugeriram que uma atividade acima de cinco vezes o valor máximo de referência para o adulto, ou seja, acima de 1200UI/L, seria indicativo de risco de DMO. Entretanto o valor da fosfatase alcalina como um marcador da mineralização óssea ainda é controverso na literatura.

A mineralização óssea é o resultado da formação de vesículas extracelulares por brotamento da membrana plasmática dos condrócitos e osteoblatos na matriz óssea. Na primeira fase (fase 1 ou nucleação), o Ca difunde passivamente para o interior das vesículas onde permanece ligado aos lipídeos da membrana e às proteínas do interior das vesículas da matriz. Paralelamente, a fosfatase alcalina fornece o fosfato através da sua ação sobre o substrato fisiológico. O aumento do produto Ca versus P no interior das vesículas provoca a precipitação do fosfato de Ca e, em conseqüência, ocorre um colapso da matriz. Finalmente, o mineral rompe a membrana da vesícula e extravasa para o meio extracelular, provocando o crescimento dos cristais de hidroxiapatita (fase 2). A vesícula ao se romper libera a fosfatase alcalina. Portanto a fosfatase alcalina é apenas um indicador do processo ativo de cristalização (Figura 3 e 4).

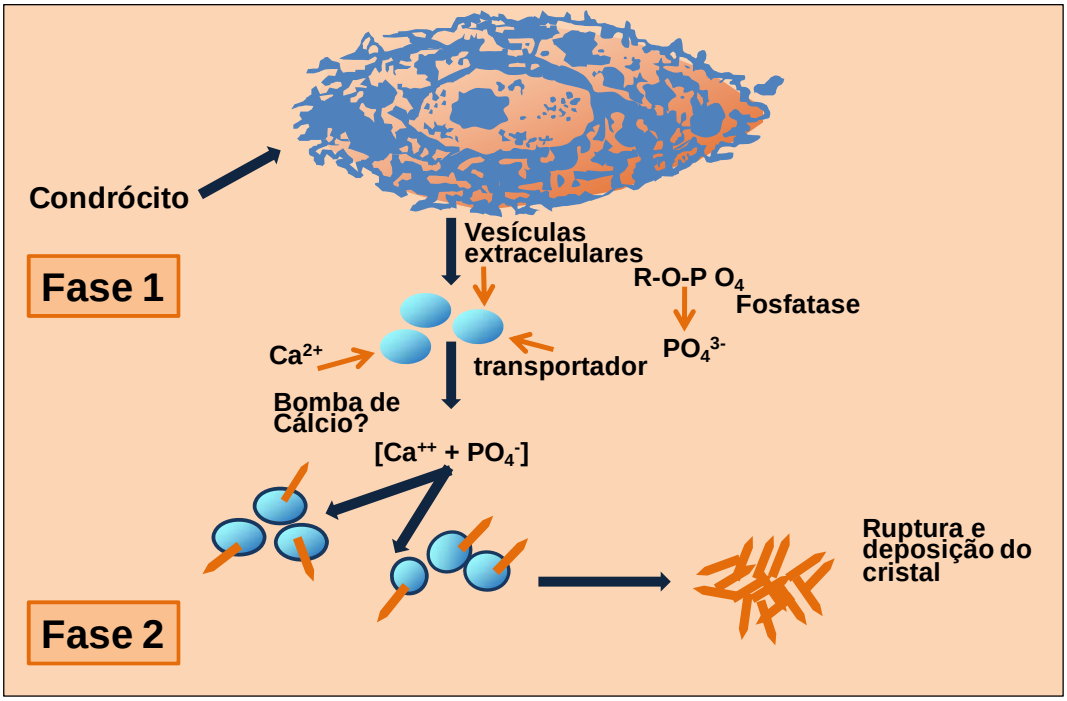


FONTE: Alves JANR et al., 2005.

Figura 3 – Remodelação do tecido ósseo.

Um aumento na fosfatase alcalina torna possível maior entrada de P nas vesículas desde que este íon esteja disponível. Esta situação é vista quando há aporte de Ca para a cristalização. Níveis normais ou diminuídos da enzima podem indicar que está ocorrendo um processo de cristalização em ritmo normal, ou que a quantidade de Ca nas vesículas é equivalente a do P. Níveis elevados da enzima, segundo alguns autores, podem indicar um aumento no acréscimo na mineralização óssea e pode ser um marcador da mineralização óssea (Crofton et al., 1999).

Outro aspecto descrito por alguns autores é a grande variabilidade dos níveis de fosfatase alcalina observada nos pacientes (Demarini, 2005).



FONTE: Pizauro Junior JM et al., 2002

Figura 4 – Biogênese das vesículas da matriz óssea.

Faerk et al. (2002) avaliaram a correlação entre os níveis de fosfatase alcalina e de P e o conteúdo mineral ósseo obtido através de densitometria óssea e concluíram que não há associação entre valores elevados de fosfatase alcalina (>1200UI/L) ou diminuídos de P com o conteúdo mineral ósseo em RNPT quando atingiram o termo.

Apesar da controvérsia existente na literatura, a fosfatase alcalina é de determinação fácil e prática tendo sido utilizada como “screening” para DMO (Harrison et al., 2008). Seus valores têm sido úteis quando elevados, ou seja, acima de cinco vezes o valor normal para o adulto e estiverem associados com níveis séricos de P diminuídos e/ou com hipofosfatúria, indicando a necessidade de investigação da presença da DMO.

Cálcio

As determinações séricas de Ca não são consideradas úteis para o “screening” da DMO, pois apesar da perda óssea, elas se mantêm em níveis normais. Os níveis de Ca podem até se elevar com a depleção do P e a ocorrência de hipofosfatemia (Harrison et al., 2008).

Fósforo

Níveis séricos inferiores a 4mg/dl em RN são sugestivos de deficiência mineral, indicando necessidade de monitorização para o desenvolvimento de DMO. Backström et al., em 2000, demonstraram que o valor do P diminuído foi pouco sensível para detecção de diminuição da densidade mineral óssea quando realizada em RNPT aos 3 e aos 6 meses

de idade corrigida. Embora, neste estudo, tenha apresentado uma especificadade elevada, foi possível a detecção de P diminuído em apenas 50% dos RNPT que apresentavam densidade mineral baixa.

A capacidade da deterninação sérica do P em detectar uma densidade mineral diminuída é limitada, portanto seria mais apropriado que fosse rotina a associação de níveis baixos de P com níveis elevados de fosfatase alcalina (acima de 900UI/L). Backström et al. (2000) sugerem que esta associação apresenta uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 70% no uso destas determinações séricas para o “screening” e identificação dos RNPT com risco de DMO.

EXAMES DE IMAGEM

Radiografias de ossos longos

Radiografias dos ossos longos constituíam o método mais utilizado para avaliação radiológica da mineralização óssea dos RNPT. No entanto, as alterações ósseas, tais como rarefação óssea ou fraturas, só se tornam visíveis quando o conteúdo mineral ósseo é inferior a 50% do valor normal. Geralmente as alterações são detectadas após a 6ª semana de vida, particularmente por volta da 10ª semana, e refletem um processo de remodelação anormal, com aumento da matriz óssea sem intensificação mineral concomitante (Koo et al., 1982). Estes achados radiológicos pouco precisos e tardios dificultam o uso do método para detecção precoce do risco de DMO (Salle e Glorieux, 1993; Faerk et al., 2002).

A radiografia de ossos longos é utilizada quando não se dispõe da densitometria óssea. A descrição das alterações radiológicas segue o "score" proposto por Koo et al., o qual é dividido em graus: (Koo et al., 1982).

- Grau I: presença de rarefação óssea
- Grau II: presença de rarefação óssea associada a alterações metafisárias, imagem em taça e formações ósseas subperiostais.
- Grau III: grau II associado à presença de fraturas espontâneas.

Tomografia computadorizada

A tomografia computadorizada quantitativa permite a determinação da densidade mineral da coluna lombar de forma tridimensional. A precisão é de 2 a 4%, mas a acurácia é influenciada pela quantidade de gordura, subestimando a densidade trabecular dos corpos vertebrais, em adultos. A maior desvantagem da tomografia é a dose de radiação elevada o que dificulta a realização de estudos longitudinais, principalmente na faixa etária pediátrica (Salle e Glorieux, 1993).

Ultrassonografia

A ultrassonografia avalia a mineralização, através de medidas da densidade óssea, como também da estrutura, como a espessura cortical, a

elasticidade e a microarquitetura ósseas. Trata-se de método simples, não invasivo e pode ser realizado em RN com idade gestacional superior a 24 semanas.

Littner et al. em 2003 estudaram um grupo de 73 RN cuja idade gestacional variou de 25 a 41 semanas. Os autores realizaram a ultrassonografia da porção média da tíbia com o objetivo de avaliar a mineralização óssea dos pacientes ao nascimento e obtiveram resultados que resultaram em curvas de referência, as únicas disponíveis na literatura.

O método avalia a velocidade do som (speed of sound – SOS) através de determinado segmento ósseo, geralmente na tíbia, não necessita da imobilização do paciente e não há exposição à radiação, facilitando os estudos longitudinais.

Segundo Rubinacci et al. (2003), os valores da SOS obtidos ao nascimento e nas primeiras oito semanas de vida dos RNMBP estão diminuídos em relação aos valores obtidos nos RNT, mas são achados mais tardios do que as alterações bioquímicas. Desta forma as alterações da DMO apareceriam tardiamente na evolução não sendo compatível com o diagnóstico precoce.

Densitometria óssea

Desde o final da década de 80 a densitometria óssea tornou-se um exame de maior disponibilidade e um recurso valioso na abordagem de doenças ósseas do adulto (Binkovitz e Henwood, 2006). Em 2004, a

Sociedade Internacional de Densitometria Clínica estabeleceu critérios segundo faixa etária, sexo e condição clínica contemplando os pacientes pediátricos. Foram definidos também os sítios de eleição para realização do exame como sendo a coluna dorsal e o corpo inteiro (Lewiecki et al., 2004). O termo densidade óssea baixa para a idade ou osteopenia deve ser usado para valores menores ou iguais a - 2,0 SD (desvio padrão). O conceito de osteoporose é feito pela presença de osteopenia associada a fraturas atraumáticas. De acordo com Holm et al. (2006), o uso da densitometria óssea em pediatria ainda não permite correlacionar a densidade mineral óssea com o risco de fratura.

Tem sido cada vez maior o uso da densitometria óssea em condições clínicas encontradas frequentemente pelo pediatra. Ela permite a detecção precoce das alterações ósseas em crianças e adolescentes, através da avaliação da massa óssea comparada a valores de referência normais já publicados na literatura nacional e internacional (Fonseca et al., 2001; Van der Sluis et al., 2002).

Atualmente tem sido o método de escolha na maioria das pesquisas com RNPT e o desenvolvimento de DMO (Rigo et al., 1998). Os fetos durante o último trimestre da gestação, os recém-nascidos e os lactentes nos primeiros meses de vida apresentam as maiores mudanças na composição corpórea caracterizadas por rápido ganho de massa óssea, sendo neste aspecto de grande importância a realização da densitometria óssea em estudos de seguimento (Bishop et al., 1996; Wauben et al., 1998; Faerk et al., 2000). A avaliação da saúde óssea na infância e sua relação

com a integridade óssea na vida adulta tem se firmado aos poucos, mas ainda trata-se de uma área merecedora da atenção dos pesquisadores.

A densitometria óssea determina a quantidade mineral em uma determinada região pela diferença de absorção de raios-X pelo corpo humano. Da mesma forma permite avaliar a composição do tecido frouxo e determinar medidas da gordura e da massa magra, ou massa livre de gordura (Fewtrell, 2003).

Durante os primeiros anos, a densitometria óssea foi realizada do antebraço com vários objetivos que incluíam a comparação do conteúdo mineral entre RNPT e RNT, uso de esquemas de nutrição com oferta mineral elevada e acompanhamento do acréscimo mineral ao longo dos primeiros meses de vida. Nestes estudos os autores encontraram valores de conteúdo mineral no RNPT inferiores em relação ao RNT, ao nascimento, mas com ritmo acelerado de acréscimo mineral no seguimento dos RNPT (Steichen et al., 1980; Pitttard et al., 1990; Congdon et al.,1990) .

Apesar desses estudos serem muito enriquecedores, os autores chegaram à conclusão de que o antebraço não seria o melhor segmento do corpo a ser avaliado, pois existem diferenças entre a mineralização dos ossos do antebraço dos RNPT em relação aos RNT e as medidas repetidas envolvendo o antebraço não refletem o crescimento do esqueleto como um todo, tendo sido a técnica abandonada (Horsman et al., 1989; Salle e Glorieux, 1993).

Recentemente, tem sido introduzida uma nova técnica denominada fóton-absorção dupla associada ao raio-X (Dual energy X-ray absorptiometry

- DXA), método de grande precisão e acurácia para medidas do conteúdo mineral do corpo inteiro, mesmo em RNPT de muito baixo peso ao nascer e requer menor tempo de exposição. A dose de radiação utilizada para o corpo inteiro é extremamente baixa, aproximadamente 1,0 mrad (milirad), quando comparada com a radiação recebida pelo paciente submetido, por exemplo, a uma radiografia de tórax frente e perfil que é de 6,0 mrad ou 60 μSV(Sievert) (Baim et al., 2005).

O exame requer pequena imobilização do paciente sem necessidade de sedação, tendo o seu uso consagrado para pacientes com massa corpórea reduzida como o RNPT e o RN de termo (Salle e Glorieux, 1993; Alkalay et al., 2003; Sharp e Simmer, 2003; Schepper et al., 2005).

Em 1998, Rigo et al. desenvolveram estudo para estabelecer dados de referência para conteúdo mineral ósseo e área óssea com dados obtidos de 106 RNPT e RNT saudáveis ao nascimento através da DXA. Os valores do conteúdo mineral mostraram correlação positiva com o peso e a idade gestacional (Figura 5) e com a área óssea (Figura 6). A análise multivariada indicou o peso de nascimento como o melhor preditor desses parâmetros.

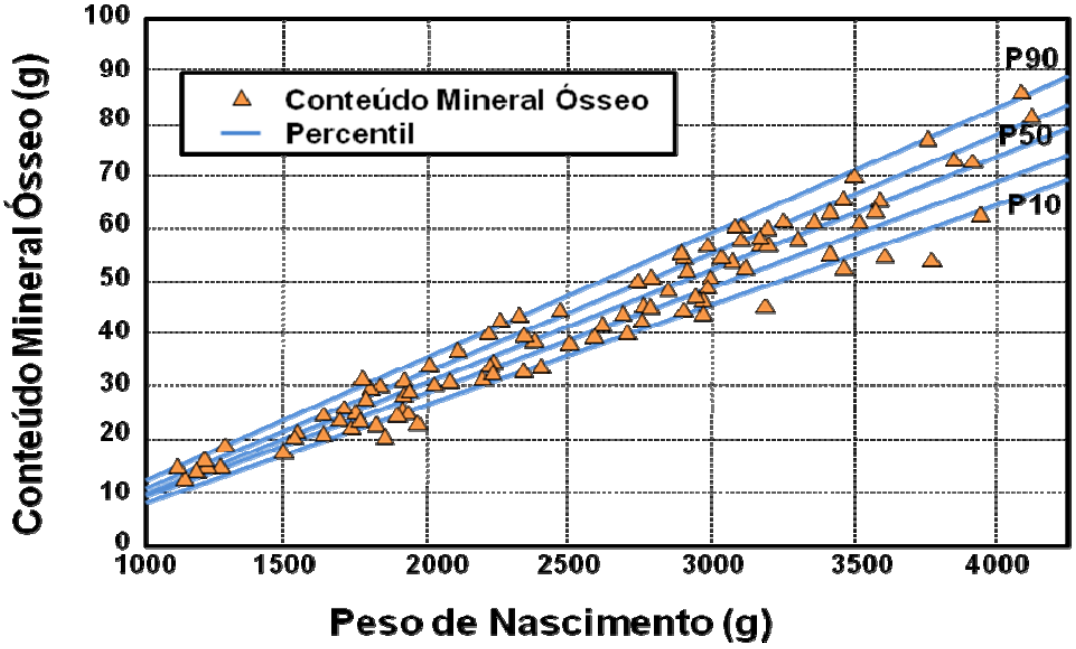


Figura 5 - Correlação entre o conteúdo mineral ósseo e o peso de nascimento (Rigo et al., 1998).

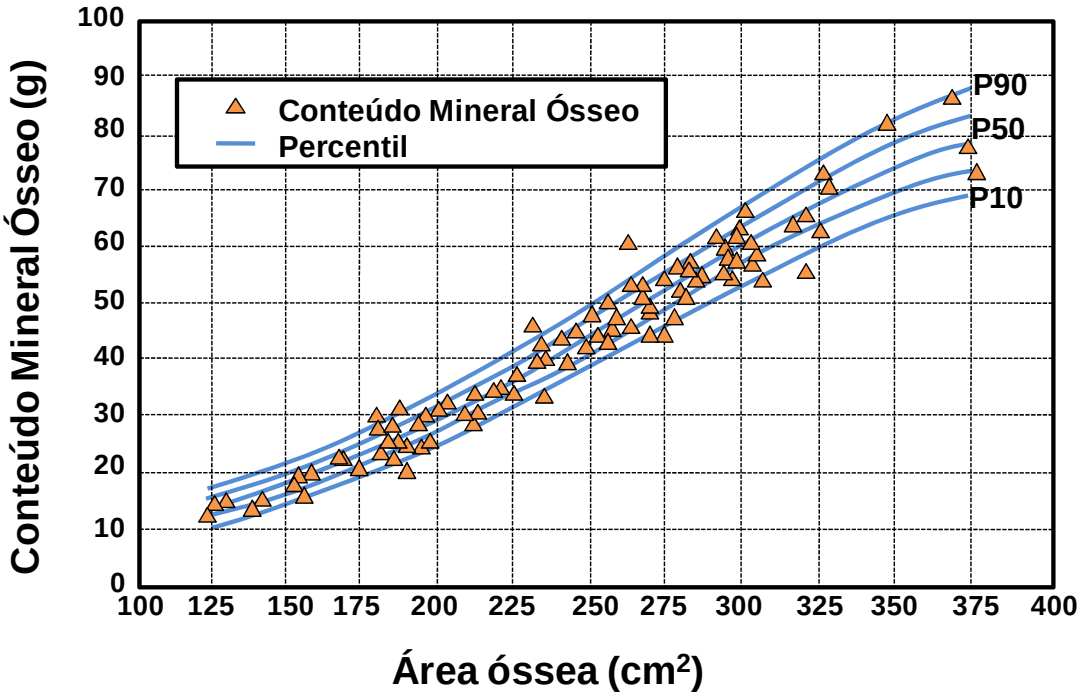


Figura 6 - Correlação entre o conteúdo mineral ósseo e a área óssea (Rigo et al.,1998).

Os autores obtiveram resultados muito semelhantes àqueles obtidos da análise de carcaças ósseas de cadáveres, mostrando que o exame pode ser aplicado ao RN no nascimento e também podem ser considerados padrões normais de referência. As curvas obtidas para conteúdo mineral ósseo foram publicadas em analogia às curvas de crescimento intra-uterino, a fim de contribuir para avaliação da composição corpórea em diferentes condições clínicas e patologias ósseas (Rigo et al., 1998).

A avaliação da composição corpórea é realizada através da densidade mineral óssea (BMD – bone mineral density) e do conteúdo mineral ósseo (BMC – bone mineral content) do corpo inteiro. A densidade mineral óssea é calculada pela razão BMC/área escaneada e tende a aumentar com a progressão da idade gestacional, entretanto, com o nascimento ocorre uma interrupção abrupta da oferta de nutrientes e possíveis repercussões no crescimento ósseo.

Estudos têm sido realizados com a utilização da DXA para determinação da composição corpórea e o BMC nos RNPT e RNT, assim como um acompanhamento na evolução de peso e acréscimo mineral por períodos de tempo variáveis.

Alguns estudos revelam que o RNPT necessita de um período de tempo para alcançar um conteúdo mineral semelhante ao do RNT e que as etapas com maior incorporação mineral correspondem às fases de melhoria da oferta enteral. Segundo Pittard et al. (1990) esse período foi de 16 semanas para RN recebendo fórmula láctea enriquecida, e para Horsman et al. (1989) e Lapillonne et al. (1994) foi de 6 meses para RN recebendo leite

humano e/ou fórmula láctea. Entretanto para outros autores seria necessário um tempo superior a 6 meses para que os RNPT atinjam valores normais de conteúdo mineral ósseo, como nos estudos de Avila-Diaz et al., em 2001, com RNPT adequados para a idade gestacional (PTAIG) e pequenos para idade gestacional (PIG) que receberam predominantemente leite humano.

Outro aspecto estudado por alguns autores é a evolução da composição corpórea em RNMBP com diferentes regimes alimentares. Rigo et al. em 2000 publicaram estudo sobre o tipo de dieta oferecido ao RNPT e o ritmo de acréscimo mineral e ganho ponderal a partir do momento em que os RN atingiram dieta enteral plena com leite humano enriquecido comparado com fórmula para PT. Os resultados mostraram que os RN que receberam leite humano suplementado apresentaram melhor acréscimo mineral.

Na literatura, não encontramos estudo de acompanhamento da composição corpórea em RNPT e RNT recebendo apenas aleitamento materno e/ou leite humano de banco.

PROPOSTA DO ESTUDO - HIPÓTESE

No Brasil, poucas pesquisas têm se dedicado a estudar a mineralização óssea em crianças e adolescentes, e nenhuma pesquisa avaliou crianças no período neonatal (Lazaretti-Castro, 2004; Silva et al., 2004).

Tendo em vista o fato de que a mineralização óssea do RNPT é diretamente proporcional à idade gestacional e ao peso corpóreo quando comparada à do RN de termo, o propósito deste estudo é avaliar a mineralização óssea e outros parâmetros da composição corpórea (massa magra e gordura) obtida através da densitometria óssea dos RNPT alimentados exclusivamente com leite humano e acompanhar o seu crescimento até os seis meses de idade corrigida. A nossa hipótese é a de que os RNPT conseguem atingir os valores normais encontrados no RN de termo no decorrer dos primeiros seis meses de idade corrigida.

Acreditamos que a análise da mineralização óssea através da DXA fornecerá conhecimentos importantes no sentido de detectar precocemente as alterações patológicas que possam ocorrer. Tal avaliação será de grande utilidade, possibilitando um melhor acompanhamento clínico e um planejamento terapêutico adequado no seguimento em longo prazo desses RN.

2 OBJETIVOS

2.1. Comparar os resultados da densitometria óssea por dupla absorção de raios-X realizada no recém-nascido pré-termo adequado para a idade gestacional com os valores obtidos de recém-nascidos de termo adequados para a idade gestacional, alimentados com leite humano exclusivo.

2.2. Analisar e comparar os parâmetros bioquímicos ósseos (cálcio, fósforo e fosfatase alcalina sanguíneos) obtidos dos recém-nascidos pré-termo e dos recém-nascidos de termo

2.3. Analisar a excreção urinária de cálcio e de fósforo nos recém-nascidos pré-termo alimentados com leite humano exclusivo.

3 CASUÍSTICA

3.1 MODELO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo e consiste na descrição da análise dos dados obtidos de mineralização óssea em recém-nascidos pré-termo e termo.

3.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado na Unidade Neonatal da Divisão de Clínica Pediátrica do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP), que possui seis leitos de terapia intensiva neonatal, 24 leitos de cuidados intermediários neonatais, distribuídos em semi-intensivos (9 leitos) e cuidados intermediários (15 leitos) e 42 leitos de alojamento conjunto.

A Unidade Neonatal possui ainda um Banco de Leite Humano que fornece leite da própria mãe ou de doadoras cadastradas e faz parte da Rede Nacional de Bancos de Leite Humano do Ministério da Saúde (RNBLH, 2005).

3.3 POPULAÇÃO E PERÍODO DE ESTUDO

A população do estudo foi constituída por 28 RN sendo 14 RNPT, adequados para a idade gestacional (AIG), os quais constituíram o grupo estudo e 14 RN de termo, adequados para a idade gestacional, que constituíram o grupo controle.

O período de estudo foi de dois anos e três meses (julho de 2006 a setembro de 2008).

3.4 Critérios de inclusão

- RNPT AIG, com idade gestacional inferior a 34 semanas, e que estavam hospitalizados pelo menos até a 3ª semana de vida, ocasião na qual foram colhidos os primeiros exames laboratoriais do estudo**.**
- RNPT em nutrição parenteral e/ou enteral com leite materno e/ou leite humano de banco.
- RN de termo AIG, saudáveis e em aleitamento materno exclusivo.

3.5. Critérios de exclusão

- RN portadores de malformações congênitas, cromossomopatias, doenças genéticas, asfixia perinatal, filho de mãe diabética e portadores de patologias relacionadas ao metabolismo do cálcio e do fósforo.
- RN cujos pais ou responsáveis se recusaram a participar do estudo.

Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da USP registro nº 583/05, bem como os termos de consentimento livre e esclarecido para o RNPT e para o RN de Termo, em 23 de janeiro de 2006 (Anexo B).

4 METODOLOGIA

4.1. Determinação da idade gestacional

A idade gestacional foi determinada considerando-se a informação materna da data da última menstruação e, na ausência, a ultrassonografia fetal realizada no primeiro trimestre gestacional, e confirmada pelo método de Ballard et al., 1991 (para o pré-termo) e Dubowitz et al., 1970 (para o termo).

Em relação à classificação dos RN, foram considerados RNPT aqueles com idade gestacional menor de 37 semanas e RNT aqueles com idade gestacional igual ou maior que 37 semanas. Quanto ao tamanho para idade gestacional adotamos a curva de Ramos (1983), na qual adequados para idade gestacional (AIG) são aqueles cujo peso se encontra entre os percentis 10 e 90 dessa curva.

A idade gestacional corrigida foi determinada considerando o período pós-nascimento transformado em semanas e dias e adicionados à idade gestacional obtida ao nascimento.

A idade pós-natal corrigida foi determinada considerando o período decorrido a partir do momento no qual o RNPT atingiu as 40 semanas de idade gestacional corrigida.

4.2. Determinação dos dados antropométricos

Todos os RN foram pesados despidos em balança eletrônica infantil (marca Filizola modelo Baby).

A estatura dos RN foi medida através de régua antropométrica graduada em centímetros, com a criança em decúbito dorsal horizontal.

4.3. Nutrição

Durante o período de internação, todos os RNPT receberam leite materno (da própria mãe) ou, na falta deste, do Banco de Leite do Hospital Universitário (BLH-HU) da USP. Neste último caso, o leite humano de doadora podia ser de mãe, tanto de RNPT como de RN termo. Para os RNMBP o leite humano de banco foi acrescido da fórmula de nutrientes para recém-nascidos de alto risco FM 85®, de acordo com as normas utilizadas na Disciplina de Pediatria Neonatal do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

O leite humano foi coletado, processado e armazenado pelo BLH-HU da USP, obedecendo ao rigoroso controle de qualidade disponível nas normas técnicas da Rede Nacional de Bancos de Leite Humano (Brasil, 2001) e resolução, RDC- nº 171, do Ministério da Saúde (Brasil, 2006).

O FM 85® é padronizado pelo HU e consiste de uma fórmula de nutrientes para recém-nascido pré-termo com risco para DMO. É composto por proteína hipoalergênica (proteína de soro de leite hidrolisada), maltodextrina, glicerofosfato de cálcio, ácido fosfórico, hidróxido de cálcio, ácido cítrico, cloreto de potássio, hidróxido de potássio, hidróxido de sódio, vitaminas lipossolúveis (A, E e K1) e hidrossolúveis (C, B1, B2, B6 e ácido fólico) e oligoelementos (iodo, cobre e zinco). É destinado a suplementar o leite humano com a finalidade de atender os requerimentos nutricionais destas crianças.

No anexo C pode ser vista a composição final para 100 ml de leite humano acrescido com a fórmula de nutrientes FM 85®. Recomenda-se que

esta suplementação seja gradual, iniciando com 1 grama e atingindo 5 gramas para cada 100 ml de leite humano, em um período de 5-7 dias.

A nutrição enteral foi introduzida, sempre que possível, nas primeiras 6 horas após o parto. Quando bem tolerada, seu volume foi sendo aumentado até atingir 180 a 200 ml/Kg/dia.

A suplementação enteral de vitamina D foi estabelecida, para os dois grupos (grupo estudo e grupo controle), a partir de 15 dias de vida, na dose de 400UI/dia.

A nutrição parenteral utilizada é padronizada pelo HU, sendo preparada pela empresa “Hosp Pharma Manipulação e Suprimentos Ltda” conforme pode ser visto no anexo D.

Na presença de deficiência mineral foi necessária a adequação da oferta mineral da dieta, sendo desejável uma oferta diária de Ca 210-250 mg/Kg/dia e P 112-125 mg/Kg/dia (American Academy of Pediatrics, 1985). Para esta adequação era administrada uma solução de gluconato de cálcio e fosfato dibásico de cálcio, que continha a complementação dos minerais oferecidos na dieta, a fim de atingir as necessidades diárias, durante os primeiros seis meses de idade. Esta solução era administrada por via oral, no intervalo das mamadas e com frequência diária que dependia do volume da solução a ser administrado. Sua composição pode ser observada no anexo E.

4.4. Determinações laboratoriais

- Foram colhidas amostras de sangue e urina para as medidas laboratoriais: cálcio total, fósforo e creatinina no soro e na urina, e fosfatase alcalina no soro.
- Para os RNPT, as coletas de sangue foram realizadas com 40 semanas de idade gestacional corrigida, e repetidas aos 6 meses de idade pós-natal corrigida. As amostras de urina (coleta de 6 horas) para análise da excreção urinária de cálcio e fósforo foram coletadas entre a 3ª e 4ª semana de vida pós-natal.
- Nos RN termo, foram realizadas determinações séricas de cálcio total, fósforo, creatinina e fosfatase alcalina ao nascimento em amostras procedentes de sangue do cordão umbilical.
- Todas as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório do HU-USP utilizando-se micrométodos já padronizados e de uso rotineiro na Unidade Neonatal.

1) Cálcio total sérico e o cálcio urinário (Cau): foram determinados pelo método de O-cresolftaleina automatizado (Gitelman, 1967; Tietz, 1995).
2) Fósforo sérico e o urinário (Pu): foram determinados pelo método do fosfomolibdato automatizado (Daly e Ertingshausen, 1972; Tiez, 1995).
3) Creatinina sérica e urinária: foram determinadas pelo método de Picrato Alcalino automatizado (Tietz, 1985).
4) Fosfatase alcalina sérica: foi determinada pelo método “DEA” ou dietanolamina recomendado pelo SCE (Scandinavian Society for Clinical Chemistry, Committe on Enzymes).

Os valores de referência adotados pelo laboratório do HU-USP são: para o cálcio sérico 8,6 a 10,0 mg/dl ou 2,14 a 2,49 mmol/L; para o fósforo sérico 4,0 a 7,0 mg/dl ou 1,29 a 2,26 mmol/L; para a fosfatase alcalina 150 a 600 UI/L (para o RN) e 50 a 250 UI/L (para o adulto); e para a creatinina sérica 0,4 a 1,3 mg/dl ou 0,03 a 0,11 mmol/L.

Para a detecção precoce da deficiência mineral e prevenção das formas graves da DMO foram avaliadas as perdas urinárias de Ca e P, através das fórmulas:

Cau (mg/Kg/dia) = 4X Volume urina 6 horas (ml) X Cau (mg/L)/[peso X 1000]

Pu (mg/Kg/dia) = 4X Volume urina 6 horas (ml) X Pu (mg/L)/ [peso X 1000]

Adotamos como valores indicativos de deficiência mineral, para Ca e P: Pu < 1 mg/Kg/dia e/ou Cau > 4mg/Kg/dia (Catache e Leone, 2003). Quando o RN recebia diurético calciúrico, adotávamos as medidas séricas de cálcio total, fósforo e fosfatase alcalina.

4.5. Densitometria óssea

- A Densitometria óssea foi realizada pela técnica da dupla emissão de fonte de raio-X (Dual energy X-ray absorptiometry). A sigla DXA será utilizada nesse estudo.

- A avaliação da mineralização óssea pela densitometria foi realizada com 40 semanas de idade gestacional corrigida, aos 3 e aos 6 meses de idade pós-natal corrigida, no RNPT. No RN de termo foi realizada também em 3 momentos: entre o 2º e o 4º dia de vida, aos 3 e aos 6 meses de idade pós-natal.

- Para a realização da densitometria óssea de uma forma adequada adotamos a estratégia de realizar após a criança adormecer (em geral após a alimentação), na posição prona, sobre a plataforma de um “scanner” pediátrico, não sendo necessária sedação.

- Os exames de DXA foram realizados no Laboratório de Investigação Médica e Metabolismo Ósseo da Disciplina de Reumatologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da USP (FMUSP) – LIM 17, utilizando-se um aparelho da marca Hologic, modelo Discovery A (Figura 7).

- O exame também foi realizado sempre pelo mesmo técnico para melhor precisão da DXA. A precisão da DXA está diretamente relacionada à sua reprodutividade, ou seja, a capacidade da DXA em obter valores semelhantes, em avaliações repetidas, no mesmo paciente, em curto período de tempo.

Figura 7 - Equipamento Hologic modelo Discovery A

- A precisão clínica da DXA, segundo Baim et al. (2005) é influenciada pela combinação de fatores como: o equipamento, a posição do paciente e o operador. Segundo a Sociedade Brasileira de Densitometria Clínica, em suas posições oficiais de 2006, cada serviço de densitometria deve determinar seu próprio ***erro de precisão*** ou ***coeficiente de variação***. Além disso, a **mínima variação significativa** (MVS) deve ser utilizada para avaliar as variações observadas entre medidas seriadas da densidade mineral óssea.

- Para a realização do estudo de precisão, a Sociedade Internacional de Densitometria Clínica recomenda que sejam realizadas medidas da densidade mineral óssea, através da DXA, em 15 pacientes com exames em triplicata. Cada tríade de exames terá um desvio padrão que será usado como base para o cálculo do erro de precisão ou coeficiente de variação, segundo a fórmula a seguir.

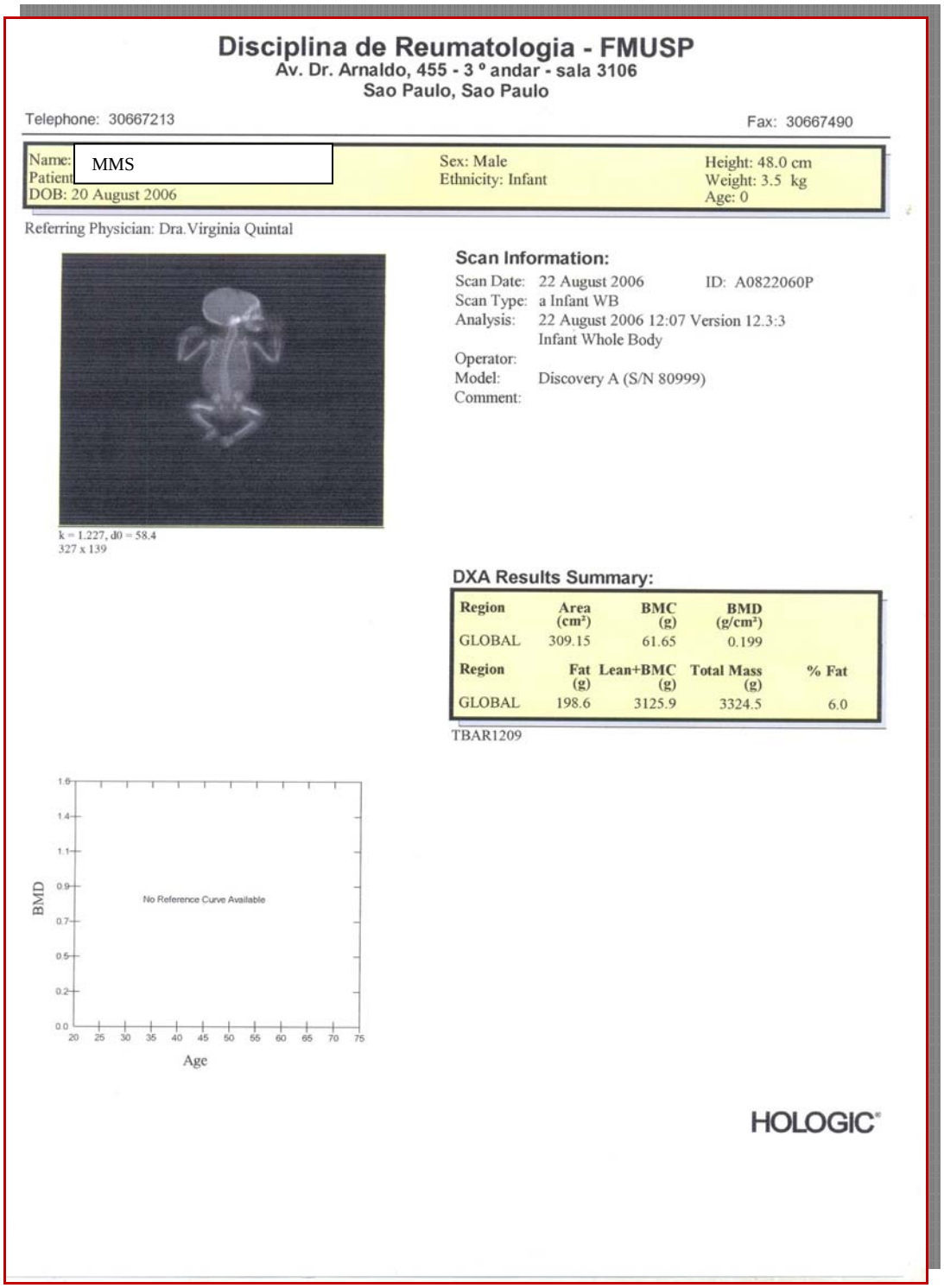
- $CV = RMSSD\ g/cm^2$
- CV = coeficiente de variação
- RMSSD= raiz quadrada da média dos desvios padrões

Os coeficientes de variação publicados na literatura (Baim et al., 2005), segundo sítio de análise, são:

- Quadril total = 0,8 – 1,69%
- Coluna = 1,0 -1,2%
- Colo do fêmur = 1,11 – 2,2%
- Trocanter = 1,16 – 1,5%
- O cálculo da MVS para o grupo de pacientes usando o intervalo de confiança de 95% é obtido pela fórmula:
- $MVS = 2,77 \times CV$

- Foi obtido o coeficiente de variação para esse estudo de 0,004 g/cm^2 ou 0,4%, e a mínima variação significativa para os recém-nascidos avaliados no estudo foi de 1,2%.
- A avaliação da composição corpórea do corpo inteiro compreendeu:
    - Área óssea expressa em cm^2
    - Determinação do conteúdo mineral ósseo total (BMC) expresso em gramas
    - Determinação da densidade mineral óssea (BMD) expressa em g/cm^2
    - Massa magra expressa em g
    - Massa de gordura expressa em g
    - Percentual de gordura

- Utilizou-se um “software” infantil aplicável ao recém-nascido desenvolvido pela Hologic.
- Foram realizadas as medidas de peso corpóreo e de estatura próximas ao dia da realização da densitometria óssea.
- A Figura 8 exemplifica um dos resultados obtidos durante o estudo.
- Os recém-nascidos sempre eram acompanhados por familiares que, na sua grande maioria, era a sua própria mãe.



Disciplina de Reumatologia - FMUSP
Av. Dr. Arnaldo, 455 - 3 º andar - sala 3106
Sao Paulo, Sao Paulo

Telephone: 30667213 Fax: 30667490

Name: MMS
Patient
DOB: 20 August 2006
Sex: Male
Ethnicity: Infant
Height: 48.0 cm
Weight: 3.5 kg
Age: 0

Referring Physician: Dra.Virginia Quintal

k = 1.227, d0 = 58.4
327 x 139

Scan Information:

Scan Date: 22 August 2006 ID: A0822060P
Scan Type: a Infant WB
Analysis: 22 August 2006 12:07 Version 12.3:3
Infant Whole Body
Operator:
Model: Discovery A (S/N 80999)
Comment:

DXA Results Summary:

Region	Area (cm²)	BMC (g)	BMD (g/cm²)	
GLOBAL	309.15	61.65	0.199	
Region	**Fat (g)**	**Lean+BMC (g)**	**Total Mass (g)**	**% Fat**
GLOBAL	198.6	3125.9	3324.5	6.0

TBAR1209

HOLOGIC

Figura 8 – Densitometria óssea em recém-nascido.

4.6. Análise estatística

As medidas de peso corpóreo, estatura e idade gestacional foram caracterizadas através da média, desvio padrão, valor mínimo, valor máximo e número de observações.

Os dados referentes à mineralização óssea foram resumidos através da média ± desvio padrão e número de observações segundo momento de avaliação (no termo, aos 3 e aos 6 meses de idade pós-natal corrigida) e grupo (pré-termo e termo). Foram utilizados gráficos de perfis médios desses dados com os respectivos erros padrões para observação do comportamento ao longo do tempo. A comparação dos perfis médios ao longo do tempo segundo grupo foi realizada através de um modelo de análise de variância (ANOVA) com medida repetida que permitiu avaliar tanto o efeito de tempo como o efeito de grupo e a interação entre estes (Diggle et al., 2002). Posteriormente à ANOVA foram realizadas comparações múltiplas de Tukey (Neter et al., 1996) que permitiram detectar onde se encontravam essas diferenças.

Para responder aos objetivos do estudo foram descritas as medidas categorizadas coletadas apenas ao nascimento com uso de frequências absolutas e relativas (Bussad e Morettin, 1987); e verificada a associação dessas variáveis com o grupo com uso de testes exatos de Fisher (Bussad e Morettin, 1987). As medidas numéricas observadas ao nascimento foram descritas com uso de medidas resumo (Bussad e Morettin, 1987) e comparadas entre os grupos utilizando o teste Mann-Whitney (Conover, 1980).

A análise foi realizada através do software SAS versão 9.1.3, sendo que a ANOVA com medida repetida foi realizada no módulo PROC MIXED do SAS. Foi também utilizado o software Excel 2003 para a confecção das tabelas.

Foi adotado um nível de significância (α) de 5%, ou seja, foram considerados como significantes os resultados que apresentaram valor de p inferior a 5% ($p<0,05$) para todos os parâmetros estudados.

5 RESULTADOS

Dos 28 recém-nascidos estudados, 14 foram classificados como RNPT (grupo estudo) e 14 como RNT (grupo controle) e suas características individuais estão relacionadas no Anexo A.

As variáveis categorizadas observadas nos grupos estão descritas nas tabelas 1 a 3. A ocorrência de patologias como DMO, Sepse, Enterocolite Necrosante (ECN), Displasia Broncopulmonar (DBP) assim como o uso de corticosteróides (CE), diuréticos e solução de Ca e P, foram observadas apenas no grupo estudo.

Tabela 1. Descrição da variável categorizada sexo observada nos RNPT (grupo estudo) e nos RN de termo (grupo controle)

Variável	**Grupos**				**Total**		**p**
	Pré-termo		Termo				
	n	%	n	%	n	%	
Sexo							
F	5	35,7	4	28,6	9	32,1	>0,999
M	9	64,3	10	71,4	19	67,9	
Total	14	100	14	100	28	100	

Tabela 2. Descrição das variáveis categorizadas das patologias observadas nos RNPT (grupo estudo) e nos RN de termo (grupo controle)

Variável	Grupo				Total		p
	Pré-termo		Termo				
	n	%	n	%	n	%	
DMO							
Não	11	78,6	14	100	11	78,6	NS
Sim	3	21,4	0	0	3	21,4	
Total	14	100	14	100	14	100	
Sepse							
Não	4	28,6	14	100	18	64,3	<0,001
Sim	10	71,4	0	0	10	35,7	
Total	14	100	14	100	28	100	
ECN							
Não	12	85,7	14	100	26	92,9	0,481
Sim	2	14,3	0	0	2	7,1	
Total	14	100	14	100	28	100	
DBP							
Não	9	64,3	14	100	9	64,3	NS
Sim	5	35,7	0	0	5	35,7	
Total	14	100	14	100	14	100	

DMO= Doença Metabólica Óssea ECN= Enterocolite Necrosante

DBP= Displasia Broncopulmonar

A Tabela 2 mostra que a incidência de sepse foi significativamente maior no RNPT do que no RN a termo (p<0,001).

Tabela 3. Descrição das variáveis categorizadas em relação ao uso de medicamentos em RNPT (grupo estudo)

Variável	Grupo				Total		p
	Pré-termo		Termo				
	n	%	n	%	n	%	
Sol. Ca + P							
Não	11	78,6	14	100	11	78,6	NS
Sim	3	21,4	0	0	3	21,4	
Total	14	100	14	100	14	100	
Diuréticos							
Não	8	57,1	14	100,0	22	78,6	0,016
Sim	6	42,9	0	0	6	21,4	
Total	14	100	14	100	28	100	
CE							
Não	10	71,4	14	100,0	24	85,7	0,098
Sim	4	28,6	0	0	4	14,3	
Total	14	100	14	100	28	100	

CE= Corticosteróides

Sol. Ca + P = Solução oral de cálcio e fósforo

A Tabela 3 mostra que os RNPT fazem mais uso de diuréticos que os RN a termo (p=0,016).

A tabela 4 mostra que o peso ao nascer e a idade gestacional são estatisticamente maiores no RN de termo (p<0,05). Quanto às determinações laboratoriais, a fosfatase alcalina (FA) é em média estatisticamente maior no pré-termo (p<0,001) com 40 semanas gestacionais corrigidas em relação ao termo, porém tem seu valor reduzido aos 6 meses de idade corrigida, entretanto nenhum dos valores médios de FA encontrados no RNPT foi superior a 1200 UI/L (Tabela 5).

Tabela 4. Descrição das medidas numéricas peso e idade gestacional ao nascimento e resultado da comparação entre RNPT (grupo estudo) e RN de termo (grupo controle).

Variável	Grupo	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	p
Peso Nascer (kg)	Pré-termo	1,54	0,30	1,5275	1,115	2,13	14	**<0,001**
	termo	3,26	0,24	3,2	2,9	3,7	14	
Idade Gestacional (semanas)	Pré-termo	31,15	1,41	31,495	28,43	32,85	14	**<0,001**
	termo	40,10	0,99	40	38	41,85	14	

Tabela 5. Descrição das medidas numéricas séricas realizadas ao nascimento no RNT e no RNPT com 40 semanas de idade gestacional corrigida e durante o seguimento e resultado da comparação entre RNPT (grupo estudo) e RN de termo (grupo controle).

Variável	Grupo	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	p
Creatinina (mg/dl)	Pré-termo	0,58	0,31	0,5	0,2	1,1	10	0,343
	termo	0,63	0,18	0,7	0,2	0,9	13	
Ca1 (mg/dl)	Pré-termo	9,86	0,53	9,85	8,8	10,7	14	0,076
	termo	10,25	0,49	10,2	9,4	11,3	13	
P1 (mg/dl)	Pré-termo	6,50	0,78	6,8	5	7,5	14	0,085
	termo	5,85	1,12	6,1	3,8	8,1	13	
FA1 (U/L)	**Pré-termo**	**959,50**	**561,64**	**695,5**	**493**	**2376**	**14**	**<0,001**
	termo	**392,85**	**101,47**	**397**	**224**	**567**	**13**	
Ca2 (mg/dl)	Pré-termo	10,54	0,41	10,5	9,9	11,3	12	
P2 (mg/dl)	Pré-termo	6,13	0,54	6,15	5,3	7	12	
FA2 (U/L)	Pré-termo	743,42	327,80	664,5	406	1522	12	

Ca1, P1 e FA1 = determinações com 40 sem. de idade gestacional

Ca2, P2 e FA2= determinações aos 6 meses de idade pós-natal corrigida

U/L= Unidades internacionais/litro

Tabela 6. Descrição das medidas numéricas urinárias realizadas durante o seguimento entre 3 e 4 semanas de vida realizadas nos RNPT (grupo estudo)

Variável	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N
Ca u mg/kg/d	3,83	4,71	2,56	0,26	16,88	12
P u mg/kg/d	5,94	6,59	4,35	0,59	21,6	12
Relação Ca/Cr	0,27	0,32	0,1	0,027	1,0	10

Na tabela 6 estão descritas as determinações laboratoriais urinárias realizadas em todos os RNPT entre a terceira e a quarta semana de vida pós-natal. As tabelas 7 e 8 apresentam as características de três pacientes com risco de DMO que receberam reposição enteral de Ca e P.

Tabela 7. Descrição das medidas laboratoriais de três pacientes com risco de DMO que receberam reposição enteral de Ca e P realizadas durante o seguimento em 3 momentos: entre 3 e 4 semanas de vida, com 40 semanas de idade gestacional corrigida e com 6 meses de idade pós-natal corrigida.

				Idade						
				3 a 4 sem. de vida			40 sem. corrigidas		6 meses corrigidos	
Caso nº	Nome (Abrev.)	PN (kg)	IG (sem)	Cau	Pu	Ca/Cr u	FA	P	FA	P
7	DCO	1,285	29	16,88	0,59	----	1049	5,3	518	5,8
27	LLS	1,635	32,57	0,26	1.04	----	1829	7	1522	6,4
28	NJL	1,260	31,57	3,6	0,4	1,0	692	5,9	1212	5,9

PN= peso de nascimento IG= idade gestacional de nascimento
Cau= cálcio urinário (mg/kg/dia) Pu=fósforo urinário (mg/kg/dia)
Ca/Cr u= relação cálcio e creatinina urinários
P= fósforo sérico (mg/dl) FA= fosfatase alcalina sérica (U/L)

Tabela 8. Descrição das medidas do peso, conteúdo e densidade mineral ósseos obtidos pela DXA dos pacientes com risco de DMO que receberam reposição enteral de Ca e P nos 3 momentos analisados: 40 semanas de idade gestacional corrigida, 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida.

	Peso (Kg)			BMC			BMD		
Caso nº/ Idade	**40 sem.**	**3 meses**	**6 meses**	**40 sem.**	**3 meses**	**6 meses**	**40 sem.**	**3 meses**	**6 meses**
7	2,2	4,75	8,1	25,73	76,93	145,57	0,106	0,172	0,239
27	2,2	4,6	8,7	32,82	101,69	162,42	0,139	0,202	0,243
28	2,0	4,2	5,9	26,5	59,42	110,36	0,116	0,151	0,203

BMC = conteúdo mineral ósseo BMD = densidade mineral óssea

A evolução das medidas de peso, estatura e área óssea dos RNPT comparada aos RN de termo considerando a idade corrigida estão apresentadas na tabela 9.

Tabela 9. Descrição das medidas de peso, estatura e área óssea ao longo do tempo (inicial*, 3 e 6 meses de idade corrigida) em RNPT e no RN de termo.

Variável	**Momento**	**Pré-termo**			**Termo**		
		Média	DP	N	Média	DP	N
Peso (Kg)	Inicial	2,25	0,21	14	3,26	0,24	14
	3 meses	5,03	0,60	12	6,08	0,59	12
	6 meses	7,29	0,80	13	7,55	0,81	13
Estatura (cm)	Inicial	45,43	3,19	14	49,25	1,42	14
	3 meses	55,96	2,98	12	60,92	1,52	12
	6 meses	65,42	3,20	13	67,35	2,63	13
Área óssea (cm^2)	Inicial	240,35	19,99	14	318,91	30,36	14
	3 meses	454,58	42,68	12	566,55	48,50	12
	6 meses	610,88	62,05	13	659,03	65,18	13

* inicial= 40 semanas de idade gestacional corrigida.

As medidas de BMC (g), BMD (g/cm^2), massa magra, gordura e percentual de gordura dos RNPT e RN de termo considerando a idade corrigida estão apresentadas na tabela 10.

Tabela 10. Descrição das medidas de conteúdo mineral ósseo (BMC), densidade mineral óssea (BMD), massa magra, gordura e percentual de gordura ao longo do tempo (inicial*, 3 e 6 meses de idade corrigida) em RNPT e no RN de termo.

Variável	Momento	Pré-termo			Termo		
		Média	DP	N	Média	DP	N
BMC (g)	Inicial	31,80	6,10	14	60,76	7,32	14
	3 meses	84,57	14,23	12	117,66	14,10	12
	6 meses	137,14	22,46	13	152,86	20,92	13
BMD (g/cm2)	Inicial	0,13	0,02	14	0,19	0,01	14
	3 meses	0,19	0,02	12	0,21	0,01	12
	6 meses	0,22	0,02	13	0,23	0,02	13
Massa magra (g)	Inicial	2377,52	267,75	14	3084,82	227,47	14
	3 meses	4084,72	1030,99	12	4863,21	587,74	12
	6 meses	5750,13	765,11	13	5745,88	726,52	13
Gordura (g)	Inicial	105,04	65,99	14	184,00	112,19	14
	3 meses	1224,97	564,81	12	1628,28	369,24	12
	6 meses	2041,97	707,84	13	2157,15	445,70	13
Percentual de gordura (%)	Inicial	4,07	2,13	14	5,46	3,21	14
	3 meses	21,13	8,42	12	24,62	4,76	12
	6 meses	25,72	7,60	13	26,67	4,39	13

* Inicial= 40 semanas de idade gestacional corrigida

Os gráficos 1 a 5 mostram alterações das medidas de peso, BMC, BMD, massa magra e gordura ao longo do tempo, ou seja, inicial com 40 semanas de idade gestacional corrigida, aos 3 meses e aos 6 meses de idade pós-natal corrigida, e algumas delas parecem diferir entre os grupos até mesmo em comportamento.

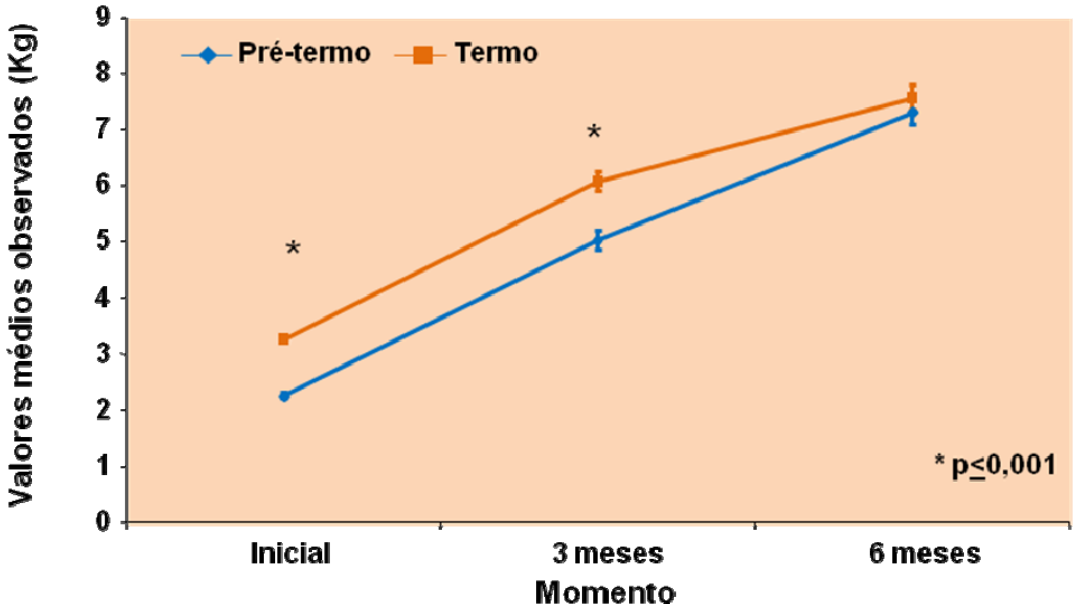


Gráfico 1. Perfil médio do peso e respectivos erros padrões segundo grupos (Pré-termo vs Termo), com 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida.

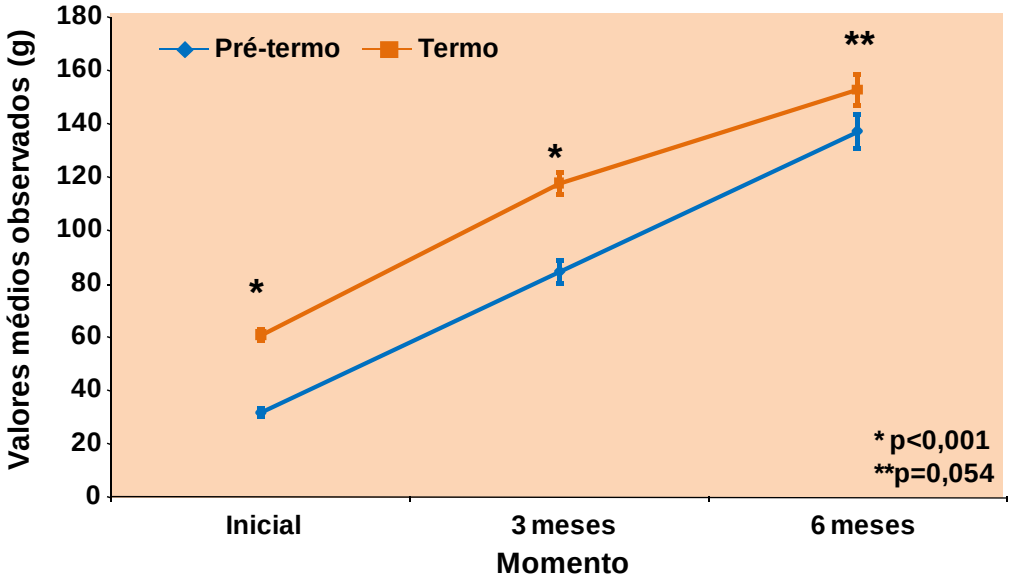


Gráfico 2. Perfil médio do Conteúdo Mineral Ósseo e respectivos erros padrões segundo grupos (Pré-termo vs Termo), com 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida.

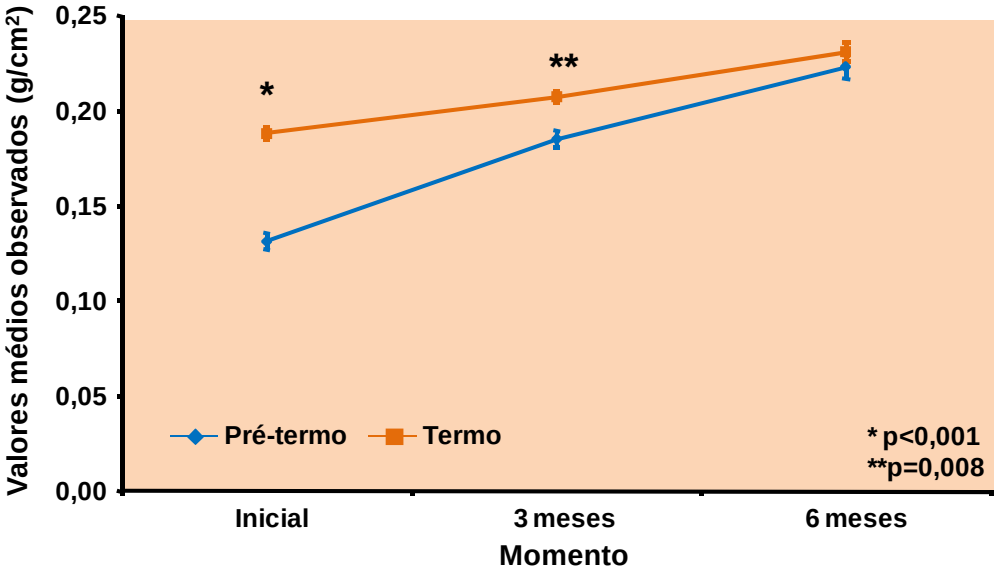


Gráfico 3. Perfil médio da Densidade Mineral Óssea e respectivos erros padrões segundo grupos (Pré-termo vs Termo), com 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida.

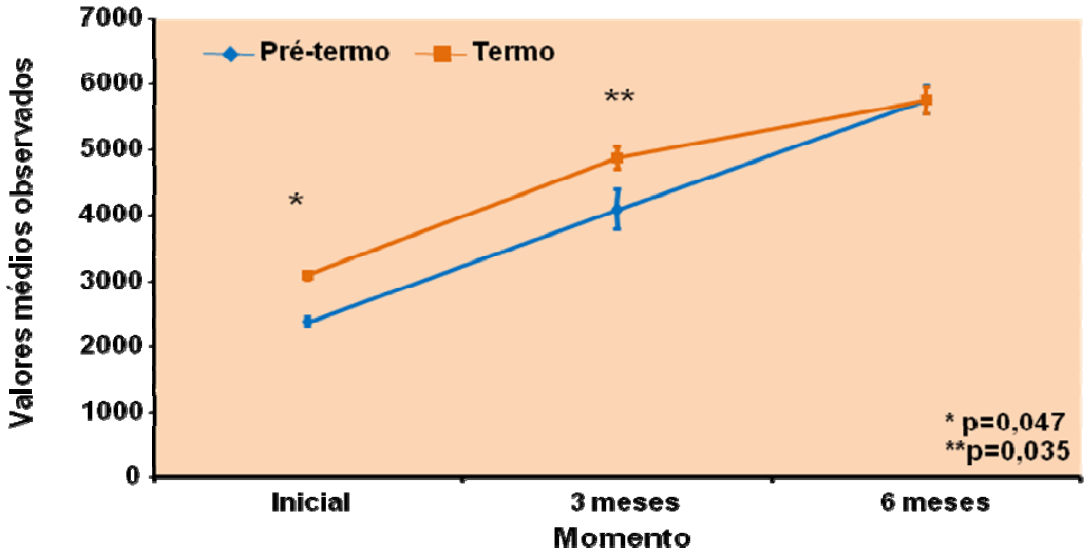


Gráfico 4. Perfil médio da massa magra e respectivos erros padrões segundo grupos (Pré-termo vs Termo), com 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida.

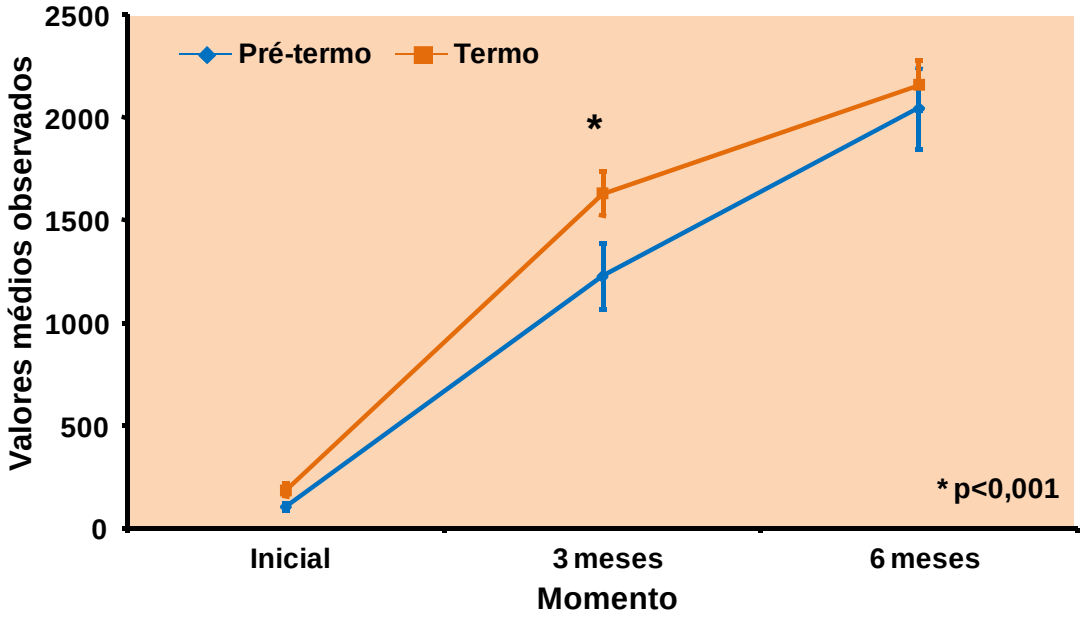


Gráfico 5. Perfil médio da gordura e respectivos erros padrões segundo grupos (Pré-termo vs Termo), com 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida.

A tabela 11 mostra que a estatura, a gordura e o percentual de gordura possuem comportamentos semelhantes ao longo do tempo nos dois grupos de RN (p> 0,05), porém a gordura e o percentual de gordura são em média iguais nos dois grupos (p= 0,088 e p= 0,177 respectivamente) e variam ao longo do tempo (p< 0,001 e p< 0,001). A medida da estatura é em média estatisticamente maior no RN de termo (p< 0,001) além de variarem entre os momentos (p<0,001). Já o peso, a área óssea, o BMC, o BMD e a massa magra não apresentam o mesmo comportamento entre os grupos ao longo dos momentos (p<0,005, termo de interação), como pode ser visto na tabela 12.

Tabela 11. Resultados da ANOVA para as medidas estatura, gordura e percentual de gordura ao longo do tempo entre os grupos RNPT e RN de termo.

Variável	Fator	gl num.	gl den.	Valor F	p
Estatura (cm)	Grupo	1	26	28,3	**<0,001**
	Momento	2	46	431,6	**<0,001**
	Grupo*Momento	2	46	3,04	0,058
Gordura (g)	Grupo	1	26	3,14	0,088
	Momento	2	46	199,91	**<0,001**
	Grupo*Momento	2	46	1,29	0,286
Percentual de gordura (%)	Grupo	1	26	1,93	0,177
	Momento	2	46	166,01	**<0,001**
	Grupo*Momento	2	46	0,41	0,666

gl num.= graus de liberdade numerador gl den.= graus de liberdade denominador

Tabela 12. Resultados da ANOVA para as medidas ao longo do tempo entre os grupos RNPT e RN de termo.

Variável	Fator	gl num.	gl den.	Valor F	p
Peso (Kg)	Grupo	1	26	21,9	**<0,001**
	Momento	2	46	616,08	**<0,001**
	Grupo*Momento	2	46	4,88	**0,012**
Área óssea (cm2)	Grupo	1	26	33,27	**<0,001**
	Momento	2	46	605,07	**<0,001**
	Grupo*Momento	2	46	5,58	**0,007**
BMC (g)	Grupo	1	26	36,18	**<0,001**
	Momento	2	46	497,55	**<0,001**
	Grupo*Momento	2	46	3,48	**0,039**
BMD (g/cm2)	Grupo	1	26	39,97	**<0,001**
	Momento	2	46	199,24	**<0,001**
	Grupo*Momento	2	46	25,97	**<0,001**
Massa magra (g)	Grupo	1	26	8,71	**0,007**
	Momento	2	46	210,13	**<0,001**
	Grupo*Momento	2	46	3,94	**0,026**

BMC= conteúdo mineral ósseo BMD= densidade mineral óssea

gl num.= graus de liberdade numerador gl den.= graus de liberdade denominador

Tabela 13. Comparações múltiplas de Tukey do peso, BMC, BMD e massa magra entre os grupos (RNPT e RN de termo) às 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida respectivamente.

Variáveis	Comparação RNPT vs RNT (idade)	Diferença média	Erro padrão	gl	Valor t	p
Peso (kg)	Inicial	-1,01	0,21	46	-4,74	**<0,001**
	3 meses	-1,02	0,22	46	-4,53	**0,001**
	6 meses	-0,32	0,22	46	-1,44	0,701
BMC (g)	40 semanas	-28,96	5,60	46	-5,17	**<0,001**
	3 meses	-33,67	5,95	46	-5,66	**<0,001**
	6 meses	-16,95	5,76	46	-2,94	0,054
BMD (g/cm^2)	Inicial	-0,057	0,006	46	-9,43	**<0,001**
	3 meses	-0,024	0,006	46	-3,68	**0,008**
	6 meses	-0,010	0,006	46	-1,58	0,618
Massa magra (g)	Inicial	-707,300	235,850	46	-3	**0,047**
	3 meses	-789,230	252,980	46	-3,12	**0,035**
	6 meses	-11,331	243,900	46	-0,05	1,000

Inicial = 40 semanas de idade gestacional corrigida
BMC= conteúdo mineral ósseo BMD= densidade mineral óssea
RNPT= RN pré-termo (grupo estudo) RNT= RN de termo (grupo controle)
gl= graus de liberdade

Através das comparações múltiplas de Tukey de peso, BMC, BMD e massa magra entre os grupos e os momentos (40 semanas de idade gestacional corrigida, 3 e 6 meses de idade corrigida pós-natal) observou-se que as médias dos RN diferem entre os grupos nos dois momentos iniciais ($p<0,05$) sendo exceção aos 6 meses de idade corrigida onde os RNPT e os RN de termo apresentam estatisticamente as mesmas médias para peso ($p=0,701$), para o BMC ($p= 0,054$), para o BMD ($p= 0,618$) e para a massa magra ($p> 0,999$) conforme podem se vistos na tabela 13.

Tabela 14. Comparações múltiplas de Tukey da estatura, independente do grupo, entre os momentos: 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida.

Comparação	Diferença média	Erro padrão	gl	Valor t	p
Inicial vs 3 meses	-11,04	0,63	48	-17,55	**<0,001**
Inicial vs 6 meses	-19,05	0,68	48	-27,93	**<0,001**
3 meses VS 6 meses	-8,01	0,64	48	-12,45	**<0,001**

Inicial = 40 semanas de idade gestacional corrigida

Pela tabela 14, observa-se que a estatura média dos RN aumenta estatisticamente independente do grupo ($p<0,05$).

Tabela 15. Comparações múltiplas de Tukey da área óssea entre os grupos (RNPT e RN de termo) às 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida respectivamente.

Variável	Comparação RNPT vs RNT (idade)	Diferença média	Erro padrão	gl	Valor t	p
Área Óssea (cm^2)	Inicial	-78,56	17,40	46	-4,51	**0,001**
	3 meses	-111,27	18,18	46	-6,12	**<0,001**
	6 meses	-53,73	17,87	46	-3,01	**0,046**

Inicial = 40 semanas de idade gestacional corrigida

A tabela 15 mostra que a área óssea média dos RN é estatisticamente diferente em qualquer grupo ou momento, sendo o RN de termo sempre maior em área do que o RNPT ($p<0,05$).

Tabela 16. Comparações múltiplas de Tukey da gordura e percentual de gordura, independente do grupo, entre os momentos: 40 semanas de idade gestacional corrigida (inicial), aos 3 e 6 meses de idade pós-natal corrigida.

Variáveis	Comparação entre momentos	Diferença média	Erro padrão	gl	Valor t	p
Gordura (g)	Inicial vs 3 meses	-1285,98	104,52	48	-12,3	**<0,001**
	Inicial vs 6 meses	-1957,34	101,91	48	-19,21	**<0,001**
	3 meses vs 6 meses	-671,36	106,85	48	-6,28	**<0,001**
Percentual de gordura (%)	Inicial vs 3 meses	-18,17	1,31	48	-13,86	**<0,001**
	Inicial vs 6 meses	-21,45	1,28	48	-16,78	**<0,001**
	3 meses vs 6 meses	-3,28	1,34	48	-2,45	**0,047**

A tabela 16 mostra que a gordura média e o percentual médio de gordura aumentam estatisticamente ao longo do tempo independentemente do grupo de RN ($p<0,05$).

A comparação entre os RNPT e RNT mostrou que na avaliação inicial (40 semanas de idade gestacional corrigida) os RNPT tiveram valores de peso, BMC, BMD e massa magra significativamente menor em relação aos RNT. Contudo, estas diferenças desapareceram na avaliação aos 6 meses de idade pós-natal, quando todos os 4 parâmetros mostraram médias semelhantes.

6 DISCUSSÃO

Os recentes avanços na assistência neonatal melhoraram sensivelmente a sobrevida dos recém-nascidos pré-termo. Por outro lado, esses recém-nascidos estão expostos ao aparecimento de morbidades decorrentes do nascimento prematuro que interferem na sua nutrição adequada.

O crescimento e a maturação ósseos são elementos chave para um desenvolvimento normal dos recém-nascidos. Os fetos durante o último trimestre da gestação e as crianças nos primeiros meses de vida apresentam as maiores mudanças na composição corpórea: deposição de gordura, acréscimo da massa muscular e mineralização óssea (Rigo et al., 1998; Rawlings et al.,1999; Koo e Hockman, 2006). O suporte nutricional durante o seguimento desses recém-nascidos deve permitir o “catch-up” do crescimento e da mineralização.

Em um estudo de revisão realizado por Camelo e Martinez em 2005 sobre a nutrição de recém-nascidos pré-termo foi relatada uma morbidade elevada, durante o período hospitalar, caracterizada por hipotensão, hipoxia, acidose, infecção, cirurgias, além do uso rotineiro de drogas como os corticosteróides que podem limitar o seu crescimento. Fato semelhante ocorreu em nosso estudo, no qual o grupo de 14 RNPT apresentou também várias patologias como sepse neonatal (71,4%), enterocolite necrosante (14,3%) e displasia broncopulmonar (35,7%), conforme pode ser visto na Tabela 2.

A monitorização do crescimento é essencial e tem sido uma rotina em todos os serviços de neonatologia. Idealmente, a nutrição do RNPT deveria garantir um crescimento semelhante ao intra-uterino, entretanto é sabido que este ideal é difícil de ser atingido. A nutrição destes pacientes representa um desafio constante devido às condições especiais dessas crianças como metabolismo acelerado, diminuição de reservas orgânicas, imaturidade do sistema digestivo e capacidade reduzida de adaptação frente a situações de sobrecarga hidroeletrolítica.

O leite humano traz enormes benefícios na alimentação do RNPT, no entanto na literatura há controvérsia se o seu uso exclusivo estaria associado a um ritmo de crescimento adequado. O emprego do leite humano com suplementação tem sido bastante discutido e utilizado por vários serviços principalmente na nutrição do recém-nascido de muito baixo peso ao nascer. Em nosso estudo, durante o período de internação, todos os recém-nascidos foram alimentados com leite materno ou com leite de banco de leite, sendo realizada a suplementação apenas para os recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer (35% dos RNPT). Após a alta hospitalar, todos os recém-nascidos estavam em aleitamento materno exclusivo durante os primeiros seis meses de vida, o que proporcionou um bom crescimento ósseo. Uma pequena proporção de RNPT (21,4%) recebeu também solução oral de cálcio e de fósforo, por apresentarem exames laboratoriais sugestivos da Síndrome da Deficiência de Fósforo (Tabelas 3, 7 e 8).

No Brasil, este foi o primeiro estudo realizado sobre composição corpórea de recém-nascidos, através da densitometria óssea, com o uso de leite materno e de banco de leite humano, sem a utilização concomitante de fórmulas lácteas.

Atualmente, é inquestionável a preferência pelo uso do leite da própria mãe do pré-termo para uma nutrição adequada. Entretanto, à medida que se prolonga a internação, aumenta a dificuldade materna em participar diariamente dos cuidados ao seu filho.

Historicamente, o incentivo ao aleitamento trouxe a mãe para dentro da Unidade Neonatal, estimulando-a a participar ativamente na alimentação de seu recém-nascido, mesmo nas fases mais difíceis nas quais ele não está podendo ser alimentado ao seio. Este envolvimento materno com o pré-termo foi um estímulo positivo à manutenção da lactação, apesar do baixo peso e da imaturidade presentes em nossos pacientes, conforme pode ser visto na Tabela 4.

Uma das técnicas utilizadas em nosso estudo, para o incentivo ao aleitamento, foi o Método Canguru, que parece promover melhor desenvolvimento e bem estar das crianças, além de propiciar uma maior produção de leite e maior duração do aleitamento (Feldman et al., 2002).

O contato pele a pele no Método Canguru proporciona uma maior proximidade entre a mãe e a criança, durante um período no qual é comum ocorrer um afastamento entre elas. A técnica oferece um melhor estímulo ao recém-nascido com melhora no seu estado de alerta, desenvolvimento mental e motor. Contribui tanto para a sua organização neurofisiológica

como também, indiretamente no comportamento dos pais, melhorando a percepção sobre o desenvolvimento de seu filho e a interação entre eles. Outro aspecto psicobiológico é a maior produção de ocitocina, hormônio liberado durante o trabalho de parto e na amamentação, assim como durante o contato, o toque e o carinho. O contato pele a pele estimula a liberação de ocitocina levando a um aumento do volume de leite produzido pela mãe (Feldman et al., 2002).

Neste estudo, os RNPT foram alimentados, sempre que possível, com leite humano da própria mãe, entretanto, quando o volume não era suficiente, este era complementado com o leite de doadora. Esta prática favoreceu o consumo de leite humano exclusivo aos recém-nascidos e contribuiu para a manutenção do estímulo à lactação destas mães, mesmo estando afastadas de seus filhos. Apesar do longo período de hospitalização, estes recém-nascidos receberam alta em aleitamento exclusivo, sendo mantido o incentivo à amamentação no seguimento ambulatorial durante pelo menos os primeiros seis meses de vida.

A presença de um banco de leite humano no serviço facilitou a realização deste estudo. Embora a maioria do leite doado fosse de mulheres que tiveram parto a termo, sempre procurávamos selecionar aquele de maior valor calórico para a nutrição dos RNPT, favorecendo um maior aporte calórico-proteico e, portanto, um melhor desenvolvimento da matriz óssea e ganho de peso.

Segundo a literatura (Tanaka et al., 2006), o suporte nutricional do prematuro deve ser precoce, sendo desejável um rápido início de nutrição

enteral e o uso limitado de nutrição parenteral, de maneira que, no final da primeira semana, o RNPT esteja recebendo volumes médios de dieta enteral de 140 ml/kg/dia e com ganho de peso satisfatório. Em nosso estudo, os RNPT receberam dieta enteral mínima precocemente, o que tornou possível a suspensão rápida da nutrição parenteral em um tempo médio de 12 dias com o alcance de uma oferta de leite enteral da ordem de 180-200 ml/kg/dia, na segunda semana de vida.

TIPOS DE DIETA E CONTEÚDO MINERAL ÓSSEO

Mais recentemente Rigo e Senterre (2006) sugeriram a realização de uma revisão das recomendações atuais sobre o conteúdo de minerais administrados aos recém-nascidos em aleitamento materno ou presentes nas fórmulas. Os autores publicaram que, segundo recentes conhecimentos sobre a fisiologia pós-natal do tecido ósseo, para a adaptação pós-natal do prematuro, embora apresente ritmo acelerado de remodelação óssea**,** provavelmente seja necessário um menor aporte de minerais. Acredita-se que existam diferenças entre o processo de formação óssea intra-uterina e o pós-natal. Considerando que uma retenção de cálcio da ordem de 60 a 90mg/Kg/dia seja suficiente para não ocorrer sintomas de osteopenia, a oferta mineral de 100 a 150 mg/Kg/d de Ca e 60 a 75 mg/Kg/d de P seriam suficientes na dieta.

Ao nascimento, ocorre a interrupção do aporte de nutrientes através da placenta, havendo uma diminuição do Ca e do P disponíveis para a mineralização óssea, comparada ao aporte mineral do último trimestre

gestacional. O recém-nascido de termo passa então a receber um aporte menor de Ca e P no leite materno, embora o seu ganho de peso continue sendo de 30g/dia.

O recém-nascido apresenta após o nascimento uma adaptação do esqueleto com um aumento na reabsorção da porção interna dos ossos. A densidade dos ossos longos, tais como a diáfise do fêmur, diminui em cerca de 30% nos primeiros seis meses de idade. Isto se deve ao aumento da cavidade da medula óssea. No recém-nascido de termo estas alterações são chamadas de “Osteopenia fisiológica da infância”, não havendo aumento da fragilidade óssea. Essas alterações são traduzidas pelas medidas de densidade mineral óssea, que após um acréscimo observado no final da gestação, apresentam uma rápida redução durante os primeiros meses de vida. Após este período, o processo se estabiliza até o final do primeiro ano de vida (Rigo e De Curtis, 2006).

No recém-nascido pré-termo, a interrupção do aporte de minerais resulta em um menor conteúdo e densidade mineral ósseos, em relação ao RN de termo, que persiste até mesmo quando atingem 40 semanas pós-concepcionais. Este processo chamado de “Osteopenia do pré-termo”, entretanto, diferente do que acontece no termo, leva a um aumento na fragilidade óssea e risco de fraturas (Rigo e De Curtis, 2006).

Os mecanismos de adaptação esquelética pós-natais não são totalmente conhecidos, mas é questionável se as necessidades minerais no prematuro são iguais às necessidades fetais na mesma idade pós-concepcional. O esqueleto destas crianças se adapta ao estímulo de

remodelação e às necessidades mecânicas, dois fatores que podem reduzir as necessidades nutricionais de minerais. Segundo Rigo e De Curtis (2006), a incidência de desmineralização óssea diagnosticada pela DXA realizada quando o prematuro atinge o termo é maior que 50% nos recém-nascidos de muito baixo peso e próxima de 100% nos RN com peso ao nascer inferior a 1000g.

No presente estudo, a análise da evolução das medidas de área óssea, conteúdo mineral ósseo (BMC) e densidade mineral óssea (BMD), descritos nas Tabelas 9 e 10, dos RNPT e RNT, considerando os três momentos: quarenta semanas de idade gestacional corrigida, três meses e seis meses de idade pós-natal corrigida, mostrou no RNPT comportamento semelhante nas três medidas e valores inferiores aos obtidos nos RNT com quarenta semanas de idade gestacional corrigida, caracterizando-se uma menor mineralização óssea a qual foi sendo corrigida em decorrência de uma aceleração importante do crescimento para atingir valores semelhantes àqueles observados no RN de termo aos seis meses de idade pós-natal corrigida (Tabelas 12, 13 e 15). Os gráficos 1 a 3 mostram o mesmo comportamento em relação às medidas de peso, BMC e BMD ao longo do tempo.

A osteopenia destes recém-nascidos parece ser uma doença que se resolve com bom aporte nutricional, incluindo somente o aleitamento materno, havendo um rápido “catch-up” na mineralização.

Pelos recentes estudos, a DXA se tornou uma técnica de referência, reconhecida como de precisão e acurácia, não invasiva, para avaliação do

conteúdo mineral, da composição do corpo inteiro e dos efeitos dos regimes dietéticos sobre o ganho de peso e a incorporação mineral nos RNPT. A validação da sua utilização para os recém-nascidos reforça o seu uso cada vez maior em pediatria.

O efeito da suplementação no leite humano ou nas fórmulas lácteas na mineralização óssea do RNPT tem sido investigado por vários autores com resultados controversos. Schepper et al. em 2005 estudaram a mineralização óssea em 34 RNPT na alta hospitalar a fim de avaliar se a utilização de leite humano suplementado ou fórmula láctea para pré-termo levariam a resultados diferentes. Os exames de DXA foram realizados na 5ª semana de vida, período no qual as crianças haviam apresentado recuperação da perda de peso inicial e provavelmente um acréscimo mineral ósseo. Os autores não constataram diferenças nos dois esquemas dietéticos com relação à mineralização óssea. Os autores também estudaram a influência do sexo e do uso de medicamentos como diuréticos e corticosteróides e também não observaram diferença nos resultados da DXA.

No nosso estudo, analisamos o uso de apenas um tipo de leite, o humano, que como já foi apresentado anteriormente, proporcionou resultados adequados ao acréscimo mineral ósseo. Foi avaliado também um número semelhante de meninos e de meninas nos grupos estudo e grupo controle (Tabela 1), além disso, o uso de medicamentos ocorreu em uma parcela pequena de pacientes, sendo o uso de diuréticos significativamente maior nos RNPT em relação aos RNT ($p=0,016$), porém o uso de

corticosteróides não mostrou diferença significativa (p=0,098) tendo sido usado em 28,6% dos RNPT (Tabela 3).

Faerk et al. (2000) avaliaram o efeito da suplementação mineral do leite humano com duas soluções diferentes (solução de cálcio e fósforo ou suplemento com multicomponentes) e compararam o uso de leite suplementado com o uso de fórmulas especiais para o PT. Através da DXA, realizada em 152 RNPT ao atingirem a idade gestacional de termo, observaram que não houve diferença na mineralização entre os dois tipos de suplementos do leite humano como também não houve diferença entre os RN que receberam fórmula e aqueles que receberam leite da própria mãe suplementado. Entretanto, um estudo como este onde uma parte dos pacientes utiliza apenas a fórmula láctea é excepcional, pois envolve razões éticas, uma vez que a maioria das mães ordenha o seu próprio leite para o prematuro.

Em 2009, Martins e Krebs, publicaram estudo cujo objetivo foi comparar o ganho pôndero-estatural e a frequência de complicações clínicas em 40 RNPT com peso inferior a 1500g alimentados exclusivamente com leite humano da própria mãe, com e sem aditivo, até que atingissem o peso de 1800g. O estudo mostrou que o leite materno suplementado proporcionou melhor crescimento em relação ao leite materno sem suplemento. Embora os autores tenham avaliado o uso de leite humano exclusivo, não tiveram como nós, o objetivo de analisar o conteúdo mineral ósseo.

Em nosso estudo, 35% dos RNPT receberam o suplemento no leite humano (FM 85®) durante a internação, pois apresentavam peso inferior a

1500 gramas, e uma pequena proporção de crianças (três RNPT) recebeu suplementação com solução oral de cálcio e fósforo (21,4%) nos primeiros seis meses de acompanhamento devido à presença de exames urinários alterados.

Dentre os três RN que receberam suplementação com Ca e P, dois deles evoluíram com resultados de BMC e de BMD semelhantes entre si e também em relação aos demais prematuros do estudo, pois apresentaram valores abaixo da média com quarenta semanas de idade gestacional corrigida e aos três meses de idade pós-natal corrigida, normalizando-se aos seis meses. O terceiro caso permaneceu com BMC e BMD abaixo da média até os seis meses de idade pós-natal corrigida.

Os estudos até então publicados mostram que o leite humano com suplemento proporciona um aumento do ganho de peso em curto prazo. Entretanto, estes estudos não foram suficientes para avaliar o desenvolvimento em longo prazo, não sendo possível estabelecer evidências suficientes de benefícios ou de efeitos indesejáveis após o primeiro ano de vida. Apesar do maior crescimento pôndero-estatural, observado em curto prazo nos RN que recebem o suplemento, seu uso apresenta limitações, já que o produto industrializado não permite a adequação da suplementação de acordo com a necessidade da criança. Sabe-se que a variação na composição protéica do leite materno pode influenciar o crescimento do RNPT (Aprile, 2006). Além disso, a suplementação padronizada pode resultar em carência ou sobrecarga de

proteínas, associada à oferta calórica insuficiente. Podem ocorrer também problemas decorrentes de erro na diluição ou contaminação microbiana.

Alguns autores apresentam alternativas a esta rotina. Arslanoglu et al., em 2006, realizaram estudo prospectivo com 32 RNMBP e propuseram a suplementação ajustada. Esta consiste em aporte extra de proteínas à suplementação padrão, com controle da uréia nitrogenada. Os resultados mostram que a maior ingestão protéica melhora o crescimento do RN. Em nosso estudo não pudemos analisar o conteúdo protéico do leite materno, certamente esta análise seria de grande utilidade para adequação do aporte de nutrientes ao recém-nascido de muito baixo peso.

RESTRIÇÃO DE CRESCIMENTO INTRA-ÚTERO E CONTEÚDO MINERAL ÓSSEO

Estudos realizados por Lapillone et al. em 1997, comparando a DXA em recém-nascidos AIG e PIG, mostraram que os PIG apresentam medidas de BMC inferiores aos AIG. Akcankus et al. em 2006 e Beltrand et al. em 2008, obtiveram resultados semelhantes, sendo a restrição de crescimento intrauterino (RCIU) uma causa de redução do BMC mesmo quando o peso de nascimento era adequado para a idade gestacional.

Avila-Diaz et al. publicaram estudo em 2001 que comparou o BMC em 34 RNPT com 48 RNT e encontrou menor BMC nos prematuros em relação aos recém-nascidos de termo na mesma idade gestacional, este déficit persistiu sem que os prematuros apresentassem um “catch-up” suficiente

para atingir os valores obtidos pelo RN de termo até os 6 meses de vida extra-uterina. Entretanto, dentre os recém-nascidos avaliados por estes autores a ocorrência de pequenos para a idade gestacional entre os RNPT foi de 35%, o que provavelmente influenciou nos resultados obtidos. Em nosso estudo, avaliamos apenas recém-nascidos adequados para a idade gestacional para que o fator RCIU não interferisse em nossos resultados.

ANÁLISE DA MASSA MAGRA

A massa magra, obtida pela densitometria óssea, representa a massa corpórea livre de gordura menos o conteúdo mineral ósseo, ou seja, a massa que representa os órgãos internos e os músculos.

As médias das medidas da massa magra obtidas nos RNPT e nos RNT podem ser vistas na Tabela 10 e seu comportamento ao longo do tempo foi semelhante às medidas de BMC e de BMD como podem ser vistos no gráfico 4 e nas Tabelas 12 e 13. Resultados semelhantes foram publicados por Rawlings et al. (1999), que verificou valores de massa magra inferiores no RNPT em relação ao valores de referência no RNT, mas que aumentaram de maneira semelhante ao peso e às medidas de mineralização óssea em seguimento realizado até doze meses de idade gestacional corrigida.

ANÁLISE DA ESTATURA, DA GORDURA E DO PERCENTUAL DE GORDURA

A medida da estatura é em média estatisticamente maior no RN de termo ($p<0,001$) e também varia nos diferentes momentos ($p<0,001$), conforme pode ser visto na Tabela 11. Pela Tabela 14, observa-se que a estatura média dos RN aumenta estatisticamente independente do grupo ($p<0,005$).

A análise da massa de gordura e do percentual de gordura nesse estudo mostrou que ambas aumentam estatisticamente ao longo do tempo (Tabela 16) e são em média iguais nos dois grupos ($p=0,088$ e $p=0,177$) exceto na idade de 3 meses quando o RNPT apresentou uma média menor em relação ao RNT (Tabela 11 e gráfico 5). Este comportamento não seria esperado visto que os RNPT apresentam ao completarem 40 semanas de idade gestacional corrigida um pequeno teor de gordura sendo modificado após a alta quando passam a ter maior deposição de gordura. Estes achados estão de acordo com observações de autores que acreditam que a DXA tende a superestimar a massa de gordura (Rawlings et al., 1999).

DXA DE ANTEBRAÇO X CORPO INTEIRO

Até 1997, os estudos de mineralização óssea através da DXA eram realizados com a análise do antebraço, a partir de então foram conduzidos com a avaliação do corpo inteiro que se mostraram mais adequados (Lapillone et al., 1997b).

Segundo Brunton et al. (1997) a DXA é um método que recentemente adquiriu novos programas e “softwares” desenvolvidos especificamente para avaliação do conteúdo mineral ósseo, densidade mineral óssea e massa magra do corpo inteiro na faixa etária pediátrica. Os autores compararam dois “softwares” (pediátrico e infantil) tanto experimentalmente em porcos de pequeno porte como também em recém-nascidos humanos e observaram que o “software” infantil (InfWB) teve melhor precisão com menor coeficiente de variação em relação ao pediátrico. Acreditam que o InfWB seja o mais indicado para estudos longitudinais levando em conta as mudanças esperadas na composição corpórea e a precisão do equipamento.

A DXA se tornou o método mais utilizado em pesquisas sobre a composição corpórea do recém-nascido. O “software” infantil tem sido o melhor para análise da mineralização óssea com precisão validada tanto para o recém-nascido pré-termo como o termo sendo superior ao “software pediátrico”. Segundo Picaud et al. (2002) esta escolha é de grande importância para a fidedignidade dos resultados. Os autores realizaram análise do BMC, do BMD e da área óssea do corpo inteiro em um grupo de 44 RN, sendo utilizado o “software” pediátrico em 24 RN e o “software” infantil nos outros 20 RN. Os resultados foram discordantes com relação ao BMD e à área óssea, sendo ambos subestimados quando se utilizou o “software” pediátrico.

Em 2003, Hammani et al., publicaram o primeiro estudo sobre composição corpórea e suas relações com parâmetros fisiológicos no recém-nascido utilizando uma nova técnica de DXA chamada “fan bean

DXA" (FB DXA). Anteriormente, utilizava-se a técnica "pencil bean" (PB DXA). Com a nova técnica houve melhora na precisão dos resultados e tornou possível a constatação de que o peso é o melhor parâmetro para se predizer a composição corpórea do RN.

Em nosso estudo, foram utilizados o "software" infantil e a técnica "fan bean" e a precisão foi avaliada através do coeficiente de variação e da mínima variação significativa. O coeficiente de variação para nosso estudo foi de 0,004 g/cm^2 ou 0,4%, e a mínima variação significativa foi de 1,2%, para o grupo de pacientes, usando o intervalo de confiança de 95%. Estes valores estão bastante adequados visto que na literatura o coeficiente de variação vai de 0,8 a 2,2% (Baim et al., 2005).

TIPO DE EQUIPAMENTO

Segundo a literatura, uma das vantagens do uso da densitometria óssea é a dose baixa de radiação administrada ao paciente. Acredita-se que a dose de radiação efetiva na criança seja maior que a do adulto devido à menor espessura do corpo, com maior exposição dos órgãos internos à radiação. Blake et al. (2006) realizaram um estudo utilizando quatro modelos diferentes de equipamentos de densitometria da marca Hologic (Discovery A, Discovery W, QDR 4500-A e QDR 4500-W). Para os modelos QDR foram realizados "upgrade" com o "software" Discovery. Para as crianças, foram realizados exames de corpo inteiro. Para os sistemas Discovery a dose de radiação foi 10% menor em relação aos modelos QDR 4500. Os aparelhos

de modelo A tiveram menor dose de radiação em relação aos modelos W. Para o RN, a dose de radiação efetiva foi de 8,9 μSV para o corpo inteiro e de 7,5 μSV para uma criança de um ano de idade. Apesar das doses baixas, elas costumam ser o dobro daquelas utilizadas para adultos. No nosso estudo, utilizamos o equipamento Discovery A, cuja dose de radiação é a menor possível, procurando sempre evitar erros na execução do exame para que não seja necessário repeti-lo.

INDICADORES BIOQUÍMICOS DA MINERALIZAÇÃO ÓSSEA

Os indicadores bioquímicos da mineralização óssea tais como a fosfatase alcalina, o fósforo e o cálcio séricos têm sido utilizados como uma forma fácil de identificar os recém-nascidos pré-termo com doença metabólica óssea a fim de orientação sobre a adequação da oferta de cálcio e fósforo da dieta. Entretanto, os autores não têm encontrado correlação entre o BMC e a fosfatase alcalina ou entre o BMC e o fósforo (Faerk et al., 2002).

Em nosso estudo, constatamos que os valores médios de cálcio e de fósforo séricos não diferiram entre os RNPT e os RNT. Por outro lado, a fosfatase alcalina foi em média estatisticamente maior no recém-nascido pré-termo ($p<0,001$) com quarenta semanas gestacionais corrigidas em relação ao termo, entretanto este valor médio no RNPT não foi superior a 1200UI/L (Tabela 5), valor considerado na literatura como sugestivo de DMO (Kovar et al., 1982). Na Tabela 5 podemos observar também que o valor

médio da fosfatase alcalina observado nos RNPT apresentou redução aos seis meses de idade corrigida.

A excreção do fósforo urinário é inversamente relacionada à excreção de cálcio urinário, a ausência de Ca e/ou de P na urina indica a deficiência do mineral e um máximo de reabsorção tubular como resposta ao aporte inadequado de minerais (Rigo e De Curtis, 2006). A presença simultânea de ambos os eletrólitos na urina pode se correlacionar com um acréscimo semelhante ao intra-uterino (Demarini, 2005).

Em nosso estudo, pudemos avaliar nos RNPT a excreção destes eletrólitos (Tabela 6). As determinações urinárias realizadas entre a terceira e a quarta semanas de vida pós-natal em todos os RNPT apresentaram valores médios normais. Entretanto três pacientes apresentaram valores indicativos de deficiência na ingesta (Tabela 7). Por outro lado, nem os valores de fosfatase alcalina e nem de fósforo séricos obtidos nos mesmos pacientes, apresentaram indicação de risco de DMO, mostrando a maior sensibilidade dos exames urinários (Tabela 7).

Assim, os parâmetros bioquímicos urinários (cálcio e fósforo) foram de utilidade para detecção precoce da hipofosfatúria e risco de deficiência mineral nos recém-nascidos pré-termo, entretanto por requererem coleta de urina de 6 horas, tornam difícil a investigação após a alta hospitalar. Além disso, mesmo os pacientes com exames urinários normais apresentaram à densitometria um conteúdo mineral ósseo inferior aos valores encontrados nos RNT mostrando que a densitometria óssea se constitui em um método sensível e que poderá ser utilizada para o seguimento destes RNPT.

Apesar da controvérsia entre os vários estudos foi possível constatar que os RNPT apresentam um crescimento e desenvolvimento adequados atingindo os mesmos parâmetros do RNT aos seis meses de idade corrigida desde que recebam uma nutrição adequada. Houve uma incidência baixa de Doença Metabólica Óssea, não sendo observada a presença de fraturas.

Tendo em vista os resultados do nosso estudo sugerimos, para uma melhor avaliação dos RNPT em relação ao risco de doença metabólica óssea, a realização dos exames de Ca e P urinários com a idade de três a cinco semanas de vida, e se necessário suplementação criteriosa de Ca e P, a fim de atingir uma oferta diária de Ca de 150 mg/kg e de P de 75 mg/kg, evitando deste modo, uma oferta excessiva destes minerais.

A realização da densitometria óssea (DXA) na idade gestacional corrigida de 40 semanas também é de grande importância para uma avaliação adequada da mineralização óssea do RNPT, para o planejamento da reposição mineral e o acompanhamento a curto e médio prazos, pelo menos durante o primeiro ano de vida. Sugerimos que seja realizada particularmente naqueles recém-nascidos, cujo peso ao nascer for inferior a 1500g, pois são os de maior risco para osteopenia.

Recomendamos a alimentação com leite materno ou humano exclusivo. Acreditamos que a suplementação do leite humano deva ser individualizada e criteriosa, conforme foi descrito neste estudo, no qual apenas três RN apresentaram a síndrome da hipofosfatemia e apenas cinco receberam suplemento no leite humano. Salientamos que aqueles que não

receberam a suplementação não apresentaram alterações nos parâmetros de mineralização óssea, tanto do conteúdo como da densidade mineral.

Neste estudo concluímos que a avaliação da mineralização óssea através da DXA do corpo inteiro pode ser utilizada em recém-nascidos pré-termo constituindo exame de excelência para detecção de alterações ósseas quando há risco de doença metabólica óssea.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo nos permitem concluir que:

- Os recém-nascidos pré-termo apresentaram menor conteúdo mineral ósseo, densidade mineral óssea e massa magra em relação aos recém-nascidos de termo, ao atingirem quarenta semanas gestacionais corrigidas.
- Houve uma aceleração suficiente para atingirem os níveis de conteúdo mineral ósseo, densidade mineral óssea e massa magra dos recém-nascidos de termo aos seis meses de idade corrigida.
- O uso do leite humano seja da própria mãe ou procedente do banco de leite pode proporcionar um crescimento ósseo adequado, nos recém-nascidos pré-termo, adequados para a idade gestacional, de modo semelhante ao do recém-nascido de termo durante os primeiros seis meses de vida.
- É possível realizar um estudo sobre composição corpórea de recém-nascidos através da DXA, sendo método não invasivo e de grande utilidade.
- A avaliação da mineralização óssea através da DXA do corpo inteiro pode ser utilizada em recém-nascidos pré-termo constituindo exame de excelência para detecção de alterações ósseas quando há risco de doença metabólica óssea.
- Os parâmetros bioquímicos ósseos séricos (cálcio e fósforo) na idade gestacional corrigida de quarenta semanas, nos recém-nascidos pré-

termo, não foram suficientes para indicar quais deles apresentavam alterações na mineralização óssea.

- A fosfatase alcalina sérica não se mostrou bom parâmetro para detecção precoce do risco de DMO na idade gestacional corrigida de quarenta semanas como também aos seis meses de idade pós-natal corrigida, tendo ocorrido grande variabilidade dos níveis.
- Os parâmetros bioquímicos ósseos séricos (cálcio, fósforo e fosfatase alcalina) na idade gestacional corrigida de quarenta semanas, nos RNPT comparados aos RNT não foram suficientes para indicar maior risco de alterações na mineralização óssea nos RNPT.
- Os parâmetros bioquímicos urinários (cálcio e fósforo) foram de utilidade para detecção precoce da hipofosfatúria, da ingesta inadequada de minerais e do risco de deficiência mineral nos recém-nascidos pré-termo. Entretanto, por requererem coleta de urina de 6 horas, tornam difícil a investigação após a alta hospitalar. Além disso, mesmo os pacientes com exames urinários normais apresentaram à densitometria um conteúdo mineral ósseo inferior aos valores encontrados nos RNT mostrando que a densitometria óssea se constitui em um método sensível e que poderá ser utilizada para o seguimento destes recém-nascidos pré-termo.

8 ANEXOS

ANEXO A

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS

ANEXO B

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

E

TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

São Paulo, 23 de janeiro de 2006.

Il^mo(a)^. S^r(a)^.
Dra. Maria Teresa Zulini da Costa
Divisão de Clínica Pediátrica
Hospital Universitário
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

REFERENTE: **Projeto de Pesquisa** "Avaliação da doença metabólica em recém-nascidos prematuros de baixo peso alimentados com leite humano através da densitometria óssea por dupla emissão de raios-X (DXA) e parâmetros bioquímicos ósseos".- **Registro CEP**: 583/05

Prezado(a) Senhor(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em reunião ordinária realizada no dia 20 de janeiro de 2006, analisou o projeto de pesquisa acima citado, considerando-o como **APROVADO**, bem como, seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final, em função da duração da pesquisa), de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, item IX.2 letra c.

O primeiro relatório está previsto para **20 de janeiro de 2007.**

Atenciosamente,

Dr. Mauricio Seckler
Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário da USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP
Avenida Professor Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – 05508-900 São Paulo – SP
Tels.: (11) 3039-9457 ou 9479 – Fax: (11) 3039-9452 - E-mail: cep@hu.usp.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO RN PRÉ-TERMO

Titulo do projeto de pesquisa – "*Avaliação da Doença Metabólica Óssea em recém-nascidos pré-termo de baixo peso alimentados com leite humano através da densitomentria óssea por dupla emissão de raios-X (DXA) e parâmetros bioquímicos ósseos*¨

Pesquisador – *Virginia Spinola Quintal*

Cargo/Função – *Médica* Inscrição Conselho Regional n° 40243

Área do HU – *Banco de Leite Humano*

Como integrante da equipe de pediatras do Berçário do Hospital Universitário da USP gostaria de contar com a sua colaboração para o desenvolvimento de um estudo sobre a determinação da mineralização óssea de recém-nascidos prematuros de baixo peso através de uma avaliação radiológica dos ossos (densitometria óssea) de seu filho (a).

Trata-se de um estudo que tem por objetivo detectar precocemente um problema que ocorre com frequência na mineralização dos ossos do prematuro para que possa ser tratado de forma adequada.

Serão também realizados exames de sangue e de urina que já constam da rotina do berçário do HU em crianças com os problemas clínicos iguais ao do seu filho (a).

A densitometria óssea será realizada no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Faculdade de Medicina da USP e tem como finalidade colaborar, junto com os outros exames, no diagnóstico e tratamento precoces do seu filho (a). Neste exame o paciente recebe uma radiação de 1 milirad, que é 6 vezes menor que a radiação de um raio-X simples de tórax, com risco mínimo.

Caso concorde em participar, você poderá ter a qualquer tempo informações sobre os procedimentos e serão esclarecidas as dúvidas que

surgirem. Será garantido o seu anonimato e sigilo dos dados coletados, que serão utilizados exclusivamente nesta pesquisa.

Será respeitada sua liberdade de opção quanto à participação ou continuidade neste trabalho, podendo desligar-se a qualquer momento, sem dano ou prejuízo da assistência prestada. Para eventuais problemas clínicos haverá atendimento no próprio HU/USP.

A duração da pesquisa será até o seu filho completar 6 meses de idade corrigida (6 meses após completar as 40 semanas gestacionais) e o acompanhamento até 1 ano de idade.

As dúvidas poderão ser esclarecidas junto à pesquisadora:

Dra Virginia Spinola Quintal

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária

Telefones: 30399409 – 30399252 – 85597665

E-mail: virginia@hu.usp.br

CEP-HU: Endereço: AV. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – CEP: 05508-900 – São Paulo – SP – Telefones: 3039-9457 ou 3039-9479 – E-mail: cep@hu.usp.br.

Dados de identificação do responsável legal pelo sujeito de pesquisa

Nome _____
Documento de identidade n° _____
Grau de parentesco _____
Sexo _____
Data de nascimento _____/_____/_____
Endereço _____n°_____apto_____
Bairro _____ Cidade _____
CEP _____ Telefone _____

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Projeto de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de 20_____

_____ _____

Assinatura do sujeito de pesquisa Assinatura do pesquisador

São Paulo, ___ de _____ de _____.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO RN DE TERMO

Titulo do projeto de pesquisa – "*Avaliação da Doença Metabólica Óssea em recém-nascidos pré-termo de baixo peso alimentados com leite humano através da densitomentria óssea por dupla emissão de raios-X (DXA) e parâmetros bioquímicos ósseos*¨

Pesquisador – *Virginia Spinola Quintal*

Cargo/Função – *Médica* Inscrição Conselho Regional n° 40243

Área do HU – *Banco de Leite Humano*

Como integrante da equipe de pediatras do Berçário do Hospital Universitário da USP gostaria de contar com a sua colaboração para o desenvolvimento de um estudo sobre a determinação da mineralização óssea de recém-nascidos através de uma avaliação radiológica dos ossos (densitometria óssea) de seu filho (a).

Trata-se de um estudo que tem por objetivo detectar precocemente um problema que ocorre na mineralização dos ossos do recém-nascido, mesmo que ele não pertença ao grupo de maior risco, para que possa ser tratado de forma adequada.

Serão realizados exames de sangue do cordão umbilical ao nascimento (sem a necessidade de coleta de sangue de seu filho ou filha) e exames de densitometria óssea.

A desitometria óssea será realizada no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Faculdade de Medicina da USP e tem como finalidade colaborar, junto com os outros exames, no diagnóstico e tratamento precoces do seu filho (a). Neste exame o paciente recebe uma radiação de 1 milirad, que é 6 vezes menor que a radiação de um raio-X simples de tórax, com risco mínimo.

Caso concorde em participar, você poderá ter a qualquer tempo informações sobre os procedimentos e serão esclarecidas as dúvidas que

surgirem. Será garantido o seu anonimato e sigilo dos dados coletados, que serão utilizados exclusivamente nesta pesquisa.

Será respeitada sua liberdade de opção quanto à participação ou continuidade neste trabalho, podendo desligar-se a qualquer momento, sem dano ou prejuízo da assistência prestada. Para eventuais problemas clínicos haverá atendimento no próprio HU/USP.

A duração da pesquisa será até o seu filho completar 1 ano de idade.

As dúvidas poderão ser esclarecidas junto à pesquisadora:

Dra Virginia Spinola Quintal

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária

Telefones: 30399409 – 30399252 – 85597665

E-mail: virginia@hu.usp.br

CEP-HU: Endereço: AV. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – CEP: 05508-900 – São Paulo – SP – Telefones: 3039-9457 ou 3039-9479 – E-mail: cep@hu.usp.br.

Dados de identificação do responsável legal pelo sujeito de pesquisa

Nome _____
Documento de identidade n° _____
Grau de parentesco _____
Sexo _____
Data de nascimento _____/_____/_____
Endereço _____n°_____apto____
Bairro _____Cidade_____
CEP _____ Telefone _____

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Projeto de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de 20_____

_____ _____

Assinatura do sujeito de pesquisa Assinatura do pesquisador

São Paulo, ___ de _____ de _____.

ANEXO C

COMPOSIÇÃO DO LEITE MATERNO ACRESCIDO COM FM 85® A 5%

Composição do leite materno acrescido de FM 85® a 5% (5g FM85+100ml LM)

Nutrientes	*Unidade*	*FM85/g*	*1g FM85/ 20mlLM*	*5g FM85/ 100mlLM*	*100mlLM*
Valor energético	Kcal	3,5	17	85	67
Carboidratos	g	0,66	2,1	10,5	7
Proteínas	g	0,2	0,44	2,2	1,2
Gorduras	g	0,005	0,77	3,85	3,8
Cálcio	mg	14	20	100	30
Ferro	mg	0,28	0,29	1,45	0,06
Sódio	mg	4,2	7,2	36	15
Potássio	mg	8,3	19	95	55
Cloreto	mg	3,1	12	60	45
Fósforo	mg	8,6	12	60	15
Magnésio	mg	0,51	1,1	5,5	3
Iodo	µg	3,9	5,3	26,5	7
Cobre	µg	9,5	18	90	40
Zinco	mg	0,17	0,21	1,05	0,2
Selênio	µg	0,29	0,59	2,95	1,5
Manganês	µg	1,4	1,5	7,5	0,4
Vitamina A	µg RE	36	46	230	49,5
Vitamina D	µg	0,6	0,61	3,05	0,05
Vitamina E	mg α TE	0,47	0,55	2,75	0,4
Vitamina K	µg	0,97	1,0	5	0,3
Vitamina C	mg	2,2	3,2	16	5
Vitamina B1	mg	0,013	0,02	0,1	0,02
Vitamina B2	mg	0,03	0,04	0,2	0,04
Niacina	mg	0,21	0,25	1,25	0,2
Vitamina B6	mg	0,01	0,014	0,07	0,02
Ácido fólico	µg	10	11	55	5
Ácido	mg	0,09	0,13	0,65	0,2
Vitamina B12	µg	0,03	0,04	0,2	0,03
Biotina	µg	0,72	0,82	4,1	0,5
Osmolaridade	mosm			293	

LM = leite materno

Modificado de Informação Nutricional FM85 fórmula de nutrientes para recém-nascidos de alto risco.

www.nestle.com.br/nutricaoinfantil

ANEXO D

COMPOSIÇÃO DA NUTRIÇÃO PARENTERAL

Composição da Nutrição parenteral

Componente	Nome comercial
Aminoácidos 10%	**Aminosteril®**
Emulsão lipídica 20%	**Lipoariston®**
Cloreto de Potássio a 19,1% (2,6mEq/ml)	
Cloreto de Sódio a 20% (3,4mEq/ml)	
Fosfato de Potássio (2mEq/ml)	
Gluconato de Cálcio 10% (0,5 mEq/ml)	
Sulfato de Magnésio a 10% (0,8 mEq/ml)	
Solução de glicose a 50%	
Oligoelementos (Zn, Cu, MN, Cr)	**Ped-element®**
Polivitamínico	**Opoplex M.V.I. 12®**
Heparina sódica	**Liquemine®**

ANEXO E

COMPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO ORAL DE CÁLCIO E FÓSFORO

Composição da solução oral de cálcio e fósforo

- Gluconato de cálcio a 10% - 37,5 ml
- Fosfato dibásico de cálcio – 3,9 g
- Água destilada qsp – 150 ml

Esta solução contém 6mg de fósforo e 10 mg de cálcio em cada ml.

ANEXO F

TABELAS 17 A 21

Tabela 17. Comparações múltiplas de Tukey do peso entre os grupos e momentos.

Comparação		Diferença média	Erro Padrão	gl	Valor t	p
Pré-termo inicial vs	inicial 3 meses	-2,80	0,16	46	-17,28	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	inicial 6 meses	-5,03	0,19	46	-26,27	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo inicial	-1,01	0,21	46	-4,74	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 3 meses	-3,82	0,22	46	-17,44	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 6 meses	-5,35	0,22	46	-24,68	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	inicial 6 meses	-2,23	0,17	46	-13,34	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo inicial	1,79	0,22	46	8,18	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo 3 meses	-1,02	0,22	46	-4,53	**0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo 6 meses	-2,54	0,22	46	-11,45	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo inicial	4,02	0,22	46	18,55	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo 3 meses	1,21	0,22	46	5,45	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo 6 meses	-0,32	0,22	46	-1,44	0,701
termo inicial vs	termo 3 meses	-2,81	0,16	46	-17,31	**<0,001**
termo inicial vs	termo 6 meses	-4,33	0,19	46	-22,65	**<0,001**
termo 3 meses vs	termo 6 meses	-1,53	0,17	46	-9,15	**<0,001**

Inicial = 40 semanas de idade gestacional corrigida

A Tabela 17 mostra que o peso médio dos RN diferem entre os grupos e entre os momentos ($p < 0,05$) com exceção dos 6 meses em que os RN pré-termo e de termo apresentam estatisticamente a mesma média de pesos ($p = 0,701$).

Tabela 18. Comparações múltiplas de Tukey da área óssea entre os grupos e momentos.

Comparação		Diferença média	Erro Padrão	gl	Valor t	p
Pré-termo inicial vs	inicial 3 meses	-215,67	12,36	46	-17,45	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	inicial 6 meses	-367,60	14,91	46	-24,65	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo inicial	-78,56	17,40	46	-4,51	**0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 3 meses	-326,94	17,79	46	-18,37	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 6 meses	-421,33	17,64	46	-23,89	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	inicial 6 meses	-151,93	12,73	46	-11,93	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo inicial	137,11	17,79	46	7,71	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo 3 meses	-111,27	18,18	46	-6,12	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo 6 meses	-205,66	18,02	46	-11,41	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo inicial	289,04	17,64	46	16,39	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo 3 meses	40,65	18,02	46	2,26	0,233
Pré-termo 6 meses vs	termo 6 meses	-53,73	17,87	46	-3,01	**0,046**
termo inicial vs	termo 3 meses	-248,39	12,36	46	-20,1	**<0,001**
termo inicial vs	termo 6 meses	-342,77	14,91	46	-22,99	**<0,001**
termo 3 meses vs	termo 6 meses	-94,38	12,73	46	-7,41	**<0,001**

Inicial = 40 semanas de idade gestacional corrigida

A Tabela 18 mostra que a área óssea média dos RN são estatisticamente diferentes em qualquer grupo ou momento, sendo o de termo sempre maior em área do que o pré-termo ($p < 0,05$). A única exceção ocorre entre o pré-termo aos 6 meses e o de termo aos 3 meses ($p = 0,233$), porém esta comparação não apresenta relevância clínica.

Tabela 19. Comparações múltiplas de Tukey do BMC entre os momentos.

Comparação		Diferença média	Erro Padrão	gl	Valor t	p
Pré-termo inicial vs	inicial 3 meses	-52,59	4,56	46	-11,52	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	inicial 6 meses	-104,72	4,44	46	-23,57	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo inicial	-28,96	5,60	46	-5,17	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 3 meses	-86,26	5,78	46	-14,93	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 6 meses	-121,67	5,68	46	-21,41	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	inicial 6 meses	-52,13	4,67	46	-11,15	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo inicial	23,64	5,78	46	4,09	**0,002**
Pré-termo 3 meses vs	termo 3 meses	-33,67	5,95	46	-5,66	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo 6 meses	-69,08	5,86	46	-11,79	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo inicial	75,76	5,68	46	13,33	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo 3 meses	18,46	5,86	46	3,15	**0,032**
Pré-termo 6 meses vs	termo 6 meses	-16,95	5,76	46	-2,94	0,054
termo inicial vs	termo 3 meses	-57,31	4,56	46	-12,55	**<0,001**
termo inicial vs	termo 6 meses	-92,72	4,44	46	-20,86	**<0,001**
termo 3 meses vs	termo 6 meses	-35,41	4,67	46	-7,57	**<0,001**

Inicial = 40 semanas de idade gestacional corrigida

A Tabela 19 mostra que o BMC médio se iguala entre os grupos aos 6 meses ($p = 0,054$) e para os demais momentos a diferença média de BMC é estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Tabela 20. Comparações múltiplas de Tukey do BMD entre os grupos e momentos.

Comparação		Diferença média	Erro Padrão	gl	Valor t	p
Pré-termo inicial vs	inicial 3 meses	-0,053	0,005	46	-10,78	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	inicial 6 meses	-0,091	0,005	46	-19,02	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo inicial	-0,057	0,006	46	-9,43	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 3 meses	-0,076	0,006	46	-12,29	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 6 meses	-0,100	0,006	46	-16,42	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	inicial 6 meses	-0,038	0,005	46	-7,55	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo inicial	-0,004	0,006	46	-0,65	0,986
Pré-termo 3 meses vs	termo 3 meses	-0,024	0,006	46	-3,68	**0,008**
Pré-termo 3 meses vs	termo 6 meses	-0,048	0,006	46	-7,56	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo inicial	0,034	0,006	46	5,53	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo 3 meses	0,014	0,006	46	2,27	0,228
Pré-termo 6 meses vs	termo 6 meses	-0,010	0,006	46	-1,58	0,618
termo inicial vs	termo 3 meses	-0,020	0,005	46	-3,99	**0,003**
termo inicial vs	termo 6 meses	-0,044	0,005	46	-9,14	**<0,001**
termo 3 meses vs	termo 6 meses	-0,024	0,005	46	-4,8	**<0,001**

Inicial = 40 semanas de idade gestacional corrigida

A Tabela 20 mostra que o BMD médio dos RN pré-termo são estatisticamente iguais aos de termo apenas nos 6 meses (p = 0,618), sendo que aos 3 meses o BMD médio do RN pré-termo se iguala ao BMD do RN de termo no momento inicial (p = 0,986).

Tabela 21. Comparações múltiplas de Tukey da massa magra entre os momentos.

Comparação		Diferença média	Erro Padrão	gl	Valor t	p
Pré-termo inicial vs	inicial 3 meses	-1701,650	214,750	46	-7,92	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	inicial 6 meses	-3365,260	209,430	46	-16,07	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo inicial	-707,300	235,850	46	-3	**0,047**
Pré-termo inicial vs	termo 3 meses	-2490,880	244,560	46	-10,18	**<0,001**
Pré-termo inicial vs	termo 6 meses	-3376,590	239,910	46	-14,07	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	inicial 6 meses	-1663,610	219,490	46	-7,58	**<0,001**
Pré-termo 3 meses vs	termo inicial	994,350	244,560	46	4,07	**0,002**
Pré-termo 3 meses vs	termo 3 meses	-789,230	252,980	46	-3,12	**0,035**
Pré-termo 3 meses vs	termo 6 meses	-1674,940	248,480	46	-6,74	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo inicial	2657,960	239,910	46	11,08	**<0,001**
Pré-termo 6 meses vs	termo 3 meses	874,380	248,480	46	3,52	**0,012**
Pré-termo 6 meses vs	termo 6 meses	-11,331	243,900	46	-0,05	1,000
termo inicial vs	termo 3 meses	-1783,580	214,750	46	-8,31	**<0,001**
termo inicial vs	termo 6 meses	-2669,290	209,430	46	-12,75	**<0,001**
termo 3 meses vs	termo 6 meses	-885,710	219,490	46	-4,04	**0,003**

Inicial = 40 semanas de idade gestacional corrigida

Pela Tabela 21, tem-se que o valor médio da massa magra dos dois grupos de RN são estatisticamente iguais apenas aos 6 meses ($p > 0,999$).

9 REFERÊNCIAS

Akcakus M, Koklu E, Budak N, Kula M, Kurtoglu S, Koklu S. The relationship between birthweight, 25-hydroxyvitamin D concentrations and bone mineral status in neonates. *Ann Trop Paediatr.* 2006; 26(4):267-75.

Alkalay AL, Moghimi A, Vanderhal A, Simmons CF. Osteopenia of prematurity: practice guidelines for the clinician. *Neonatal Intensive Care*. 2003; 16(4):40-5.

Alves JANR, Luz J, Guerra KA, Santello LC, Zerwes N, Santos RSA. *Envelhecimento normal* [monografia]. Santa Catarina: Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Santa Catarina; 2005.

American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Nutrition needs of low-birth-weight infants. *Pediatrics*. 1985; 75(5):976-86.

Aprile MM. *Crescimento de recém-nascidos de muito baixo peso alimentados com leite de banco de leite humano selecionado segundo o valor calórico e protéico* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 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(10):614-21.

Ávila-Diaz M, Flores-Huerta S, Martinez-Muñiz I, Amato D. Increments in whole body bone mineral content associated with weight and length in

pre-term and full-term infants during the first 6 months of life. *Arch Med Res*. 2001; 32(4):288-92.

Backström MC, Kouri T, Kuusela A-L, Sievänen H, Koivisto A-M, Ikonen RS, Mäki M. Bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase and serum inorganic phosphate in metabolic bone disease of prematurity. *Acta Paediatr.* 2000; 89(7):867-73.

Backström MC, Mäki R, Kuusela A-L, Sievänen H, Koivisto A-M, Ikonen RS, Kouri T, Mäki M. Randomised controlled trial of vitamin D on bone density and biochemical indices in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1999; 80(3):F161-6.

Baim S, Wilson CR, Lewiecki EM. Precision assessment and radiation safety for dual-energy x-ray absorptiometry: position paper of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Densitom*. 2005; 8(4):371-8.

Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Ellers-Walsman BL, Lipp R. *J Pediatr.* 1991; 119(3):417-23.

Beltrand J, Alison M, Nicolescu R, Verkauskiene R, Deghmoun S, Sibony O, Sebag G, Lévy-Marchal C. Bone mineral contenta at birth is determined both by weight and fetal growth pattern. *Pediatric Res*. 2008; 64(1):86-90.

Blake GM, Naeem M, Boutros M. Comparison of effective dose to children and adults from dual X-ray absorptiometry examinations. *Bone.* 2006; 38(6):935-42.

Bikle DD. Regulation of bone mineral homeostasis: an integrated view. In: Favus MJ, editor. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1993. p. 76-80.

Binkovitz LA, Henwood MJ. Pediatric DXA: technique and interpretation. *Pediatric Radiol*. 2006; 37(1):21-31.

Bishop NJ, Dahlenburg SL, Fewtrell MS, Morley R, Lucas A. Early diet of preterm infants and bone mineralization at age five years. *Acta Paediatr.* 1996; 85(2):230-6.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 171 de 4 de setembro de 2006. Dispões sobre regulamento técnico para o funcionamento de bancos de leite humano. *Diário Oficial da União,* Brasília (DF). 2007 26 set [citado 05 maio 2007]. Disponível em: http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/search.php.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. *Recomendações técnicas para o funcionamento de bancos de leite humano*. 4a ed. Brasília; 2001.

Brunton JA, Weiler HA, Atkinson SA. Improvement in the accuracy of dual energy X-ray absorptiometry for whole body and regional analysis of body

composition: validation using piglets and methodologic considerations in infants. *Pediatric Res*. 1997; 41(4):590-96.

Bussab WO, Morettin PA. *Estatística básica*. 4a ed. São Paulo: Atual; 1987.

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

Catache M, Leone CR. Análise crítica dos aspectos fisiopatológicos, diagnósticos e terapêuticos da doença metabólica óssea em recém-nascidos de muito baixo peso. *J Pediatr (Rio J).* 2001;77(Supl. 1):S53-S62.

Catache M, Leone CR. Role of plasma and urinary calciuim and phosphorus measurements in early detection of phosphorus deficiency in very low birthweight infants. *Acta Paediatr.* 2003; 92(1):76-80.

Catache M. Doença metabólica óssea. In: Sociedade Brasileira de Pediatria. *PRORN* [online]. Rio de Janeiro: SBP; 2008 [citado 6 nov 2008]. Disponível em: http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=24&id_detalhe=1064&tipo=S

Congdon PJ, Horsman A, Ryan SW, Truscott JG, Durward H. Spontaneous resolution of bone mineral depletion in preterm infants. *Arch Dis Child.* 1990; 65(10 Spec no.):1038-42.

Conover WJ*. Practical nonparametric statistics*. 2nd ed. New York: J. Willey; 1980.

Cooke R, Hollis B, Conner C, Watson D, Werkman S, Chesney R. Vitamin D and mineral metabolism in the very low birth weight infant receiving 400 IU of vitamin D. *J Pediatr.* 1990; 116(3):423-8.

Crofton PM, Shrivastava A, Wade JC, Stephen R, Kelnar CJH, Lyon AJ, McIntosh N. Bone and collagen markers in preterm infants: relationship with growth and bone mineral content over the first 10 weeks of life. *Ped Research.* 1999; 46(5):581-7.

Dabezies EJ, Warren PD. Fractures in very low birth weight infants with rickets. *Clin Orthop Relat Relat Res.*1997; 335:233-9.

Daly JA, Ertinghausen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the centrifichem. *Clin Chem.* 1972; 18(3):263-65.

Demarini S. Calcium and phosphorus nutrition in preterm infants. *Acta Paediatr.* 2005; 94(Suppl 449):87-92.

Diggle PJ, Liang K, Zeger SL, editors. *Analysis of longitudinal data*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 2002.

Dubowitz LMS, Dubowitz V, Goldberg C. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr.* 1970; 77(1):1-10.

Faerk J, Petersen S, Peitersen B, Michaelsen KF. Diet and bone mineral content at term in premature infants. *Pediatr Res.* 2000; 47(1):148-56.

Faerk J, Peitersen B, Petersen S, Michaelsen KF. Bone mineralization in premature infants cannot be predicted from serum alkaline phosphatase or serum phosphate. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2002; 87(2):F133-6.

Feldman R, Eidelman AI, Sirota L, Weller A. Comparison of skin-to-skin (Kangaroo) and traditional care: parenting outcomes and preterm infant development. *Pediatrics.* 2002; 110(1):16-26.

Fewtrell MS. Bone densitometry in children assessed by dual x ray absorptiometry: uses and pitfalls. *Arch Dis Child.* 2003; 88(9):795-8.

Fonseca ASM, Szejnfeld VL, Terreri MT, Goldenberg J, Ferraz MB, Hilário MOE. Bone mineral density of the lumbar spine of Brazilian children and adolescents aged 6 to 14 years. *Braz J Med Biol Res*. 2001; 34(3):347-52.

Gitelman HJ. An improved procedure for the determination of calcium in biochemical specimens. *Ana Biochem.* 1967; 18:521-31.

Greer FR. Osteopenia of prematurity. Annu Rev Nutr. 1994; 14:169-85.

Hammami M, Koo WW, Hockman EM. Body composition of neonates from fan beam dual energy X-ray absorptiometry measurement. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2003; 27(6):423-6.

Harrison CM, Johnson K, McKechnie E. Osteopenia of prematurity: a national survey and review of practice. *Acta Paediatr.* 2008; 97(4):407-13.

Holm IA. Challenges in clinical assessment of bone density and quality in children. *Curr Opin Endocrinol Diabetes.* 2006; 13(1):15-20.

Horsman A, Ryan SW, Congdon PJ, Truscott JG, Simpson M. Bone mineral content and body size 65 to 100 weeks' postconception in preterm and full term infants. *Arch Dis Child*. 1989; 64(11):1579-86.

Jaffe MZ. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsaure in normalen Harn erzeugt und uber eine neue reaction des kreatinins. *Z Physiol Chem*. 1886; 10:391-400 (Ger).

Klein CJ. Nutrient requirements for preterm infant formulas. *J Nutr*. 2002; 132(6 Suppl 1):1395S-1577S.

Koo WWK, Gupta JM, Nayanar VV, Wilkinson M, Posen AS. Skeletal changes in preterm infants. *Arch Dis Child*. 1982; 57(6):447-52.

Koo WWK, Hockman EM. Posthospital discharge feeding for preterm infants: effects of standard compared with enriched milk formula on growth, bone mass, and body composition. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84: 1357-64.

Kovar I, Mayne P, Barltrop D. Plasma alkaline phosphatase activity: a screening test for rickets in preterm neonates. *Lancet*. 1982; 1(8267):308-10.

Lapillonne AA, Glorieux FH, Salle BL, Braillon PM, Cambon M, Rigo J, Putet G, Senterre J. Mineral balance and whole body mineral content in very low-birth-weigth infants. *Acta Paediatr*. 1994; (Suppl 405):117-22.

Lapillonne A, Braillon P, Claris O, Chatelain PG, Delmas PD, Salle BL. Body composition in appropriate and in small for gestational age infants. *Acta Paediatr*. 1997; 86(2):196-200.

Lapillonne A, Braillon P, Delmas PD, Salle BL. Dual-energy X-ray absorptiometry in early life. *Horm Res*.1997; 48 (suppl 1):42-49.

Lazaretti-Castro M. Por que medir densidade mineral óssea em crianças e adolescentes? *J Pediatr (Rio J).* 2004; 80(6):439-40.

Lewiecki EM, Watts NB, McClung MR, Petak SM, Bachrach LK, Shepherd JA, Downs RW. Position Statement. Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(8):3651-55.

Litmanovitz I, Dolfin T, Friedland O, Arnon S, Regev R, Shainkin-Kestenbaum R, Lis M, Eliakim A. Early physical activity intervention prevents decrease of bone strength in very low birth weight infants. *Pediatrics.* 2003; 112(1 Pt 1):15-19.

Littner Y, Mandel D, Mimouni FB, Dollberg S. Bone ultrasound velocity curves of newly born term and preterm infants. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2003; 16(1):43-7.

Lucas A, Morley R, Cole TJ, Gore SM, Davis JA, Bamford MF, et al. Early diet in preterm babies and development status in infancy. *Arch Dis Child.* 1989; 64(11):1570-76.

Martins EC, Krebs VLJ. Effects of the use of fortified raw maternal milk on very low birth weight infants. *J Pediatr (Rio J).* 2009; 85(2):157-62.

McIntosh N, Livesey A, Brooke OG. Plasma 25-hydroxyvitamin D and rickets in infants of extremely low birthweight. *Arch Dis Child.* 1982; 57(11):848-50.

Miller ME. The bone disease of preterm birth: a biomechanical perspective. *Pediatric Res*. 2003; 53(1):10-5.

Moyer-Mileur LJ, Brunstetter V, McNaught TP, Gill G, Chan GM. Daily physical activity program increases bone mineralization and growth in preterm very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2000; 106(5):1088-92.

Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. *Applied linear statistical models*. 4th ed. Chicago: Irwing; 1996.

Picaud JC, Lapillonne A, Pieltain C, Reygrobellet B, Claris O, Salle BL, Rigo J. Software and scan acquisition technique-related discrepancies in bone mineral assessment using dual-energy X-ray absorptiometry in neonates. *Acta Paediatr*. 2002; 91(11):1189-93.

Pittard WB, Geddes KM, Sutherland SE, Miller MC, Hollis BW. Longitudinal changes in the bone mineral content of term and premature infants. *Am J Dis Child.* 1990; 144(1):36-40.

Pizauro Junior JM, Ciancaglini P, Macari M. Discondroplasia tibial: mecanismos de lesão e controle. *Rev Bras Cienc Avic*. 2002; 4(3):169-85.

Pohlandt F. Prevention of postnatal bone demineralization in very low-birth-weight infants by individually monitored supplementation with calcium and phosphorus. *Pediatric Res.* 1994; 35(1):125-29.

Ramos JLA. *Avaliação do crescimento intra-uterino por medidas antropométricas do recém-nascido* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1983.

Rawlings DJ, Cooke RJ, McCormick K, Griffin IJ, Faulkner K, Wells JCK, et al. Body composition of preterm infants during infancy. *Arch Dis Child Fetal Neonatol Ed.* 1999; 80(3):F188-91.

Rede Nacional de Bancos de Leite Humano. *Bancos de Leite no Brasil*: BLH-IFFNT-29.05.2005. Rio de Janeiro; 2005 [citado 20 jun 2009]. www.redeblh.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?tpl=home.

Rigo J, Nyamugabo K, Picaud JC, Gerard P, Pilltain C, De Curtis M. Reference values of body composition obtained by dual energy X-ray absorptiometry in preterm and term neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1998; 27(2):184-90.

Rigo J, De Curtis M, Pieltain C, Picaud JC, Salle BL, Senterre J. Bone mineral metabolism in the micropremie. *Clin Perinatol*. 2000; 27(1):147-70.

Rigo J, De Curtis M. Disorders of calcium, phosphorus and magnesium metabolism. In: Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC, editors*. Fanaroff and Martin´s neonatal-perinatal medicine diseases of the fetus and infant*. 8th ed. St. Louis: Mosby; 2006. p.1491-1523.

Rigo J, Senterre J. Nutritional needs of premature infants: current issues. *J Pediatr.* 2006; 149(5):S80-8.

Rowe JC, Goetz CA, Carey DE, Horak E. Achievement of in útero retention of calcium and phosphorus accompanied by high calcium excretion in very low birth weight infants fed a fortified formula. *J Pediatr.* 1987; 110(4):581-5.

Rubinacci A, Moro GE, Boehm G, Terlizzi F, Moro GL, Cadossi R. Quantitative ultrasound for the assessment of osteopenia in preterm infants*. Eur J Endocrinol*. 2003; 149(4):307-15.

Salle BL, Glorieux F. Assessment of bone mineral content in infants: the new age. *Acta Paediatr*. 1993; 82(10):709-10.

Schanler RJ. The use of human milk for premature infants. *Pediatr Clin North Am.* 2001; 48(1):207-19.

Schepper JD, Cools F, Vandenplas Y, Louis O. Whole body bone mineral content is similar at discharge from the hospital in premature infants receiving fortified breast milk or preterm formula. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005; 41(2):230-4.

Senterre J, Salle B. Renal aspects of calcium and phosphorus metabolism in preterm infants. *Biol Neonate.* 1988; 53(4):220-9.

Sharp MJ, Simmer K. Fracture and fortified breast milk in an extremely preterm infant. *J Paediatr Child Health*. 2003; 39(6):470-3.

Silva CC, Goldberg TBL, Teixeira AS, Dalmas JC. Mineralização óssea em adolescentes do sexo masculino: anos críticos para a aquisição da massa óssea. *J Pediatr (Rio J).* 2004; 80(6):406-7.

Sociedade Brasileira de Densitometria Clínica. *Posições oficiais 2006*. São Paulo; 2006 [citado 20 jun 2009]. Disponível em: www.sbdens.org.br/sbdens/pdf_posicoes_oficiais/218.pdf

Steichen JJ, Gratton TL, Tsang RC. Osteopenia of prematurity: the cause and possible treatment. *Pediatrics*. 1980; 96(3):528-34.

Tanaka A, Rugolo LMSS, Miranda AFM, Trindade CEP. Fractional sodium excretion, urinary osmolality and specific gravity in preterm infants fed with fortified donor human milk. *J Pediatr.* 2006; 62(5):335-40.

Tietz NW. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p.102-5, 186-7, 486.

Van der Sluis IM, Ridder MAJ, Boot AM, Krenning EP, Muinck Keizer-Schrama SMPF. Reference data for bone density and body composition measured with dual energy x ray absorptiometry in white children and young adults. *Arch Dis Child.* 2002; 87(4):341-7.

Vinagre RD, Diniz EMA. *O leite humano e sua importância na nutrição do recém-nascido prematuro*. São Paulo: Atheneu; 2001. p. 49-109: O prematuro.

Wauben IPM, Atkinson SA, Shah JK, Paes B. Growth and body composition of preterm infants: influence of nutrient fortification of mother's milk in hospital and breastfeeding post-hospital discharge. *Acta Paediatr.* 1998; 87(7):780-5.