HELDER CASSIO DE OLIVEIRA

**Perfil de incorporação de ácidos graxos em membranas de eritrócitos
de recém-nascidos prematuros recebendo nutrição parenteral com
diferentes emulsões lipídicas**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção de
título de Doutor em Ciências da Saúde.

Programa de Pediatria

Orientador: Dr. Mário Cícero Falcão

São Paulo

2014

HELDER CASSIO DE OLIVEIRA

**Perfil de incorporação de ácidos graxos em membranas de eritrócitos
de recém-nascidos prematuros recebendo nutrição parenteral com
diferentes emulsões lipídicas**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção de
título de Doutor em Ciências da Saúde

Programa de Pediatria
Orientador: Dr. Mário Cícero Falcão

**São Paulo
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Oliveira, Helder Cassio de

Perfil de incorporação de ácidos graxos em membranas de eritrócitos de recém-nascidos prematuros recebendo nutrição parenteral com diferentes emulsões lipídicas / Helder Cassio de Oliveira. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Pediatria.

Orientador: Mário Cícero Falcão.

Descritores: 1.Nutrição parenteral 2.Prematuro 3.Óleos de peixe 4.Ácidos graxos 5.Ácidos docosa-hexaenóicos 6.Lípídeos de membrana

À minha esposa e ao meu filho.

Dedico esta tese a minha esposa Ilkilene Taques e ao nosso filho Arthur Benigno, pois sem eles as conquistas não seriam tão satisfatórias. Obrigado pelo carinho e amor absoluto.

AGRADECIMENTO

Este espaço é dedicado a todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho. Não sendo possível citar a todos, há, no entanto, alguns a quem não posso deixar de manifestar o meu apreço e agradecimento sincero:

Agradeço, primeiramente, a Deus por me guiar todos os dias, por me dar forças para superar todas as dificuldades e me manter forte para seguir em frente;

À minha querida esposa por entender minhas ausências e pacientemente contribuir para a finalização deste trabalho;

Ao meu filho Arthur, que apesar de tenra idade muito me ajudou com seu sorriso inocente;

Especialmente aos pais e responsáveis pelos recém-nascidos que autorizaram a participação no estudo e confiaram em nossa equipe, meu sincero agradecimento;

Aos meus pais, Álvaro Gomes e Eunice Paiva, pois sempre incentivaram minha ânsia pelo saber;

Ao meu irmão Gustavo Henrique, e a minha prima irmã Fabíola Paiva, pessoas que estão longe do meu convívio, mas que amo muito;

A minha segunda família, minha sogra Ilka, meu sogro Camargo, minha cunhadinha Yasmin Taques, minha cunhada Ingridy Taques e meu concunhado Márcio Arruda, que sempre me apoiaram nas minhas decisões, meu eterno agradecimento por fazerem parte da minha vida;

Ao meu grande amigo Rafael Grigulo, que foi figura importante no meu mestrado, passo importante para esse doutorado;

Ao meu orientador, Mário Cícero Falcão, que apesar da distância sempre me apoiou, me incentivou e muito me ensinou;

À Prof^a. Dr^a. Nair Honda Kawashita, que além de ter disponibilizado seu laboratório permitindo, assim, a realização deste trabalho, será sempre minha eterna orientadora em tudo que fiz e que vou fazer;

À Prof^a Dr^a. Eliana Freire Gaspar de Carvalho Dore, que além de disponibilizar seu laboratório para a realização deste trabalho, dedicou seu precioso tempo para me auxiliar;

Ao Prof^o Dr^o Paulo Roberto Bezerra de Mello, por tornar real esse sonho de fazer um doutorado. Meu muito Obrigado, pelo apoio e dedicação a essa família do DINTER;

À Maisa Pavani dos Santos, meu eterno agradecimento, pela paciência, ensinamentos e dedicação. Sem a sua ajuda este trabalho não seria possível;

Ao Prof^o Elias Nogueira Peres, na época superintendente do Hospital Universitário Júlio Muller, que além de grande amigo, apoiou de forma incondicional esse trabalho, a você meu eterno agradecimento;

A todas as pessoas que trabalham no Laboratório de Bioquímica e no Laboratório de Resíduos de Pesticidas do Departamento de Química da UFMT, que sempre estiveram dispostos a me auxiliar;

A todos os funcionários, residentes e internos da UTI Neonatal, por estarem sempre prontos a me auxiliar;

Agradeço em especial, as residentes Roberta Martins de Almeida e Mônica Regina Marconi Zago Ribeiro Noche, que nunca mediram esforços para me auxiliar em tudo que fosse necessário;

Ao colega Odilson Marcondes Magalhães de Arruda, funcionário da UTI Neonatal que sempre esteve pronto em me atender;

A todos os funcionários do Laboratório de Análise Clínica do HUJM, por estarem sempre prontos a me auxiliar;

A todos os funcionários da Farmácia, por auxiliar neste meu estudo. Em especial agradeço aos farmacêuticos Eudes Antônio Pedroso, Maria Peixoto Côrrea da Costa, Maria Alice Fernandes, e Neusa Yuko Miyashita Negrão que manipularam todas as nutrições parenterais do estudo e a técnica Izaura Fernandes da Silva e Cid de Lara Pinto por auxiliarem nesse processo;

Meu eterno agradecimento a minha amiga, Neusa Yuko Miyashita Negrão, pelo auxílio e pelos conselhos nas horas mais difíceis;

Ao colega Ivair Donizete Gonçalves que colaborou fundamentalmente com suas análises estatísticas;

Às secretárias da Pós-Graduação do Departamento de Pediatria, agradeço por estarem sempre prontamente dispostas para me auxiliar no que fosse preciso;

Ao colega Nivaldo Lira Rocha, responsável pelo setor de reprodução gráfica do ICR.

Agradeço aos meus amigos que sempre estiveram do meu lado e, mesmo em longas distâncias, nossa amizade se manteve intacta e meu silêncio nunca foi motivo para que me deixasse no esquecimento;

Finalmente agradeço a todos os amigos e colegas que direta ou indiretamente fizeram parte desta minha trajetória. Que apesar de seus nomes não estarem escritos nesta celulose, estão gravados em meu coração. Muito obrigado!

E se alguma vez, nos degraus de um palácio, sobre as verdes ervas duma vala, na solidão morna do teu quarto, tu acordares com a embriaguez já atenuada ou desaparecida, pergunta ao vento, à onda, à estrela, à ave, ao relógio, a tudo o que se passou, a tudo o que gemeu, a tudo o que gira, a tudo o que canta, a tudo o que fala, pergunta-lhes que horas são: Eles te responderão é hora de embriagar-te de vinho, de poesia, de virtude, de conhecimento, mas embriaga-te.

(Adaptado de Charles Baudelaire)

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação 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. Divisão 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 F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xii
Lista de Siglas, Símbolos e Abreviaturas	xiii
Resumo.....	xv
Summary.....	xvi
1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Classificação e nomenclatura dos lipídeos	18
1.2. Ácidos graxos essenciais e seus derivados.....	24
1.3. Metabolismo dos ácidos graxos poli-insaturados no feto e no recém-nascido	26
1.4. Nutrição parenteral no recém-nascido pré-termo.....	28
1.5. A emulsão lipídica SMOFlipid 20%®	30
2. JUSTIFICATIVA	33
3. OBJETIVOS.....	35
3.1. Geral.....	35
3.2. Específico	35
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1. Critérios de inclusão	36
4.2. Critérios de exclusão	37
4.3. Alocação dos grupos	37
4.4. Análises laboratoriais.....	37
4.5. Análise estatística	40
5. RESULTADOS	41
6. DISCUSSÃO.....	53
6.1. Características clínicas.....	54
6.2. Perfil lipídico.....	55
6.3. Incorporação de ácidos graxos nas membranas dos eritrócitos.....	59
6.4. Considerações finais.....	63
7. CONCLUSÕES	65
8. ANEXOS.....	66
9. REFERÊNCIAS.....	74

Lista de Figuras

Figura 1	Fórmula geral do Glicerofosfolipídeos e a representação nominal de cada composto de acordo com a mudança do radical X.....	19
Figura 2	Fórmula geral do Esfingolipídeos e da esfingomileina.....	20
Figura 3	Principais Classes de lipídeos de membranas.....	21
Figura 4	Exemplos estruturais de ácidos graxos.....	23
Figura 5	Cadeia metabólica dos ácidos graxos essenciais.....	26
Figura 6	Composição das emulsões lipídicas.....	32
Figura 7	Delineamento do estudo – Análises Laboratoriais.....	39
Figura 8	Delineamento do estudo.....	43
Figura 9	Níveis de incorporação do ácido docosadienoico no grupo LIPOVENOS MCT 20%.....	52

Lista de Tabelas

Tabela 1	Características clínicas e demográficas dos recém-nascidos.	44
Tabela 2	Características da nutrição parenteral com as duas emulsões lipídicas no início (T_0) e no final do estudo (T_7)....	45
Tabela 3	Análises laboratoriais em ambos os grupos no 1º dia (T_0).....	46
Tabela 4	Análises laboratoriais do grupo SMOFLIPID 20% no início (T_0) e no final do estudo (T_7).....	47
Tabela 5	Análises laboratoriais do grupo LIPOVENOS MCT 20% no início (T_0) e no final do estudo (T_7).....	48
Tabela 6	Análises laboratoriais entre os grupos no 7º dia (T_7)....	49
Tabela 7	Comparação dos principais ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPCL) e dos ácidos graxos essenciais (AGE) no início do estudo (T_0) nos dois grupos.....	50
Tabela 8	Comparação dos principais ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPCL) e dos ácidos graxos essenciais (AGE) no final do estudo (T_0) nos dois grupos.....	51
Tabela 9	Ácidos graxos essenciais (AGE) e ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPCL) no início (T_0) e no final do estudo (T_7) no Grupo SMOFLIPID 20%.....	53

Lista de Siglas, Símbolos e Abreviaturas

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
µL	Microlitro
AA	Ácido Araquidônico
AGE	Ácidos Graxos Essenciais
AGPCL	Ácidos Graxos poli-insaturados de cadeia longa
ALT ou TGP	Alanina Aminotransferase
AST ou TGO	Aspartato Aminotransferase
DDT	Ditionito de sódio
DHA	Ácido Docosa-hexaenoico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
et al	E outros
GGT	Gama Glutamil Transferase
H₂SO₄	Ácido Sulfúrico
HDL	Lipoproteína de alta densidade
K₂CO₃	Carbonato de potássio
Kcal/g	Quilo calorias por grama
KHCO₃	Bicarbonato de potássio
LDL	Lipoproteína de baixa densidade

M	Metros
mg/dL	Miligramas por decilitro
mL/min	Milímetros por minuto
Mm	Milímetros
NaCl	Cloreto de sódio
NP	Nutrição Parenteral
Rpm	Rotações por minuto
TCL	Triglicerídeos de cadeia longa
TCM	Triglicerídeos de cadeia média
T_F	Tempo final
T_i	Tempo inicial
UI/L	Unidades Internacionais por Litro
v/v	Volume /volume
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
w/v	Peso por volume
ω	Letra grega ômega

Resumo

OLIVEIRA, HC de. *Perfil lipídico de recém-nascidos prematuros recebendo nutrição parenteral com emulsões lipídicas diferentes* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2014.

Introdução: Devido a diversos fatores, recém-nascidos prematuros, em sua maioria, necessitam de nutrição parenteral e uma fonte lipídica que possua um equilíbrio entre os variados tipos de ácidos graxos. SMOFlipid® 20%, uma nova emulsão lipídica pode ser mais adequada para esse equilíbrio. **Objetivo:** Avaliar o perfil de incorporação de ácidos graxos em eritrócitos de prematuros recebendo essa nova emulsão lipídica, comparada com outra emulsão baseada em óleo de soja. **Métodos:** Em um ensaio clínico controlado randomizado duplo cego avaliou-se 47 recém-nascidos pré-termo que receberam nutrição parenteral SMOFlipid® 20% (n=25) ou LIPOVENOS® MCT 20% (n=22). Foram avaliados parâmetros laboratoriais, clínicos, demográficos e o perfil de incorporação de ácidos graxos na membrana de eritrócitos. **Resultados:** Os parâmetros clínicos e demográficos como peso, perímetro cefálico, comprimento, idade gestacional e índice de Apgar não diferiram entre os grupos. Os valores de triglicerídeos e da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) foram estatisticamente maiores no grupo SMOFLIPID® 20%. Níveis de Aspartato aminotransferase (AST) foram menores em ambos os grupos e os níveis de bilirrubina total e frações não tiveram diferenças. A emulsão SMOFlipid® 20% aumentou os níveis dos ácidos docosa-hexaenoico DHA (C 22:6 ω 3) e Eicosapentaenoico EPA (C 20:5 ω 3) na membrana dos eritrócitos. **Conclusões:** Neste grupo de recém-nascidos pré-termos, essa nova emulsão lipídica, além de mostrar segurança, contribuiu para uma mudança benéfica no perfil de incorporação de ácidos graxos nas membranas celulares, principalmente DHA e EPA.

Descritores: nutrição parenteral, prematuro, óleo de peixe, ácidos graxos, ácido docosa-hexaenóico, lipídios de membrana.

Summary

OLIVEIRA, HC de. *Perfil lipídico de recém-nascidos prematuros recebendo nutrição parenteral com emulsões lipídicas diferentes* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2014.

Introduction: Due to several factors, premature newborn infants, in most cases, require parenteral nutrition and a lipid source with balance among the different types of fatty acids. SMOFlipid® 20%, a new lipid emulsion may be more appropriate for this balance. Objectives: To evaluate the profile of fatty acids incorporation in erythrocytes of premature newborn infants receiving this new lipid emulsion compared with an emulsion based on soybean oil.

Methods: In a randomized, controlled, double-blind clinical trial, 47 preterm newborn who received parenteral nutrition SMOFlipid® 20% (n=25) or Lipovenos MCT® 20% (n=22) were evaluated. Laboratorial, clinical and demographic parameters and the profile of incorporation of fatty acids in the erythrocyte membrane were evaluated. **Results:** The clinical and demographic parameters such as weight, head circumference, length, gestational age, and Apgar scores did not differ between the groups. The values of triglycerides and lipoprotein of very low density (VLDL) were statistically higher in the SMOFlipid® 20% group. Levels of aspartate aminotransferase (AST) were lower in both groups and levels of total bilirubin and fractions had no differences. The SMOFlipid® 20% emulsion increased the levels of the docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic (EPA) acid in the erythrocytes membrane. **Conclusions:** In this group of preterm newborn infants, this new lipid emulsion, besides showing security, contributed to a beneficial change in the incorporation profile of fatty acids cell membranes, especially DHA and EPA.

Keywords: parenteral Nutrition, Infant Premature, fish oil, fatty acids, docosahexaenoic acids, Membrane Lipids.

1. INTRODUÇÃO

Os lipídeos, também denominados vulgarmente como gorduras, constituem um grupo de biomoléculas que possuem uma enorme variedade de estruturas químicas, mas que exibem como característica que os definem, a hidrofobicidade, além de serem biossintetizados a partir da acetil coenzima A.¹

As funções biológicas dos lipídeos são tão amplas quanto a sua variedade química:²

- 1) Servem como a principal forma de armazenamento de energia, sendo o composto bioquímico mais calórico em animais;
- 2) São componentes estruturais das membranas celulares;
- 3) São componentes de sistema de transporte de elétrons no interior da membrana mitocondrial (ubiquinona);¹
- 4) Formam uma película protetora (isolante térmico) sobre a epiderme de muitos animais;
- 5) Alguns lipídeos têm papéis cruciais como cofatores enzimáticos, pigmentos que absorvem radiações luminosas, agentes emulsificantes, hormônios e mensageiros celulares;
- 6) Protetores de órgãos vitais;
- 7) Isolantes elétricos (lipídeos apolares);
- 8) Precursores de mediadores bioquímicos (leucotrienos, prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, etc.).

1.1. Classificação e nomenclatura dos lipídeos

Os lipídeos podem ser classificados como (1) lipídeos de armazenamento; (2) lipídeos estruturais de membranas; (3) lipídeos com outras funções, como moléculas sinalizadoras, cofatores e pigmentos.¹

Existem vários tipos de lipídeos que constituem as membranas celulares, e todas essas membranas possuem um caráter anfipático, ou seja, possuem um lado hidrofóbico e outro hidrofílico.¹

Os glicerofosfolipídeos possuem em sua parte hidrofóbica, dois ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol, e na parte hidrofílica uma ligação fosfodiéster (-PO₄) com o glicerol, seguido de um grupamento álcool, dependendo deste grupamento alcoólico, na Figura 1 representada pela letra X, ele receberá uma denominação.¹

Os esfingolipídeos, a segunda maior classe de lipídeos de membrana, são formados por molécula de ácido graxo de cadeia longa, ligado a uma molécula de aminoálcool conhecida como esfingosina, ou um de seus derivados, e uma parte polar, algumas vezes ligado por ligações glicosídicas e outras vezes por ligação fosfodiéster. De acordo com a mudança da estrutura desse grupo polar, ocorrem alterações no nome, por exemplo, no caso da Esfingomielina, presente principalmente nas mielinas, lâmina membranosa que reveste e isola os axônios em alguns neurônios; o grupo polar é uma fosfocolina ou fosfoetanolamina, conforme mostra a figura 2.¹

Figura 1: Fórmula geral dos glicerofosfolipídeos e a representação nominal de cada composto de acordo com a mudança do radical X

Glicerofosfolipídio (estrutura geral)

1^o CH₂-O-C(=O)-[cadeia saturada] Ácido graxo saturado (por exemplo, palmítico)

2^o CH-O-C(=O)-[cadeia insaturada] Ácido graxo insaturado (por exemplo, oléico)

3^o CH₂-O-P(=O)(O⁻)-O-X Grupo-cabeça substituinte

Nome do glicerofosfolipídio	Nome de X	Fórmula de X	Carga total (em pH 7)
Ácido fosfatídico	—	—H	-1
Fosfatidiletanolamina	Etanolamina	—CH ₂ —CH ₂ —N ⁺ H ₃	0
Fosfatidilcolina	Colina	—CH ₂ —CH ₂ —N ⁺ (CH ₃) ₃	0
Fosfatidilserina	Serina	—CH ₂ —CH(NH ₃ ⁺)COO ⁻	-1
Fosfatidilglicerol	Glicerol	—CH ₂ —CH(OH)—CH ₂ —OH	-1
Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato	<i>myo</i> -Inositol 4,5-bifosfato		-4
Cardiolipina	Fosfatidilglicerol		-2

Figura adaptada: LEHNINGER, A. L.; NELSON, K. Y. Princípios de Bioquímica. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

Figura 2: Fórmula geral dos esfingolípídeos e da esfingomileína

Figura adaptada: LEHNINGER, A. L.; NELSON, K. Y. Princípios de Bioquímica. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

Glicoesfingolípídeos ou esfingoglicolípídeos são encontrados na face externa da membrana e possui uma molécula de esfingosina ligada a um ácido graxo e a um carboidrato constituindo a porção polar; quando ligados a um único carboidrato são denominados cerebrosídeos. Nas membranas plasmáticas de células neurais esse carboidrato é a glicose, já nos tecidos não neurais é a galactose. Quando o composto tiver dois ou mais carboidratos, a molécula se denomina globosídeo. Se a porção polar do esfingoglicolípídeos for um oligossacarídeo e sua porção terminal conter um ou mais resíduos de ácido-N-acetilneuramínico, conhecido como ácido siálico, será denominado gangliosídeo. ¹

Os esfingoglicolípídeos são abundantes no cérebro e são componentes críticos para a sobrevivência celular e sua homeostasia, além de serem sítios de reconhecimentos nas membranas celulares.³

Nos casos dos glicerofosfolípídeos e alguns esfingolípídeos, o grupo polar está ligado à porção hidrofóbica por uma ligação fosfodiéster, denominando-se genericamente de fosfolípídeo¹ (figura 3).

Figura 3: Principais classes de lipídeos de membranas

Figura adaptada: LEHNINGER, A. L.; NELSON, K. Y. Princípios de Bioquímica. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

Constituindo ainda as membranas celulares têm-se os esteróis que são lipídeos caracterizados por possuírem um núcleo esteróide, que consiste de quatros anéis fundidos, três com seis carbonos e um com cinco carbonos. O colesterol é o mais importante desta família e está presente na maioria das membranas celulares nos tecidos animais.¹

Os lipídeos usados como fonte energética de armazenamento são derivados dos ácidos graxos. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas, cujo comprimento varia de 4 a 36 carbonos. Na

maioria das vezes, os ácidos graxos se apresentam de forma linear, somente alguns possuem cadeias ramificadas ou anéis de três carbonos.¹

Existem ácidos graxos de cadeia curta (menos que 6 átomos de carbono), cadeia média (6 a 12 átomos de carbono) e de cadeia longa (mais do que 12 átomos de carbono). Quando a cadeia carbônica do ácido graxo estiver ligada somente por ligações simples, este ácido graxo é denominado saturado, se houver duplas ligações, será insaturado. Ácidos graxos com apenas uma dupla ligação são conhecidos como monoinsaturados. Por fim, os ácidos graxos poli-insaturados que possuem duas ou mais duplas ligações.^{1,2}

A nomenclatura oficial do ácido graxo obedece as regras do grupo funcional, o ácido carboxílico, sendo adicionado a terminação -óico ao número de carbonos. Já a existência de dupla ligação é indicada entre parênteses, após o número de carbonos do ácido graxo, indicada pela letra grega delta (Δ), adicionado ao número do carbono onde está a dupla ligação. Essa contagem se inicia pelo grupo funcional; desta forma o ácido graxo saturado com 16 carbonos, conhecido como ácido palmítico, tem como nomenclatura oficial, ácido hexadecanóico (16:0), onde o zero representa a ausência de dupla ligação. Já o ácido linoléico tem como nome oficial, ácido octanodecanóico (18: 2 ^{Δ 9,12}), onde 18 representa o número de carbonos, o (2), duas duplas ligações, o (Δ 9,12) representa que as duplas ligações estão no carbono 9 e 12, contando-se a partir do ácido carboxílico.¹

Há uma nomenclatura simplificada, que utiliza o nome mais conhecido do ácido graxo, e especifica o número de carbonos que compõe a cadeia e a posição das duplas ligações, entretanto, a contagem inicia-se na extremidade oposta do grupo funcional, ou seja, a terminação metil, nesse caso, usa-se a letra grega ω (ômega), que vem acompanhada da posição numérica do carbono em que se encontra a primeira dupla ligação, como por exemplo ω 3, ω 6, ω 9 que são separados por dois pontos. Por exemplo, o ácido palmítico (C16: 0) com 16 carbonos e nenhuma dupla ligação e o

ácido linoleico (C18:2- ω 6), com 18 carbonos, 2 duplas ligações, sendo que a primeira está no carbono 6 ^{2,4} (Figura 4).

Figura 4: Exemplos estruturais de ácidos graxos

Figura adaptada: Bases Metabólicas da Nutrição. Curso de Pós- graduação em Nutrição Clínica – GANEP 2007

Os ácidos graxos têm suas propriedades físicas determinadas pelo comprimento e insaturações de sua cadeia, quanto mais longa for cadeia e menor for o grau de saturação, menor será a solubilidade em água, o grupo carboxílico é polar e confere a pequena solubilidade em água dos ácidos graxos de cadeia curta. Ácidos graxos saturados com 16 a 24 carbonos se apresentam na natureza de forma cerosa, já os insaturados são líquidos oleosos. ¹

Nos vertebrados, os ácidos graxos livres, ou seja, que possui o seu ácido carboxílico livre circula no sangue ligado, não covalentemente, à proteína soroalbumina. Entretanto, os ácidos graxos do plasma estão presentes como derivados dos ácidos carboxílicos tais como ésteres e amidas, que são ainda mais apolares que os ácidos graxos livres. ¹

Os lipídeos mais simples derivados dos ácidos graxos são os triglicerídeos, também conhecidos como triacilgliceróis e desempenham papel fundamental como fonte de energia. São constituídos por três moléculas de ácidos graxos e uma de glicerol ligado por ligações ésteres. Nos vertebrados são armazenados em células especializadas, chamadas adipócitos, que contém em seu interior enzimas como as lipases, que podem catalisar a hidrólise dos triglicerídeos e liberar ácidos graxos que serão usados como fonte energética, fornecendo em torno de 9 Kcal/g de lipídeo.^{1,4}

1.2. Ácidos graxos essenciais e seus derivados

O organismo humano possui a capacidade de síntese de quase todos os ácidos graxos a partir de proteínas e carboidratos, entretanto, devido a incapacidade de inserção de uma dupla ligação antes do carbono 9 da cadeia dos ácidos graxos, alguns ácidos graxos não são sintetizados pelas células dos mamíferos, assim sua fonte deve ser exclusivamente exógena. Essas classes de ácidos graxos são denominadas de ácidos graxos essenciais (AGE). Seu principais representantes são os ácidos graxos poli-insaturados conhecidos como ácido linoléico ($\omega 6$) e o ácido α -linolênico ($\omega 3$).²

Os ácidos graxos essenciais (AGE) possuem diferentes funções, como participar no transporte e oxidação do colesterol, ser componentes estruturais dos fosfolipídeos da membrana celular, além de servirem como precursores de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPCL).^{1,4}

O ácido linoléico e o ácido α -linolênico podem ser dessaturados e alongados convertendo-se, respectivamente, em AGPCL, ácido araquidônico (AA) e ácido docosa-hexaenoico (DHA).^{4,5}

Como se observa na figura 5, a enzima Δ -6-dessaturase é utilizada na conversão das duas vias metabólicas, de seus precursores para os ácidos araquidônico, da cadeia ω 6 e docosa-hexaenoico, da cadeia ω 3, portanto, esta enzima é a chave metabólica que regula ambas as vias, assim, o balanço entre os AGE ω 3 e ω 6 influencia diretamente a síntese dos AGPCL.⁶

A síntese de AA pode ser reduzida por interferência de outras substâncias sobre esta enzima, destacam-se entre elas os ácidos graxos poli-insaturados, eicosapentaenoico (EPA) e o próprio DHA, além do excesso de ácido linoléico. O excesso ou deficiência de um ácido graxo essencial pode afetar o metabolismo do outro. Os substratos preferenciais em ordem decrescente para a Δ -6-dessaturase são os ácidos linolênico, linoléico e oléico (ω 9).⁷

O ácido araquidônico é precursor da síntese de eicosanóides, especificamente prostaglandinas da série 2, tromboxano A_2 e leucotrienos da série 4, todos potentes mediadores bioquímicos do processo inflamatório. Em contraste, o ácido α linolênico pode ser convertido em ácido eicosapentaenoico, 20:5 ω 3 (EPA) e DHA, que são precursores de mediadores bioquímicos inflamatórios menos potentes, especificamente prostaglandinas da série 3 e leucotrienos da série 5.⁸

A *American Heart Association* recomenda uma ingestão de 30% de lipídeos da ingestão calórica total, sendo 10% ou mais de ácidos graxos poli-insaturados, 8 a 10% de ácidos graxos saturados e 15% ou mais de ácidos graxos monoinsaturados, esta recomendação deve ser seguida desde a infância para prevenir doenças cardiovasculares.⁹

Portanto, uma dieta adequada e balanceada de ácidos graxos é indicada em todas as fases da vida, inclusive na fase intrauterina, pois a deficiência dos ácidos graxos essenciais e seus derivados resultam em curto prazo em alteração da síntese de surfactante, alteração da função plaquetária e menor resistência às infecções. Já em longo prazo ocorre

déficit no desenvolvimento neuropsicomotor, déficit visual e menor velocidade de crescimento. ^{10,11,12}

Figura 5: Cadeia metabólica dos ácidos graxos essenciais

Figura adaptada: VAZ, JS et al. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. *Rev. Nutr.* [online]. 2006, v. 19, n. 4, pp. 489-500.

1.3. Metabolismo dos ácidos graxos poli-insaturados no feto e no recém-nascido

Na membrana celular, a presença dos AGPCL confere maior fluidez e viscosidade específica, permitindo a difusão de várias substâncias e otimizando todas as funções por ela realizada, como a conservação da

energia, comunicação célula a célula, preservação e ação dos receptores de hormônios, atividade enzimática, resposta elétrica e até mesmo as funções imunológicas.^{2,4}

O DHA juntamente com o AA são os principais componentes dos ácidos graxos cerebrais, cerca de 25% e são fundamentais para o desenvolvimento cerebral e visual da criança.¹³ A deficiência de DHA pode alterar a composição das membranas sinápticas, afetando as funções dos receptores da membrana neuronal, canais iônicos e enzimáticos.¹⁴

Além disso, o DHA encontra-se em concentrações elevadas nas membranas dos cones e bastonetes da retina, conferindo-lhes a fluidez ideal para o processo de transdução do sinal luminoso em sinal elétrico processado pelo cérebro.¹⁵

O feto, por não possuir uma capacidade plena de sintetizar os AGPCL a partir de seus precursores $\omega 3$ e $\omega 6$, tem a sua necessidade suprida pela placenta, para tal, no último trimestre de gestação a placenta estabelece uma preferência no transporte de DHA e AA.^{15,16}

Durante a gravidez, as necessidades dos AGE e dos AGPCL aumentam consideravelmente. O AA e o DHA são os principais ácidos graxos poli-insaturados solicitados neste período, por serem componentes estruturais e funcionais indispensáveis de todas as membranas celulares, do desenvolvimento neuronal, visual e vascular do feto.¹⁷ Pesquisas relatam que na vida uterina, principalmente no último trimestre de gestação e nos primeiros meses de vida, a necessidade de DHA é extremamente elevada.^{11,15,18} Inclusive, à medida que ocorre o amadurecimento da retina, as concentrações de DHA aumentam em suas células.¹⁵

Assim, na vida intrauterina, a dieta da mãe influencia diretamente as concentrações dos ácidos graxos essenciais e AGPCL no plasma, nas membranas celulares e no tecido nervoso do feto,^{8,19} demonstrando que uma nutrição inadequada, com consumo exacerbado de $\omega 6$ e baixo aporte de $\omega 3$, o que é muito comum nas dietas ocidentais, diminuem as reservas de AGPL, tanto maternas quanto fetais.²⁰

Mesmo após o nascimento, as necessidades desses dois ácidos graxos poli-insaturados continuam exacerbadas devido às necessidades corporais, e a imaturidade hepática do recém-nascido dificulta a produção dos mesmos, por meios dos AGE.²⁰ Portanto, o fornecimento de DHA e AA pelo leite materno, que apresenta quantidades três vezes maiores em comparação com o leite de vaca, é indispensável.¹⁵ Todavia, as concentrações de AA e DHA no leite humano dependem da dieta materna, que nem sempre é rica em $\omega 3$.¹⁹

Os recém-nascidos, inclusive os prematuros, são capazes de sintetizar os AA e DHA por meio da elongação e dessaturação dos ácidos graxos essenciais, porém, esta síntese depende de oferta adequada de ácidos graxos essenciais, substrato energético e atividade enzimática.¹⁰

Além disso, o aumento da necessidade de DHA não é acompanhada pelo aumento da velocidade de síntese endógena dos AGPCL, sendo, necessário um aporte exógeno.^{2,17,21}

1.4. Nutrição parenteral no recém-nascido pré-termo

Segundo a Portaria do SVS/MS nº 272 de 08/04/98, a “Nutrição Parenteral é uma solução ou emulsão, composta basicamente de carboidratos, aminoácidos, lipídeos, vitaminas e minerais, estéril e apirogênica, acondicionada em recipientes de vidro ou plástico, destinado à administração intravenosa em pacientes desnutridos ou não, em regime hospitalar, ambulatorial ou domiciliar, visando à síntese ou manutenção dos tecidos, órgãos ou sistemas”.²²

A história da Nutrição Parenteral seguiu em paralelo e dependente do avanço das outras áreas da Medicina. A técnica da punção das veias subclávias, descrita por Aubaniac, incentivou indiretamente a utilização desta via para a nutrição endovenosa contínua.²³ Em 1968, Dudrick, demonstrou a eficácia e aplicabilidade da técnica e do real efeito da nutrição parenteral,

provando ser possível nutrir filhotes de cachorros exclusivamente pelo sistema venoso.⁴ A partir de então, observou-se um crescimento exponencial da nutrição parenteral.

Hoje, a importância da nutrição para a recuperação de pacientes hospitalizados é inquestionável. Estudos demonstram que em torno de 50% dos pacientes hospitalizados são desnutridos, não importando o tamanho ou o tipo do hospital, a idade, a doença de base ou a classificação socioeconômica dos mesmos.²⁴

A nutrição parenteral pode ser classificada em: nutrição parenteral 2x1, onde os macro-elementos que a constituem são aminoácidos e carboidratos ou nutrição parenteral 3x1, que além de possuir os mesmos macronutrientes já citados, tem em sua composição os lipídeos. Em ambas as situações são acrescentadas eletrólitos, oligoelementos e vitaminas.²⁵

A utilização de lipídeos na nutrição parenteral teve início em 1961, com uma emulsão à base de óleo de soja; tinha como função primordial fornecer energia não glicídica e foi considerado um marco na história da terapia nutricional. No entanto, apesar de segura, com o tempo surgiram vários estudos confirmando que o óleo de soja tinha funções imunossupressoras, pró-inflamatórias e grande facilidade de peroxidação.²⁶ Esses achados foram relacionados ao excesso da cadeia $\omega 6$ e baixa quantidade da $\omega 3$, pois as emulsões à base de óleo de soja possuem uma razão de $\omega 6/\omega 3$ de 7:1.²⁷

Neste sentido esforços para novas formulações com razões menores se intensificam e o acréscimo de substâncias antioxidantes nas emulsões lipídicas para evitar a peroxidação também são fontes de pesquisas.^{28,29} Quando se trata especificamente do recém-nascido pré-termo é comum que eles apresentem entidades mórbidas como doença das membranas hialinas, displasia broncopulmonar, sepse, enterocolite necrosante, persistência do canal arterial, retinopatia da prematuridade, hemorragia peri e intra-intraventricular e leucomalácias.³⁰ Além disso, devido à imaturidade

anatômica e funcional do tubo digestivo e do sistema metabólico, aliado às condições clínicas que afetam a função cardiopulmonar na vida pós-natal, possuem indicação de nutrição parenteral para suprir suas necessidades energéticas.⁴

1.5. A emulsão lipídica SMOFlipid 20%®

Desde 2005 a emulsão lipídica SMOFlipid® 20% está disponível no mercado brasileiro.³¹ Ela contém 6% de óleo de soja com altas concentrações de ω -6, 6% de triglicérides de cadeia média (TCM), 5% de óleo de oliva com ácidos graxos ω -9 e 3% de óleo de peixe, rico em ω -3, possuindo uma razão de ω -6/ ω -3 menor que outras formulações comercializadas.³²

Essa razão ω -6/ ω -3 diminuída é favorável ao organismo, pois desacelera a formação de substâncias pró-inflamatórias, além de aumentar o aporte de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPCL) ^{6,17} principalmente o DHA, importante no desenvolvimento neurológico e visual do recém-nascido, principalmente no prematuro.³³⁻³⁸

Estudos mostram que o óleo de peixe, por conter ω 3, melhora o aporte de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, diminui a produção de substâncias pró-inflamatórias e não possuem efeito imunossupressor, favorecendo a recuperação do recém-nascido pré-termo.³⁹ Essas características são também observadas em emulsões contendo uma mistura de óleo de oliva (ω -9) e de peixe. ⁶

Sabe-se que os ácidos graxos poli-insaturados da família ω -3 possuem uma menor tendência em sofrer peroxidação lipídica. Quando associados ao TCM e α -tocoferol (uma vitamina antioxidante) presentes na formulação, reduzem ainda mais essa peroxidação e o estresse oxidativo em recém-nascidos prematuros. ^{8,40}

Outra característica dos triglicerídeos de cadeia média é a sua rápida oxidação, por não necessitarem de carnitina para realizar a β -oxidação lipídica, além de ter uma taxa reduzida de reesterificação, fornecendo energia ao recém-nascido com menor risco de acúmulo de lipídeos.^{41,42}

Schlotzer e Kanning, em 2004, mostraram que o SMOFlipid[®] 20% foi eliminado mais rapidamente em indivíduos saudáveis do que a emulsão lipídica padrão, sugerindo benefícios em pacientes com hipertrigliceridemia.⁹ Recém-nascidos pré-termos submetidos à nutrição parenteral também podem apresentar alterações dos níveis de triglicerídeos devido à sua limitada massa muscular e de gordura, portanto, diminuída capacidade hidrolítica da enzima lipase lipoprotéica.⁴³

Estudos que compararam emulsões à base de óleo de soja com SMOFlipid[®] 20% demonstraram segurança e eficácia em prematuros, além de mostrar um efeito protetor sobre a colestase e uma maior integridade hepática.^{44,45} Essa segurança e eficácia em prematuros também são corroboradas por outras pesquisas.^{41,46,47}

Skouroliahou e Konstantinou, em 2010 em seu ensaio clínico controlado e randomizado mostraram uma diminuição significativa no estresse oxidativo em prematuros com a utilização de SMOFlipid[®] 20%⁴⁸

Uma das emulsões lipídicas mais utilizadas em prematuros é o Lipovenos[®] MCT 20%, que contém 100g/L de óleo de soja e 100g/L de TCM, portanto, quase nenhum aporte de ω 3.⁴⁹

A Figura 6 faz uma comparação da composição lipídica das duas emulsões lipídicas utilizadas neste estudo (SMOFlipid[®] 20% e Lipovenos[®] MCT 20%).

Figura 6. Composição das emulsões lipídicas

Composição de ácidos graxos* (g)	SMOFLIPID® 20%	LIPOVENOS® MCT 20%
Ácido Capróico (C 6:0)	0,2	0,3
Ácido Caprilíco (C 8:0)	32,3	60
Ácido Capríco (C 10:0)	22,7	33,8
Ácido Láurico (C 12:0)	0,3	0,4
Ácido Mirístico (C 14:0)	1,9	0,1
Ácido Palmítico (C 16:0)	18,2	13
Ácido Palmitoléico (C 16:1)	3,3	0,3
Ácido Esteárico (C 18:0)	5,5	5,2
Ácido Oléico (C 18:1 ω -9)	55,3	24,9
Ácido Linoléico (C 18:2 ω -6)	37,2	52,4
Ácido Araquidônico (C-20:4 ω -6)	1	-
Ácido Estearidônico (C 18:4 ω -3)	0,9	-
Ácido α -Linolênico (C 18:3 ω -3)	4,7	7,5
Ácido Eicosapentaenoico (C 20:5 ω -3)	4,7	-
Ácido Docosapentaenóico (C 22:5 ω -3)	0,7	-
Ácido Docosa-hexaenoico (C 22:6 ω -3)	4,4	-
Vitamin E, mg α -tocopherol/L	Aprox.200	-
Relação ω6/ ω3	2,48	6,98

*Valores fornecidos pelo Fabricante Fresenius-Kabi

2. JUSTIFICATIVA

Grande parte das emulsões lipídicas disponíveis no mercado contém altas concentrações de ácidos graxos essenciais, linoléico $\omega 6$ e α -linolênico $\omega 3$, porém um aporte reduzido ou nulo de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa da família $\omega 6$, como o ácido araquidônico (AA) e da família $\omega 3$, principalmente ácido docosa-hexaenoico (DHA) e eicosapentaenoico (EPA).³² Somente uma suplementação exógena de ácidos graxos essenciais não é suficiente para suprir as necessidades dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, portanto, um aporte direto desses ácidos graxos como o AA, DHA e EPA, visto na emulsão SMOFlipid® 20% favorece os recém-nascidos em uso de nutrição parenteral, principalmente os prematuros.^{41,46}

O excesso de AGE leva também a um aumento da peroxidação desses lipídios, o que pode ser evitado com o uso da vitamina E, disponível nesta emulsão.^{29,48}

Estudos comprovam que o excesso de ácido linoléico $\omega 6$, além de limitar a produção de AGPCL da série $\omega 3$, como DHA e EPA, devido à competição enzimática, eleva a síntese de seu derivado, o ácido araquidônico, podendo ocasionar o aumento de citocinas pró-inflamatórias, prejudiciais ao organismo.^{17,50}

Um perfil de incorporação de ácidos graxos da série $\omega 3$ nas membranas celulares melhoram sua funcionalidade, e uma maior concentração de DHA e EPA nas células do sistema nervoso central e retina melhoram o desenvolvimento cognitivo e a acuidade visual, sendo que a deficiência de DHA está diretamente relacionada a problemas cerebrais e visuais.^{17,51-55}

Para se avaliar essa incorporação, utiliza-se a análise de ácidos graxos essenciais e poli-insaturados de cadeia longa nas membranas dos

eritrócitos, pois há uma relação direta entre o perfil lipídico das hemácias e das células nervosas e retina.^{17,48,56}

Uma vez que a nutrição parenteral é de suma importância em recém-nascidos pré-termo, este estudo se propõe analisar qualitativa e quantitativamente os ácidos graxos incorporados nas membranas celulares dos eritrócitos e o perfil lipídico de prematuros que receberam a emulsão SMOFlipid[®] 20% *versus* Lipovenos[®] MCT 20%.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar a composição qualitativa e quantitativa dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (ácido araquidônico e docosa-hexaenoico) nas membranas celulares de eritrócitos de recém-nascido pré-termo durante a primeira semana de vida, que receberam nutrição parenteral com emulsão lipídica SMOFlipid[®] 20% ou LIPOVENOS[®] MCT 20%.

3.2. Específico

Em recém-nascido pré-termo recebendo nutrição parenteral com emulsão lipídica SMOFlipid[®] 20% ou LIPOVENOS[®] MCT 20% na primeira semana de vida:

- Analisar o perfil lipídico sérico com as dosagens de triglicerídeos, colesterol total e frações LDL (lipoproteína de baixa densidade), HDL (lipoproteína de alta densidade) e VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) em ambos os grupos;
- Avaliar laboratorialmente a função hepática por meio das determinações da aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), bilirrubina total e frações em ambos os grupos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um ensaio clínico controlado randomizado, duplo cego, entre abril de 2012 a abril de 2014, onde foram alocados 47 recém-nascidos pré-termo admitidos dentro das primeiras 24 horas de vida na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Hospital Universitário Júlio Muller, na cidade de Cuiabá-MT.

Este estudo obteve prévia aprovação do Comitê de Ética em pesquisa do Hospital Universitário Júlio Muller (Protocolo de Pesquisa nº 949/CEP-HUJM/10). O termo de livre consentimento escrito foi obtido dos pais ou responsáveis pelos pacientes, após os mesmos receberem todas as informações sobre o objetivo, riscos e benefícios da pesquisa de forma detalhada e tiveram o direito de retirar o paciente da pesquisa a qualquer momento sem nenhum constrangimento ou prejuízo terapêutico.

4.1. Critérios de inclusão

Os seguintes critérios de inclusão foram utilizados:

- 1) Idade gestacional entre 30 e 34 semanas;
- 2) Necessidade de nutrição parenteral total (NPT) por um tempo estimado mínimo de 7 dias, tendo somente a nutrição parenteral como fonte protéica e calórica;
- 3) Ausência de malformações congênitas maiores e erros inatos do metabolismo;
- 4) Ausência de infecção generalizada (sepse).

4.2. Critérios de exclusão

Os seguintes critérios de inclusão foram utilizados:

- 1) Pacientes que não completaram os sete dias de nutrição parenteral;
- 2) Pacientes que receberam nutrição enteral em conjunto com a nutrição parenteral;
- 3) Pacientes que evoluíram com quadro infeccioso.

4.3. Alocação dos grupos

Para cada paciente que entrava na pesquisa era sorteado no Serviço de Farmácia do Hospital Universitário Júlio Muller (HUJM), através do sistema de sorteio aleatório do programa Microsoft Excel[®] do Windows[®] 7.0, qual emulsão lipídica seria usada na manipulação da sua nutrição parenteral. Assim, no final da pesquisa foram obtidos dois grupos: (1) SMOFLIPID 20% (2) LIPOVENOS MCT 20%. O sorteio realizado por profissionais do serviço de farmácia do HUJM eram colocados em um envelope, o qual o pesquisador só teve acesso no final da pesquisa. As emulsões utilizadas na pesquisa foram fornecidas pelo HUJM, evitando assim conflitos de interesse.

4.4. Análises laboratoriais

As amostras de sangue (Figura 7), variaram de 0,5mL a 1 mL e foram coletadas no tempo 0 (antes do início da NPT) e no tempo 7 (7 dias de uso de NPT) por punção venosa ou arterial, sempre em dois tubos, com e sem anticoagulante (EDTA). O tubo sem anticoagulante foi usado para a realização dos exames séricos de triglicerídeos, colesterol total e frações LDL (lipoproteína de baixa densidade), HDL (lipoproteína de alta densidade) e VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), AST (aspartato

aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), GGT (gama glutamil transferase e bilirrubina total e frações. O tubo contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) foi utilizado para a análise e identificação dos ácidos graxos da membrana celular dos eritrócitos.

Os analitos bioquímicos foram dosados pelo laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Júlio Muller de forma automatizada, utilizando-se o aparelho CT600i da Wiener Lab.

Para a identificação dos ácidos graxos, o tubo contendo sangue total foi centrifugado a 3400rpm por 10 minutos para a separação do plasma. A parte com os eritrócitos foi lavada três vezes com NaCl 0,9%, em seguida foi suspensa com igual volume de solução de NaCl 0,9%, e adicionado 10µL de ditionito de sódio, concentração final de 1% (v/v), para conservação dos ácidos graxos e estocados a -20°C para posterior análise.

Figura 7: Delineamento do estudo – Análises Laboratoriais

ALT (alanina aminotransferase); AST (aspartato aminotransferase); DDT (ditionito de sódio) EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético); HDL (high density lipoprotein); LDL (low density lipoproteins); VLDL (very low density lipoprotein e RPM (rotação por minuto)

Os lipídeos dos eritrócitos foram extraídos segundo método adaptado de Bligh & Dyer.⁵⁷ Uma mistura de clorofórmio/propanol 1:2 (v/v) foi utilizado para separar a fase polar e apolar, em seguida a fase inferior (apolar) contendo clorofórmio com os lipídeos foi retirada utilizando-se uma pipeta e acondicionada em outro ependorf; em seguida foi adicionada novamente solução de clorofórmio/propanol 1:2 (v/v) na fase polar (propanol), repetindo-se o procedimento por mais duas vezes.

A fase clorofórmica foi evaporada em ambiente, em seguida os ácidos graxos foram metilados com ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1% em metanol a 70°C por 1 hora. Os ésteres metílicos foram neutralizados com uma solução de

K_2CO_3 (carbonato de potássio) e $KHCO_3$ (bicarbonato de potássio) a 0,1 molar; posteriormente os ácidos graxos metilados foram extraídos em hexano e analisados por cromatografia gasosa em um cromatógrafo da marca Agilent Technologies série 6890 GC system, equipado com injetor série 7683 B e acoplado a espectrômetro de massas série 5973. Foi utilizada uma coluna OmegawaxO 250 Supelco (100% polietileno glicol; 30m x 0,25mm i.d. x 0.25 μ m de espessura em filme). Foram injetados 1,5 μ L da solução nas seguintes condições: injeção sem divisão, fluxo constante na coluna 2 mL/min, temperatura da interface 280°C, temperatura do injetor 240°C, ionização por impacto eletrônico de 70 eV, temperatura da fonte de ionização de 230°C, do quádruplo de 150°C. A programação de temperatura da coluna iniciou-se a 140°C, mantidos por 2 minutos, seguida de aquecimento a 2°C/min até 210°C, que foi mantido por 20 minutos. O modo de aquisição do cromatograma foi feita por monitoramento de íons selecionados.

4.5. Análise estatística

Os dados obtidos foram agrupados, tabulados e analisados estatisticamente através do software GraphPad InStat versão 3.01.

A amostra para este estudo foi por conveniência, uma vez que os parâmetros de incorporação de ácidos graxos não estão ainda bem estabelecidos.

Para a análise das possíveis diferenças entre os grupos, foi utilizado o teste “T” de Student, seguida do teste de normalidade Kolmogorov e Smirnov. Quando os dados não passaram no teste de normalidade (Kolmogorov e Smirnov), utilizou-se o teste de Mann-Whitney (teste não paramétrico). Em todos os testes estatísticos aplicados, o nível de significância foi de 5%.

5. RESULTADOS

De abril de 2012 a abril de 2014 foram internados na unidade de terapia intensiva neonatal (UTI neonatal) 273 pacientes, sendo que, 246 fizeram uso de nutrição parenteral e 47 pacientes satisfizeram os critérios de inclusão e foram alocados aleatoriamente em dois grupos: Grupo SMOFLIPID 20% ou Grupo LIPOVENOS MCT 20%. Todas as nutrições parenterais 3 x 1 foram produzidas pelo Serviço de Farmácia do Hospital Universitário Júlio Muller e infundidas por acesso central (n=42) ou periférica (n=5).

Para garantir que o estudo fosse duplo cego, o rótulo da nutrição parenteral era semelhante. Os componentes lipídicos e suas respectivas quantidades descritas no rótulo não permitiam diferenciar as emulsões testadas.

Ambos os grupos receberam a emulsão lipídica adicionada à nutrição parenteral a cada 24 horas. A quantidade média inicial e final de lipídeos infundida foi respectivamente 1,08 g/Kg e 2,34 g/Kg no Grupo SMOFLIPID 20% e 0,91 g/Kg e 2,07 g/Kg no Grupo LIPOVENOS MCT 20% e estavam dentro dos limites dos pacientes, porém abaixo das recomendações da ESPGHAN (Sociedade Européia de Gastreenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátricas).⁴³

No grupo SMOFLIPID 20% foram alocados 25 pacientes sendo 56% do sexo feminino e no grupo LIPOVENOS MCT 20% foram 22 pacientes com 50% do sexo feminino (Figura 8).

Figura 8. Delineamento do estudo

NP: nutrição parenteral, F: feminino, M: masculino, MCT: Triglicerídeos de cadeia média

Na comparação entre os grupos SMOFILIPID 20% e LIPOVENOS® MCT 20% (Tabela 1), as características clínicas e demográficas não apresentaram diferenças estatísticas.

A quantidade das emulsões lipídicas infundidas foi igual em ambos os grupos desde o início até o final do estudo (Tabela 2).

Tabela 1. Características clínicas e demográficas dos recém-nascidos

	n	SMOFLIPID 20% (n=25)	n	LIPOVENOS MCT 20% (n=22)
Idade Gestacional (semanas)	25	30,04 ± 2,669	22	29,727 ± 2,711
Peso de nascimento (g)	25	1228,68 ± 408,11	22	1230,91 ± 478
Comprimento no nascimento (cm)	25	38,3 ± 4,673	22	38,39 ± 4,70
PC (Perímetro cefálico – cm)	25	27,98 ± 3,18	22	27,80 ± 2,62
Adequação nutricional	7(28%)	PIG	9(40,91%)	PIG
	18(72%)	AIG	12(54,55%)	AIG
	0 (00%)	GIG	01(4,55%)	GIG
Índice de Apgar 1º min				
> 08	2	09 ± 0,00	1	9 ± 0,00
06-08	10	7,33 ± 0,80	15	7,33 ± 0,72
< 06	13	3,8 ± 0,80	6	3,3 ± 0,81
Índice de Apgar, 5º min				
> 08	8	9,27 ± 0,44	13	9 ± 0
06-08	7	7,5 ± 0,62	7	7,14 ± 0,89
< 06	-	-	2	5 ± 0,00

Tabela 2. Características da nutrição parenteral com as duas emulsões lipídicas no início (T_0) e no final do estudo (T_7)

	SMOFLIPID 20%		LIPOVENOS MCT 20%	
	T_0	T_7	T_0	T_7
Calorias totais/Kg	41,821 $\pm$ 9,664	60,642 $\pm$ 13,141	42,745 $\pm$ 8,440	59,626 $\pm$ 13,639
Lipídeos g/Kg	1,08 $\pm$ 0,312	2,34 $\pm$ 0,732	0,909 $\pm$ 0,426	2,091 $\pm$ 0,648
Aminoácido g/Kg	1,96 $\pm$ 0,576	2,82 $\pm$ 0,644	1,818 $\pm$ 0,501	2,727 $\pm$ 0,612
Calorias de Glicose (Kg cal)	27,215 $\pm$ 11,810	33,292 $\pm$ 10,735	32,234 $\pm$ 13,426	35,625 $\pm$ 15,032

Na análise laboratorial, não foi verificada diferenças estatísticas no primeiro dia antes do tratamento (T_0) entre os grupos. Todos os valores estavam dentro dos parâmetros normais. (Tabela 3).

O grupo SMOFLIPID 20% (Tabela 4) apresentou um aumento de TG, VLDL e colesterol e baixas concentrações de AST no T_7 quando comparados ao T_0 . Esses resultados foram similares no grupo LIPOVENOS MCT 20% (Tabela 5). O LDL apresentou aumento no T_7 quando comparado ao T_0 , somente no grupo SMOFLIPID 20% (Tabela 4).

Entretanto, quando comparado os analitos bioquímicos entre os grupos SMOFLIPID 20% e LIPOVENOS MCT 20% no T_7 , houve um aumento de TG e VLDL no primeiro grupo. Ainda entre os grupos não houve diferenças nas análises da função hepática (AST, ALT e GGT) e nem nos níveis de bilirrubinas e suas frações (Tabela 6).

Tabela 3. Análises laboratoriais em ambos os grupos no 1º dia (T₀)

	SMOFLIPID 20% (n=25)	LIPOVENOS MCT 20% (n=22)
Triglicerídeos (mg/dL)	47,88 ± 38,877	44,591 ± 23,567
Colesterol (mg/dL)	90,92 ± 26,812	89,091 ± 30,044
VLDL (mg/dL)	10,988 ± 12,080	8,859 ± 7,213
HDL (mg/dL)	24,116 ± 11,520	21,127 ± 7,995
LDL (mg/dL)	55,82 ± 33,538	59,105 ± 23,996
AST (UI/L)	60,64 ± 29,129	55,318 ± 46,349
ALT (UI/L)	14,44 ± 22,521	17,636 ± 35,848
GGT (mg/dL)	122,72 ± 112,41	94,723 ± 36, 904
Bilirrubina Total (mg/dL)	5,612 ± 4,193	6,228 ± 3,987
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0,896 ± 0,836	0,745 ± 0,435
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	4,724 ± 4,075	5,483 ± 3,720
AST Aspartato aminotransferase ALT Alanina aminotransferase GGT Gama Glutamil Transferase VLDL Lipoproteína de muito baixa densidade HDL Lipoproteína de alta Densidade LDL Lipoproteína de baixa densidade		

Tabela 4. Análises laboratoriais do grupo SMOFLIPID 20%no início (T₀) e no final do estudo (T₇)

	T ₀	T ₇
Triglicerídeos (mg/dL)	47,88 ± 38,877	115,44 ± 63,877 ^A
Colesterol (mg/dL)	90,92 ± 26,812	117,44 ± 36,460 ^B
VLDL (mg/dL)	10,988 ± 12,080	22,508 ± 13,893 ^C
HDL (mg/dL)	24,116 ± 11,520	19,704 ± 8,496
LDL (mg/dL)	55,82 ± 18,682	75,228 ± 33,538 ^D
AST (UI/L)	60,64 ± 29,129	25,88 ± 15,051 ^E
ALT (UI/L)	14,44 ± 22,521	10,92 ± 17,149
GGT (mg/dL)	122,72 ± 112,41	110,848 ± 119,43
Bilirrubina Total (mg/dL)	5,612 ± 4,193	4,38 ± 2,966
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0,896 ± 0,836	0,948 ± 0,985
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	4,724 ± 4,075	3,44 ± 2,469
AST	Aspartato aminotransferase	
ALT	Alanina aminotransferase	
GGT	Gama Glutamil Transferase	
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade	
HDL	Lipoproteína de alta Densidade	
LDL	Lipoproteína de baixa densidade	
	Ap<0,0001 (Teste "T" não Pareado – Correção de Welch) Bp<0,005 (Teste "T" não Pareado - Correção de Welch) Cp<0,003 (Teste "T" não Pareado - Correção de Welch) Dp<0,01 (Teste "T" não Pareado - correção de Welch) Ep<0,0001 (Teste "T" não Pareado - correção de Welch)	

Tabela 5. Análises laboratoriais do grupo LIPOVENOS MCT 20% no início (T₀) e no final do estudo (T₇)

	T ₀	T ₇
Triglicerídeos (mg/dL)	44,591 ± 23,567	75,364 ± 31,723 ^A
Colesterol (mg/dL)	89,090 ± 30,044	110,955 ± 39,973 ^B
VLDL (mg/dL)	8,859 ± 7,213	14,484 ± 6,903 ^C
HDL (mg/dL)	21,127 ± 7,995	22,023 ± 8,020
LDL (mg/dL)	59,105 ± 23,996	74,448 ± 32,584
AST (UI/L)	55,318 ± 46,349	28,909 ± 27,440 ^D
ALT (UI/L)	17,636 ± 35,848	11,455 ± 14,956
GGT (mg/dL)	94,727 ± 36, 904	100,273 ± 51,702
Bilirrubina Total (mg/dL)	6,228 ± 3,987	5,221 ± 3,381
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0,745 ± 0,435	0,748 ± 0,392
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	5,483 ± 3,720	4,473 ± 3,215

AST Aspartato aminotransferase

ALT Alanina aminotransferase

GGT Gama Glutamil Transferase

VLDL Lipoproteína de muito baixa densidade

HDL Lipoproteína de alta Densidade

LDL Lipoproteína de baixa densidade

^Ap<0,0007 (Teste "T" não Pareado), ^Bp<0,04 (Teste "T" não Pareado), ^Cp<0,01 (Teste "T" não Pareado), ^Dp<0,001 (Teste "T" não Pareado)

Tabela 6. Análises laboratoriais entre os grupos no 7º dia (T₇)

	SMOFLIPID 20% (n=25)	LIPOVENOS MCT 20% (n=22)
Triglicerídeos (mg/dL)	115,44 ± 63,877 ^A	75,364 ± 31,723
Colesterol (mg/dL)	117,44 ± 36,460	110,955 ± 39,973
VLDL (mg/dL)	22,508 ± 13,893 ^B	14,484 ± 6,903
HDL (mg/dL)	19,704 ± 8,496	22,023 ± 8,020
LDL (mg/dL)	75,228 ± 33,538	74,448 ± 32,584
AST (UI/L)	25,88 ± 15,051	28,909 ± 27,440
ALT (UI/L)	10,92 ± 17,149	11,455 ± 14,956
GGT (mg/dL)	110,848 ± 119,43	100,273 ± 51,702
Bilirrubina Total (mg/dL)	4,38 ± 2,966	5,221 ± 3,381
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0,948 ± 0,985	0,748 ± 0,392
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	3,44 ± 2,469	4,473 ± 3,215
AST Aspartato aminotransferase ALT Alanina aminotransferase GGT Gama Glutamil Transferase VLDL Lipoproteína de muito baixa densidade HDL Lipoproteína de alta Densidade LDL Lipoproteína de baixa densidade ^A p<0,008 (Teste "T" não Pareado) ^B p<0,01 (Teste "T" não Pareado - Correção de Welch)		

Em relação à incorporação de ácidos graxos foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, antes da intervenção com a NP (T₀). Os níveis de ácido araquidônico (AA), ácido linoléico ω6, e a somatória de todos os ácidos graxos ômega 6 estavam estatisticamente mais elevados no grupo SMOFLIPID 20%, enquanto que a somatória dos ácidos graxos da família ômega 9 encontravam-se diminuídas (Tabela 7).

No final do experimento (T₇) essas diferenças se mantiveram, porém, no grupo SMOFLIPID[®] 20%, houve um aumento significativo do ácido eicosapentaenoico (EPA 1,003 ± 1,430 x 0,188 ± 0,627), ácido docosa-hexaenoico (DHA 2,196 ± 1,859 x 0,078 ± 0,169) e a somatória dos ácidos

graxos $\omega 3$. Como era de se esperar a relação $\omega 6/ \omega 3$ diminuiu significativamente (Tabela 8).

Tabela 7. Comparação dos principais ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPCL) e dos ácidos graxos essenciais (AGE) no início do estudo (T_0) nos dois grupos

	SMOFLIPID 20%	LIPOVENOS MCT 20%
Ácido Araquidônico (C 20:4 $\omega 6$)	8,851 $\pm$ 7,874 ^A	4,999 $\pm$ 3,585
Ácido Linoleico (C 18:2 $\omega 6$)	4,190 $\pm$ 1,815 ^B	2,834 $\pm$ 1,213
Ácido Linolênico (C 18:3 $\omega 3$)	0,067 $\pm$ 0,162	0,056 $\pm$ 0,070
Ácido Eicosapentaenoico (C 20:5 $\omega 3$) EPA	0,352 $\pm$ 0,822	0,341 $\pm$ 0,953
Ácido Docosa-hexaenóico (C 22:6 $\omega 3$) DHA	0,166 $\pm$ 0,256	0,247 $\pm$ 0,497
Ômega 3	0,608 $\pm$ 1,048	0,642 $\pm$ 1,104
Ômega 6	14,777 $\pm$ 8,029 ^C	9,287 $\pm$ 5,315
Ômega 9	19,684 $\pm$ 4,786 ^D	30,174 $\pm$ 11,059
Ômega 3 / Ômega 6	0,041 $\pm$ 0,058	0,069 $\pm$ 0,134
Ômega 6 / Ômega 3	49,650 $\pm$ 43,861	59,651 $\pm$ 61,245
Ácidos graxos saturados	57,991 $\pm$ 12,945	53,402 $\pm$ 8,256
Ácidos graxos monoinsaturados	6,977 $\pm$ 4,402	6,492 $\pm$ 4,024

^Ap<0,03 (Teste T não Pareado com correção de Welch) ^Bp<0,004 (Teste T não Pareado com correção de Welch) ^Cp<0,0001 (Teste T não Pareado com correção de Welch) ^Dp<0,008 (Teste T não Pareado com correção de Welch)

Tabela 8. Comparação dos principais ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPCL) e dos ácidos graxos essenciais (AGE) no final do estudo (T₇) nos dois grupos

	SMOFLIPID 20%	LIPOVENOS MCT 20%
Ácido Araquidônico (C 20:4 ω6)	10,007 ± 6,506 ^E	4,309 ± 2,876
Ácido Linoléico (C 18:2 ω6)	6,230 ± 3,883 ^F	3,091 ± 1,729
Ácido Linolênico (C 18:3 ω3)	0,284 ± 0,773	0,055 ± 0,63
Ácido Eicosapentaenoico (C 20:5 ω3) EPA	1,003 ± 1,430 ^G	0,188 ± 0,627
Ácido Docosa-hexaenoico (C 22:6 ω3) DHA	2,196 ± 1,859 ^H	0,078 ± 0,169
Ômega 3	3,501 ± 2,230 ^I	0,832 ± 2,390
Ômega 6	17,717 ± 8,029 ^J	10,448 ± 7,311
Ômega 9	19,204 ± 15,469 ^L	33,129 ± 14,786
Ômega 3 / Ômega 6	0,199 ± 0,119 ^M	0,058 ± 0,104
Ômega 6 / Ômega 3	6,666 ± 3,643 ^N	50,650 ± 38,178
Saturado	50,560 ± 11,670	47,033 ± 17,443
Monoinsat	7,018 ± 4,168	6,486 ± 4,309

^Ep<0,0004 (Teste T não Pareado com correção de Welch) ^Fp<0,0009 (Teste T não Pareado com correção de Welch) ^Gp<0,0001 (Teste Mann-Whitney) ^Hp<0,0001 (Teste Mann-Whitney) ^Ip<0,0001 (Teste T não Pareado) ^Jp<0,002 (Teste T não Pareado) ^Lp<0,03 (Teste T não Pareado com correção de Welch) ^Mp<0,0001 (Teste Mann-Whitney) ^Np<0,0001 (Teste T não Pareado com correção de Welch)

Ao confrontar o tempo inicial (T₀) e final (T₇) no grupo LIPOVENOS MCT 20% não foi observado diferença significativa nos parâmetros de ácidos graxos analisados, exceto do ácido do ácido docosadienoico (C-22:2 ω6) que foi significativamente maior no T₇ (Figura 9).

Ao analisar o grupo SMOFLIPID 20% no tempo inicial (T₀) e final (T₇) o ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosa-hexaenoico (DHA) e a somatória dos ácidos graxos ω3 apresentaram um aumento significativo no T₇. Esses dados permanecem aumentados quando há comparação entre os grupos. Como era de se esperar a relação ω6/ ω3 diminuiu

significativamente. Ainda no T_7 observou-se uma elevação do ácido linoléico $\omega 6$ (Tabela 9).

Figura 9. Níveis de incorporação do ácido docosadienoico no grupo LIPOVENOS MCT 20%

T_0 : Tempo inicial, T_7 :Tempo final

Tabela 9. Ácidos graxos essenciais (AGE) e ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPCL) no início (T₀) e no final do estudo (T₇) no Grupo SMOFLIPID 20%

	SMOFLIPID 20%	
	T ₀	T ₇
Ácido Araquidônico (C 20:4 ω6)	8,851 ± 7,874	10,007 ± 6,506
Ácido Linoléico (C 18:2 ω6)	4,190 ± 1,815	6,230 ± 3,883 ^A
Ácido Linolênico (C 18:3 ω3)	0,067 ± 0,162	0,284 ± 0,773
Ácido Eicosapentaenoico (C 20:5 ω3) EPA	0,166 ± 0,256	1,003 ± 1,430 ^B
Ácido Docosa-hexaenoico (C 22:6 ω3) DHA	0,352 ± 0,822	2,196 ± 1,859 ^B
Ômega 3	0,608 ± 1,048	3,501 ± 2,230 ^B
Ômega 6	14,777 ± 9,521	17,717 ± 8,029
Ômega 9	19,648 ± 14,786	19,204 ± 15,469
Ômega 3 / Ômega 6	0,041 ± 0,058	0,199 ± 0,119 ^B
Ômega 6 / Ômega 3	49,650 ± 43,861	6,666 ± 3,643 ^C
Saturado	57,991 ± 12,945	50,560 ± 11,670
Monoinsat	6,977 ± 4,402	7,018 ± 4,168

^Ap<0,008 aumento em relação ao momento T1 (Teste Mann-Whitney)

^Bp<0,0001 aumento em relação ao momento T1 (Teste Mann-Whitney)

^Cp<0,0001 redução em relação ao momento T1 (Teste Mann-Whitney)

6. DISCUSSÃO

A prematuridade é apontada como um fator de risco para o desenvolvimento de várias patologias. Recém-nascidos prematuros nascidos entre 32 e 34 semanas de gestação são considerados de alto risco, assim como aqueles que nascem com um peso inferior a 2.500 gramas.⁵⁸ Além disso, possuem uma restrição de nutrientes que pode afetar o crescimento e o desenvolvimento neurológico. Assim, a necessidade precoce de uma alimentação é fundamental para suprir essa restrição.⁵⁹ Entretanto, muitos prematuros não toleram a alimentação enteral ou a mesma é insuficiente para atender tais exigências nutricionais, tornando a nutrição parenteral a única alternativa como fonte de nutrientes.⁴⁶

Emulsões lipídicas são uma parte integrante da nutrição parenteral, em recém-nascidos prematuros. Uma gama de estudos indica que uma oferta bem equilibrada de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, principalmente, DHA, AA e EPA durante o período neonatal é um fator crucial para um melhor crescimento, desenvolvimento visual e cognitivo.^{10-13,33-38}

Neste estudo foi testada uma nova emulsão lipídica que contém uma mistura de óleo de peixe, óleo de oliva, triglicérides de cadeia média, e óleo de soja, tendo assim, uma menor relação $\omega 6/\omega 3$, comprovadamente mais benéfico ao recém nascido, além de fornecer, diretamente, os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa DHA, AA e EPA, algo que outras emulsões tradicionais não fazem.³²

Assim, por possuir esse equilíbrio lipídico, avaliou-se se o uso dessa emulsão refletiria em uma mudança na incorporação de ácidos graxos nas membranas dos eritrócitos de recém-nascidos prematuros, e consequentemente, como postulado, nas membranas de células nervosas e da retina.^{17,56,57}

Até o momento somente três estudos utilizaram essa emulsão em recém-nascidos prematuros, no entanto, todos permitiram como critérios de

inclusão um aporte nutricional de 20 a 30% de outras fontes que não fosse à nutrição parenteral, diferenciando do presente estudo, onde todos os indivíduos tinham como fonte nutricional somente a nutricional parenteral, eliminando este viés importante.^{41,46,47}

6.1. Características clínicas

Durante os dois anos de pesquisa, foram internados na unidade de terapia intensiva neonatal (UTI neonatal) 273 pacientes, sendo que, 246 fizeram uso de nutrição parenteral, devido, ao rigoroso critério de inclusão e principalmente, a utilização de no mínimo sete dias, de nutrição parenteral, como fonte exclusiva de nutrientes. Somente 47 pacientes satisfizeram esses critérios.

A tabela 1 mostrou que as características clínicas e demográficas, antes da infusão da nutrição parenteral não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos (SMOFLIPID 20% e LIPOVENOS MCT 20%), tanto no início quanto no final do estudo, fato relevante para qualquer análise da terapia nutricional.

Os parâmetros peso, comprimento e perímetro cefálico são utilizados para avaliar o crescimento do recém-nascido, entretanto, as interações de uma gama de fatores genéticos, nutricionais, hormonais e ambientais influenciam o crescimento. Quando se trata de prematuros, estes são privados de um período crítico de crescimento intrauterino acelerado (o terceiro trimestre de gestação). Acrescido a isso, eles apresentam elevada morbidade neonatal, o que implica em aumento dos gastos energéticos e das necessidades nutricionais peculiares, além de enfrentarem restrições na oferta e/ou aproveitamento dos nutrientes.⁵⁹

Essa dinâmica do crescimento no período neonatal inicia-se por perda de peso seguida pela recuperação do peso de nascimento, sendo a

intensidade e duração destas duas fases inversamente relacionadas à idade gestacional, peso de nascimento e gravidade do recém-nascido.⁵⁹

A expectativa quanto ao crescimento de recém-nascidos prematuros é que ocorra aceleração máxima entre 36 e 40 semanas de idade pós-concepção sendo visto primeiro no perímetro cefálico, seguido pelo comprimento e depois pelo peso.^{59,60}

Apesar de estudos demonstrarem que recém-nascidos de menor peso possuem velocidade de crescimento maior que os de pesos maiores, isso começa partir da terceira semana de vida,⁶⁰ o que talvez facilite o entendimento de nossos resultados, ou seja, ausência de diferença estatística desses dados ponderais, já que analisamos apenas a primeira semana após o nascimento.

6.2. Perfil lipídico

Durante a infusão de emulsão lipídica a parte dos os triglicerídeos da são hidrolisadas pela lipoproteína lipase (LPL) que é liberada pelo endotélio capilar. Assim, a quantidade dessa enzima determina a taxa de depuração dos triglicerídeos. No recém-nascido pré-termo, como também em pacientes desnutridos, tanto a síntese quanto a ação da lipoproteína lipase estão reduzidas.⁶¹

Pelo exposto, essa alteração da enzima LPL provoca uma diminuição na depuração dos ácidos graxos livres, que são captadas pelo fígado, onde será produzida a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e os triglicerídeos. Isso explicaria a tendência de níveis elevados desses analitos, em prematuros, em uso de emulsão lipídica por via parenteral.^{43,61}

Os níveis de triglicerídeos, fator importante, durante a infusão de nutrição parenteral devem permanecer abaixo dos valores de referência (± 150 mg/dL). Níveis em torno de 250 mg/dL são considerados críticos.^{43,61}

No presente estudo, ambos os grupo apresentaram os níveis de TG, VLDL e HDL abaixo dos valores de referência tanto no início, quanto no final da pesquisa, portanto, sem qualquer relevância clínica, indicando a segurança e tolerabilidade do SMOFlipid[®] 20%. Esses resultados estão em consonância com dois estudos que utilizaram essa mesma emulsão lipídica em prematuros.^{41,46}

Apesar dos valores estarem dentro dos padrões normais de referência, os níveis de Triglicerídeos, VLDL e colesterol estava estatisticamente elevado em ambos os grupos no final do estudo (T₇), quando comparados ao T₀. E os valores de TG e VLDL estavam estatisticamente elevados no grupo SMOFLIPID 20% quando comparado ao grupo LIPOVENOS MCT 20% no final do estudo (T₇). Como os níveis de VLDL são calculados utilizando-se os valores de TG, era de se esperar que seus níveis estivessem elevados.^{41,62}

Rayyan e colaboradores, em 2011, encontraram níveis de TG elevados após o uso de sete dias da emulsão SMOFlipid[®] 20% quando comparados com o início do estudo, resultado semelhante a da presente pesquisa, no entanto, na comparação entre os grupos essas diferenças não foram observadas.⁴⁶ Já Tomsits e colaboradores, em 2010, apesar de encontrar níveis aumentados de TG no final do estudo no grupo que utilizou SMOFLIPID 20% essa diferença não foi significativa.⁴¹

Várias condições podem contribuir para o aumento nos níveis séricos de triglicerídeos como o uso de corticosteróides exógenos (dexametasona, hidrocortisona e metilprednisolona).⁶³ Além disso, os níveis de cortisol e catecolaminas, liberados em qualquer situação de estresse, promovem a lipólise e aumento da resistência periférica à insulina, posteriormente, resultando em elevação sérica dos triglicerídeos.⁶³ Entretanto, esses parâmetros não eram objetivos de nosso estudo, e não foram analisados.

A taxa de oxidação dos TCM é maior e mais rápida em relação aos triglicerídeos de cadeia longa, pois independe da carnitina, um transportador mitocondrial importante na beta oxidação lipídica.^{41,42} Além disso, os TCM

não utilizam as lipoproteínas transportadoras como quilomicrons e VLDL.^{41,42} Postula-se que essas particularidades permitem que o metabolismo dos TCM seja pouco influenciado por fatores nutricionais e hormonais.⁴⁷ Estudos relataram que os TCM pode elevar os níveis de insulina e promover a lipogênese, diminuindo as taxas de TG no sangue.⁴⁷

SMOFlipid[®] 20% possui em sua composição 30% de TCM, enquanto o Lipovenos[®] MCT 20%, emulsão utilizada como fator de comparação, tem 50% de TCM. A diferença na quantidade de TCM das emulsões em estudo poderia explicar os níveis elevados de TG e VLDL no grupo que utilizou o SMOFlipid[®] 20%.

Apesar dessas diferenças, vale ressaltar que a SMOFlipid[®] 20% é tão segura e tolerada quanto o Lipovenos[®] MCT 20%, uma vez que todos os valores do lipidograma permaneceram abaixo dos valores de referência.

O nível de aspartato aminotransferase (AST) diminuiu em ambos os grupos, no final do estudo (T₇), mas na comparação entre os grupos essa diferença não se manteve estatisticamente diferente. Vale ressaltar que outros estudos com SMOFlipid 20%, em prematuros, esta enzima não foi avaliada.^{41,46,47}

A apartato aminotransferase (AST) é uma enzima presente no citossol (20%) e mitocôndrias (80%) de células de vários tecidos orgânicos. São encontradas em ordem decrescente, quanto à concentração, no fígado, músculo cardíaco, músculo esquelético, rins, cérebro, pâncreas, pulmões, leucócitos e eritrócitos, portanto, não é uma enzima hepato-específica. Seus níveis podem estar elevados em várias situações de danos celulares e outras patologias como doença de Wilson, deficiência de alfa-1-antitripsina, doenças musculares e infarto agudo do miocárdio.⁶⁵

Outra enzima avaliada foi a gama glutamil transferase (GGT), que não apresentou diferenças estatísticas nos grupos e nem entre eles. Esses achados vão de encontro com o estudo de Rayyan et al.⁴⁶ Já Tomsits et al demonstrou níveis menores de GGT com o uso de SMOFlipid 20% no final do estudo quando comparado com o tempo inicial.⁴¹ Entretanto, muitos

fatores podem interferir nos níveis dessa enzima, assim não podemos afirmar que esta diferença é devido somente ao tipo de emulsão lipídica ofertada.

A GGT é uma enzima necessária para captar a glutatona na sua forma reduzida do meio extracelular para o meio intracelular, no intuito de aumentar a produção deste antioxidante no interior das células. Esta enzima é encontrada no interior dos hepatócitos e nas células epiteliais biliares, sendo considerada marcadora sensível de lesão hepatobiliar⁶⁵, mas de pouca especificidade, uma vez que pode estar alterada por uso de medicações, álcool e várias doenças sistêmicas como, estado pró-trombótico e pró-inflamatório e o uso de alguns anticonvulsivantes^{66, 67, 68}

Os níveis de bilirrubina total, direta e indireta não diferiram nos grupos e nem entre eles, todavia os resultados permaneceram dentro dos valores normais de referência e muito abaixo dos níveis críticos.

Esses achados são semelhantes a um recente estudo de Deshpande e colaboradores, em 2014, e com a pesquisa de Tomsits e colaboradores em 2010.^{41,47} Entretanto, diferem dos encontrados por Rayyan e colaboradores (2011) que encontraram níveis diminuídos de bilirrubina total no grupo SMOFlipid® 20%.⁴⁶

Uma coorte retrospectiva avaliou os níveis de bilirrubina durante seis meses em crianças com icterícia que mudaram sua nutrição parenteral de óleo de soja para óleo de peixe (SMOFlipid 20%), constatando que após esse período, os níveis de bilirrubina diminuíram estatisticamente, sugerindo que essa emulsão possa ter uma ação protetora hepática importante.⁶⁹

O presente estudo analisou os prematuros somente durante uma semana, o que poderia explicar a ausência de significância estatística em relação aos níveis de bilirrubina.

A avaliação da função hepática é essencial, uma vez que a prevalência de doença hepática associada à nutrição parenteral tem sido cada vez mais

frequente e grave em crianças, especialmente prematuros em nutrição parenteral como forma única de terapia nutricional.⁷⁰

Estudos demonstraram que novas formulações lipídicas baseadas em óleo de peixe, tais como a SMOFlipid[®] 20%, podem prevenir e/ou reverter alterações hepáticas.⁴⁵ Manutenção da Integridade dos hepatócitos e diminuição da colestase também foram demonstrados com o uso de emulsões lipídicas contendo óleo de peixe^{41,44}, pois em pacientes internados em unidades de terapia intensiva, assim como após cirurgias abdominais de grande porte, os níveis das enzimas hepáticas foram menores com o uso do SMOFlipid[®] 20%.^{71,72}

6.3. Incorporação de ácidos graxos nas membranas dos eritrócitos

No perfil de incorporação de ácidos graxos nas membranas dos eritrócitos foram constatadas diferenças importantes.

Na comparação entre os grupos, no início do estudo (T_0), observou-se no grupo SMOFLIPID 20% um aumento estatisticamente relevante de ácido araquidônico (AA), ácido linoléico $\omega 6$ (AL), e a somatória de todos os ácidos graxos ômega 6, enquanto que a somatória dos ácidos graxos da família ômega 9 encontravam-se diminuídas. Essas diferenças iniciais não foram encontradas em outros estudos que utilizaram essa mesma emulsão em pacientes prematuros^{41,46,47} e pediátricos⁴⁵ (Tabela 7).

Essa diferença não é devido à emulsão SMOFlipid[®] 20%, uma vez que no T_0 os pacientes ainda não haviam recebido a NP. Apesar dessas diferenças não estarem presentes no grupo LIPOVENOS MCT 20%, esses resultados pode refletir a nutrição materna no Brasil, que é caracterizada por uma alimentação baseada em óleo de soja, ácidos graxos saturados e monoinsaturados e baixa ingestão de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente da família ômega 3.⁷³⁻⁷⁶

Pontes e colaboradores mostraram em seu estudo que a principal fonte de gordura ingerida por mães brasileiras era o óleo de soja, que é fonte de ácido linoléico 18:2 ω -6, precursor do AA. Houve também consumo exacerbado de gordura vegetal hidrogenada, que é o principal ingrediente de margarina e uma rica fonte de ácidos graxos saturados, monoinsaturados, e ácidos graxos *trans*. Aproximadamente 50% das mães relataram que o peixe não foi consumido, 20% consumiam uma vez por mês e 20%, uma vez por semana, exibindo uma baixa ingestão da fonte principal de AGPCL ω -3.¹⁷

No fim do estudo (T_7) as diferenças estatísticas encontradas inicialmente entre os grupos permaneceram, ou seja, os níveis de AA, AL e a somatória de ácidos graxos da família ω 6 continuaram aumentados no grupo SMOFLIPID 20%, enquanto que a somatória de ácidos graxos da família ω 9 ficaram diminuídos.

No entanto, houve um aumento significativo de ácidos graxos ω 3, o que acarretou um aumento na relação ω 3/ ω 6, além de elevar os níveis de DHA e EPA. Essas diferenças também foram observadas quando comparadas o tempo final (T_7) com o tempo inicial (T_0) dentro do grupo SMOFLIPID 20%, caracterizando assim, a propriedade que essa emulsão possui de alterar o perfil de incorporação nas membranas dos eritrócitos, a favor de ácidos graxos ômega 3, o que pode estar refletido nas membranas das células cerebrais e da retina.^{17,56,57}

Outros estudos semelhantes, também utilizando o SMOFlipid[®] 20% mostraram elevação dos ácidos graxos ω 3, diminuindo assim a relação entre ω 6/ ω 3.^{41,46,47}

A emulsão SMOFlipid[®] 20% oferece menores quantidades dos ácidos graxos essenciais linoléico ω 6 e alfa linolênico ω 3 do que a emulsão Lipovenos[®] MCT 20%, entretanto, como vistos nos resultados, esse equilíbrio foi mais eficiente no grupo SMOFLIPID 20%, pois aumentou os ácidos graxos ω 3, e as pequenas ofertas de AA, DHA e EPA foram suficientes para incorporação na membrana do eritrócito, compensando as menores quantidades ofertadas de ácidos graxos essenciais.

Esse resultado sugere que houve uma diminuição de produção da série $\omega 6$ com o uso de SMOFlipid[®] 20%, provavelmente por competição pela enzima Δ -6 dessaturase, uma vez que a produção de AGPCL $\omega 6$ não acompanhou os níveis de seu precursor.

Sabe-se que uma menor razão entre $\omega 6$ e $\omega 3$ pode influenciar a síntese de eicosanóides, resposta inflamatória, e síntese de citocinas.⁷⁷ Uma maior concentração de ácidos graxos ômega 3 nas membranas celulares podem exercer efeitos imunomoduladores, modificando a síntese de leucotrienos.⁷⁸ Ao contrário, altos índices de ômega 6 estão associados a uma maior produção de eicosanóides pró-inflamatórios, além do efeito imunossupressor.^{6,79,80}

No presente estudo, constatou-se que após o uso por sete dias da emulsão SMOFlipid[®] 20%, os níveis de incorporação de DHA e de EPA praticamente sextuplicaram dentro do grupo SMOFLIPID 20% e foi significativamente maior quando comparado, no final do estudo, com o grupo LIPOVENOS MCT 20%.

Na comparação entre o T₀ e T₇ no grupo SMOFLIPID 20% encontrou-se um aumento significativo do ácido linoléico $\omega 6$, porém também houve um acréscimo substancial dos ácidos graxos poli-insaturados da família $\omega 3$, principalmente DHA e EPA. Essas mesmas diferenças são encontradas ao se comparar o grupo SMOFLIPID 20% com o grupo LIPOVENOS MCT 20% no final do estudo (T₇).

Despachande e colaboradores, em 2014, obtiveram resultados semelhantes ao comparar SMOFlipid[®] 20% com outras emulsões comerciais e detectaram níveis elevados de ácido linoléico $\omega 6$ no final de sete dias.⁴⁷ Já Rayyan e colaboradores e Tomsits e colaboradores, neste mesmo período, detectaram níveis diminuídos do ácido linoléico $\omega 6$ com o uso da emulsão SMOFlipid[®] 20% quando comparados com seus respectivos controles.^{46,41} Entretanto, concordante com o presente estudo, todos eles observaram aumento deste ácido (AL) quando compararam o tempo inicial com o final no grupo que recebeu SMOFlipid[®] 20% e um aumento

substancial de ácidos graxos da série $\omega 3$ em pacientes que utilizaram esta emulsão lipídica.^{41,46,47}

Portanto, pode-se admitir que pequenas quantidades de AA (0,5%) e LA (18,7%) contido na emulsão SMOFlipid® 20% são mais eficientes que a administração do precursor (ácido linoléico $\omega 6$) em grandes quantidades como ocorre na emulsão Lipovenos MCT® 20% (53%).

Consequentemente, o aumento desses ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa $\omega 3$ favoreceram a diferença estatística na relação $\omega 3/\omega 6$ no grupo SMOFLIPID 20%, semelhante a outros estudos.^{41,46,47} Isso demonstra que o uso do SMOFlipid® 20% realmente modificou o padrão de ácidos graxos na membrana dos eritrócitos, o que pode estar refletido nas membranas das células cerebrais e da retina.^{17,40,56}

Os valores elevados de EPA e DHA observados estão em consonância com os achados de Goulet et al em pacientes pediátricos, que constataram níveis elevados de EPA e DHA nos fosfolipídeos do plasma e dos eritrócitos, após a utilização por 28 dias de nutrição parenteral com óleo de peixe.⁴⁵ Rayyan et al e Despahande et al obtiveram os mesmos achados em pacientes prematuros que fizeram uso da emulsão teste, também com óleo de peixe.^{46,47} Já Tomsits et al relatou um aumento de EPA nos fosfolipídeos de membranas dos eritrócitos de prematuros que receberam a emulsão com óleo de peixe, mas não observou um aumento correspondente nos níveis de DHA.⁴¹ A razão para isso poderia ser a quantidade de lipídeos fornecidos aos recém-nascidos prematuros que foi de $1,6 \pm 0,3\text{g/Kg/dia}$, abaixo dos outros estudos.^{46,47}

D'Ascenzo et al. ao analisarem, em prematuros, uma outra emulsão contendo 10% de óleo de peixe, 50% de triglicerídeos de cadeia média e 40% de óleo de soja, também observaram elevação nos níveis de EPA e DHA.⁸¹ Garantindo assim, a característica do SMOFlipid® 20%, outro estudo recente comparou essa emulsão lipídica com o SMOFlipid® 20% e observou que as quantidades de DHA e EPA eram maiores no grupo que recebeu o SMOFlipid® 20%.⁴⁷

6.4. Considerações finais

Durante o terceiro trimestre de gravidez as necessidades de DHA, EPA e AA são mais elevadas.¹¹ Após a 24^o quarta semana de gestação até os primeiros meses de vida as quantidades de AA e DHA depositadas no cérebro dobram.^{2,18}

Deste modo, o recém-nascido, principalmente o prematuro, pode apresentar uma diminuição de DHA, EPA e AA devido à sua imaturidade enzimática, sendo necessária uma suplementação desses ácidos.⁸² Esta suplementação deve ser precoce, pela nutrição parenteral e depois pela nutrição enteral, pois já existem várias evidências de que a alimentação enteral suplementada com DHA melhorar o desenvolvimento neurológico no recém-nascido pré-termo.³⁴

Além disso, estudos mostram que níveis maiores de incorporações de DHA nas membranas dos eritrócitos estão relacionados a um potencial benefício sobre a acuidade visual e o desenvolvimento mental e psicomotor na infância, demonstrando a importância do DHA e também a correlação positiva entre a incorporação nos eritrócitos e nas células nervosas e da retina.^{36,38,51,52,83}

De fato, uma adequada ingestão de DHA e AA parece ser necessária para a maturação e funcionabilidade da retina e do córtex visual.^{52,83-86}

Outro dado interessante em um recente estudo mostrou que prematuros que receberam emulsão à base de óleo de peixe (10%) apresentaram níveis maiores de DHA no plasma e eritrócitos no sétimo dia de nutrição parenteral e tiveram uma redução na gravidade da retinopatia, além de menor incidência de colestase.⁸⁷

O presente estudo é o único, até o momento, que avaliou por sete dias o uso da emulsão SMOFlipid® 20% em prematuros como sendo a única fonte de lipídeos. No entanto, apresenta as mesmas limitações dos estudos semelhantes, que é o número pequeno da amostra e a avaliação em curtos períodos.^{41,46,47}

Assim, sugere-se que mais pesquisas sejam realizadas, em prematuros, com esta formulação lipídica, com uma maior amostragem e por períodos prolongados.

Em relação ao perfil lipídico, alguns dados ainda são conflitantes, portanto, controles mais rígidos são necessários para esta avaliação. Quanto à possível proteção hepática que vem sendo postulada com o uso dessa emulsão, estudos com maior rigor científico devem ser realizados.

7. CONCLUSÕES

Ante os objetivos propostos, aplicando-se a metodologia descrita e analisando-se os resultados obtidos, concluiu-se:

- A emulsão lipídica SMOFlipid[®] 20% utilizada na nutrição parenteral de recém-nascido pré-termos durante os primeiros setes dias de vida, alterou o perfil de incorporação de ácidos graxos nas membranas dos eritrócitos em favor dos ácidos graxos ω 3, principalmente, os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa DHA e EPA.
- Essa mesma emulsão demonstrou ser segura e bem tolerada em relação ao perfil lipídico, pois todos os valores desses analitos (TG, VLDL, colesterol total e suas frações HDL e LDL), permaneceram dentro dos valores da normalidade e bem abaixo dos níveis considerados críticos em pré-termos.
- Na avaliação hepática, por meio das análises de AST, ALT, GGT, bilirrubina total e suas frações (direta e indireta), SMOFlipid[®] 20% demonstrou ser tão segura e tolerada quanto à outra emulsão comparada.

8. ANEXOS

ANEXO A - Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) nos fosfolípidios dos eritrócitos no grupo LIPOVENOS MCT[®] 20% ($T_0 \times T_7$)

ANEXO B - Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) nos fosfolípidios dos eritrócitos no grupo SMOFLIPID[®] 20% ($T_0 \times T_7$)

ANEXO C - Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) nos fosfolípidios dos eritrócitos entre os grupos no ($T_0 \times T_0$)

ANEXO D - Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) nos fosfolípidios dos eritrócitos entre os grupos ($T_7 \times T_7$)

A. Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) nos fosfolipídios dos eritrócitos no grupo LIPOVENOS MCT® 20%			
		T₀ (n=22)	T₇ (n=22)
Ácidos graxos saturados de cadeia média (06 ≥ c ≤ 12)			
Ácido cáprico	C-10	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
Ácido undecanóico	C-11	0 ± 0	016 ± 0,076
Ácido metil ester laurico	C-12	1,970 ± 3,236	1,547 ± 3,368
Ácidos graxos saturados de cadeia longa (06 ≥ c ≤ 12)			
Ácido tridecanóico	C-13	0,000 ± 0,000	0,018 ± 0,082
Ácidos mirístico	C-14	0,886 ± 0,635	0,826 ± 0,825
Ácido pentadecanóico	C15-0	0,109 ± 0,091	0,086 ± 0,064
Ácido palmítico	C16-0	26,252 ± 4,609	22,369 ± 9,460
Ácido heptadecanóico	C-17-0	0,446 ± 0,461	0,382 ± 0,387
Ácido esteárico	C-18-0	21,568 ± 4,288	19,857 ± 8,481
Ácido araquidíco	C-20-0	0,448 ± 0,082	0,709 ± 1,319
Ácido heneicosanoico	C 21-0	0,098 ± 0,126	0,371 ± 1,185
Ácido behenico	C-22-0	0,712 ± 0,667	1,750 ± 5,888
Ácido tricosanóico	C23-0	0,012 ± 0,018	0,035 ± 0,097
Ácido lignocérico	C24-0	0,901 ± 1,396	0,953 ± 1,509
Ácidos graxos monoinsaturados			
Ácido miristoléico	C-14.1	0,005 ± 0,017	0,013 ± 0,053
Ácido cis-10- pentadecenóico	C15-1	0,014 ± 0,030	1,248 ± 5,523
Ácido palmitoléico	C16-1	0,376 ± 0,703	0,260 ± 0,662
Ácido cis-10-heptadecenóico	C-17-1	0,076 ± 0,145	0,951 ± 4,352
Ácido oléico	C-18-1	6,021 ± 4,144	6,175 ± 4,410
Ácido eicosenóico	C-20-1 n9	2,421 ± 2,825	1,967 ± 2,707
Ácido erúico	C-22-1n9	27,484 ± 11,023	26,498 ± 12,379
Ácido nervônico	C24-1n9	0,268 ± 0,737	4,682 ± 21,294
Ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa			
Ácido linoléico	C-18-2 n-6ct	2,834 ± 1,213	3,103 ± 1,709
Ácido γ linolênico	C-18-3 n6	0,285 ± 1,263	0,140 ± 0,490
Ácido linolênico	C-18-3 n3	0,056 ± 0,070	0,077 ± 0,109
Ácido cis 11,14 eicosadienóico	C-20-2 n-6	0,011 ± 0,052	0,036 ± 0,070
Ácido 8,11,14 eicosatrienóico	C20-3 n6	0,796 ± 0,501	0,870 ± 0,697
Ácido araquidônico	C 20-4 n6	4,498 ± 3,585	4,102 ± 3,018
Ácido 8,11,17 eicosatrienóico	C20-3 n3	0,003 ± 0,013	0,003 ± 0,014
Ácido eicosapentaenoico	C 20-5 n3	0,341 ± 0,953	0,204 ± 0,626
Ácido docosadienoico	C-22-2 n6	0,362 ± 0,525	0,681 ± 0,686*
Ácido docosahexaenoico	C-22-6 n3	0,247 ± 0,497	0,078 ± 0,169

* P<0,04

B.Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) nos fosfolípidios dos eritrócitos no grupo SMOFLIPID [®] 20%			
		T ₀ (n=25)	T ₇ (n=25)
Ácidos graxos saturados de cadeia média (06 ≥ c ≤ 12)			
Ácido cáprico	C-10	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
Ácido undecanóico	C-11	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
Ácido metil ester láurico	C-12	0,488 ± 0,476	0,732 ± 1,507
Ácidos graxos saturados de cadeia longa (06 ≥ c ≤ 12)			
Ácido tridecanóico	C-13	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
Ácidos mirístico	C-14	0,740 ± 0,412	0,630 ± 0,561
Ácido pentadecanóico	C15-0	0,157 ± 0,074	0,115 ± 0,089 ^A
Ácido palmítico	C16-0	28,463 ± 8,402	24,172 ± 7,304
Ácido heptadecanóico	C-17-0	0,388 ± 0,462	0,431 ± 0,626
Ácido esteárico	C-18-0	23,462 ± 7,996	20,290 ± 5,210
Ácido araquidílico	C-20-0	0,419 ± 0,134	0,379 ± 0,098
Ácido heneicosanoico	C 21-0	0,198 ± 0,270	0,160 ± 0,208
Ácido behenico	C-22-0	0,718 ± 0,930	0,515 ± 0,584
Ácido tricosanóico	C23-0	0,019 ± 0,024	0,017 ± 0,021
Ácido lignocérico	C24-0	2,937 ± 4,937	3,120 ± 4,131
Ácidos graxos monoinsaturados			
Ácido miristoléico	C-14.1	0,142 ± 0,167	0,008 ± 0,025
Ácido cis-10- pentadecenóico	C15-1	0,068 ± 0,110	0,046 ± 0,073
Ácido palmitoléico	C16-1	1,113 ± 1,452	0,579 ± 1,212
Ácido cis-10-heptadecenóico	C-17-1	0,092 ± 0,282	0,100 ± 0,298
Ácido oléico	C-18-1	5,563 ± 4,674	6,284 ± 4,390
Ácido eicosenóico	C-20-1 n9	0,892 ± 1,207	1,260 ± 1,796
Ácido erúcido	C-22-1n9	18,484 ± 14,869	15,895 ± 13,530
Ácido nervônico	C24-1n9	0,271 ± 1,357	2,049 ± 9,993
Ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa			
Ácido linoléico	C-18-2 n-6ct	4,190 ± 1,815	6,230 ± 3,883 ^B
Ácido γ linolênico	C-18-3 n6	0,008 ± 0,041	0,0 ± 0,0
Ácido linolênico	C-18-3 n3	0,067 ± 0,162	0,284 ± 0,773
Ácido cis 11,14 eicosadienóico	C-20-2 n-6	0,041 ± 0,142	0,009 ± 0,031
Ácido 8,11,14 eicosatrienóico	C20-3 n6	1,366 ± 0,889	1,232 ± 0,597
Ácido 8,11,17 eicosatrienóico	C20-3 n3	0,023 ± 0,037	0,018 ± 0,030
Ácido araquidônico	C 20-4 n6	8,851 ± 7,874	10,007 ± 6,506
Ácido eicosapentaenoico	C 20-5 n3	0,166 ± 0,256	1,003 ± 1,430 ^C
Ácido docosadienoico	C-22-2 n6	0,320 ± 0,441	0,240 ± 0,375
Ácido docosahexaenoico	C-22-6 n3	0,352 ± 0,822	2,194 ± 1,860 ^C

^Ap<0,04 redução em relação ao momento T1 (Teste Mann-Whitney). ^Bp<0,008 aumento em relação ao momento T1 (Teste Mann-Whitney). ^Cp<0,0001 aumento em relação ao momento T1 (Teste Mann-Whitney)

C.Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) nos fosfolipídios dos eritrócitos entre os grupos no dia inicial			
		SMOFLIPID[®] 20%	LIPOVENOS MCT[®] 20%
		T₀ (n=25)	T₀ (n=22)
Ácidos graxos saturados de cadeia média (06 ≥ c ≤ 12)			
Ácido cáprico	C-10	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
Ácido undecanóico	C-11	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
Ácido metil ester laurico	C-12	0,488 ± 0,476	1,967 ± 3,236
Ácidos graxos saturados de cadeia longa			
Ácido tridecanóico	C-13	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
Ácido mirístico	C-14	0,740 ± 0,412	0,886 ± 0,635
Ácido pentadecanóico	C15-0	0,157 ± 0,074A	0,109 ± 0,091
Ácido palmítico	C16-0	28,463 ± 8,402	26,253 ± 4,609
Ácido heptadecanóico	C-17-0	0,388 ± 0,462	0,446 ± 0,462
Ácido esteárico	C-18-0	23,462 ± 7,996	21,568 ± 4,288
Ácido araquidíco	C-20-0	0,419 ± 0,134	0,448 ± 0,082
Ácido heneicosanoico	C 21-0	0,198 ± 0,270	0,098 ± 0,126
Ácido behencio	C-22-0	0,718 ± 0,930	0,712 ± 0,667
Ácido tricosanóico	C23-0	0,019 ± 0,024	0,012 ± 0,018
Ácido lignocerico	C24-0	2,937 ± 4,937	0,901 ± 1,396
Ácidos graxos monoinsaturados			
Ácido miristoléico	C-14.1	0,142 ± 0,617	0,005 ± 0,017
Ácido cis-10- pentadecenóico	C15-1	0,068 ± 0,110	0,014 ± 0,030
Ácido palmitoléico	C16-1	1,113 ± 1,452	0,376 ± 0,703
Ácido cis-10-heptadecenóico	C-17-1	0,092 ± 0,282	0,076 ± 0,145
Ácido oléico	C-18-1	5,563 ± 4,674	6,021 ± 4,144
Ácido eicosenóico	C-20-1 n9	0,892 ± 1,207	2,421 ± 2,825
Ácido erúico	C-22-1n9	18,484 ± 14,869E	27,484 ± 11,023
Ácido nervônico	C24-1n9	0,271 ± 1,357	0,268 ± 0,737
Ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa			
Ácido linoléico	C-18-2 n-	4,190 ± 1,815B	2,834 ± 1,213
Ácido γ linolênico	C-18-3 n6	0,008 ± 0,041	0,285 ± 1,263
Ácido linolênico	C-18-3 n3	0,067 ± 0,162	0,056 ± 0,070
Ácido cis 11,14 eicosadienóico	C-20-2 n-6	0,041 ± 0,142	0,011 ± 0,052
Ácido 8,11,14 eicosatrienóico	C20-3 n6	1,366 ± 0,889C	0,796 ± 0,501
Ácido 8,11,17 eicosatrienóico	C20-3 n3	0,023 ± 0,037	0,003 ± 0,013
Ácido araquidônico	C 20-4 n6	8,851 ± 7,874D	4,999 ± 3,585
Ácido eicosapentaenoico	C 20-5 n3	0,166 ± 0,256	0,341 ± 0,953
Ácido docosadienoico	C-22-2 n6	0,320 ± 0,441	0,362 ± 0,525
Ácido docosahexaenoico	C-22-6 n3	0,352 ± 0,822	0,247 ± 0,497

^AP<0,02 aumento em relação ao grupo Lipovenio (Teste Mann-Whitney), ^BP<0,004 aumento em relação ao grupo Lipovenio (Teste T não Pareado – correção de Welch), ^CP<0,009 aumento em relação ao grupo Lipovenio (Teste T não Pareado – correção de Welch), ^DP<0,03 aumento em relação ao grupo Lipovenio (Teste T não Pareado – correção de Welch) ^EP<0,02 redução em relação ao grupo Lipovenio (Teste T não Pareado)

D.Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) nos fosfolípidios dos eritrócitos entre os grupos no dia Final			
		SMOFLIPID[®] 20%	LIPOVENOS MCT[®] 20%
		T₇ (n=25)	T₇ (n=22)
Ácidos graxos saturados de cadeia média (06 ≥ c ≤ 12)			
Ácido cáprico	C-10	0 ± 0	0 ± 0
Ácido undecanóico	C-11	0,016 ± 0,076	0 ± 0
Ácido metil ester laurico	C-12	0,732 ± 1,507	1,547 ± 3,368
Ácidos graxos saturados de cadeia longa (06 ≥ c ≤ 12)			
Ácido tridecanóico	C-13	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Ácido mirístico	C-14	0,630 ± 0,561	0,826 ± 0,825
Ácido pentadecanóico	C15-0	0,115 ± 0,089	0,086 ± 0,064
Ácido palmítico	C16-0	0,115 ± 0,089	0,086 ± 0,064
Ácido heptadecanóico	C-17-0	0,431 ± 0,626	0,382 ± 0,387
Ácido esteárico	C-18-0	20,290 ± 5,210	19,857 ± 8,481
Ácido araquídico	C-20-0	0,379 ± 0,098B	0,709 ± 1,319
Ácido heneicosanoico	C 21-0	0,160 ± 0,208	0,371 ± 1,185
Ácido behencio	C-22-0	0,515 ± 0,584	1,750 ± 5,888
Ácido tricosanóico	C23-0	0,017 ± 0,021	0,035 ± 0,097
Ácido lignocerico	C24-0	3,120 ± 4,131	0,953 ± 1,509
Ácidos graxos monoinsaturados			
Ácido miristoléico	C-14.1	0,008 ± 0,025	0,013 ± 0,053
Ácido cis-10- pentadecenóico	C15-1	0,046 ± 0,073	1,248 ± 5.523
Ácido palmitoléico	C16-1	0,579 ± 1,212	0,260 ± 0,662
Ácido cis-10-heptadecenóico	C-17-1	0,100 ± 0,298	0,951 ± 4,352
Ácido oléico	C-18-1	6,284 ± 4,390	6,175 ± 4,410
Ácido eicosenóico	C-20-1 n9	1,260 ± 1,176	1,967 ± 2,707
Ácido erúico	C-22-1n9	15,895 ± 13,530F	26,498 ± 12,379
Ácido nervônico	C24-1n9	2,049 ± 9,993	4,682 ± 21,294
Ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa			
Ácido linoléico	C-18-2 n-6ct	6,230 ± 3,883A	3,103 ± 1,709
Ácido γ linolênico	C-18-3 n6	0,0 ± 0,0	0,140 ± 0,402
Ácido linolênico	C-18-3 n3	0,284 ± 0,773	0,077 ± 0,109
Ácido cis 11,14 eicosadienóico	C-20-2 n-6	0,009 ± 0,031	0,036 ± 0,070
Ácido 8,11,14 eicosatrienóico	C20-3 n6	1,232 ± 0,592C	0,870 ± 0,679
Ácido 8,11,17 eicosatrienóico	C20-3 n3	0,018 ± 0,030	0,003 ± 0,014
Ácido araquidônico	C 20-4 n6	10,001 ± 6,506D	4,102 ± 3,018
Ácido eicosapentaenoico	C 20-5 n3	1,003 ± 1,430E	0,204 ± 0,626
Ácido docosadienoico	C-22-2 n6	0,240 ± 0,375G	0,681 ± 0,686
Ácido docosahexaenoico	C-22-6 n3	2,194 ± 1,860H	0,078 ± 0,168

^AP<0,0009 (Teste T não Pareado - correção de Welch), ^BP<0,02 (Teste Mann-Whitney) ^CP<0,03 (Teste Mann-Whitney) ^DP<0,0001 (Teste T não Pareado - correção de Welch), ^EP<0,0001 (Teste Mann-Whitney) ^FP<0,007 (Teste T não Pareado) ^GP<0,0001 (Teste Mann-Whitney)

9. REFERÊNCIAS

1. Lehninger AL, Nelson KY. *Princípios de bioquímica*. 4a ed. São Paulo: Sarvier; 2006.
2. Falcão MC. *Metabolismo e necessidades lipídicas no período neonatal*. Support Series, 2001.
3. Hirabayashi Y. A world of sphingolipids and glycolipids in the brain: Novel functions of simple lipids modified with glucose. *Proc Jpn Acad Ser*. 2012; B-88.
4. Waitzberg DL. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica*. 3a ed. São Paulo: Ed. Atheneu; 2006.
5. Pawlosky R, Hibbeln J, Novotony J, Salem N. Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans, *J. Lipid Res*. 2001;42:1257-65.
6. Gawecka A, Michalkiewicz J, Kornacka MK, Luckiewicz B, Kubiszewska I. Immunologic Properties Differ in Preterm Infants Fed Olive Oil vs Soy-Based Lipid Emulsions During Parenteral Nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2008;32:448-53.
7. Needleman P, Turk J et al. Arachidonic acid metabolism. *Ann Rev Biochem*. 1986;65:69-102.
8. Covas MI, Ruiz-Gutierrez V, De La Torre R et al. Minor components of olive oil: Evidence to date of health benefits in humans. *Nutr Rev*. 2006; 64:S20–S30.
9. Schlotzer E, Kanning U. Elimination and tolerance of a new parenteral lipid emulsion (SMOF)—a double-blind cross-over study in healthy male volunteers. *Ann Nutr Metab*. 2004;48:263–8.
10. Carlson SE. *Very long chain fatty acids in the developing of retina and brain*. In: Polin RA, Fox WW, eds. Fetal and neonatal physiology. Philadelphia, WB Saunders. 1992:341-6
11. Clandinin MT et al. Extrauterine fatty acid accretion in infant brain. *Early Hum Dev* 1980;5:1-6.

12. Carnielli VP et al. The very low birth weight premature infants is capable of synthesizing arachidonic and docosahexanoic acids from linoleic and linolenic acids. *Pediatr Res* 1996;40:169-74.
13. Valenzuela AB, Nieto SK. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: su importância em el desarrollo del sistema nervioso y visual. *Rev Chil Pediatr*. 2003;74:149-57.
14. Hornstra G. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and health benefits. Neuilly-sur-seine: *Nutriscience Roche Vitamins*. 2002.
15. Silva DRB, Miranda-Junior PF, Soares EA. A importância dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa na gestação e lactação. *Rev Bras Saúde Mater Infant*. 2007;7(2), abr.
16. Innis SM, Gilley J, Werker J. Are human milk long-chain polyunsaturated fatty acids related to visual and neural development in breast-fed term infants? *J Pediatr*. 2001;139:532-7.
17. Pontes P, Torres AG, Trugo NMF, Fonseca VM, Sichieri R. N-6 and n-3 Long-chain polyunsaturated fatty acids in the erythrocyte membrane of Brazilian preterm and term neonates and their mothers at delivery. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2006;74(2):117-23.
18. McNamara RK, Carlson SE. Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2006;75:329-49.
19. Otto SJ, Van Houwelingen AC, Hornstra G. The effect of supplementation with docosahexaenoic and arachidonic acid derived from single cell oils on plasma and erythrocyte fatty acids of pregnant women in the second trimester. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2000;63:323-8.
20. Smithers LG, Gibson RA, Mcphee A, Makrides M. Effect of two doses of docosahexaenoic acid (DHA) in the diet of preterm infants on infant fatty acid status: Results from the DINO trial. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2008;79:141-6.

21. Gobel Y, Koletzko B, Bohles HJ et al. Parenteral fat emulsions based on olive and soybean oils: a randomized clinical trial in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003;37:161-7.
22. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 272, de 08 de abril de 1998. *Diário Oficial da União*, Brasília (DF). 1999 15 abr.
23. Riella, MC. *Suporte nutricional parenteral e enteral*. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan; 1993.
24. Blackburn GL et al. Nutritional and metabolic assessment of the hospitalized patient. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1977;1:11-22.
25. Oliveira HC, Oliveira LEG, Negrão NM, Novaes MRG. Estudo comparativo dos custos da Manipulação de NPT em um Hospital Geral de Cuiabá versus o de empresas Terceirizadas. *Rev Soc Bras Farm Hosp.* 2007;03:48-9.
26. Martinez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early development. *J Pediatrics.* 1992;120:S129-S38.
27. Adolph M. Lipid emulsions in parenteral nutrition: state of the art and future perspectives. *Clin Nutr.* 2001;20(suppl 4):S11-S14.
28. Jalabert A, Grand A, Steghens JP, Barbotte E, Pigue C, Picaud JC. Lipid peroxidation in all-in-one admixtures for preterm neonates: impact of amount of lipid, type of lipid emulsion and delivery condition. *Acta Paediatr.* 2011;100(9):1200-5.
29. Biesalski HK. Vitamin E requirements in parenteral nutrition. *Gastroenterology.* 2009;137(5):S92-104.
30. Lee SK, McMillan DD, Ohlsson A, Pendray M, Synnes A, Whyte R et al. Variations in practice and outcomes in the Canadian NICU Network: 1996-1997. *Pediatrics.* 2000;106:1070-9.
31. Garcia CMP. *SMOFlipid 20%: óleo de soja + triglicerídeo de cadeia média + óleo de oliva refinado + óleo de peixe purificado [bula de remédio]*. Campinas: Fresenius Kabi Brasil Ltda; 2013.

32. Horie LM, Torrinhas RSMM, De Nardi L, Waitzberg DL, Falcão MC. Lipídeos em nutrição parenteral pediátrica. *Rev Bras Nutr Clín.* 2007;22:249-255.
33. Makrides M, Gould JF, Gawlik NR, Yelland LN, Smithers LG, Anderson PJ, Gibson RA. Four-year follow-up of children born to women in a randomized trial of prenatal DHA supplementation. *JAMA.* 2014;311(17):1802-4.
34. Makrides M, Gibson RA, McPhee AJ et al. Neurodevelopmental outcomes of preterm infants fed high-dose docosahexaenoic acid: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2009;301:175-182.
35. Loÿs CM, Maucourt-Boulch D, Guy B, Putet G, Picaud JC, Haÿs S. Extremely low birthweight infants: how neonatal intensive care unit teams can reduce postnatal malnutrition and prevent growth retardation. *Acta Paediatr.* 2013;102(3):242-8.
36. Helland IB, Smith L, Blomén B, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Effect of supplementing pregnant and lactating mothers with n-3 very-long-chain fatty acids on children's IQ and body mass index at 7 years of age. *Pediatrics.* 2008;122(2):e472-9.
37. Boucher O, Burden MJ, Muckle G, Saint-Amour D, Ayotte P, Dewailly E, Nelson CA, Jacobson SW, Jacobson JL. Neurophysiologic and neurobehavioral evidence of beneficial effects of prenatal omega-3 fatty acid intake on memory function at school age. *Am J Clin Nutr.* 2011;93(5):1025-37.
38. Huffman SL, Harika RK, Eilander A, Osendarp SJ. Essential fats: how do they affect growth and development of infants and young children in developing countries? A literature review. *Matern Child Nutr.* 2011; Suppl 3:44-65.
39. Granato D, Blum S, Rossle C et al. Effects of parenteral lipid emulsions with different fatty acid composition on immune cell functions in vitro. *J Parenter Enteral Nutr.* 2000;24:113-8.

40. Sala-Vila A, Barbosa VM, Calder PC. Olive oil in parenteral nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007;10:165-74.
41. Tomsits E, Pataki M, Tölgyesi A et al. Evaluation of the safety and tolerability of SMOFlipid 20% compared with Intralipid 20% in parenteral nutrition of premature babies [abstract]. *Pediatr Crit Care Med*. 2007;8(suppl 3):A247.
42. Schlotzer JH. Beneficial effects of fish oil-based lipid emulsions on liver function within the scope of parenteral nutrition. *Nutrit Ther Metabol*. 2009;27(4):164-74.
43. Koletzko B, Goulet O, Hunt J et al. Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society of Paediatric Research (ESPR). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;41(Suppl 2):S1–87.
44. Piper SN, Schade I, Beschmann RB, Maleck WH, Boldt J, Röhm KD. Hepatocellular integrity after parenteral nutrition: comparison of a fish-oil-containing lipid emulsion with an olive-soybean oil-based lipid emulsion. *Eur J Anaesthesiol*. 2009;26(12):1076-82.
45. Goulet O, Joly F, Corriol O et al. Some new insights in intestinal failure-associated liver disease. *Curr Opin Organ Transplant*. 2009;14:256–61.
46. Rayyan M, Allegaert K, Devlieger H. Effect of a new type of lipid emulsion based on soybean oil, MCT, olive oil, and fish oil (SMOF20%) in preterm infants [abstract]. *Pediatr Crit Care Med*. 2007;8(suppl 3):A318.
47. Deshpande G, Simmer K, Deshmukh M, Mori TA, Croft KD, Kristensen J. Fish Oil (SMOFlipid) and Olive Oil Lipid (Clinoleic) in Very Preterm Neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;58(2):179-84.

48. Skouroliaiou M, Konstantinou D, Koutri K, Kakavelaki C, Stathopoulou M, Antoniadou M, Xemelidis N, Kona V, Markantonis S. A double-blind, randomized clinical trial of the effect of omega-3 fatty acids on the oxidative stress of preterm neonates fed through parenteral nutrition. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(9):940-947.
49. Garcia CMP. *Lipovenos: óleo de soja + glicerol + lecitina de ovo [bula de remédio]*. Campinas: Fresenius Kabi Brasil Ltda; 2013.
50. Grimm H, Mertes N, Goeters C, Schlotzer E, Mayer K, Grimminger F, Fürst P. Improved fatty acid and leukotriene pattern with a novel lipid emulsion in surgical patients. *Eur J Nutr.* 2006;45(1):55-60.
51. Boehm G, Borte M, Bohles HJ, Muller H, Kohn G, Moro G. Docosahexaenoic and arachidonic acid content of serum and red blood cell membrane phospholipids of preterm infants fed breast milk, standard formula or formula supplemented with n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Eur J Pediatr.* 1996;155:410-6.
52. Hoffman DR, Birch EE, Castañeda YS, Fawcett SL, Wheaton DH, Birch DG, Uauy R. Visual function in breastfed term infants weaned to formula with or without longchain polyunsaturates at 4 to 6 months: a randomized clinical trial. *J Pediatr.* 2003;142:669-77
53. Crawford MA. Placental delivery of arachidonic and docosahexaenoic acids: implications for the lipid nutrition of preterm infants. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(1):275-84.
54. Carlson SE, Werkman SH, Peeples JM. Arachidonic acid status correlates with first year growth in preterm infants. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90:1073-7.
55. Molloy C, Doyle LW, Makrides M, Anderson PJ. Docosahexaenoic acid and visual functioning in preterm infants: a review. *Neuropsychol Rev.* 2012;22(4):425-37.
56. Skeaff CM, Hodson L, McKenzie JE. Dietary-induced changes in fatty acid composition of human plasma, platelet, and erythrocyte lipids follow a similar time course. *J Nutr.* 2006;136(3):565-9.

57. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1954;37:911-7.
58. Pinto EB. O desenvolvimento do comportamento do bebê prematuro no primeiro ano de vida. *Psicol Reflex Crit.* 2009;22(1):76-85.
59. Rugolo LMSS. Crescimento e desenvolvimento a longo prazo do prematuro extremo. *J. Pediatr.* 2005;81(1):S101-10.
60. Anchieta LM, Xavier CC, Colosimo EA. Crescimento de recém-nascidos pré-termo nas primeiras 12 semanas de vida. *J Pediatr.* 2004;80:267-76. Hack M. Follow-up for high-risk neonates. In: Fanaroff AA, Martin RJ, editors. *Neonatal-Perinatal Medicine*. 6th ed. St. Louis: Mosby; 1997;952-7.
61. Valentine CJ, Puthoff TD. Enhancing parenteral nutrition therapy for the neonate. *Nutr Clin Pract.* 2007;22:183-93.
62. Pozzi FS. *Cinética plasmática da lipoproteína de baixa densidade e avaliação dos aspectos qualitativos das lipoproteínas de alta densidade em indivíduos com artrite reumatóide*. [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2011.
63. Hasselgren PO. Catabolic response to stress and injury: implications for regulation. *World J Surg.* 2000;24:1452-9.
64. Pratt DS, Kaplan MM. *Laboratory tests*. In: Schiff ER, Sorell MF, Maddrey WC. *Diseases of the Liver*. Lippincott - Raven, Philadelphia, 8a ed. 1999;1:205-244.
65. Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin Chem.* 2000;46(12):2027-49.
66. Rantala AO, Lilja M, Kauma H, Savolainen MJ, Reunanen A, Kesäniemi YA. Gamma-glutamyl transpeptidase and the metabolic syndrome. *J Intern Med.* 2000;248(3):230-8.

67. Bruckert E, Giral P, Ratzu V, Poynard T, Chapman MJ, Opolon P et al. Constellation of cardiovascular risk factors is associated with hepatic enzyme elevation in hyperlipidemic patients. *Metabolism Clin Exp.* 2002;51(8):1071-6.
68. Mendis GP, Gibberd FB, Hunt HA. Plasma activities of hepatic enzymes in patients on anticonvulsant therapy. *Seizure.* 1993;2:319–23.
69. Muhammed R, Bremner R, Protheroe S, Johnson T, Holden C, Murphy MS. Resolution of parenteral nutrition-associated jaundice on changing from a soybean oil emulsion to a complex mixed-lipid emulsion. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(6):797-802.
70. Buchman AL, Iyer K, Fryer J. Parenteral nutrition-associated liver disease and the role for isolated intestine and intestine/liver transplantation. *Hepatology* 2006;43:9-19.
71. Antebi H, Mansoor O, Ferrier C, et al. Liver function and plasma antioxidant status in intensive care unit patients requiring total parenteral nutrition: comparison of 2 fat emulsions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2004;28:142–8.
72. Mertes N, Grimm H, Furst P, et al. Safety and efficacy of a new parenteral lipid emulsion (SMOFlipid) in surgical patients: a randomized, doubleblind, multicenter study. *Ann Nutr Metab.* 2006;50:253–9.
73. H. Vlaardingerbroek, G. Hornstra, Essential fatty acids in erythrocyte phospholipids during pregnancy and at delivery in mothers and their neonates: comparison with plasma phospholipids. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2004;71:363-374.
74. Torres AG, Ney JG, Meneses F, Trugo NMF. Polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in breast milk are associated with plasma nonesterified and erythrocyte membrane fatty acid composition in lactating women, *Br. J. Nutr.* 2006;95(3):517-24.
75. Cunha J, Costa THM, Ito MK. Influences of maternal dietary intake and suckling on breast milk lipid and fatty acid composition in low-

- income women from Brasilia, Brazil. *Early Hum. Dev.* 2005;81:303-311.
76. Silva MHL, Silva MTC, Brandão SCC, Gomes JC, Peternelli LA, Franceschini SCC, Fatty acid composition of mature breast milk in Brazilian women. *Food Chem.* 2005;93:297-303.
77. Jędrzejczak-Czechowicz M, Kowalski ML. Effects of parenteral lipid emulsions on immune system response. *Anestezjol Intens Ter.* 2011;43(4):248-55.
78. Grimm H, Mertes N, Goeters C, Schlotzer E, Mayer K, Grimminger F, Fürst P. Improved fatty acid and leukotriene pattern with a novel lipid emulsion in surgical patients. *Eur J Nutr.* 2006;45(1):55-60.
79. Waitzberg DL, Lotierzo P, Logullo AF, Torrinhas RS, Pereira CC, Meier R. Parenteral lipid emulsions and phagocytic systems. *Br J Nutr.* 2002;87:S49-S57.
80. Yaqoob P. Lipids and the immune response: from molecular mechanism to clinical applications. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003;6:133-150.
81. D'Ascenzo R, D'Egidio S, Angelini L et al. Parenteral nutrition of preterm infants with a lipid emulsion containing 10% fish oil: effect on plasma lipids and long-chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr.* 2011;159:33-38.
82. Fleith M, Clandinin MT. Dietary PUFA for preterm and term infants: review of clinical studies. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2005;45:205-229.
83. C Drover JR, Hoffman DR, Castañeda YS, Morale SE, Garfield S, Wheaton DH, Birch EE. Cognitive function in 18-month-old term infants of the DIAMOND study: a randomized, controlled clinical trial with multiple dietary levels of docosahexaenoic acid. *Early Hum Dev.* 2011;87(3):223-30.

84. Birch EE, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, restidge C. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. *Pediatr Res*. 1998;44:201-209.
85. Neuringer M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: methods, results, and implications. *Am J Clin Nutr*. 2000;71:256S-267S.
86. Innis SM, Friesen RW. Essential n-3 fatty acids in pregnant women and early visual acuity maturation in term infants. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(3):548-57.
87. Beken S, Dilli D, Fettah ND, Kabataş EU, Zenciroğlu A, Okumuş N. The influence of fish-oil lipid emulsions on retinopathy of prematurity in very low birth weight infants: a randomized controlled trial. *Early Hum Dev*. 2014;90(1):27-31.