

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
KARLA DE TOLEDO CANDIDO MULLER

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE (SÉRIE ÔMEGA-3) NA
ALIMENTAÇÃO DE RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO DE MUITO-BAIXO-PESO**

CAMPO GRANDE
2017

KARLA DE TOLEDO CANDIDO MULLER

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE (SÉRIE ÔMEGA -3) NA
ALIMENTAÇÃO DE RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO DE MUITO-BAIXO-PESO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde..

Orientador: Prof. Dr. Durval Batista Palhares

**CAMPO GRANDE
2017**

FOLHA DE APROVAÇÃO

KARLA DE TOLEDO CANDIDO MULLER

AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE (SÉRIE ÔMEGA -3) NA ALIMENTAÇÃO DE RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO DE MUITO-BAIXO-PESO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Resultado_____

Campo Grande (MS), 19 de Abril 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Durval Batista Palhares
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof^a. Dra. Priscila Aiko Hiane
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof^a. Dra. Débora Marchetti Chaves Thomaz
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof^a. Dra. Leila Simone Foerster Merey
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Joel Alves Lamounier
Universidade Federal de Minas Gerais

DEDICATÓRIA

Aos meus pais pelo exemplo e incentivo em meus estudos;

Ao meu esposo pelo companheirismo e amor,

Aos meus filhos pela compreensão em relação às minhas ausências, amor incondicional e silêncio... “que a mãe está estudando”.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por permitir TUDO de bom que acontece na minha vida....

Ao Prof. Dr. Durval Batista Palhares, pela oportunidade única, sabedoria e cuidados incansáveis na busca de melhorar a vida dos recém-nascidos;

À Leila Simone Foester Merey, por me abrir as portas, para que eu atingisse meu sonho;

Às minhas grandes amigas Karla Porto e Paula Serafin, verdadeiros anjos da guarda, que seguraram na minha mão durante os quatro anos, me guiando por caminhos desconhecidos da ciência, com paciência, delicadeza e infindável carinho.

Às mães doadoras de leite, que dividem seu líquido precioso com outras crianças, num gesto de puro amor;

À toda equipe do banco de leite do NHU – UFMS, por todo apoio, para que fosse possível conseguir a quantidade necessária de leite para este estudo.

Ao Leandro Fontoura Cavalheiro, Daniel Manta e Dennis Okoba, pela fundamental ajuda e paciência nas atividades de laboratório.

Ao amigo e prof. Dr. Albert Schiaveto de Souza pelas valiosas contribuições com as análises estatísticas.

Aos meus colegas de trabalho, por todo apoio que me deram para conseguir conciliar minhas atividades de trabalho e estudo, em especial meu grande amigo Serginaldo José dos Santos.

Ao Instituto de Química – UFMS, por disponibilizar o uso do cromatógrafo do Laboratório de Biocombustíveis e ao Departamento de Tecnologia em Alimentos (DTA - UFMS) pelo seu Laboratório para realização de parte dos processos de preparo das análises.

À CAPES pelo apoio financeiro.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Esquema demonstrando a linha do tempo na produção de suplementos homólogos ao leite humano para alimentação de RNMBP.	13
FIGURA 2	Ácidos graxos saturados presentes nos alimentos.....	16
FIGURA 3	Descrição dos tipos de ácidos graxos insaturados presentes nos alimentos.	17
FIGURA 4	Etapas do processo de digestão de acordo com a ação enzimática, o tipo de gordura e a fase fisiológica envolvida.....	18
FIGURA 5	Proposta da rota metabólica para os ácidos graxos essenciais séries ω -3 e ω -6.....	21
FIGURA 6	Biossíntese dos ácidos graxos ω -3 e formação de eicosanoides....	23
FIGURA 7	Imagem do rótulo do suplemento de leite humano para alimentação de prematuros e/ou recém-nascidos de baixo peso FM85® (Nestlé) com suas informações nutricionais.....	35
ARTIGO 1		
FIGURA1	(a) Processo de evaporação do leite desnatado - Evaporador MARCONI MA 120i® Brasil; (b) Processo de liofilização - liofilizador de bancada (EDWARDS®)	46
FIGURA 2	Comparação da composição centesimal entre suplementos homólogos obtidos por metodologias distintas	47
ARTIGO 2		
FIGURA1	Desenho esquemático dos grupos realizados em cada <i>pool</i> de leite humano de banco de leite utilizado neste estudo.	68
FIGURA 2	(a) Processo de evaporação do leite desnatado - Evaporador MARCONI MA 120i® Brasil; (b) Processo de liofilização - liofilizador de bancada (EDWARDS®)	70
FIGURA 3	Cromatógrafo gasoso Shimadzu, modelo GC-2010.....	72
FIGURA 4	Cromatograma dos dos ácidos graxos separados e identificados em uma amostra de leite.	73

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

TABELA 1	Concentração média de ácidos graxos saturados identificados nos diferentes grupos de leite analisados, antes e depois de passarem pelo sistema de alimentação enteral	49
TABELA 2	Concentração média de ácidos graxos insaturados identificados nos diferentes grupos de leite analisados, antes e depois de passarem pelo sistema de alimentação enteral.....	50
TABELA 3	Concentrações médias de ácidos graxos saturados e insaturados nos grupos de leite com suplementos e as respectivas concentrações identificadas no precipitado de lactose descartado no processo de produção destes suplementos.....	50
TABELA 4	Composição de ácidos graxos saturados de leite materno de nutrizes brasileiras em diferentes estudos.....	55
TABELA 5	Composição de ácidos graxos insaturados de leite materno de nutrizes brasileiras em diferentes estudos.....	57

ARTIGO 2

TABELA 1	Concentrações de ácido linoleico (%) nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.....	75
TABELA 2	Concentrações de ácido α -linolênico (%) nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.....	75
TABELA 3	Concentrações de ácido aracdônico (%) nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.....	76
TABELA 4	Concentrações de ácido eicosapentaenoico (EPA) (%) nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.....	77
TABELA 5	Concentrações de ácido docosahexaenoico (DHA) (%) nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.....	78
TABELA 6	Descrição das concentrações de ácido linoleico (LA) e α -linolênico (ALA) e sua proporção no leite materno em diferentes estudos com mulheres de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.	82
TABELA 7	Descrição das concentrações de ácido aracdônico (ARA), eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA) no leite materno em diferentes estudos com mulheres de Campo Grande - Mato Grosso do Sul.	88

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AG – Ácido Graxo

AGE – Ácidos Graxos Essenciais

AGPI– Ácidos Graxos poli-insaturados

AGPICL – Ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa

AIG – Adequados para idade gestacional

ALA – Ácido α –linolênico

ARA – Ácido aracdônico

DHA – Ácido docosahexaenóico

EPA – Ácido eicosapentaenóico

IG – Idade Gestacional

LA – Ácido linoleico

LDL - colesterol – *Low Density Lipoproteins*

LH – Leite humano

RN – Recém-nascido

RNMBP – Recém-nascido de muito baixo peso

RNPT – Recém-nascido pré-termo

RNT – Recém-nascido a termo

TCC – Triglicerídeos de cadeia curta

TCM – Triglicerídeos de cadeia média

TG – Triglicerídeos

ω – Ômega

LISTA DE SÍMBOLOS

cm – centímetro

dL – decilitro

Δ - delta

g – grama

Kcal – quilo caloria

kg – quilograma

mg – miligrama

min - minuto

mL - mililitro

% - porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Ácidos graxos e a composição dos triglicerídeos	15
2.1.1 <u>Ácidos graxos saturados</u>	15
2.1.2 <u>Ácidos graxos insaturados</u>	16
2.1.3 <u>Digestão, absorção e metabolismo lipídico</u>	17
2.1.4 <u>Função dos ácidos graxos essenciais no organismo</u>	22
2.2 Nutrição do recém-nascido prematuro	25
2.2.1 <u>Enriquecimento do leite humano</u>	29
3 OBJETIVOS	36
3.1 Objetivo geral	36
3.2 Objetivos específicos	36
REFERÊNCIAS	37
ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO	
4. Artigo 1: Perfil lipídico do leite humano com suplemento homólogo para alimentação de recém-nascidos de baixo peso	41
RESUMO	41
ABSTRACT	42
1 INTRODUÇÃO	43
2 MATERIAIS E MÉTODOS	44
2.1 Grupos experimentais	45
<u>2.1.1 Grupo Controle</u>	45
<u>2.1.2 Grupo suplemento sem lactose desnatado, evaporado e liofilizado</u>	45
<u>2.1.3 Grupo suplemento sem lactose liofilizado</u>	46
2.2 Experimento	47
2.3 Análise dos dados	48
3. RESULTADOS	48
4 DISCUSSÃO	51
5 CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	59

5 Artigo 2: Análise dos ácidos graxos essenciais no leite humano acrescido de suplemento homólogo e óleo de peixe (série ω-3) para nutrição enteral de prematuros.....	63
RESUMO	63
ABSTRACT	64
1 INTRODUÇÃO	65
2 MATERIAIS E MÉTODOS	67
2.1 Amostras	67
<u>2.1.1 Grupos experimentais</u>	<u>68</u>
2.2 Métodos	69
<u>2.2.1 Preparação do suplemento homólogo de leite humano sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado</u>	<u>69</u>
<u>2.2.2 Preparação do suplemento homólogo sem lactose e liofilizado</u>	<u>70</u>
<u>2.2.3 Administração do óleo de peixe</u>	<u>70</u>
<u>2.2.4 Coleta e análise das amostras</u>	<u>71</u>
<u>2.2.5 Determinação dos ácidos graxos</u>	<u>72</u>
<u>2.2.6 Análise dos dados</u>	<u>74</u>
3 RESULTADOS	74
4 DISCUSSÃO	77
5 CONCLUSÕES.....	89
REFERÊNCIAS	89
ANEXO 1 – Parecer consubstanciado do CEP.....	93

1 INTRODUÇÃO

A alimentação de recém-nascidos (RN) prematuros é um desafio constante vivenciado na prática clínica de unidades neonatais. Existe a necessidade eminente de garantir ao neonato o aporte nutricional semelhante aos recebidos intraútero, a fim de promover um equilíbrio entre a oferta e a demanda para um crescimento e desenvolvimento adequado. Contudo, é unânime a opinião dos estudiosos e clínicos sobre as barreiras que impedem esse equilíbrio, devido a imaturidade do aparelho digestório com inabilidade em relação a grandes volumes, baixa taxa de absorção, ausência de enzimas ou rotas metabólicas e possibilidades de intolerância a diversos nutrientes (CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; PEREIRA *et al.*, 2008).

O recém-nascido de muito baixo peso (RNMBP) necessita de cuidados intensivos, sua fragilidade favorece o desenvolvimento de problemas nutricionais, além de apresentar uma alta taxa metabólica, sendo esta maior quanto menor o RN. Os riscos de complicações decorrentes da prematuridade incluem o declínio nas taxas de crescimento ponderal, inclusive de perímetro cefálico. Esta redução de reflete um menor crescimento encefálico, capaz de gerar alterações no desenvolvimento sensório-motor destas crianças, e até mesmo refletir em sua aprendizagem escolar (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2012).

É bem estabelecida a correlação direta entre o tempo de prematuridade e complicações. O leite humano é um produto específico próprio para a alimentação infantil, sua superioridade é absoluta, tornando-o incomparável a qualquer outro alimento substituto. Porém, devido as características anatomofisiológicas dos RNMBP, é necessária a suplementação do leite ofertado, para suprir suas necessidades calóricas, enzimáticas, favorecer o crescimento e maturidade imunológica. Contudo, os produtos comerciais utilizados como aditivos de leite materno são heterólogos, formulados à base de leite de vaca, com perfil proteico e lipídico diferente do leite materno (MARTINS & KREBS, 2009).

Desde 2006, o pediatra e pesquisador prof. Dr. Durval Batista Palhares, juntamente com vários colaboradores, vêm desenvolvendo estudos sobre a viabilidade de utilização de suplemento homólogo ao leite humano, preparado no laboratório de nutrição e metabolismo da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para alimentação dos RNMBP internados nas Unidades de Cuidados Neonatais do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, visando melhorar o perfil de

aminoácidos e de demais nutrientes fundamentais para um adequado desenvolvimento dessas crianças fisiologicamente vulneráveis, em função da prematuridade e baixo peso extremos.

O primeiro produto desenvolvido e testado por este grupo de pesquisa, a partir de metodologia própria, foi o aditivo a base de leite humano sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado (THOMAZ *et al.*, 2012). Posteriormente, uma modificação metodológica propôs um aditivo sem lactose e diretamente liofilizado, sem desnate ou evaporação, tornando a técnica mais exequível e com menor manipulação e conseqüentemente menor risco de contaminação do produto quando utilizado na alimentação de RN de muito baixo peso (GRANCE *et al.*, 2015)

Estas modificações foram aplicadas por Serafin (2015) que identificou valores de crescimento dos RN similares aos RN alimentados com produto desnatado, proposto inicialmente por Thomaz *et al.*, (2012). Sendo assim, o processo de não desnatar o leite para produção do aditivo não modificou o ganho ponderal e de perímetro cefálico dos RN. A partir deste novo resultado surgiu a necessidade de novos estudos por este grupo de pesquisa em saúde materno infantil, visando identificar os componentes lipídicos destes alimentos.

O trajeto desde o primeiro estudo internacional desenvolvido por Luccas *et al.*, (1980), passando por estudos nacionais e os desenvolvidos pelo grupo de pesquisa coordenado pelo Dr. Durval Batista Palhares está representado na figura 1.

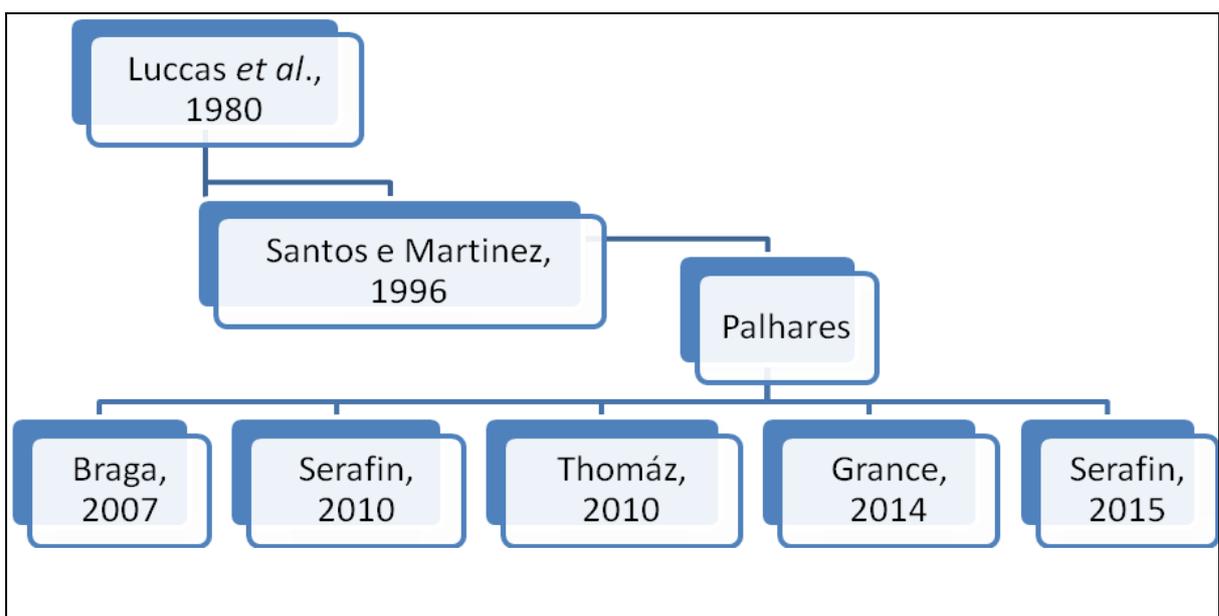


FIGURA 1 – Esquema demonstrando a linha do tempo na produção de suplementos homólogos ao leite humano para alimentação de RNMBP.

Vários nutrientes encontrados no leite humano são fundamentais para o RN, dentre eles estão os lipídios, participando da constituição da membrana celular, de alguns hormônios, vitaminas e sais biliares, além de ser fonte de energia para as células. Dentre os lipídeos, encontram-se os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, considerados componentes essenciais para o desenvolvimento funcional da retina e do sistema nervoso central (SNC), além de precursores da produção de eicosanóides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos) que regulam numerosas funções celulares e teciduais.

Todavia, as técnicas de administração de nutrição enteral, rotineiramente utilizados pelos serviços de neonatologia, incluindo o uso de componentes plásticos nos frascos e equipos, precisam ser avaliadas para garantir maior confiabilidade em seu uso e assegurar a oferta dos nutrientes, que muitas vezes podem ficar retidos devido a interação química durante a oferta da alimentação.

Diante do disposto acima, surgiu necessidade de avaliar o perfil lipídico de leite humano com os diferentes tipos de suplementos homólogos desenvolvidos por este grupo de pesquisa e determinar a interferência do sistema de nutrição enteral sobre estes leites suplementados (Artigo 1). Concomitantemente, os mesmos produtos receberão o acréscimo de óleo de peixe rico em ômega 3 para avaliar a possibilidade de seu uso na suplementação dos alimentos destes RNMBP por meio de equipos plásticos de nutrição enteral (Artigo 2), sendo estas duas etapas do estudo de caráter experimental.

É reconhecida a imaturidade do sistema nervoso central e da retina em prematuros, associada ao muito baixo peso e às vulnerabilidades provenientes de longos períodos de internação em unidades de terapia intensiva. Portanto, este estudo avaliou os níveis de ácidos graxos ofertados a RNMBP alimentados com leite humano fortificado com suplemento homólogo, por via enteral.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Ácidos graxos e a composição dos triglicerídeos

Os triglicerídeos (TG) são a forma predominante de gordura presente nos alimentos. São constituídos pela associação de três moléculas de ácidos graxos (AG), que são ácidos monocarboxílicos, com uma molécula de glicerol através de ligações ésteres. O glicerol é um álcool, que apresenta três grupos hidroxila (OH) que podem reagir com os ácidos graxos independente do tamanho da cadeia carbônica, podendo ser considerada curta (quatro átomos de carbono), cadeia média (entre seis a 12 átomos de carbono) ou cadeia longa (16 ou mais átomos de carbono) (WAITZBERG & BORGES, 2000; SANT'ANA, 2007).

Existe a classificação atribuída aos AG que está relacionada à presença ou não de ligações entre os carbonos na cadeia. Quando apresentam apenas ligações simples entre os carbonos são classificados como saturados, porém, quando apresentam duplas ligações em sua estrutura são denominados insaturados; e conforme o número de duplas ligações presentes podem ser monoinsaturados ou poli-insaturados (WAITZBERG & BORGES, 2000; NAWAR, 2010).

O tamanho da cadeia hidrocarbonada é inversamente proporcional ao peso molecular, ao ponto de fusão e a sua solubilidade em água. São considerados voláteis os AG compostos de dois a 10 átomos de carbono e não voláteis os que possuem mais de 12 átomos de carbonos em sua cadeia (SANT'ANA, 2007).

2.1.1 Ácidos graxos saturados

Conforme citado anteriormente, os AG saturados são monocarboxílicos de cadeia hidrocarbonada sem duplas ligações, portanto, caracterizada por ligações simples entre carbonos e saturadas de hidrogênio. Por esta razão, tendem a ser mais sólidos à temperatura ambiente e conseqüentemente mais resistentes a altas temperaturas, além de serem mais insolúveis que as insaturadas. Geralmente tem maior peso molecular que os demais (SANT'ANA, 2007).

Dessa forma, os tipos de AG que compõem os triglicerídeos determinam sua funcionalidade e forma de metabolização. Os triglicerídeos de cadeia média (TCM), aqueles formado por seis a 12 átomos de carbono na cadeia hidrocarbonada, são a

fonte energética preferencial devido a elevada permeabilidade na membrana celular, enquanto os triglicerídeos de cadeia curta (TCC) são produzidos por fermentação enzimática bacteriana dos polissacarídeos colônicos, que entram no cólon sob forma de fibras solúveis ou amido resistente e serem de combustível energético colônico com destaque para os ácidos graxos acético, propiônico e butírico (KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

Existe uma forte associação entre o alto consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas e doenças vasculares com presença de quadros de aterosclerose em artérias cerebrais e coronarianas, com aumento nos níveis plasmáticos de colesterol total e de LDL-colesterol (*Low Density Lipoproteins*). Deste modo, sua recomendação de consumo não deve exceder 10% das calorias totais ingeridas (WAITZBERG & BORGES, 2000).

Ácidos graxos saturados presentes nos alimentos estão relacionados na Figura 2.

Nº de Carbono	Fórmula	Nomenclatura IUPAC ^(a)	Nomenclatura comum
2	C ₂ H ₄ O ₂	Ácido etanóico	Ácido acético
4	C ₄ H ₈ O ₂	Ácido butanóico	Ácido butírico
6	C ₆ H ₁₂ O ₂	Ácido hexanóico	Ácido capróico
8	C ₈ H ₁₆ O ₂	Ácido octanóico	Ácido caprílico
10	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	Ácido decanóico	Ácido cáprico
12	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Ácido dodecanóico	Ácido láurico
14	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Ácido tetradecanóico	Ácido mirístico
16	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Ácido hexadecanóico	Ácido palmítico
18	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Ácido octadecanóico	Ácido esteárico
20	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Ácido eicosanóico	Ácido araquídico

^(a)International Union of Pure and Applied Chemistry. Fonte: Adaptado de SANT'ANA (2007)

FIGURA 2 – Ácidos graxos saturados presentes nos alimentos.

2.1.2 Ácidos graxos insaturados

Estes AG são também monocarboxílicos, porém apresentam uma ou mais duplas ligações entre carbono (monoinsaturados ou poli-insaturados,

respectivamente), sendo mais solúveis que os saturados. Estes AG insaturados compõem os triglicerídeos de cadeia longa (TCL). Os monoinsaturados são formados a partir de AG saturados e estão presentes no azeite de oliva, açaí, abacate e oleaginosas ou sintetizados endogenamente a partir de precursores, e os AG poli-insaturados formados a partir do ácido linoleico e α -linolênico, obtido exclusivamente através da dieta, estão presentes nos peixes, e nas principais fontes vegetais (soja, milho, algodão, girassol, linhaça) e frutas oleaginosas (WAITZBERG & BORGES, 2000; SANT'ANA, 2007; KUS & MANCINI-FILHO, 2010). Os ácidos graxos insaturados presentes nos alimentos estão descritos na Figura 3.

Nº de Carbono	Fórmula	Nomenclatura IUPAC^(a)	Nomenclatura comum
Monoinsaturados			
16	$C_{16}H_{30}O_2$	Ácido cis 9-hexadecenóico	Ácido palmitoléico
18	$C_{18}H_{34}O_2$	Ácido cis 9-octadecenóico	Ácido Oleico
20	$C_{20}H_{38}O_2$	Ácido cis 9-eicosenóico	-----
Poli-insaturados			
18	2	Ácido cis 9,12-octadecadienóico	Ácido Linoleico
18	3	Ácido cis 9,12,15-octadecatrienóico	Ácido α - Linolênico
20	4	Ácido cis 5,8,11,14-eicosatetraenóico	Ácido Aracdônico (AA)
20	5	Ácido cis 5,8,11,14,17-eicosapentaenóico	Ácido eicosapentaenóico (EPA)
22	6	Ácido cis 4,7,10,13,16, 19-docosahexaenóico	Ácido docosahexaenóico (DHA)

^(a)International Union of Pure and Applied Chemistry. Fonte: Adaptado de SANT'ANA (2007)

FIGURA 3 – Descrição dos ácidos graxos insaturados presentes nos alimentos.

2.1.3 Digestão, absorção e metabolismo lipídico

Após a ingestão, os lipídeos ou gorduras precisam ser digeridos para que ocorra a absorção entérica, em um processo conhecido como lipólise. Este processo está dividido em diferentes etapas, e depende do tipo de gordura oferecida pela da dieta. Este processo requer a presença de enzimas lipolíticas como liapses e

estareses, bem como da fase fisiológica de cada indivíduo, de forma geral é representado na Figura 4.

Fonte	Enzima ou Fator	Substrato	Produtos Finais
Boca e Estômago	Lipase lingual Lipase gástrica	Gordura emulsificada	Ácidos graxos Glicerol
Pâncreas	Lipases e co-lipases pancreáticas	Gordura emulsificada	Ácidos graxos, glicerol Mono/Diglicídios
Fígado e Vesícula biliar	Sais biliares e álcalis	Gorduras	Ácidos graxos + sais biliares e gordura neutra emulsificada
Intestino delgado	Lecitinase	Lecitina	Glicerol, ácidos graxos e fosfocolina

Fonte: <http://www.rgnutri.com.br/sp/fisiologia/ddl.php> (acesso 09_04_16 as 20h26)

FIGURA 4 – Etapas do processo de digestão de acordo com a ação enzimática, o tipo de gordura e a fase fisiológica envolvida.

Embora o processo de digestão lipídica seja principalmente entérico, existe uma etapa inicial na cavidade oral. A presença da lipase sublingual, ativa principalmente nos primeiros ciclos da vida lactente, serve de estímulo para a lipase gástrica. A partir dos seis meses de vida, o processo inicial ocorre no estômago, onde a presença do ácido clorídrico e os movimentos peristálticos promovem a emulsificação dos lipídios, a acidificação do material alimentar estimula a liberação da colecistocinina que promove a contração da vesícula biliar, liberando a bile para o duodeno, emulsionando as gorduras para ação das enzimas pancreáticas (MARZZOCO, 2015).

A partir de lipases pancreáticas ocorre um processo de hidrólise dos triglicerídeos originando ácido graxo e glicerol. A enzima fosfolipase A₂ atua sobre a digestão dos fosfolípidos e a enzima colesterol esterase hidrolisa os ésteres de colesterol. Os produtos das quebras enzimáticas são absorvidos pelo lúmen intestinal e reconvertidos a triglicerídeos pelas células da mucosa intestinal, e então através de carreadores específicos como quilomícos e lipoproteínas são utilizados ou armazenados. Os AG armazenados são transportados pelo sangue carreados pela albumina sérica aos tecidos para serem utilizados onde podem ser oxidados, reesterificados, dessaturados ou alongados (MARZZOCO, 2015).

Em mamíferos, alguns AG de cadeia longa são sintetizados pelo próprio organismo, principalmente no citossol de células hepáticas, podendo ocorrer em menor quantidade em tecidos adiposos e células mamárias. A síntese se dá a partir de duas unidades de carbono derivadas da Acetil-CoA, pela ação da enzima chamada ácido graxo sintetase, na qual são adicionados dois átomos de carbono, normalmente, formando uma cadeia de hidrocarbonetos crescente (WAITZBERG & BORGES, 2000; PERINI *et al.*, 2010).

O aumento da cadeia carbônica de AG ocorre pela ação de enzimas denominadas elongases, no processo de alongação. Entretanto, para formação de AG insaturados fundamentais na manutenção das membranas celulares se faz necessária a formação de duplas ligações carbônicas por enzimas dessaturases, em diferentes posições desta cadeia, em um processo denominado dessaturação (WAITZBERG & BORGES, 2000; SANT'ANA, 2007; PERINI *et al.*, 2010).

O catabolismo de ácidos graxos ocorre na mitocôndria, em direção oposta à síntese, começando em um grupo carboxila, convertendo resíduos de ácidos graxos em Acetil-CoA, que é oxidado em ácido cítrico (para produzir energia que é armazenada temporariamente como ATP). Inicialmente é necessária a sua ativação pelo acoplamento do grupo CoA formando Acil-CoA e com auxílio da carnitina adentra a mitocôndria para sofrer β -oxidação, com encurtamento da cadeia pela retirada de dois pares de carbono, sob a forma de Acetil-CoA (WAITZBERG & BORGES, 2000; SANT'ANA, 2007).

Existe também uma quebra diferenciada quando uma molécula de Acil-CoA com cinco carbonos se divide em uma molécula de Acetil-CoA e uma propionil-CoA, e não em duas de Acetil-CoA. A molécula de Acetil-CoA segue a via comum da β -oxidação. A molécula a propionil-CoA, então é convertida a succinil-CoA, um intermediário do ciclo de Krebs (MARZZOCO, 2015).

Aproximadamente 95% dos processos de oxidação acontecem na mitocôndria, mas o restante ocorre no peroxissomo do rim e do fígado visando encurtar longas cadeias de AG (>22 carbonos) para o processo de β -oxidação na mitocôndria. Aproximadamente 20% da gordura estão disponíveis de forma endógena, enquanto a forma exógena supre a demanda de 80% de gorduras a partir de diferentes fontes dietéticas, tanto de origem animal como vegetal (WAITZBERG & BORGES, 2000).

O ácido palmítico (C16:0) pode ser obtido tanto de fontes externas como pela biosíntese orgânica por meio da enzima Acetil-Coa e pelo processo de alongação, que possibilita produção do ácido esteárico (C18:0). As dessaturações ou inserções de duplas ligações formam, respectivamente, os ácidos monoinsaturados palmitoléico (C16:1) e oléico (C18:1) (SANT'ANA, 2007). A dessaturação ocorre no sentido do grupamento carboxila da cadeia carbônica e quando numerados a partir do grupamento metílico recebe a letra grega ômega (ω) indicando o local da dessaturação, ou seja, da dupla ligação (ω -7 – ácido palmitoléico, ω -9 – ácido oleico) (VALENZUELA *et al.*, 2000; TINOCO *et al.*, 2007; PERINI, *et al.*, 2010).

Entretanto, os seres humanos não possuem enzimas necessárias para introduzir ligações duplas além do carbono 9 e desta forma, o ácido linoleico (LA) (série ω -6) e o ácido α -linolênico (ALA) (série ω -3) devem ser necessariamente introduzido pela dieta, por esta razão são denominados ácidos graxos essenciais (AGE) ou de cadeia longa (SUAREZ-MAHECA *et al.*, 2002).

Os AG da série ω -6 possuem a primeira dupla ligação na posição seis da cadeia carbônica, contando a partir do terminal metil, e a partir do seu precursor LA (C18:2 n-6 ou ω -6) surgem outros seis AG. Este precursor juntamente com o ácido aracdônico (ARA) (C18:4 n-6) são considerados os representantes mais importantes desta série. Em relação aos AG da série ω -3, a primeira dupla ligação está na terceira posição e a partir do seu precursor ALA (C18:3 n-3 ou ω -3) são produzidos outros seis AG, juntamente com o ácido eicosapentaenóico (EPA) (C18:5 n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA) (C18:6 n-3), definidos como os mais importantes desta série (SANT'ANA, 2007).

Cada um dos AG das séries ω possui sua própria rota metabólica, não sendo intercambiáveis entre si, porém como uma competição de substratos pelas mesmas enzimas de dessaturação (dessaturases), provocando uma inibição recíproca da conversão metabólica. Apesar da enzima dessaturases Δ_6 ser mais atraída pela série ω -3, seguida pela série ω -6 e por fim a série ω -9, um desequilíbrio na ingestão de LA, típico em dietas ocidentais ricas em soja e milho, desestabiliza esta relação metabólica, com maior produção de AG série ω -6 (SANT'ANA, 2007; KUS & MANCINI-FILHO, 2010; NAWAR, 2010; MARZZOCO, 2015) (FIGURA 5).

Estima-se que do último trimestre gestacional ao sexto mês de vida seja o período em que é necessário um grande aporte de ARA, DHA e EPA, uma vez que a imaturidade hepática do neonato repercute na insuficiência para realizar os

processos de alongação e dessaturação a fim de atender as necessidades metabólicas destes ácidos graxos, sendo então suprido via transplacentária durante a gestação e pelo leite materno durante a lactação (MALCOLM *et al.*, 2003; VALENZUELA e NIETO, 2003; SILVA, 2007, TINOCO *et al.*, 2007).

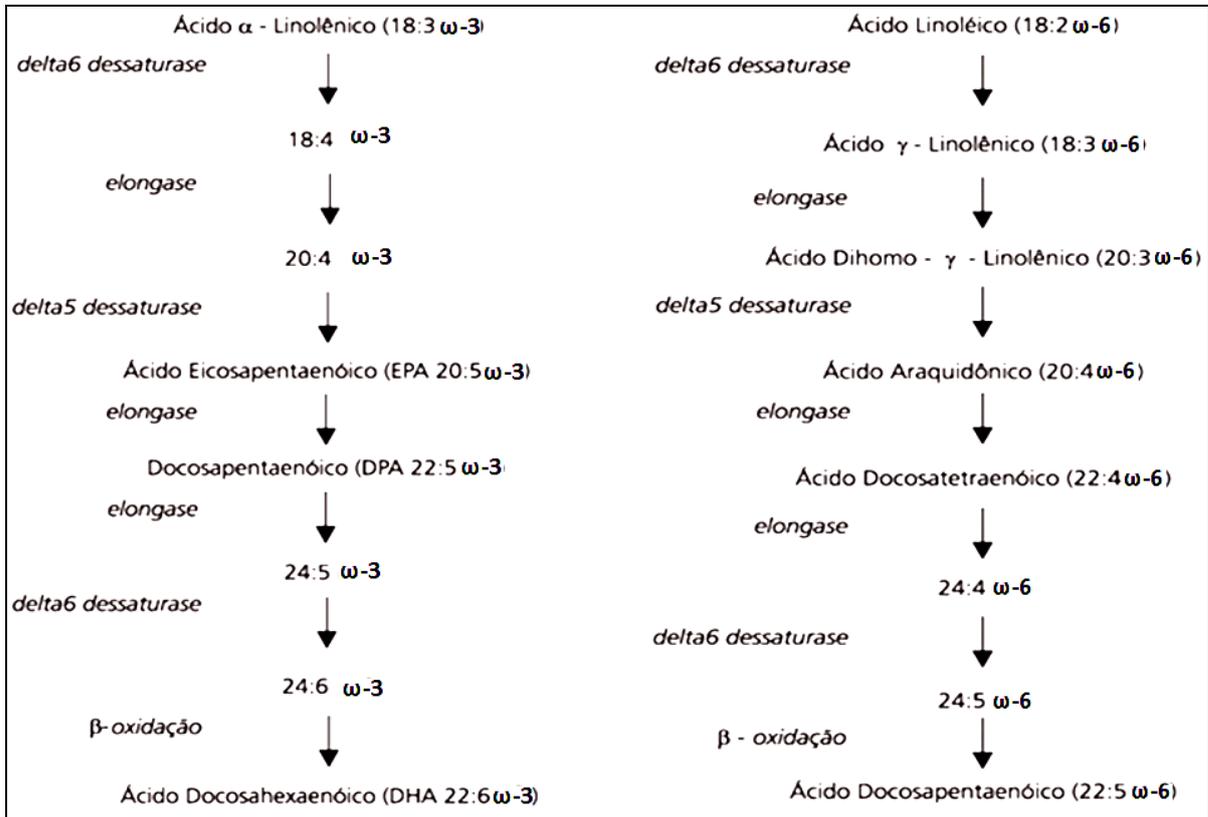


FIGURA 5– Proposta da rota metabólica para os ácidos graxos essenciais séries ω -3 e ω -6. (Adaptado de VAZ *et al.*, 2006)

As principais fontes alimentares de DHA e EPA são os pescados, principalmente sardinha, atum e salmão. Contudo, as concentrações AG ω -3 nestes alimentos dependem de vários fatores como a parte do pescado, época do ano, local de captura e características particulares do processo de industrialização. Alguns vegetais e/ou seus óleos apresentam o mesmo tipo de AG que os pescados, embora esta conversão não seja muito eficiente, além de estar sujeita a uma inibição competitiva por parte dos AG ω -6. Estratégias nutricionais devem garantir proporções adequadas de coeficientes de AG série ω -6 e ω -3, permitindo um equilíbrio entre as rotas metabólicas. (NAWAR, 2010; PERINI *et al.*, 2010).

O peixe é o único alimento com altos teores de ácido graxos poli-insaturados da série ω -3, e o efeito benéfico de sua ingestão não está relacionado à

necessidade de atuação das dessaturases, pois já possui o ácido eicosapentaenóico (C20:5 ω -3). Os AGPI encontrados no peixe estão relacionados às suas características poiquilotérmica, devido a presença de membranas biológicas fluidas, ricas em AGPI e desta forma, a temperatura da água interfere nas concentrações destes ácidos graxos (SANT'ANA, 2007).

Segundo a Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição – SBAN, a proporção tolerada entre ω -6 e ω -3 é de 10:1 e a ideal de 4 - 5:1. Valores semelhantes ao preconizado pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura FAO/WHO admitem uma variação entre 5 - 10:1. É estimado que em países ocidentais como o Brasil, com baixa ingestão de peixes, a proporção fique em torno de 10 - 20:1, enquanto nos EUA esta proporção fica em torno de 20 - 30:1. Contrariamente, em países como o Japão com alto consumo de pescados marinhos, a proporção entre ω -6 e ω -3 atingem valores considerados ideais com variações entre 2:1 a 4:1 (SUAREZ-MAHECA *et al.*, 2002; MARTIN, *et al.*, 2006; LÓPES-TORRES *et al.*, 2007; KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

2.1.4 Função dos ácidos graxos essenciais no organismo

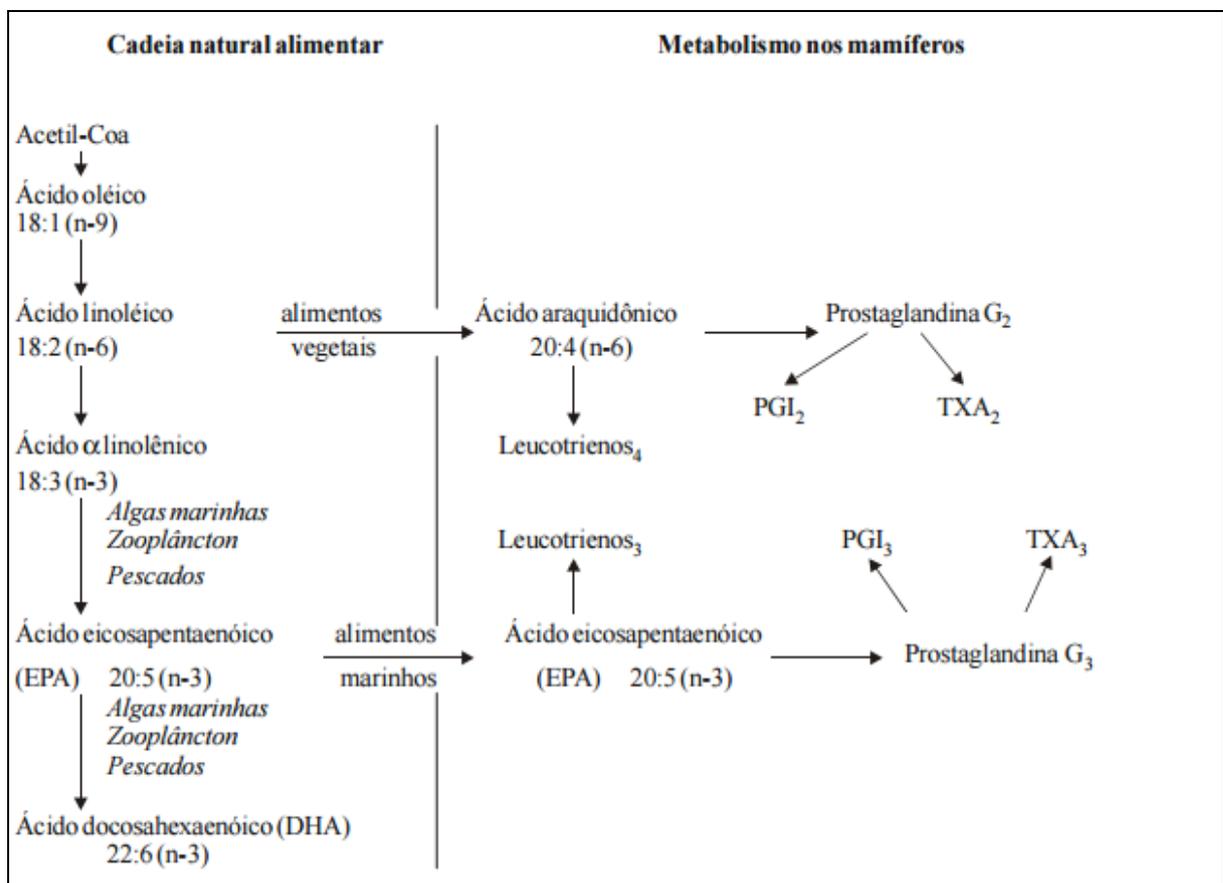
Os AGE, também conhecidos como ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPICL), são elementos estruturais necessários à síntese de lipídios de tecidos, e têm um papel importante na regulação de vários processos metabólicos, de transporte e excreção e, portanto, para suprir a demanda orgânica, os mesmos devem estar em quantidades suficientes na alimentação. Uma importante função dos AGE está na composição da membrana celular, permitindo maior fluidez e viscosidade, o transporte de várias substâncias como sódio, potássio, enzimas, e a sinalização para receptores de insulina, antígenos, dentre outros (WAITZBERG & BORGES, 2000; MARTIN *et al.*, 2006).

Dentre os AGE, DHA e ARA, participam tanto do desenvolvimento neurológico quanto da função visual dos seres humanos, constituindo mais de 30% da estrutura lipídica do cérebro e membrana da retina.

O DHA é o AGPICL com maior presença nos cones e bastonetes da retina. Os fosfolipídeos da massa cinzenta do cérebro contem grandes proporções de DHA e ARA. Os AGPICL estão atuantes na composição lipídica das membranas permitindo trocas físico-químicas importantes e também são precursores da

produção de eicosanóides (prostaglandinas, prostaciclina (PGI₂), tromboxanos e leucotrienos) que regulam numerosas funções celulares e teciduais (WAITZBERG & BORGES, 2000; SUAREZ-MAHECA *et al.*, 2002; MALCOLM *et al.*, 2003; VALENZUELA & NIETO, 2003; SANT'ANA, 2007; SILVA *et al.*, 2007; TINOCO *et al.*, 2007; PERINI *et al.*, 2010).

Os autores consideram extremamente relevantes o papel destes AG na formação dos eicosanóides, visto que são substâncias imunorreguladoras relacionadas às funções fisiológicas dos sistemas cardiovascular, reprodutivo, respiratório, renal, endócrino e imune. Eles são derivados oxigenados dos ácidos dihomog- γ -linolênico (C20:3 n-6), ARA e EPA. Sintetizados a partir da enzima cicloxigenase (prostaglandina endoperóxido sintase) e lipoxigenase, sua síntese depende de AG tanto da série ω -6 como ω -3, o que acarreta a competição destes ácidos como substrato para o mesmo sistema enzimático (dessaturases, lipoxigenases, prostaglandinas). Uma produção exacerbada de eicosanóides pode gerar complicações como hiperresposividade imunológica e inflamatória (FIGURA 6).



(Fonte: WARD,1995 *apud* SUAREZ-MAHECA *et al.*, 2002).

FIGURA 6 - Biossíntese dos ácidos graxos ω -3 e formação de eicosanóides.

Deficiência de AG ω -6 pode desencadear alterações como lesões na pele, anemia, aumento de agregação plaquetária, trombocitopenia, esteatose hepática, déficits de cicatrização e hiperresponsividade às infecções. Em crianças pode ainda ser responsável por retardo no crescimento e quadros diarreicos. A deficiência de AG ω -3 pode ser responsável por sintomas neurológicos, redução da acuidade visual, lesões cutâneas, retardo de crescimento, déficits de aprendizado e eletrorretinograma anormal. Entretanto, a ingestão de AGE em valores superiores a 15% do valor calórico total constitui padrão de toxicidade, assim como o excesso de ω -6 pode desencadear quadros de imunossupressão (WAITZBERG & BORGES, 2000).

É justamente no terceiro trimestre gestacional que ocorre a maior demanda AGE visando suprir as necessidades do feto, em especial ARA e DHA, em detrimento de uma acelerada síntese do tecido cerebral ocorrendo na mesma intensidade no período neonatal precoce, por causa dos processos de diferenciação e refinamento de sinapses próprios da maturação cerebral. Naturalmente, o leite de nutrizes de bebês prematuros apresentam maiores concentrações destes AG. (IRANPOUR, *et al.*, 2013).

Desde a gestação, é fundamental uma alimentação equilibrada para suprir, via transplacentárias, as necessidades dos fetos em relação às concentrações de ω -3. Esta necessidade não se modifica após o nascimento e primeiros seis meses de vida extrauterina, uma vez que o recém-nascido (RN) tem uma limitada capacidade para metabolizar AGPICL, sendo necessário receber as quantidades necessárias de EPA e DHA pelo leite materno.

Entretanto, nutrizes com uma dieta pobre em relação a estes AG não conseguem suprir as necessidades de seu filho, podendo comprometer seu crescimento e desenvolvimento. A situação torna-se mais delicada quando o RN não é alimentado com leite materno, recebendo fórmulas lácteas infantis de origem bovina e que necessariamente precisam ser enriquecidas com diversos nutrientes, incluindo AGE (MALCOLM *et al.*, 2003; VALENZUELA & NIETO, 2003; KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

2.2 Nutrição Enteral Do Recém-Nascido Prematuro

O leite humano é espécie-específico, considerado superior a qualquer outra alimentação substituta para alimentação infantil e, portanto, o aleitamento materno exclusivo é considerado mundialmente como modelo de referência ou normativo de alimentação do recém-nascido (RN), devendo ser continuado de forma exclusiva pelos primeiros seis meses de vida, e conjuntamente a outros alimentos até os dois de vida da criança (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005).

A característica do leite é definida no pós-parto, inicialmente com o colostro secretado nos primeiros cinco dias após o parto, é espesso e amarelado pela alta quantidade de β caroteno. Seu volume é suficiente para satisfazer as necessidades do recém-nascido nesse período. Mães de RN de termo apresentam no colostro uma composição média de 54 Kcal/dL; 2,9 g/dL de lipídeos; 5,7g/dL de lactose e 2,3 g/dL de proteína, com alta concentração de IgA secretora e lactoferrina, linfócito e macrófagos, além de ser mais rico em sódio, potássio e cloretos do que o leite maduro (SCHANLER, 1995).

Entre o 5º e 15º dia de vida do RN, a nutriz produz o leite de transição, com modificações em sua concentração até atingir os valores médios do leite maduro, com volume e composição estáveis, fornecendo em média 70 Kcal/dL; 2,9-3,4g/dL de lipídeos; 6,4-7,1g/dL de lactose e 1,3-1,8g/dL de proteína. O teor dos macronutrientes varia conforme o leite do início e final da mamada, observando que o leite do final da mamada contém 1 ½ a 3 vezes maior quantidade de gordura que o início, além da diferença de 5 a 6% nas concentrações de cobre e zinco. Entretanto, os micronutrientes como cálcio, fósforo, sódio e potássio não apresentam diferenças entre os conteúdos de início e final (SCHANLER, 1995).

O leite da mãe do recém-nascido prematuro (RNPT) é diferente do leite da mãe do RN a termo, principalmente nos primeiros 15 dias subsequentes ao parto, apresentando maiores concentrações de gorduras, proteínas e calorias, sódio e IgA, assim como menores concentrações de fósforo, cálcio e lactose, fortalecendo a diretiva sobre alimentar RNPT com leite da própria mãe (PEREIRA, 2008).

Relacionado às concentrações de AGE, Abreu (2016) comparou a quantidade de DHA, ARA e EPA no leite de mães de RN termos e prematuros em diferentes fases da lactação e identificou menor média do ARA no leite de transição de mães de recém-nascidos prematuros em comparação com os termos.

A Organização Mundial da Saúde classifica como pré-termo ou prematuro os recém-nascidos com idade gestacional inferior a 37 semanas e recomenda o leite materno como dieta favorável de maneira a manter o crescimento na velocidade intrauterina, sem impor estresse sobre as funções metabólicas e excretoras imaturas no neonato (BRASIL, 2008).

Todavia, a prematuridade confere uma maior imaturidade aos diversos sistemas do RN, necessitando de cuidados intensivos. Além disso, sua fragilidade favorece o desenvolvimento de problemas nutricionais, sendo considerado de risco por apresentar uma imaturidade bioquímica capaz de afetar seu metabolismo, tornando sua taxa metabólica elevada e comprometendo a velocidade de crescimento, sendo maiores as complicações quanto menor sua idade gestacional (PEREIRA *et al.*, 2008; RYYAN *et al.*, 2015).

Um grande desafio ao RNPT é a adaptação às mudanças abruptas causadas pela ruptura da nutrição parenteral intrauterina via umbilical e o suporte enteral pelo leite humano. Contudo, este alimento contempla mais de 200 constituintes essenciais, seus nutrientes e componentes bioativos facilitam a adaptação a este processo, com destaque para as proteínas e peptídeos (PEREIRA *et al.*, 2008)

A imaturidade do sistema digestório deve ser respeitada e a prática clínica utilizada rotineiramente engloba a estimulação deste sistema a partir de pequenas quantidades de leite materno, mesmo que o RNPT esteja em alimentação parenteral. Esta conduta possui um efeito trófico, beneficiando a mucosa intestinal, a regulação da motilidade gastrointestinal e diminuição da incidência de sepse, além da indução da atividade da lactase (PEREIRA *et al.*, 2008).

A alimentação enteral em neonatos é realizada administrando-se leite preferencialmente humano, colocados em frascos plásticos de 100 mL conectados a um tubo de PVC com cone que permite o transporte da dieta enteral do frasco à sonda do paciente (equipo). A oferta do alimento também pode ser feita por gavagem (bolus) ou infusão contínua (BRASIL, 2011), mas estas práticas aumentam o risco de enterocolite necrosante (PEREIRA, 2008).

A proteção imunológica conferida ao RNPT pelo aleitamento materno é indiscutível. Além de suas inúmeras vantagens aos prematuros relacionadas a menores taxas de sepse, enterocolite necrosante, retinopatia da prematuridade e diminuição no tempo para obtenção de uma nutrição enteral completa. Quanto mais precoce a prematuridade mais acentuadas são as desvantagens sistêmicas destes

RNs e quando somadas ao baixo peso, tornam-se, por vezes, fatais (PEREIRA *et al.*, 2008; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005; 2012).

O uso de leite humano em neonatologia também promove uma menor taxa de mortalidade infantil, com diminuição de episódios de internação hospitalar em meses subsequentes. Em longo prazo, o aleitamento materno promove melhores taxas de crescimento e de desenvolvimento neurológico, aprendizado e memória, além de menor risco para desenvolver intolerância alimentar quando comparados à crianças alimentados com fórmulas (MARTINEZ & CAMELO JR, 2001; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005; 2012).

Estudos sugerem que prematuros extremos que receberam leite humano em unidades de cuidado neonatal apresentaram melhores pontuações em avaliações de habilidades motoras, mentais e comportamentais, quando entre 18 e 30 meses de idade, independente dos fatores socioeconômicos das mães e possíveis doenças infantis. Outra vantagem do leite humano para os prematuros está na diminuição das taxas de morbidades presentes a partir da adolescência como síndrome metabólica, hipertensão arterial, diabetes, e problemas renais. (CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2012)

O ideal seria a utilização do leite da própria mãe, contudo, sua produção láctea pode ser dificultada pelo estresse emocional materno provocado pela internação do RN com um quadro de instabilidade clínica, desenvolvendo uma fragilidade do contato mãe-filho, ausência de amamentação precoce e a não manutenção da sucção no seio materno (KLAUS & KENNEL, 2000).

Quando o leite da mãe não for disponível, utiliza-se o leite de banco, com as devidas medidas de controle de qualidade e pasteurização, mesmo que refletindo em um menor crescimento que o observado na vida intrauterina. Partindo de um ideal hipotético, bebês RNPT deveriam receber alimentação similar a que receberiam intraútero, suprimindo suas necessidades específicas decorrentes do caráter energético proteico, enzimático, de crescimento e imunológico. Apesar do sucesso desta prática algumas semanas pós-termo, as exigências nutricionais não são mais supridas devido a necessidade de maiores aportes de proteína, cálcio e fósforo (CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; MARTINS & KREBS, 2009).

A imaturidade sistêmica do RNPT compromete sua nutrição, não somente pelas questões do aparelho digestório, mas também pela imaturidade para coordenar movimentos de respiração/sucção/deglutição, presentes em menores de

32 a 34 semanas gestacionais. A utilização da nutrição enteral, desde sua indicação trófica quando o neonato ainda recebe nutrição parenteral, deve ser criteriosa (SCHETTINI & MIYOSHI, 1999).

O uso de sondas de alimentação posicionadas até o estômago é frequentemente utilizado, entretanto, as práticas de alimentação contínua ou intermitente são controversas na literatura, mas a indicação da nutrição intermitente sugere um melhor esvaziamento gástrico e menor perda de nutrientes pelos equipamentos (PEREIRA & NIEMAN, 2008).

A imaturidade gástrica do RNPT (dentre as demais) requer o uso de nutrição específica com leite humano e esta prática esbarra no difícil propósito de manter os estoques de bancos de leite humano em níveis satisfatórios para a demanda dos hospitais, que lidam com esta clientela de característica tão frágil.

O Brasil possui a maior e mais complexa rede de banco de leite humano do mundo, com 217 bancos de leite e 163 postos de coleta, configurando a Rede Brasileira de Banco de Leite Humano. Esta complexa estrutura visa coletar, processar e distribuir leite humano, além de garantir aos lactentes hospitalizados o acesso irrestrito de leite humano. O Estado de Mato Grosso do Sul apresenta atualmente cinco Bancos de Leite Humano (BLH) cadastrados, sendo quatro situados na capital Campo Grande, em Hospitais com maternidade e Unidades de Terapia Intensiva Neonatal e um instalado no Hospital na cidade de Dourados (BRASIL, 2012).

Existe uma variabilidade na composição dos nutrientes do leite humano quando estes são provenientes de diferentes doadoras e estão relacionadas ao conteúdo de energia e de proteína deste alimento, podendo sofrer influências do processo de captação, manipulação e armazenamento do mesmo, desde as diversas circunstâncias que permeiam o momento de coleta, seu armazenamento em geladeira ou congelador e a distribuição destes leites.

Além dos fatores extrínsecos citados, tais divergências são inerentes às características próprias das doadoras, o período de lactação, idade materna, condições de saúde, classe social ou idade gestacional (SCHANLER, 1995; HEIMAN & SCHANLER, 2006; PEREIRA *et al.*, 2008, RONA *et al.*, 2008, COSTA & SABARENSE, 2010).

Procurando garantir a oferta de um alimento de qualidade, o banco de leite utiliza a técnica de análise do teor de gordura através do crematócrito (PEREIRA *et*

al., 2008, RONA *et al.*, 2008). Teoricamente seria ideal que a fração lipídica média do leite humano tivesse um conteúdo médio de 4,2 g/dL, sendo constituída principalmente de triglicerídeos (98%), numa porção capaz de suprir entre 45% a 55% da energia necessária para um neonato em aleitamento exclusivo (COSTA & SABARENSE, 2010).

Uma possível estratégia de saúde pública seria a prática incisiva de educação em saúde materno infantil nas rotinas de pré-natal, o mais cedo possível, conferindo maior apoio materno sobre as diversas questões relacionadas à amamentação e à doação de leite humano.

De modo geral, os RNPT nascidos antes de 31 semanas gestacionais estão propensos a permanecerem hospitalizados por tempo prolongado e conseqüentemente recebendo um leite mais pobre em seus padrões nutricionais. Quanto maior a prematuridade do RN maiores as suas necessidades, sendo que os RNMBP necessitam de um suporte nutricional mais específico em relação aos demais (PALHARES *et al.*, 2012).

Em virtude das condições típicas dos RNMBP já descritas, acrescidos de um metabolismo acelerado, da diminuição das reservas orgânicas, da imaturidade sistêmica e digestiva, somadas a instabilidade frente às situações de sobrecarga hidroeletrólítica, torna-se um desafio para a equipe multiprofissional envolvida em seu processo de alimentação administrar estas variáveis e garantir uma nutrição adequada sem administrar grandes volumes (PEREIRA *et al.*, 2008; MARTINS & KREBS, 2009).

2.2.1 Enriquecimento do leite humano

Schanler *et al.* (1998) afirmam que o uso exclusivo de leite humano na alimentação de recém-nascido pré-termo podem resultar em menores taxas de crescimento e deficiências nutricionais, apesar de todas as vantagens já relatadas. Para evitar possíveis danos ao RNPT, aditivos para o leite materno têm sido desenvolvidos contendo proteínas, hidratos de carbono, sódio, cálcio e fósforo, entre eles o FM-85[®], com o objetivo de suplementar o leite materno, a fim de torná-lo mais adequado às necessidades dos RNPT.

A American Academy of Pediatrics (2005; 2012) recomenda que todos os prematuros devam receber leite humano, seja ele da própria mãe, fresco ou

congelado, sendo este leite suplementado de forma adequada, com proteínas, minerais e vitaminas para assegurar uma melhor ingestão de nutrientes para a recém - nascidos de muito baixo peso (RNMBP), ou seja, aqueles com peso inferior ou igual a 1.500 g.

No Brasil, assim como em países em desenvolvimento ou desenvolvidos, a suplementação faz parte da rotina em neonatologia, iniciando com uma oferta enteral mínima de 100 mL/Kg/dia (PEREIRA, 2008).

As necessidades energéticas do prematuro variam entre 60 a 75 kcal/kg/dia, podendo esta necessidade ser aumentada na presença de quadros de sepse e/ou dificuldade respiratória. Em prematuros submetidos a ventilação mecânica, a necessidade metabólica pode aumentar até 25%. Porém, pré-termo muito pequenos podem chegar a necessitar de valores superiores a 110 a 150 kcal/kg/dia, o que na prática clínica é difícil alcançar por inúmeras razões. Condições clínicas podem levar à restrição hídrica, intolerância a infusões de glicose e limitada ingestão lipídica, decorrentes de alterações respiratórias, hiperbilirrubinemia e sepse (CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; PEREIRA, 2008).

Schanler (2001) observou que a administração de leite humano não enriquecido para RNPT, com peso inferior a 1.500 g até que os mesmos atingissem o peso de 1800g, culminou em menor crescimento corpóreo e menores níveis séricos de cálcio e fósforo, comparando-os a neonatos alimentados com leite humano enriquecido com nutrientes. Este fato justifica o enriquecimento de leite humano, seja direto da mãe ou de banco de leite humano, com nutrientes específicos procurando atender as necessidades nutricionais destes neonatos (MARTINS & KREBS, 2009).

Kumar & Sundaram (2011), em um estudo de revisão, analisaram os efeitos da suplementação de leite humano com proteínas para a promoção do crescimento de RNPT e relataram que a suplementação proteica provocou um incremento significativo nas medidas antropométricas destas crianças. A análise de três diferentes estudos demonstrou um aumento nos níveis séricos de ureia, sugerindo um controle na ingestão destes suplementos. Os autores ressaltam que os aditivos para leite humano utilizados em RNMBP devem apresentar uma variedade de componentes, uma vez que as necessidades destes bebês compreendem compostos diversos.

Os suplementos comerciais específicos para RNPT são de origem bovina, fornecendo nutrientes como proteína, cálcio, fosfato e carboidratos, sódio, vitaminas e outros micronutrientes (PEREIRA, *et al.*, 2008), contudo, não há um consenso sobre quantidade e qualidade dos nutrientes fornecidos nestes alimentos (MOREIRA & ROCHA, 2004; CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005; 2012; KUMAR & SUNDARAM, 2011).

É real o risco de RNMBP alimentado com leite materno suplementado com proteína de origem bovina desenvolver enterocolite necrosante (HEIMAN & SCHANLER, 2006; SILVA, 2007, PANCZUK *et al.*, 2016). Apesar do esforço para tornar o perfil nutricional dos suplementos comerciais o mais similar possível ao leite humano, inclusive garantindo maior oferta proteica que nas fórmulas infantis para os nascidos a termo, aminoácidos específicos e alguns minerais nestas fórmulas (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005, THOMAZ, 2012, PALHARES *et al.*, 2012). Além de uma predominância de triglicerídeos de cadeia média (TCM) e menores concentrações de ácidos graxos essenciais (MOREIRA & ROCHA, 2004).

Em 1980, Lucas *et al.*, propuseram um método simples para ajustar os componentes do leite humano a ser oferecido aos RNMBP, feito exclusivamente do próprio leite humano. Os autores extraíram do leite humano a gordura por centrifugação e a proteína por liofilização, para posteriormente readicionar como isolados ao leite humano, conforme a necessidade do neonato.

No Brasil, Santos e Martinez (1996) submeteram leite humano ao processo de evaporação por vácuo identificando significativo aumento de fósforo, cálcio, sódio, proteína e lactose, sendo as concentrações de lactose posteriormente reduzidas e o produto final reconstituído ao leite humano para alimentação de RNMBP com um composto integralmente homólogo. Em 2007, Braga e Palhares demonstraram a viabilidade de uso do processo de evaporação a 70% do volume inicial. Foi possível satisfazer as necessidades nutricionais do leite humano preconizadas para os RNPT, exceto em relação ao cálcio e fósforo.

Outro suplemento homólogo foi proposto por Serafin (2010), com desenvolvimento de um composto lácteo a partir de leite humano de banco modificado (LHM), com desnate seguido da evaporação e retirada da lactose, demonstrando melhor tolerabilidade gástrica que o LHM puro, ou o Leite Humano acrescido de suplemento comercial a base de leite de vaca (FM85[®] - Nestlé). Foi

observado que o LHM utilizado como aditivo para reconstituição no leite humano propiciou uma dieta láctea com quantidades de micronutrientes equivalente ao leite humano pré-termo, compatível com a alimentação do RNPT, apesar da necessidade de suplementação específica de sódio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, zinco.

Uma maneira de concentrar o leite humano, semelhante ao produto industrializado, é a liofilização. Este procedimento garante que os nutrientes do LH sejam preservados e sua concentração permite sua utilização como suplemento para RNMBP (NAIL *et al.*, 2002).

Thomaz *et al.*, (2012) desenvolveram um suplemento homólogo de leite humano onde foi retirada a gordura e a lactose do leite humano, após a evaporação e a liofilização respectivamente, resultando em 5,49 g do pó que foram acrescentados a 100 mL de *pool* de leite humano. A análise quantitativa de hidratos de carbono e proteína foi significativamente maior nos grupo de RNMBP alimentados com o suplemento homólogo (SH) comparada com 100 mL desse mesmo *pool* acrescido de FM85[®] (Nestlé), e clinicamente foi observado aumento no perímetro cefálico no grupo que recebeu o suplemento proposto. Entretanto, evidenciou-se a necessidade de ajustes de cálcio e fósforo neste suplemento com uma oferta extra de aproximadamente 75 mg de cálcio e 35 mg de fósforo para cada 100 mL de leite, para se adequar aos valores recomendados para esta faixa etária.

Com objetivo de simplificar as fases de manipulação do leite e melhorar sua composição nutricional, Grance *et al.* (2015) desenvolveram um suplemento homólogo com retirada de lactose e liofilização, identificando as concentrações dos macro e micronutrientes do composto após reconstituição em leite humano de banco de leite. Os autores identificaram que, com exceção do cálcio e do fósforo, o leite humano somado ao aditivo proposto pode atender às necessidades nutricionais do RNMBP. No mesmo ano, Serafin realizou um ensaio clínico com 11 RNMBP e comprovou a eficácia deste suplemento sem desnate, com padrão de crescimento de perímetro cefálico, peso e comprimento adequado aos recomendados para estes neonatos.

A não realização do desnate se justifica, pois dentre os nutrientes do leite materno há um destaque para seu conteúdo lipídico. A concentração média de lipídeos no leite humano varia dependendo do período de lactação, sendo aproximadamente de 2 g / 100 mL no colostro podendo chegar a 4 g / 100 mL no leite maduro (SCHANLER, 1995; VALENZUELA & NIETO, 2003).

A maior fonte de energia das crianças amamentadas é oriunda da fração de lipídeos no leite materno, contribuindo com um total de 40 a 55% do total de energia ingerida, fornecendo nutrientes essenciais como as vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), incluindo ácido linoleico e α - linolênico. (TINOCO *et al.*, 2007).

O leite de vaca apresenta três vezes menos ARA e DHA que o de leite humano, e, portanto se torna insuficiente para atender as necessidades do lactente. Há uma maior vulnerabilidade para desenvolver deficiência de AGPICL nos RNPT, e esta instabilidade fisiológica está associada, entre outros fatores, a baixa reserva lipídica que quando potencializada por uma ingesta insuficiente pode provocar um uso destes AG para atender as necessidades calóricas do neonato (SILVA *et al.*, 2007).

Ramirez-Corria (2001) ressalta em seu estudo que a “deficiência de AGPICL no RNPT afeta fundamentalmente o desenvolvimento cerebral e da retina em longo prazo e se manifesta de forma precoce com transtornos hematológicos, dermatites, hipotonia, entre outros”. O crescimento no RN, incluindo peso, comprimento e perímetro cefálico também é influenciado pela deficiência destes AG.

Mulheres pouco nutridas ou com dietas veganas podem exigir uma suplementação de DHA, além de multivitaminas (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2012). Muitas complicações em curto prazo decorrentes de suporte nutricional deficiente e insuficiência do crescimento pós-natal em recém-nascidos prematuros refletem nos resultados em longo prazo, sendo que a restrição de crescimento extrauterino ainda é prevalente, apesar de extremamente relevante e discutido entre os profissionais que cuidam de prematuros (RAYYAN *et al.*, 2015).

Costa e Sabarense (2010) compararam a composição lipídica de nutrizes de diferentes nacionalidades, identificando que o leite de nutrizes brasileiras apresentam melhor perfil de ácidos graxos essenciais e seus metabolitos ARA e DHA, contudo, se mantém a desproporção entre ω -6: ω -3 em 14:1, acima do recomendado pela FAO/WHO (KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

A validade do uso de suplementação com DHA e ARA já foi evidenciada por diversos autores. Birch *et al.*, (2000) compararam o desenvolvimento mental de 19 lactentes que foram suplementados com DHA e ARA, 17 lactentes com suplementação de DHA e 20 lactentes sem suplementação (grupo controle), desde os primeiros cinco dias devida até a 17ª semana. Ficou evidenciado um melhor

índice de desenvolvimento mental de lactentes que foram suplementados em relação aos que não receberam suplementação.

Hoffman *et al.*, (2009) analisaram concentrações de ácidos graxos e testaram a acuidade visual em 61 lactentes que foram suplementados ou não com fórmulas contendo DHA e ARA. Eles observaram melhor desenvolvimento infantil quando os lactentes utilizaram fórmulas fortificadas com DHA e ARA.

Para Iranpour *et al.*, (2013), em países desenvolvidos estes ácidos graxos são adicionados às fórmulas para lactentes, ficando a maioria dos produtos de países em desenvolvimento isenta deste tipo de ácido graxo. O fator preocupante na suplementação de leite materno com DHA, EPA e ARA está na utilização do suplemento comercial FM85[®] na maioria dos serviços de neonatologia no Brasil. Este suplemento é seguro e de fundamental utilização por ser reconhecidamente eficaz ao suplementar os neonatos prematuros, mas sua composição aponta muito baixas concentrações de gorduras, sem relação com os AGPI em questão (FIGURA 7).

São necessárias técnicas que permitam garantir uma eficaz suplementação nutricional de RNMBP não apenas em relação às proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais, mas atendendo também as necessidades de ácidos graxos essenciais, em especial os derivados da série ω -3. Mas, acrescentar os AGPI a estes suplementos ainda é um desafio à prática clínica neonatal.

Informação Nutricional FM 85		Por 100g de pó	Por 1g de FM 85	20ml de Leite Materno	1g FM 85 + 20ml de Leite Materno
Valor Calórico, Kcal		353	3,53	13,4	17
Carboidratos, g		68	0,68	1,4	2,1
Proteínas, g		20	0,2	0,2	0,4
Gorduras Totais, g		0,1	0	0,76	0,8
Cálcio, mg		1500	15	6	21
Sódio, mg		400	4	3	7
Potássio, mg		840	8,4	11	19,4
Cloreto, mg		340	3,4	9	12,4
Fósforo, mg		900	9	3	12
Magnésio, mg		20	0,2	0,6	0,8
Iodo, mcg		300	3	1,4	4,4
Cobre, mg		0,2	0	0,01	0,01
Zinco, mg		6	0,1	0,04	0,14
Vitamina A, mcg ER		1200	12	33	45
Vitamina E, mg α TE		40	0,4	0,08	0,48
Vitamina K1, mcg		40	0,4	0,06	0,46
Vitamina C, mg		200	2	1	3
Tiamina (B1), mg		0,4	0	0	0
Riblofavina (B2), mg		1	0	0,01	0,01
Vitamina B6, mg		0,6	0	0	0
Ácido Fólico, mcg		800	8	1	9

Capacidade de medida: 1 g

Fonte: Informações Úteis ao Profissional de Saúde - (Nestlé, s/d)

FIGURA 7 – Imagem do rótulo do suplemento de leite humano para alimentação de prematuros e/ou recém-nascidos de baixo peso FM85® (Nestlé) com suas informações nutricionais.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o uso de óleo de peixe rico em ácidos graxos série ω -3 na alimentação de recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso.

3.2 Objetivos específicos

Identificar o perfil lipídico de leite humano com diferentes suplementos homólogos para alimentação de recém-nascidos de muito baixo peso.

Identificar as concentrações de ácidos graxos essenciais no leite humano acrescido de suplemento homólogo e óleo de peixe para nutrição enteral de prematuros

Identificar as concentrações de ácidos graxos essenciais no precipitado de lactose descartado na produção dos suplementos homólogos

Identificar o efeito do equipo plástico de nutrição enteral nas concentrações de ácidos graxos saturados e insaturados.

Identificar o efeito do equipo plástico de nutrição enteral nas concentrações de ácidos graxos essenciais do leite humano suplementado após com óleo de peixe (série ω -3).

REFERENCIAS

ABREU, G.L. Comparação dos ácidos graxos essenciais no leite da mãe do prematuro e da mãe do bebê a termo nas diferentes fases da lactação. (Mestrado) Programa de Pós Graduação de Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste. **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS**. 2016

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Breastfeeding and the Use of Human Milk. **Pediatrics**, v. 115, n. 2 February 2005 p 496 – 506

_____, Breastfeeding and the Use of Human Milk **Pediatrics**, v.129, n.3, p:e827-e841 ,2012.

BIRCH, E.E.; GARFIELD, S.; HOFFMAN, D.R.; UAUY, R.; BIRCH, D.G. A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. **Dev Med Child Neurol**, 42, n.3, p:174-81, Mar. 2000.

BRAGA, L.P.M.; PALHARES, D.B, Effect of evaporation and pasteurization in the biochemical and immunological composition of human milk. **J Pediatr**, .v.83, n.1, p:59-63, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos/** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2008. 160 p

CAMELO JR, J.S; MARTINEZ F.E. Dilemas nutricionais no pré-termo extremo e repercussões na infância, adolescência e vida adulta. **J Pediatr**, v.81, n.1 (supl), p:S34-S42, 2005.

COSTA, A.G.V.; SARABENSE, C.M. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. **Rev Nutr**, Campinas, v.23, n.3, p:445-457, 2010.

GRANCE, T.R.S; SERAFIN, P.O, THOMAZ, D.M.C, PALHARES, D.B. Aditivo homólogo para a alimentação do recém-nascido pré-termo de muito baixo peso. **Rev Paul Pediatr**, v.33, n.1, jan./mar. 2015.

HEIMAN, H; SCHANLER, R.J. Benefits of maternal and donor human milk for premature infants. **Early Human Development**, v.82, p:781–787, 2006.

MARTINS, E.C.; KREBS, V.L.J. Effects of the use of fortified raw maternal milk on very low birth weight infants. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v.85, n.2, p:157-162, 2009.

HOFFMAN, D.R.; BOETTCHER, J.A.; DIERSEN-SCHADE, D.A. Toward optimizing vision and cognition in term infants by dietary docosahexaenóico and arachidonic acid supplementation. A review of randomized controlles trials. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essencial Fatty Acids**, v.81, n.2-3, p:151-58, 2009.

IRANPOUR, R., KELISHADI, R., BABAIE, S., KHOSRAVI-DARANI, K., FARAJIAN S. Comparison of long chain polyunsaturated fatty acid content in human milk in preterm and term deliveries and its correlation with mothers' diet **J Res Med Sci.**, Jan, v.18, n.1, pag. 1–5, 2013.

KLAUS M.H.; KENNEL J. **Vínculo: construindo as bases para um apego seguro e para a independência.** Artes Médicas, Porto Alegre, 2000.

KUMAR P.; SUNDARAM V. **Protein supplementation of human milk for promoting growth in preterm infants: RHL commentary** (last revised: 1 July 2011). The WHO Reproductive Health Library, Geneva: World Health Organization. Disponível em: http://apps.who.int/rhl/newborn/cd000433_kumarp_com/en/. (Acesso em: 09/02/16).

KUS, M.M.M.; MANCINI-FILHO, J. Ácidos Graxos. ILSI Brasil -International. Life Sciences Institute do Brasil. **Série de publicações ILSI Brasil: Funções plenamente reconhecidas de nutrientes;** v.17. São Paulo, 2010.

LÓPEZ-TORRES, E.; DOBLAS, P.A.; GUERRERO DEL VALLE, V.E.; LINARES, M.C. Evaluación clínica de los ácidos grasos omega-3 en la gestación, la lactancia y el desarrollo infantil. **Clin Invest Gin Obst**, v.34, n.3, p:100-5, 2007.

LUCAS, A.; LUCAS, J.P.; CHAVIN, S.I. A human Milk formula. **Early Hum Dev**, v.4, n.1, p:15-21, Mar 1980.

MALCOLM C.A.; MCCULLOCH D.L.; MONTGOMERY, C.; SHEPHERD, A.; WEAVER, L.T. Maternal docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy and visual evoked potential development in term infants: a double blind, prospective, randomised trial. **Arch Dis Child Fetal Neonatal**, v.88, p: 383-90, 2003.

MARTIN, A.C.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R.; VISENTAINER, J.E.L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev Nutr**, Campinas, v.19, n.6, p:761-770, nov./dez., 2006.

MARTINEZ, F.E.; CAMELO JÚNIOR, J.S. Alimentação do recém-nascido pré-termo. **J. Ped.**, Rio de Janeiro, v. 77, p. s32-40, 2001.

MARZZOCO, A. **Bioquímica Básica - 4a Ed - (ebook)**, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2015.

MOREIRA, M.E.L.; ROCHA, A.D. Nutrição do recém-nascido prematuro. In: MOREIRA, M.E.L.; LOPES, J.M.A.; CARALHO, M., orgs. **O recém-nascido de alto risco: teoria e prática do cuidar** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2004. 564 p. Disponível em: <http://static.scielo.org/scielobooks/wcgvd/pdf/moreira-9788575412374.pdf>. (Acesso em: 21/01/2014).

NAIL, S.L.; JIANG, S., CHIOPRESERT, S.; KIGR, S.A. Fundamental of freeze drying. **Pharm Biotechnol**, v.14, p: 281-360. 2002.

NAWAR, W.W. Lipídeos. In: FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**, 3ed. Zaragoza: Acribia, 2010.

PALHARES, D.B; THOMAZ, D.M; TAVARES, L.V.M; SERAFIN, P.O. Effect of diet on serum amino acid profile in very-low-birthweight neonates. In: BERHARDT, L.V. **Advances in medicine**. v.4. Nova Science Publishers, 2012.

PANCZUK, J.K.; UNGER, S.; FRANCIS, J.; BANDO, N.; KISS, A.; O'CONNOR, D.L. Introduction of Bovine-Based Nutrient Fortifier and Gastrointestinal Inflammation in Very Low Birth Weight Infants as Measured by Fecal Calprotectin. **Breastfeeding Medicine**, v.11, n.1. 2016.

PEREIRA, G.R.; LEONE, C.R.; ALVES FILHO, N.; Trindade Filho, O. **Nutrição do Recém Nascido** - Pré Termo. 1ed. Rio de Janeiro: Medbook, 2008

PERINI, J.A.L.; STEVANATO, F.B.; SARGI, S.C.; VESENTAINER, J.E.L.; DALALIO, M.M.O.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER J.V. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Rev Nutr**, v.23, n.6, p:1075-1086. 2010.

RAYYAN, M; ROMMEL, N; ALLEGAERT, K. The Fate of Fat: Pre-Exposure Fat Losses during Nasogastric Tube Feeding in Preterm Newborns. **Nutrients**, v.7, p: 6213-6223. 2015.

RAMÍREZ-CORRÍA, V.D.A. Suplementación enteral com ácidos grasos esenciales em recién nacidos pretérmino. **Rev Cubana de Pediatr**, v. 73, n. 1, p. 34-42. 2001.

SANT'ANA, L.S. Biodisponibilidade dos lipídeos. CAZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade dos nutrientes**. 2ed. Barueri – SP: Manole, 2007.

SANTOS M.M., MARTINEZ F.E. Human milk concentrate for preterm infants. **Nutr Res**, v.16, n.5: 769-772. 1996

SCHETTINI, S.T.; MIUOSHI, MH. Enterocolite necrosante neonatal **Pediatr mod**; v.35, n.4, p:145-6. 1999.

SERAFIN, P.O. **Suplemento homólogo do leite humano acrescido ao leite humano de banco para alimentação do recém-nascido de muito baixo peso**. (Mestrado) Programa de Pós Graduação de Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS. 2010.

SERAFIN, P.O. **Crescimento de recém-nascidos pré-termo de muito-baixo-peso alimentados com aditivo homólogo integral sem lactose liofilizado**. (Doutorado) Programa de Pós Graduação de Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS. 2015.

SCHANLER RJ. Suitability of human milk for the low birth weight infant. **Clin Perinatol**, v.22, p:207-222. 1995.

SCHANLER, R.J. The role of human milk fortification for premature infants. **Clin Perinatol**, v.25, n.3, p:645- 57.1998.

SCHANLER, R.J. The use of human milk for premature infants. **Pediatr Clin North Am.** v.48, n.1, p:207-19. 2001.

SUÁREZ-MAHECHA, H.; FRANCISCO, A.; BEIRÃO, L.H.; BLOCK, J.M.; SACCOL, A.; PARDO-CARRASCO, S. Importância de ácidos graxos poli-insaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. **Boletim. Inst. Pesca**, v.28, n.1, p: 101-110. 2002.

SILVA, D.R.B., MIRANDA JÚNIOR, P.F.; SOARES, E.A. A importância dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa na gestação. **Rev Bras Saúde Mater infant**, n.7, v.2, p:123-133. 2007.

TINOCO, S. M.B.; SICHIERI, R.; MOURA, A.S.; SANTOS, F.S.; CARMO, M.; C.T. Importância dos ácidos graxos essenciais e os efeitos dos ácidos graxos trans do leite materno para o desenvolvimento fetal e neonatal. **Cad Saúde Pública**, v. 23, n. 3, p. 525-534. 2007.

THOMAZ, D M.C; SERAFIM, P.O.; PALHARES, D B. MELNIKOV, P; VENHOFEN, L; VARGAS, M O.F. Comparação entre suplementos homólogos do leite humano e um suplemento comercial para recém-nascidos de muito baixo peso. **J Pedriat**, v.88, n.2, p:119 – 124. 2012.

VALENZUELA, A.B., NIETO, SK. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 em la nutrición perinatal: su importancia em el desarrollo del sistema nervioso y visual. **Rev Chil Pediatr**, n.74, p:149-57. 2003.

VAZ, J.S.; DEBONI, F.; AZEVEDO M.J.; GROSS J.L.; ZELMANOVITZ, T. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. **Rev Nutr**, Campinas v.19, n.4, p: 489-500. 2006.

WAITZBERG, D.L & BORGES, V.C. Gorduras. In: WAITZBERG, D.L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica.** v.1, 3ed. São Paulo, Atheneu, 2000.

4 ARTIGO 1

Perfil lipídico do leite humano com suplementos homólogos para alimentação de recém-nascidos de muito baixo peso

Karla de Toledo Candido Muller; Durval Batista Palhares

RESUMO

Este estudo objetivou quantificar os lipídeos presentes no leite humano acrescido de suplementos derivados do leite humano e identificar a influência do sistema de alimentação enteral sobre as concentrações lipídicas. Foram utilizados 10 *pools* com 75 mL de leite humano de banco de leite para análises em triplicata, divididos em três grupos: grupo controle (GC), suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado (GDEL) e suplemento homólogo sem lactose e liofilizado (GL). Após coleta de 5 mL de leite de cada grupo, 20 mL foram inseridos em um frasco plástico de alimentação enteral, conectado a um tubo de alimentação, sendo coletado 5 mL ao final para a análise lipídica. Para análise lipídica foi utilizado o método de transesterificação direta dos lipídios, com posterior identificação dos ésteres metílicos por cromatografia gasosa. Foi realizada análise pelo teste Anova de 2 vias de medidas repetitivas ($\alpha=5\%$). Não houve diferença entre os grupos em relação aos ácidos graxos saturados ou insaturados ($p>0,05$), entre o momento inicial e após passar pelo sistema de nutrição enteral ($p>0,05$) ou na interação entre os grupos e o momento. A análise deste precipitado mostrou presença de lipídeos em concentrações semelhantes ao sobrenadante, sugerindo que a centrifugação utilizada para retirada de lactose, produz sequestro de lipídeos. Conclui-se que não houve diferença entre as concentrações lipídicas dos alimentos analisados, nem interferência do equipo de nutrição entre as concentrações lipídicas. A escolha do método de produção de suplementos derivado do leite humano deverá ser pautada também na disponibilidade lipídica.

Palavras-chave: Lipídeos, Leite humano, Banco de leite, Suplemento homólogo, nutrição enteral

Lipid profile of human milk with homologous supplement for feeding infants of very low birth weight

Karla de Toledo Candido Muller; Durval Batista Palhares

ABSTRACT

This study analyzed human milk added to homologous supplements to human milk under different production methods in order to determine their lipid profiles and the influence of the feeding system on its fat. One hundred fifty milliliters of human milk from milk banks were used and divided into three treatment groups: with pure milk (LPG) with homologous supplement without lactose, skimmed, evaporated and lyophilized (GDEL) and with homologous supplement without lactose and lyophilized (Group GL), keeping 5 mL of milk from each group stored for initial analysis and the remaining 20 mL inserted into an enteral feeding plastic bottle of 100 mL, connected to a PVC feeding tube, and collecting 5 mL in the end for the lipid analysis. The method of lipids direct trans esterification was used with subsequent identification of the methyl esters by gas chromatography for lipid analysis of the proposed food, with analysis by ANOVA of two-way repeated measures at a 5% level of significance. No effect was observed among the treatment groups, between the initial stage and after having passed through the enteral feeding system or in the interaction between groups and times in relation to the saturated or unsaturated fatty acids, indicating that there is no interference of the feeding system in the lipid profile, thus the choice of the production method of the homologous supplement to human milk should be based on the availability of other nutrients through the handling of milk, determined by the similar lipid profile among the groups.

Key words: Lipids, Human milk, Milk bank, Homologous supplement, enteral nutrition

1 INTRODUÇÃO

A alimentação de prematuros é foco de estudos na área de neonatologia pelo seu papel decisivo na condição clínica dessas crianças. É consenso mundial que o leite materno é o alimento mais adequado para a alimentação de todas as crianças, devendo ser exclusivo desde o nascimento ao sexto mês de vida. Entretanto, recém-nascido prematuro de muito baixo peso (<1500g) requer uma alimentação que mimetize as condições nutricionais intrauterinas (CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; MARTINS & KREBS, 2009; AMERICAN ACADEMY of PEDIATRICS, 2005; 2012).

O leite materno apresenta variações conforme o tempo de lactação da nutriz, momento de coleta, perfil nutricional da mãe, se este é anterior ou posterior, sendo o lipídeo o nutriente mais sujeito a variar. O percentual de lipídeos do leite humano varia entre 3 e 5%, dentre os quais 98% são de trigliceróis e representam 50% do valor calórico total do leite, contribuindo como fonte de colesterol, ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis (SILVA *et al.*, 2007; COSTA & SABARENSE, 2010).

O leite da mãe de uma criança prematura apresenta características nutricionais diferentes, para corrigir a deficiência de nutrientes. Porém, a alimentação de recém-nascidos de muito baixo peso (RNMBP) requer suplementação, uma vez que o leite desta mãe não é capaz de atingir os valores desejáveis. Este fator é agravado pela dificuldade em manter a lactação dessas mulheres frente à situação de estresse vivida pela internação de seu filho e a falta da sucção para estimular a sua produção (MOREIRA & ROCHA, 2004; CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005; 2012).

A prática de suplementar leite materno para alimentação de RNBP promove uma melhora clínica com menor tempo de internação, diminuição de episódios de doenças infecciosas, melhor ganho de peso, comprimento e circunferência cefálica, além da melhora do desenvolvimento neuropsicomotor futuro. O uso de suplementos comerciais tem apresentado sucesso quanto a estes fatores supra citados, mas sofre críticas por ser um produto cuja proteína é de origem bovina espécie-específica, capaz de gerar alterações no aparelho digestório do neonato como distensão abdominal, intolerância alimentar, diarreias ou até mesmo enterocolite necrosante (HEIMAN & SCHANLER, 2006; PANCZUK *et al.*, 2016).

O perfil de aminoácidos de suplementos comerciais tem sido alvo de questionamentos pela ausência de compatibilidade entre os nutrientes de origem bovina e os provenientes do leite humano, pela deficiência ou excesso de alguns aminoácidos específicos (PALHARES *et al.*, 2012), além do conteúdo de ácidos graxos insaturados no leite bovino ser menor que no leite humano (SILVA *et al.*, 2007). A busca por outras fórmulas infantis para suplementação de RNPT levou à produção de suplementos homólogos ao leite humano, fomentando estudos que possam gerar processos de produção viáveis com manutenção dos nutrientes do suplemento (SANTOS *et al.*, 1997).

Suplementos homólogos foram propostos por Tomaz *et al.* (2012) e por Grance *et al.* (2015) passaram por distintas fases de produção, incluindo congelamento, descongelamento e centrifugação. Estudos clínicos apontaram eficácia dos alimentos, garantindo crescimento ponderal do RNMBP. Contudo, não é conhecido o perfil de ácidos graxos destes alimentos (SERAFIM, 2015).

Em neonatos, a alimentação é realizada via enteral, preferencialmente com humano, utilizando sistemas plásticos constituídos de frascos de 100 mL ligados a um tubo de PVC que se conecta à sonda do paciente. (BRASIL, 2011).

Perdas lipídicas são esperadas tanto pela aderência entre os componentes plásticos frequentemente utilizados na alimentação de RN internados em UTIN (HEIMAN & SCHANLER, 2006) quanto pelo modo de administração do alimento (RAYYAN *et al.*, 2015) e certamente são dependentes do perfil lipídico do alimento utilizado. Portanto, o objetivo deste estudo é quantificar os lipídios presentes nos leites com suplementos homólogos desenvolvidos por Tomaz *et al.* (2012) e Grance *et al.* (2015) e quantificar a influência do sistema de alimentação sobre os ácidos graxos saturados e insaturados do leite materno suplementado.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo experimental teve seu início após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil - CEP/UFMS - parecer nº 18070513.6.0000.0021 (ANEXO 1). Neste estudo foi utilizado um *pool* de 2.450 mL de leite humano do banco de leite do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian da Universidade Federal do Mato Grosso

do Sul (HUMAP-UFMS), cujas mães fossem doadoras voluntárias e seus leites apresentassem crematócrito 60% e acidez Dornic ≤ 6 , porém considerados impróprios para consumo humano, seja por falta de exames laboratoriais prévios da lactante ou pela presença de sujidades no momento da pasteurização.

De acordo com a oferta do banco de leite foram formados os *pools* para os três processos desenvolvidos neste estudo: aproximadamente 350 mL de um mesmo *pool* para produção de 10 porções de suplemento homólogo ao leite humano sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado (THOMAZ *et al.*, 2012); 225 mL de um mesmo *pool* para produção de 10 porções de suplemento homólogo ao leite humano sem lactose e liofilizado (GRANCE *et al.*, 2015); 750 mL para formação de 10 diferentes *pools* de leite para compor as etapas de análise dos grupos experimentais:

2.1 Grupos experimentais:

2.1.1 Grupo Controle (CG)

Grupo Controle composto por 250 mL de leite humano puro divididos em 10 amostra de diferentes *pools*.

2.1.2 Grupo suplemento sem lactose desnatado, evaporado e liofilizado (GDEL)

Grupo composto por 250 mL de leite humano acrescido de suplemento homólogo ao leite humano sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado, divididos em 10 amostras de diferentes *pools*. Este suplemento foi elaborado seguindo o método de produção preconizado por Thomaz *et al.* (2012):

Desnate: um volume de 350 mL de leite humano foi descongelado em banho-maria a 37 °C, e desnatado (desnatadeira modelo 18 GR - Casa das Desnatadeiras, Brasil), com uma retenção média de 150 mL do leite.

Evaporação: os 350 mL restantes foram evaporados (evaporador MARCONI MA 120i® Brasil) em temperatura média de 60°C e pressão de ação do vácuo 63 cmHg (FIGURA 1a).

Retirada da lactose: aproximadamente 150 mL restantes foram alocados em tubos cônicos de plástico, congelados a -20°C por 24 horas e levados para centrifugação. Então, o leite foi novamente descongelado em banho-maria sendo reservando o sobrenadante em 10 recipientes de vidro, com o descarte da lactose

precipitada. Foram reservadas três amostras do precipitado de lactose a ser descartado para posterior análise das possíveis concentrações de ácidos graxos saturados e insaturados presentes.

Liofilização: após novo congelamento dos leites a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, os vidros foram levados para câmara de vácuo do liofilizador de bancada (EDWARDS®) por 48 horas, concluindo a produção deste suplemento, apto a ser adicionado à 25 mL de leite humano. O mesmo foi mantido congelado e descongelado novamente no momento de sua reconstituição em leite humano (FIGURA 1b).

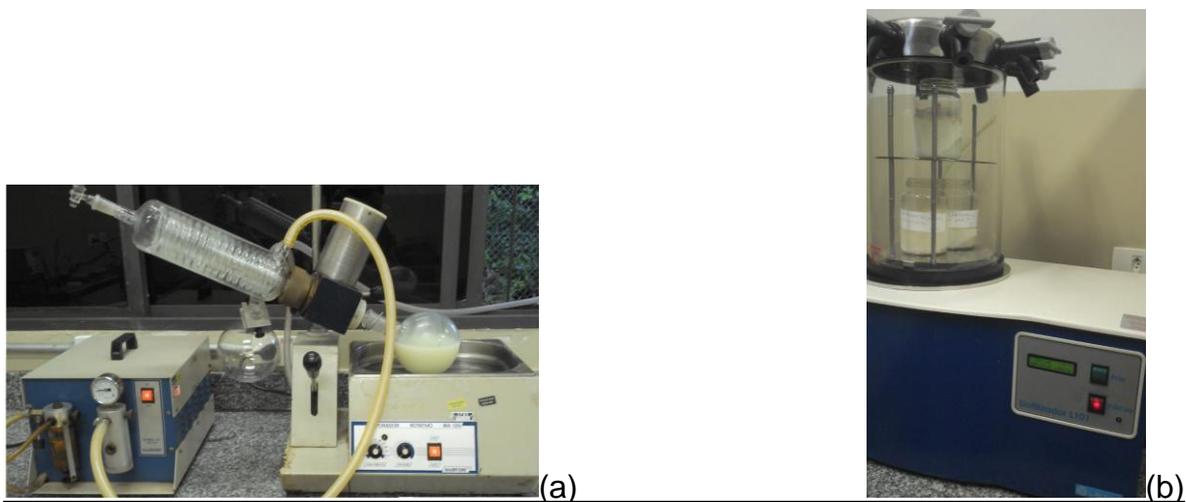


FIGURA 2 – (a) Processo de evaporação do leite desnatado - Evaporador MARCONI MA 120i® Brasil; (b) Processo de liofilização - liofilizador de bancada (EDWARDS®)

2.1.3 Grupo suplemento sem lactose liofilizado (GL)

Grupo composto por 225 mL de leite humano acrescido de suplemento homólogo ao leite humano sem lactose e liofilizado, divididos em 10 amostras de diferentes *pools*. Este suplemento foi elaborado seguindo o método de produção preconizado por Grance *et al.*, (2015).

Retirada da lactose: distribuição de 225 mL de leite humano em 10 tubos cônicos de plástico, congelados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas e levados à centrifugação. Posteriormente, o material foi descongelado em banho-maria a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, foi descartada a lactose precipitada e acondicionado o material sobrenadante em tubos de vidro. Foram reservadas três amostras do precipitado de lactose a ser descartado para posterior análise das possíveis concentrações de ácidos graxos saturados e insaturados presentes.

Liofilização: após novo congelamento dos leites a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, os vidros foram levados para câmara de vácuo do liofilizador de bancada (EDWARDS[®]) e após 48 horas, o suplemento estava pronto para ser descongelado e reconstituído em 25 mL de leite humano (FIGURA 2b).

2.2 Experimento

Um *pool* de 75 mL de leite humano foi descongelado e dividido em três partes de 25 mL cada, sendo cada uma preparada de acordo o grupo a que pertence: grupo GC, grupo GDEL e grupo GL. Uma alíquota de 5 mL de leite de cada grupo foi reservada para análise inicial dos lipídios e os 20 mL restantes foram inseridos em um frasco plástico, graduados com escala de 10 ml, estéreo e com capacidade para 100 mL (Polietileno – marca Biobase[®]), próprio para alimentação enteral.

Os frascos foram mantidos na posição vertical em suporte para soro e conectado à um tubo de alimentação (equipo) de PVC flexível, atóxico e de coloração azul claro (NBR 14041/1998 - ABNT, 2008), com um dispositivo gotejador de controle manual permitindo passagem do conteúdo em torno de 10 minutos. Este equipo permite o transporte da dieta enteral do frasco à sonda do paciente, sendo que os diversos equipos disponíveis no mercado pouco diferem entre si (BRASIL, 2011).

O alimento que passou pelo sistema de nutrição enteral foi coletado em um pequeno frasco de vidro e reservado 5 mL para nova análise lipídica anexados ao equipo de nutrição enteral com ponta perfurante para adaptação do equipo ao frasco

Para extração dos ácidos graxos foi utilizado o método de transesterificação direta dos lipídios, proposta por Lepage & Roy (1986). As amostras de leite foram descongeladas em banho-maria a 40°C , homogeneizadas e esfriadas a 20°C , sendo 0,1 mL do leite transferido para tubos de vidro com tampa de teflon, acrescido de 2 mL de mistura benzeno-metanol (4:1), além de 0,2 mL de cloreto de acetila e mantido em banho-maria a 100°C , por 60 minutos.

Após resfriamento foram acrescentados 5 mL de carbonato de potássio a 6% e centrifugado a 3.500 rpm por 10 minutos para separação em fase aquosa e fase metílica, secadas sob nitrogênio e ressuspensas com 300 μL de diclorometano a 100 mg/ μL de C23:0 (padrão interno). Foram extraídos 2 mL da fase superior, inseridos em *vial* com septo de teflon para análise em cromatografia gasosa.

O cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo GC-2010) com detector de ionização de chama, injetor “Split/Splitless” e coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária de polietilenoglicol (Carbowax 20M, 30 m x 0,25 mm, Quadrex) foi utilizado para identificação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos. Os tempos de retenção foram comparados com os respectivos padrões de ésteres metílicos (SUPELCO, F.A.M.E. mix C4:0 a C24:0, Sigma-Aldrich), quantificando-os através da normalização de área e expressando os resultados em percentual de área de cada ácido graxo em relação a área total destes.

As análises foram elaboradas em triplicata, com posterior cálculo da média amostral.

2.3 Análise dos dados

Os dados foram tabulados em Excel[®] e tratados com os respectivos valores do fator FEED de correção para cada ácido graxo identificado, considerando-se como valor total apenas os ácidos graxos identificados pelo padrão utilizado.

Os dados foram apresentados de forma descritiva em média \pm desvio padrão, em gráficos e tabelas. Para comparação entre os momentos de análise dos ácidos graxos e os grupos de tratamento foi utilizado o teste Anova de 2 vias de medidas repetitivas, pelo “software” SPSS (versão 20.0), com nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

A comparação entre os grupos avaliados mostrou não haver efeito entre a variável grupos de leite para nenhum dos ácidos graxos saturados ou insaturados, revelando um perfil lipídico semelhante entre as amostras dos grupos GC, GDEL e GL ($p>0,05$).

Também não houve efeito entre a variável momento inicial e após passar pelo sistema de nutrição quanto ao perfil de ácidos graxos saturados ou insaturados ($p>0,05$), assim como não houve interação entre os grupos e o momento para nenhum dos ácidos graxos. De modo geral, as concentrações de ácidos graxos nos grupos independem dos momentos de análise ($p>0,05$).

Os valores médios dos ácidos graxos saturados estão dispostos na tabela 1 e dos ácidos graxos insaturados estão representados na tabela 2.

Em ambos os suplementos foi identificada presença de ácidos graxos saturados e insaturados nas análises das amostras provenientes de precipitados de lactose a serem descartados, sendo as concentrações destes ácidos graxos com valores semelhantes às concentrações identificadas nos leites já suplementados ($p=0,63$, Teste Kruskal Wallis). Os dados mostram que a retirada da lactose provoca precipitação de uma parcela dos ácidos graxos. Os valores estão detalhados na tabela 3.

TABELA 1 – Concentração média de ácidos graxos saturados identificados nos diferentes grupos de leite analisados, antes e depois de passarem pelo sistema de alimentação enteral.

Ácidos Graxos Saturados	GRUPOS						P*
	GC (n=10)		GDEL (n=10)		GL (n=10)		
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	
C4:0 – Butírico	15,48 ±4,84	17,65 ±4,50	12,72 ±4,98	16,27 ±6,73	22,79 ±13,64	15,14 ±6,05	0,10 ^a 0,27 ^b 0,73 ^c
C6:0 - Capróico	9,67 ±6,72	10,81 ±8,56	10,29 ±8,11	9,39 ±4,96	6,36 ±2,08	6,54 ±2,90	0,10 ^a 0,93 ^b 0,87 ^c
C8:0 - Caprílico	1,30 ±1,07	1,68 ±1,41	1,10 ±0,54	1,47 ±0,82	0,90 ±0,35	0,77 ±0,54	0,06 ^a 0,39 ^b 0,53 ^c
C10:0 - Cáprico	1,55 ±0,38	1,35 ±0,20	1,35 ±0,21	1,46 ±0,50	1,35 ±0,23	1,30 ±0,23	0,35 ^a 0,53 ^b 0,21 ^c
C12:0 - Láurico	4,92 ±1,15	4,29 ±1,03	4,64 ±1,21	3,43 ±0,90	4,66 ±1,12	5,04 ±1,39	0,19 ^a 0,15 ^b 0,30 ^c
C14:0 - Mirístico	4,80 ±1,48	4,34 ±1,37	4,73 ±1,34	3,75 ±0,66	5,03 ±1,37	5,04 ±1,39	0,49 ^a 0,70 ^b 0,39 ^c
C16:0 - Palmítico	17,97 ±2,86	18,52 ±3,30	18,59 ±1,73	16,56 ±2,58	17,39 ±3,50	18,69 ±2,99	0,22 ^a 0,28 ^b 0,49 ^c
C18:0 - Esteárico	5,92 ±2,04	6,92 ±2,02	7,12 ±3,44	7,03 ±2,56	5,77 ±2,66	7,02 ±2,05	0,64 ^a 0,93 ^b 0,39 ^c
C20:0 - Araquídico	0,17 ±0,05	0,13 ±0,07	0,13 ±0,06	0,10 ±0,07	0,15 ±0,07	0,13 ±0,07	0,11 ^a 0,22 ^b 0,97 ^c

Nota: GC= Grupo controle; GDEL= Grupo com suplemento sem lactose desnatado evaporado e liofilizado; GL= Grupo com suplemento sem lactose e liofilizado; Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão. *Teste ANOVA de duas vias de medidas repetitivas. ^a= efeito do grupo; ^b= efeito do momento; ^c= interação entre grupo e momento.

TABELA 2 - Concentração média de ácidos graxos insaturados identificados nos diferentes grupos de leite analisados, antes e depois de passarem pelo sistema de alimentação enteral.

Ácidos Graxos Insaturados	GRUPOS						P*
	GC (n=10)		GDEL (n=10)		GL (n=10)		
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	
C18:1 n-9c – Oleico	18,63 ±8,22	18,06 ±8,94	20,15 ±7,94	18,82 ±7,49	23,40 ±5,97	23,33 ±5,56	0,09 ^a 0,73 ^b 0,97 ^c
C18:2 n-6 - Linoleico (LA)	13,48 ±1,40	12,98 ±2,50	13,16 ±2,17	12,74 ±3,17	15,08 ±4,91	12,76 ±1,85	0,32 ^a 0,07 ^b 0,30 ^c
C18:3 n-3 - α – Linolênico (ALA)	0,80 ±0,14	0,75 ±0,13	0,79 ±0,08	0,76 ±0,13	0,98 ±0,36	0,81 ±0,10	0,07 ^a 0,08 ^b 0,70 ^c
C20:4 n-6 Aracdônico (ARA)	0,26 ±0,33	0,72 ±1,00	0,33 ±0,45	0,22 ±0,38	0,31 ±0,60	0,17 ±0,22	0,35 ^a 0,05 ^b 0,31 ^c
C20:5 n-3 - Eicosapentaenóico (EPA)	0,07 ±0,07	0,18 ±0,28	0,09 ±0,09	0,06 ±0,08	0,10 ±0,08	0,13 ±0,16	0,31 ^a 0,48 ^b 0,26 ^c
C22:6 n-3 - Docosahexahenóico (DHA)	0,13 ±0,10	0,21 ±0,20	0,16 ±0,08	0,14 ±0,10	0,19 ±0,97	0,24 ±0,13	0,08 ^a 0,24 ^b 0,38 ^c
Relação LA/ALA	16,85	17,31	16,66	16,76	15,39	15,75	

Nota: GC= Grupo controle; GDEL= Grupo com suplemento sem lactose desnatado evaporado e liofilizado; GL= Grupo com suplemento sem lactose e liofilizado; Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão. *Teste ANOVA de duas vias de medidas repetitivas. ^a= efeito do grupo; ^b= efeito do momento; ^c= interação entre grupo e momento.

TABELA 3 - Concentrações médias de ácidos graxos saturados e insaturados nos grupos de leite com suplementos e as respectivas concentrações identificadas no precipitado de lactose descartado no processo de produção destes suplementos.

Ácidos Graxos (%)	Suplemento homólogo		Precipitado de lactose**	
	GDEL	GL	GDEL	GL
Saturados				
Butírico	12,72±4,98	22,79±13,64	17,31±0,34	27,41±4,03
Capríico	10,29±8,11	6,36±2,08	5,98±0,23	7,71±0,75
Caprílico	1,10±0,54	0,90±0,35	1,18±0,08	1,39±0,12
Cáprico	1,35±0,21	1,35±0,23	1,91±0,11	2,67±0,03
Láurico	4,64±1,21	4,66±1,12	7,07±0,60	9,90±0,07
Mirístico	4,73±1,34	5,03±1,37	6,36±0,63	9,52±0,04
Palmítico	18,59±1,73	17,39±3,50	22,62±2,58	35,51±0,28
Estearíco	7,12±3,44	5,77±2,66	5,87±0,64	8,86±0,13
Araquídico	0,13±0,06	0,15±0,07	0,33±0,05	0,51±0,01
Insaturados				
Oleico	20,15±7,94	23,40±5,97	1,88±0,23	2,93±0,03
Linoleico (LA)	13,16±2,17	15,08±4,91	19,56±2,17	29,25±0,31
Linolênico (ALA)	0,79±0,08	0,98±0,36	1,41±0,14	1,66±0,37
Aracdônico (ARA)	0,33±0,45	0,31±0,60	0,00±0,00	0,00±0,00
Eicosapentaenóico (EPA)	0,09±0,09	0,10±0,08	0,11±0,11	0,10±0,01
Docosahexahenóico (DHA)	0,16±0,08	0,19±0,97	0,23±0,01	0,23±0,01

Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão

4 DISCUSSÃO

Os leites suplementados não apresentaram perfil lipídico diferente do grupo controle, sem suplementação. Esperava-se que o acréscimo de leite humano liofilizado sobre o próprio leite humano provocasse um incremento nas concentrações de seus nutrientes, o que seria ainda mais acentuado com a retirada da lactose, preconizada devido ao fato que seu excesso pode ser danoso ao organismo do RNMBP. E também por aumentar a osmolaridade dos leites, é um fator de risco para o desenvolvimento de enterocolite necrosante relacionado à administração enteral de líquidos hiperosmolares, o que pode provocar lesão da mucosa intestinal (SCHETTINI & MIYOSHI, 1999). Isto justifica o cuidado em retirar a lactose dos suplementos testados no presente estudo.

Mas, a semelhança entre o perfil de ácidos graxos saturados e insaturados entre os grupos demonstra a necessidade de maior investigação sobre os processos de desenvolvimento de suplementos homólogos, visto que é internacionalmente aceita a necessidade de suplementar o leite para RNMBP, preferencialmente com produtor de origem humana (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005; 2012).

Thomaz *et al.* (2012) desenvolveram um suplemento homólogo com desnate, evaporação, retirada da lactose e finalizaram o processo com liofilização. A análise clínica do produto foi realizada comparando o crescimento de 9 RNMBP alimentados com leite humano acrescido de suplemento homólogo com dez RNMBP alimentados com leite humano acrescido de suplemento comercial heterólogo, a base de leite bovino, apontando a eficácia do suplemento proposto.

Visando diminuir os possíveis efeitos sobre o processo de produção do suplemento homólogo, Grance *et al.* (2015) desenvolveram um suplemento homólogo ao leite humano com retirada da lactose e liofilização do mesmo, eliminando as etapas de desnate e evaporação do leite. Serafim (2015) demonstrou a eficácia deste novo suplemento alimentando 11 RNBP e não observou diferença entre o crescimento destes RN em relação aos avaliados por Thomaz *et al.*(2012) ou pelo suplemento comercial de origem bovino rotineiramente utilizado em UTIN.

A comparação da análise bromatológica dos suplementos propostos por Grance *et al.* (2015) e Thomaz *et al.*(2012) apontou semelhança em relação à concentração média de proteínas, carboidratos e padrão calórico, entretanto, demonstrou uma diferença na concentração lipídica média entre os produtos, com

menores valores no suplemento proposto por Grance *et al.* (2015). Uma vez que não houve desnate, era esperada uma maior concentração lipídica e conseqüentemente maior ganho de peso dos RNMBP, entretanto, tal efeito não foi evidenciado (FIGURA 2).

Os suplementos propostos por Thomaz *et al.* (2012) e Grance *et al.* (2015) eram à base de leite humano de banco de leite, portanto, todas as fases de processamento descritas corroboram com Vieira *et al.* (2004) se somavam às desvantagens dos processos de coleta, armazenamento e pasteurização rotineiramente realizados com leites de doadoras, podendo comprometer a disponibilidade dos nutrientes.

O fato do alimento proposto por Grance *et al.* (2015) não sofrer desnate, teoricamente deveria deixá-lo com maior teor lipídico. Contudo, a análise bromatológica realizada pelos autores apontou uma concentração média de $2,91 \pm 0,57$ g/dL, sendo este valor menor que o alimento proposto por Thomaz *et al.* (2012), que identificaram uma concentração lipídica média de $3,75 \pm 0,16$ g/dL.

Componentes	Thomaz <i>et al.</i>, (2012)	Grance <i>et al.</i>, (2015)
Proteínas g/dL	2,38±0,03	2,20±0,36
Carboidratos g/dL	7,25±0,25	7,25±0,25
Lipídios, g/dL	3,75±0,16	2,91±0,57
Padrão calórico kcal.	72,27±2,56	71,93±8,96

FIGURA 2 – Comparação da composição centesimal entre suplementos homólogos obtidos por metodologias distintas.

Estas concentrações lipídicas obtidas pela análise bromatológica em cada um dos estudos supracitados não foram comparados estatisticamente, portanto, não é possível afirmar que estes diferem realmente entre si. Contudo, a quantificação dos ácidos graxos no presente estudo não apontou efeito entre os grupos de leite para nenhum dos ácidos graxos saturados ou insaturados avaliados, apontando um perfil lipídico semelhante entre as amostras dos grupos GLP, GDEL e GL ($p>0,05$).

Dentre os nutrientes do leite materno, os lipídeos são os que mais sofrem variações em suas concentrações, dependendo de fatores como a alimentação e padrão nutricional materno, classe social da doadora, período do dia da coleta, o tempo de lactação, momento da mamada com diferenças entre o leite anterior e o

posterior, modificando quantitativamente e qualitativamente o perfil lipídico do leite de uma mesma nutriz (PEREIRA *et al.*, 2008, RONA *et al.*, 2008, COSTA & SABARENSE, 2010).

Contudo, estudos revelam que leite humano de banco possui, em média, uma fração lipídica inferior às necessidades de prematuros. O alimento que estes recebem é formado por *pool* de leite humano e os lipídeos apresentam maior interferência dos processos de manipulação, com oxidação de suas moléculas, com variadas taxas de gorduras e perda durante a estocagem ou por aderência nos frascos de coleta (RONA *et al.*, 2008). A rede de banco de leite humano considera significativa a perda lipídica no processo de pasteurização, utilizando os frascos de vidro para minimizar estes problemas, salientando que as embalagens para acondicionamento do leite deva ser inerte e inócuo (BRASIL, 2008).

Uma análise centesimal de leite humano de doadora em diferentes fases de lactação, previamente pasteurizado, encontrou concentrações de proteínas e carboidratos semelhantes à literatura (colostró: $1,85 \pm 0,71$ e $7,80 \pm 0,57$, respectivamente; leite maduro: $1,12 \pm 0,28$ e $7,50 \pm 0,66$, respectivamente), contudo, os autores apontam que os teores de lipídeos estão abaixo do esperado, com $1,84 \pm 0,43$ no colostro e $1,38 \pm 0,60$ no leite maduro. Tal evento foi relacionado ao processo de manipulação do leite como pré-estocagem, congelamento, descongelamento, pasteurização, novo congelamento, novo descongelamento e aquecimento do leite, provocando rompimento nas membranas dos glóbulos de gordura, favorecendo sua coalescência e maior aderência aos frascos plásticos de alimentação (SILVA *et al.*, 2007).

Todos os leites utilizados no preparo dos suplementos no presente estudo passaram por processos semelhantes a estes, exceto a pasteurização. Porém, foram submetidos a processos de centrifugação, evaporação, liofilização ou desnate, com mais etapas de congelamento e descongelamento que o já despendido a estes leites de banco. A temperatura utilizada nos processos de descongelamento foi em torno de 37 °C, enquanto a temperatura utilizada no processo de evaporação foi em torno de 60 %.

Estima-se que o ponto médio de fusão da gordura do leite humano seja de 32 °C, portanto, a temperatura do evaporador pode ter contribuído com a diminuição das concentrações lipídicas. Quanto maior o número de insaturações, menor seu ponto de fusão (CHEFTEL, 2000).

Sendo assim, a perda lipídica do suplemento desnatado e evaporado deveria ser maior, mas não houve diferença significativa entre os grupos testados. Cabe ressaltar que todos os suplementos sofreram retirada da lactose por centrifugação a 3.500 r.p.m., por 20 minutos, promovendo a sedimentação da lactose no fundo do tubo cônico.

As análises destes precipitados (TABELA 3) demonstraram concentrações lipídicas semelhantes entre os leites com suplementos reconstituídos e os precipitados de lactose descartados no processo de preparo destes suplementos, apontando a possibilidade de arrasto de moléculas de gordura, já que o processo de centrifugação é utilizado para separação da emulsão, com conseqüente separação de fases, segundo o peso da partícula (EARLE & EARLE, 1993). Dessa forma, numa solução, partículas de maior peso irão precipitar e as mais leve vão compor a fase líquida; no caso das amostras de leite, as moléculas mais densas irão precipitar e os constituintes menores, como minerais e íons, vão compor a fase aquosa sobrenadante.

Então, se partimos do pressuposto que os leites de banco possuem menor concentração lipídica pelos fatores já descritos, somados às técnicas de manipulação para preparo do suplemento, existe a possibilidade de justificar que o grupo controle apresentou valores equivalentes aos demais grupos com suplementos, visto que este não foi centrifugado ou repetitivamente congelado e descongelado.

Todavia, o uso de leite humano de banco como fonte de suplementação se justifica, pois de acordo com Silva *et al.*, (2007), fórmulas infantis disponíveis comercialmente utilizam fonte lipídica de origem vegetal, com estrutura de trigliceróis diferentes das encontradas no leite humano, com perdas na absorção e carreamento de nutrientes.

De qualquer modo, administrar leite humano por sonda nasogástrica (via enteral) requer manipulação do produto com processo de retirada, congelamento, descongelamento e pasteurização do mesmo, salvo quando o neonato recebe o leite da própria mãe. Contudo, a suplementação do leite ofertado ao RNBP é a abordagem padrão até que estes desenvolvam as capacidades para ingestão plena por via oral (VIEIRA *et al.*, 2004; RAYYAN *et al.*, 2015).

Não houve efeito entre o momento inicial e após passar pelo sistema de nutrição enteral quanto ao perfil de ácidos graxos saturados ou insaturados. Este

resultado diverge da literatura que expressa a preocupação com o uso de equipamentos plásticos nos equipamentos de nutrição enteral pela sua influencia sobre a aderência dos lipídeos em sua superfície, por um processo de atração química (VIEIRA *et al.*, 2004).

Os ácidos graxos saturados correspondem a 41% da gordura do leite humano, sendo o palmítico o mais abundante, enquanto dentre os insaturados destacam-se o oleico e linoleico (SILVA *et al.*, 2007). No presente estudo, considerando as concentrações médias do grupo controle, também foi detectada uma maior prevalência do ácido graxo palmítico (17,97%) dentre os ácidos graxos saturados, apresentando semelhança a outros quatro estudos que analisaram os conteúdos de lipídeos saturados de leite de nutrizes brasileiras. (TABELA 4).

TABELA 4 – Composição de ácidos graxos saturados de leite materno de nutrizes brasileiras em diferentes estudos.

Ácidos Graxos Saturados (%)	Estudos brasileiros				
	Presente estudo	Cunha <i>et al.</i> , 2005	Silva <i>et al.</i> , 2005	Silva <i>et al.</i> , 2007	Nishimura <i>et al.</i> , 2013
C4:0 – Butírico	15,48	ND	ND	ND	ND
C6:0 - Caprótico	9,67	ND	ND	ND	0,09
C8:0 – Caprílico	1,30	0,11	0,20	ND	0,29
C10:0 – Cáprico	1,55	1,35	1,68	1,30	1,95
C12:0 – Láurico	4,92	5,30	6,88	7,0	7,46
C14:0 - Mirístico	4,80	5,64	7,02	8,0	6,81
C16:0 - Palmítico	17,97	19,21	17,30	21,6	19,50
C18:0 - Esteárico	5,92	7,94	4,62	6,1	5,82
C20:0 - Araquídico	0,17	0,28	0,12	ND	0,009

ND: Não disponível no estudo. Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados.

Entretanto, o ácido butírico foi o segundo ácido graxo mais prevalente no presente estudo (15,48%), seguido pelo ácido caprótico (9,67%). Este fato ocorre, pois o ácido butírico é o ácido graxo mais curto e, quanto menor a cadeia carbônica do ácido graxo, menor seu poder de oxidação (COSTA & SABARENSE, 2010), justificando sua expressiva presença nestes leites que sofreram diversos processos de armazenamento e manipulação.

A utilidade do ácido butírico na homeostasia do corpo humano é pouco discutida, parece estar relacionada a redução de processos inflamatórios intestinais, mas este é mais conhecido devido sua importância quanto ao poder de ranço sobre os alimentos lácteos e mau cheiro em processos de decomposição ou putrefação. (GERMAN & DILLARD, 2010). A concentração média de ácido láurico identificado

está semelhante ao proposto por German e Dillard (2010), entre 5,8 % e 2,2 % da gordura do leite e este ácido graxo tem mostrado atividades antivirais e bacterianas, principalmente na mucosa estomacal, portanto, benéfico ao sistema digestório imaturo do RN prematuro.

A alta prevalência do ácido palmítico ou palmitato já era esperada, visto que é responsável pela melhor digestibilidade do leite materno e a partir de seus 16 carbonos sofre alongação sendo considerado precursor do ácido esteárico com 18 carbonos e permitindo assim a síntese de ácidos graxos insaturados. Para tal atividade bioquímica são necessárias as formações de duplas ligações por meio de enzimas dessaturases, com a dessaturase $\Delta 9$ participando da conversão do ácido esteárico (18:0) em oleico (18:1;9) e do palmítico (16:0) em palmitoleico (16:1;9), ambos série ômega 9 (POUDYAL *et al.*, 2011).

De acordo com German e Dillard (2010), o ácido esteárico, fruto da alongação do ácido palmítico, está presente em 7,7% dos ácidos graxos do leite materno. Este valor se aproxima apenas ao estudo de Cunha *et al.* (2005), com análise de leite materno de nutrizes brasileiras. Seus efeitos benéficos estão relacionados a um controle metabólico do organismo, porém, pouco investigados em neonatos, apesar de sua comprovada abundância.

Em mamíferos é impossível a introdução de duplas ligações em carbonos com número superior ao carbono 9 e os demais ácidos graxos insaturados, considerados essenciais, devem ser obtidos pela dieta. Ambos com 18 carbonos, o ácido graxo linoleico, com sua instauração no sexto carbono, e o ácido graxo α -linolênico, no terceiro, competem pelas mesmas enzimas em suas rotas metabólicas e sua proporção no organismo deve ser entre 10:1 e 5:1 (MARTINS *et al.*, 2006; LÓPES-TORRES *et al.*, 2007; KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

De modo geral, este estudo apresentou menores concentrações de ácidos graxos insaturados de cadeia longa que outros estudos brasileiros, considerando-se apenas o GC, sem nenhum recebimento de suplementos. Portanto, no pré-natal é necessário maior atenção ao padrão alimentar da gestante e posteriormente na nutriz parece ser urgente. As concentrações identificadas neste estudo destes ácidos graxos insaturados, juntamente as de outros quatro estudos sobre conteúdos de lipídeos insaturados de leite de nutrizes brasileiras, estão detalhados na Tabela 5.

TABELA 5 – Composição de ácidos graxos insaturados de leite materno de nutrizes brasileiras em diferentes estudos

Ácidos Graxos Insaturados (%)	Estudos brasileiros				
	Presente estudo	Cunha <i>et al.</i> , 2005	Silva <i>et al.</i> , 2007	Silva <i>et al.</i> , 2005	Nishimura <i>et al.</i> , 2013
C18:1 n-9c – Oleico	18,63	30,10	27,70	25,00	26,46
C18:2 n-6 - Linoleico (LA)	13,48	20,62	19,1	20,30	20,96
C18:3 n-3 - α – Linolênico (ALA)	0,80	1,72	1,20	1,43	1,54
C20:4 n-6 Aracádônico (ARA)	0,26	0,71	0,60	0,53	0,48
C20:5 n-3 - Eicosapentaenóico (EPA)	0,07	0,16	ND	ND	0,08
C22:6 n-3 - Docosahexaenóico (DHA)	0,13	0,34	ND	0,14	0,09
Relação LA/ALA	16,82	11,99	15,91	14,19	13,61

ND: Não disponível no estudo. Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados.

O grupo controle analisado, em média, apresentou proporção de 17:1 entre LA:ALA e este desequilíbrio metabólico também é observado em diversos estudos brasileiros (Figura 3), assim como em outros países ocidentais com dietas pobres em peixes marinhos e ricas em soja e milho (MARTINS *et al.*, 2006).

O processo de alongação desses AGE em tal desequilíbrio acarretam a baixa produção de AGE como DHA e EPA, predispondo RNMBP a menores condições de desenvolvimento do sistema nervoso, com possíveis atrasos psicomotores e cognitivos, além de complicações visuais. Uma hiperresponsividade inflamatória também pode advir deste desequilíbrio. A suplementação do leite humano de banco de leite precisa garantir este tipo essencial de gordura ao neonato. Uma hiperresponsividade inflamatória também pode advir deste desequilíbrio, pois existe uma convergência da rota metabólica para síntese do ácido araquidônico (ARA), o intermediário comum das séries ω -6 e ω -9, e precursor dos eicosanóides e tromboxanos (GARÓFOLO & PETRILLI, 2006).

As dessaturases (delta 5 e 6) são compartilhadas pelos caminhos de formação de ácidos graxos das séries ω -3 e ω -6. Apesar de haver uma maior tendência para a via de formação ω -6, por um mecanismo competitivo regulatório próprio ocorre atração para a série ω -3, e, por conseguinte, um controle na produção de ARA (PERINI *et al.*, 2010).

Ao comparar os resultados obtidos nas amostras analisadas neste estudo com os dados relatados para amostras leite de nutrizas de outros países é possível ver o desequilíbrio entre as séries ω -3 e ω -6, justificados por uma baixa oferta de alimentos fontes e pela competição própria entre as rotas de síntese (MARTINS *et al.*, 2006).

A suplementação do leite humano de banco de leite precisa garantir este tipo de fonte lipídica essencial ao neonato, pois o leite materno apresenta uma composição diferenciada tanto em macronutrientes como em fatores imunológicos. Portanto, ao se tratar de RNMBP o leite da mãe torna-se fisiologicamente mais adaptado à necessidade da criança, e o leite do banco de leite humano utilizado como oferta alimentar, originado pelo *pool* disponível no estoque, necessita de suplementação para atender a demanda fisiológico, metabólica e imunológica que o leite maduro não contém.

Os ácidos graxos dos leites analisados estão sujeitos a oxidação, podendo desencadear implicações indesejáveis na saúde destes RNMBP, além da diminuição dos valores nutricionais dos leites suplementados. A oxidação lipídica pode ocorrer por foto-oxidação, termo-oxidação e auto-oxidação, sendo esta última o principal mecanismo de oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados. Em se tratando de fórmulas infantis comercializadas, os processos de mistura, pasteurização, homogeneização, concentração, secagem e/ou esterilização industrial buscam garantir maior longevidade aos produtos, mas estes mesmos processos são passíveis de provocar a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (KUS, AUED-PIMENTEL & MANCINI-FILHO, 2011).

A coluna com os padrões de ésteres metílicos C:4 – C:24 utilizada neste estudo permitiu quantificar os ácidos graxos, mas não avaliou seu arranjo estrutural (químico). Portanto, a limitação da técnica proposta está na impossibilidade de identificar se o número de ligações *trans* provocadas pela oxidação lipídica decorrente dos processos de manipulação do alimento foi excessivo.

Tornam-se necessários novos estudos sobre a produção de suplementos homólogos ao leite humano para melhorar perfil de nutrientes deste leite para os RNMBP, porém, garantindo além da retirada da lactose, a permanência dos ácidos graxos neste suplemento.

5 CONCLUSÕES

Não foi observada diferença entre o perfil lipídico de ácidos graxos saturados ou insaturados dos três alimentos propostos neste estudo, contudo a proporção das concentrações de ácidos graxos essenciais está abaixo das recomendadas para RNMBP.

O sistema de alimentação não interferiu nas concentrações lipídicas+, entretanto, é preciso estabelecer um maior controle sobre a produção dos suplementos a fim de garantir o suporte lipídico aos recém-nascidos de muito baixo peso, visto que é indiscutível a vantagem de suplemento homólogo ao leite humano devido seu perfil de aminoácidos e minerais.

É importante desenvolver uma técnica para retirada da lactose em suplementos homólogos ao leite humano que preserve as concentrações lipídicas do produto.

REFERENCIAS

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Breastfeeding and the Use of Human Milk. **Pediatrics**. v. 115, n. 2, p 496 – 506. 2005.

_____, Breastfeeding and the Use of Human Milk. **Pediatrics**, v.129, n.3, p:e827-e841. 2012.

2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos/** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2008. 160 p

_____. Ministério da saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Ações Pragmáticas e Estratégicas. **Atenção à saúde do recém-nascido: guia para profissionais de saúde**, v.4 – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

CAMELO JR, J.S; MARTINEZ F.E. Dilemas nutricionais no pré-termo extremo e repercussões na infância, adolescência e vida adulta. **J Pediat**, v.81, n.1 p:S34-S42. 2005.

CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H.; BESANÇON, P. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos**. v II., Zaragoza: Acribia. 2000.

COSTA, A.G.V.; SARABENSE, C.M. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. **Rev Nutr**, Campinas, v.23, n.3, p:445-457. 2010.

CUNHA, J.; COSTA, T.H.M.; ITO, M.K. 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**, v.81, n.3, p:303-311. 2005.

EARLE, R.L.E EARLE, M.D. **Unit operations in food processing Geankoplis, C. J.** Transport Process and Unit Operations. Ed. Prentice Hall New Zealand. 1993.

GARÓFOLO, A., PETRILLI, A.S. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia **Rev Nutr**. v.19, n.5, Campinas. 2006.

GERMAN, J.B.; DILLARD, J.C. Saturated Fats: A Perspective from Lactation and Milk Composition. **Jornal Lipids**, v.45, n.10, p.915-923. 2010.

GRANCE, T.R.S; SERAFIN, P.O, THOMAS, D.M.C, PALHARES, D.B. Aditivo homólogo para a alimentação do recém-nascido pré-termo de muito baixo peso. **Rev. Paul. Pediatr.**, São Paulo, v.33, n.1, jan./mar. 2015.

HEIMAN, H; SCHANLER, R.J. Benefits of maternal and donor human milk for premature infants. **Early Human Development**, v.82, p:781–787, 2006.

KUS, M.M.M.; MANCINI-FILHO, J. Ácidos Graxos. ILSI Brasil -International. Life Sciences Institute do Brasil. **Série de publicações ILSI Brasil: Funções plenamente reconhecidas de nutrientes;** v.17. São Paulo, 2010.

KUS, M.M.M.; AUED-PIMENTEL, S.; MANCINI-FILHO, J. Estabilidade dos ácidos graxos poliinsaturados presentes em fórmulas infantis comerciais.**Bras J Food Technol**, Campinas, v.14, n.2, p.145-153. 2011.

MARTINS, E.C.; KREBS, V.L.J. Effects of the use of fortified raw maternal milk on very low birth weight infants. **J Pediatr**, v.85, n.2, p:157-162. 2009.

MARTINS, AC; ALMEIDA, VV; RUIZ, MR; VISENTAINER, JEL; MATSHUSHITA, M; SOUZA, NE; VISENTAINER, JV. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev Nutr**, Campinas, v.19, n.6, p:761-770. 2006.

NISHIMURA, R.Y.; CASTRO, S.F.; JORDÃO JUNIOR, A.A.; SARTORELLI, D.S. Composição de ácidos graxos do leite materno em mulheres residentes em área distante da costa litorânea brasileira. **J Pediatr**, v.89, n.3, p: 2013.

LEPAGE, G; ROY, C.C. Direct transesterification of all classes of lipids in a one- step reaction. **Journal of Lipid Research**, v.27, p.114–120, 1986.

LÓPEZ-TORRES, E.; DOBLAS, P.A.; GUERRERO DEL VALLE, V.E.; LINARES, M.C. Evaluación clínica de los ácidos grasos omega-3 en la gestación, la lactancia y el desarrollo infantil. **Clin Invest Gin Obst**, v.34, n.3, p:100-5, 2007.

PALHARES, D.B; THOMAS, D.M; TAVARES, L.V.M; SERAFIN, P.O. Effect of diet on serum amino acid profile in very-low-birthweight neonates. In: BERHARDT, L.V. **Advances in medicine**. v.4. Nova Science Publishers, 2012.

PANCZUK, J.K.; UNGER, S.; FRANCIS, J.; BANDO, N.; KISS, A.; O'CONNOR, D.L. Introduction of Bovine-Based Nutrient Fortifier and Gastrointestinal Inflammation in Very Low Birth Weight Infants as Measured by Fecal Calprotectin. **Breastfeeding Medicine**, v.11, n.1. 2016.

PEREIRA, G.R.; LEONE, C.R.; ALVES FILHO, N.; Trindade Filho, O. **Nutrição do Recém Nascido - Pré Termo**. 1ed.: Medbook. 2008

PERINI, J.A.L.; STEVANATO, F.B.; SARGI, S.C.; VESENTAINER, J.E.L.; DALALIO, M.M.O.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER J.V. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Rev Nutr**, s, v.23, n.6, p:1075-1086. 2010.

POUDYAL H., PANCHAL, S. K., DIWAN V., BROWN, L. Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: Effects and emerging mechanisms of action **Progress in Lipid Research**, v.50, p:372–387. 2011.

RAYYAN, M; ROMMEL, N; ALLEGAERT, K. The Fate of Fat: Pre-Exposure Fat Losses during Nasogastric Tube Feeding in Preterm Newborns. **Nutrients**, v.7, p: 6213-6223. 2015.

RONA, M.S.S; NOVAK, F.R.; PORTITLHO, M.; PELISSARI, F.M.; MARTINS, A.B.T; MATIOLI, G. Efeitos do tempo e da temperatura de estocagem nas determinações de acidez, cálcio, proteínas e lipídeos de leite de doadoras de bancos de leite humano. **Rev. Bras. Saúde Mater. Infant**, v.8, n.3, p 257-263, 2008.

SANTOS, M.M., MARTINEZ, F.E., SIEBER, V.M., PINHATA, M.M.M., FELIN, M.L.S. Acceptability and growth of VLBW – Infants Fed with Own Mother's Milk Enriched with a Natural or Commercial Human Milk Fortifier. **Pediatric Research**, v.41, p: 231-231. 1997

SERAFIN, P.O. Crescimento de recém-nascidos pré-termo de muito-baixo- peso alimentados com aditivo homólogo integral sem lactose liofilizado. (Doutorado) Programa de Pós Graduação de Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste. **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS**. 2015.

SILVA, M.H.L.; SILVA, M.T.C.; BRANDÃO, S.C.C.; GOMES, J.C.; PATERNELLI, L.A.; Franceschini, S.C.C. . Fatty acid composition of mature breast milk in Brazilian women. **Food Chemistry**, v.93, n.2, p:297-303. 2005.

SILVA, R.C.; ESCOBEDO, J.P.; GIOIELLI, L.A.; QUINTAL, V.S.; IBIDI, S.M.; ALBUQUERQUE, E.M. Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura. **Quim. Nova** [on line], v.30, n.7, p:1535-1538. 2007. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000700007. Acesso em 20/01/2016.

THOMAS, D MC; SERAFIM, PO; PALHARES, D B. MELNIKOV, P; VENHOFEN, L; VARGAS, M O.F. Comparação entre suplementos homólogos do leite humano e um suplemento comercial para recém-nascidos de muito baixo peso. **J Pediatr**, v.88, n.2, p:119 – 124. 2012.

VIEIRA, A.A.; MOREIRA, M.E.L; ROCHA, A.D. PIMENTA, H.L; LUCENA, S.L. Análise do conteúdo energético de leite humano administrado a recém-nascidos de muito baixo peso. **J Pediatr**, v.80, n.6, p:490-4. 2004.

5 ARTIGO 2

Composição de ácidos graxos essenciais do leite humano acrescido de suplemento homólogo e óleo de peixe (série ω -3) para nutrição enteral de prematuros

Karla de Toledo Candido Muller, Durval Batista Palhares

RESUMO

Este estudo identificou os ácidos graxos essenciais (AGE) em leite humano com suplementação homóloga e verificou o efeito do sistema de nutrição enteral nas concentrações destes AGE, foram selecionadas 10 amostras de 150 mL de leite humano de banco de leite, separadas em três grupos (GG – grupo controle; GDEL - Leite com suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado e GL - Leite com suplemento homólogo sem lactose e liofilizado). Metade das amostras foi analisada antes e após passar pelo sistema de nutrição enteral (momento), e a outra metade foi enriquecida com 0,03 mL de óleo de peixe e igualmente analisada. Os AGE foram extraídos do leite, identificados por cromatografia gasosa e analisados pelo teste Anova de 3 vias de medidas repetitivas. Não houve variação entre as concentrações do ácido α Linolênico e Aracdônico entre grupos, momentos ou uso de óleo ($p > 0,05$). Quanto ao ácido Linoleico houve interação entre o momento e o óleo ($p = 0,06$), com seu aumento após acréscimo de óleo em relação ao seu controle ($p = 0,01$), sem diferença entre os leites com ou sem óleo após passarem pelo sistema ($p = 0,84$). Aumentaram as concentrações dos ácidos Eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) nos leites com óleo antes de passarem pelo sistema ($p < 0,0001$), entretanto, com significativa diminuição de EPA e DHA após o leite com óleo passar pelo sistema ($p < 0,0001$). O acréscimo de óleo de peixe diretamente no leite humano aumentou as concentrações de EPA e DHA, mas o método de administração do alimento impediu a disponibilidade final destes AGE.

Palavras-chave: Prematuridade, suplemento homólogo, ômega 3, nutrição enteral.

Analysis of essential fatty acids in human milk added with homologous supplement and fish oil (ω -3 series) for enteral nutrition of premature

Karla de Toledo Candido Muller, Durval Batista Palhares

ABSTRACT

This study identified the essential fatty acids (AGEs) in human milk with homologous supplementation and the effect of the enteral nutrition system on the concentrations of these AGEs, a total of 10 samples of 150 mL of human milk were separated into three groups (GG - control group; GDEL - Milk with lactate - free, skimmed, evaporated and lyophilized supplement and GL - Milk with lactose - free homologue and lyophilized supplement). Half of the samples were analyzed before and after passing through the enteral nutrition system (moment), and the other half was enriched with 0.03 mL of fish oil and also analyzed. The AGE were extracted from the milk, identified by gas chromatography and analyzed by the Anova 3-way test of repetitive measures. There was no variation between α -Linolenic and Aracdonic acid concentrations between groups, times or oil use ($p > 0.05$). As for Linoleic acid, there was interaction between the moment and the oil ($p = 0.06$), with its increase after oil increase in relation to its control ($p = 0.01$), with no difference between milks with or without oil after passing through the system ($p = 0.84$). The concentrations of Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) in oil milks before passing through the system ($p < 0.0001$) increased, however, with a significant decrease of EPA and DHA after oil milk passed through the system ($p < 0.0001$). The addition of fish oil directly into human milk increased EPA and DHA concentrations, but the method of food administration prevented the final availability of these AGEs.

Key words: Prematurity, homologous supplement, omega 3, enteral nutrition.

1 INTRODUÇÃO

A prematuridade constitui um risco ao desenvolvimento infantil em vários aspectos, sendo este potencializado pelo menor aporte de nutrição recebida após o nascimento quando comparada ao aporte nutricional intraútero (MOREIRA & ROCHA, 2004). Por esse motivo, a qualidade da nutrição desses neonatos passou a ser alvo de estudos (CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; MARTINS & KREBS, 2009).

O leite materno é considerado insubstituível na alimentação do lactente, e para os bebês prematuros é uma necessidade absoluta. Contudo, as mudanças da composição nos diferentes estágios de lactação, incluindo o leite da mãe da criança prematura, são incapazes de igualar seus componentes à oferta placentária (CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; AMERICAN ACADEMY of PEDIATRICS, 2005; 2012).

Visando minimizar estas diferenças, assim que se torna viável a nutrição enteral, a suplementação alimentar com compostos heterólogos ao leite humano (fórmulas), de origem bovina, é adotada rotineiramente nos serviços de neonatologia. Porém há divergência entre quantidade e qualidade de seus nutrientes, em especial aminoácidos e ácidos graxos, e possíveis complicações clínicas (MOREIRA & ROCHA, 2004; CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005; 2012; KUMAR & SUNDARAM, 2011). Dentre as complicações mais preocupantes está o risco de enterocolite necrosante em recém-nascidos de muito baixo peso (RNMBP) alimentados com fórmulas à base de leite de vaca ou mesmo leite materno acrescido de suplementado com proteínas de origem bovina (HEIMAN & SCHANLER, 2006; SILVA, 2007, PANCZUK *et al.*, 2016).

As fórmulas comerciais para prematuros buscam assemelhar-se ao leite humano quanto ao seu perfil nutricional. A gordura predominante é de triglicérido de cadeia média (TCM), porém com déficit de ácidos graxos essenciais (AGE) série ômega-3 e ômega-6 (MOREIRA & ROCHA, 2004), que necessariamente precisam ser ofertados através da dieta, pois são fundamentais para o crescimento e desenvolvimento do RN, com destaque para os precursores de cadeia longa: o ácido linoleico (LA: n-6 ou ω -6) e o ácido α - linolênico (ALA: n-3 ou ω -3) (VALENZUELA & NIETO, 2003; KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

O ácido araquidônico (ARA) (derivado da série ω -6), o ácido docosahexaenóico (DHA) e o ácido eicosapentaenóico (EPA) (ambos derivados da

série ω -3) são os principais componentes dos lipídios cerebrais, inclusive na constituição da bainha de mielina, sendo o DHA o ácido graxo mais abundante nas células fotorreceptoras da retina (LÓPEZ-TORRES *et al.*, 2007).

O aporte estimado destes AG para o último trimestre gestacional e seis primeiros meses de vida é ineficiente devido a imaturidade hepática para conversão de LA e ALA nestes ácidos graxos, havendo necessidade de oferta tanto via transplacentária como através do leite materno, com uma proporção de 1,1% de DHA em relação aos demais, e nos prematuros deve ser em torno de 1,5% (MALCOLM *et al.*, 2003; VALENZUELA & NIETO, 2003; SILVA *et al.*, 2007; KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

Por ser considerado superior a qualquer outra alimentação substituta para alimentação infantil, o uso de suplementos originados do próprio leite humano se mostraram eficazes e factíveis, sejam evaporados ou liofilizados, constituindo o melhor alimento para bebês prematuros (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005, THOMAZ *et al.*, 2012, PALHARES *et al.*, 2012). A utilização de suplemento homólogo de leite humano liofilizado propõe melhorar o perfil de nutrientes deste leite, sem aumentar seu volume. A retirada da lactose garante um equilíbrio de osmolalidade evitando complicações como distensão abdominal, vômitos ou mesmo enterocolite necrosante (SANTOS *et al.*, 1997).

Thomaz *et al.*, (2012) comprovaram a eficácia de um suplemento homólogo, sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado para alimentação de RNPT de baixo peso. Grance *et al.*, (2015) modificaram as etapas de produção, diminuindo a manipulação do produto com a retirada das etapas de desnate e evaporação e Serafin (2015) comprovou também a utilização deste suplemento na alimentação destas crianças. Apesar do perfil lipídico destes produtos não ser conhecido, estima-se que os níveis de DHA no leite humano de mulheres que moram na região costeira de países ocidentais, assim como nas fórmulas infantis, são incapazes de suprir as necessidades diárias deste ácido para lactentes prematuros (TORRES & TRUGO, 2009; KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

Apesar das duas propostas de produção de suplemento desenvolvidas pelas referidas autoras terem sido avaliadas clinicamente, permaneceu uma lacuna sobre seus perfis lipídicos, e em especial, conhecer a necessidade de ajustes para alimentação de RNMBP.

A nutrição enteral promove uma diminuição na disponibilidade final de lipídeos causada, em sua maior parte, pelos tubos de nutrição (equipo e sonda nasogástrica) (RAYYAN *et al.*, 2015). Faz-se necessário avaliar se o uso adicional de gorduras no alimento pode causar aderência nas paredes dos componentes, comprometendo as características nutricionais do produto final ofertado, porém não é bem estabelecida a exata perda de gordura dos leites com suplementos homólogos pelos equipos rotineiramente utilizados em unidades neonatais. Hipoteticamente, o acréscimo de suplemento preparado a partir do próprio leite humano deverá provocar uma somatória de nutrientes, em especial para este estudo, o perfil lipídico de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa.

O objetivo deste estudo foi identificar o perfil de AGE em leite humano de banco de leite com diferentes fórmulas de suplementação homóloga, assim como o efeito do sistema de nutrição enteral (frasco e equipo) nas concentrações destes ácidos graxos, direcionando sua aplicabilidade na nutrição do pré-termo de muito baixo peso.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

O estudo teve seu início após aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (- CEP/UFMS - parecer nº 18070513.6.0000.0021 (ANEXO 1). Os leites utilizados neste estudo apresentavam teor calórico ≥ 60 % por 100 mL, dosado em crematócrito e titulação de acidez Dornic ≤ 6 e foram doados pelo banco de leite do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, por apresentarem sujidade no momento da pasteurização ou por falha na documentação cadastral destas mães voluntárias junto ao banco de leite, inviabilizando seu uso pelos RNs do hospital.

O volume total de leite humano recebido foi de aproximadamente 2.500 mL para produção dos suplementos e dos grupos experimentais. As amostras foram constituídas de 10 *pools* de leite humano de diferentes doadoras com 150 mL cada *pool*, dividido pelos três grupos experimentais, de 50 mL cada.

2 1 1 Grupos experimentais

Grupo Controle: Composto de Leite humano de banco de leite puro, livre de aditivos (GC) – com e sem acréscimo de óleo de peixe.

Grupo de Leite humano de banco de leite enriquecido com suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado (GDEL) – com e sem acréscimo de óleo de peixe.

Grupo de Leite humano de banco de leite enriquecido com suplemento homólogo sem lactose e liofilizado (GL) – com e sem acréscimo de óleo de peixe.

O desenho experimental está detalhado na figura 1.

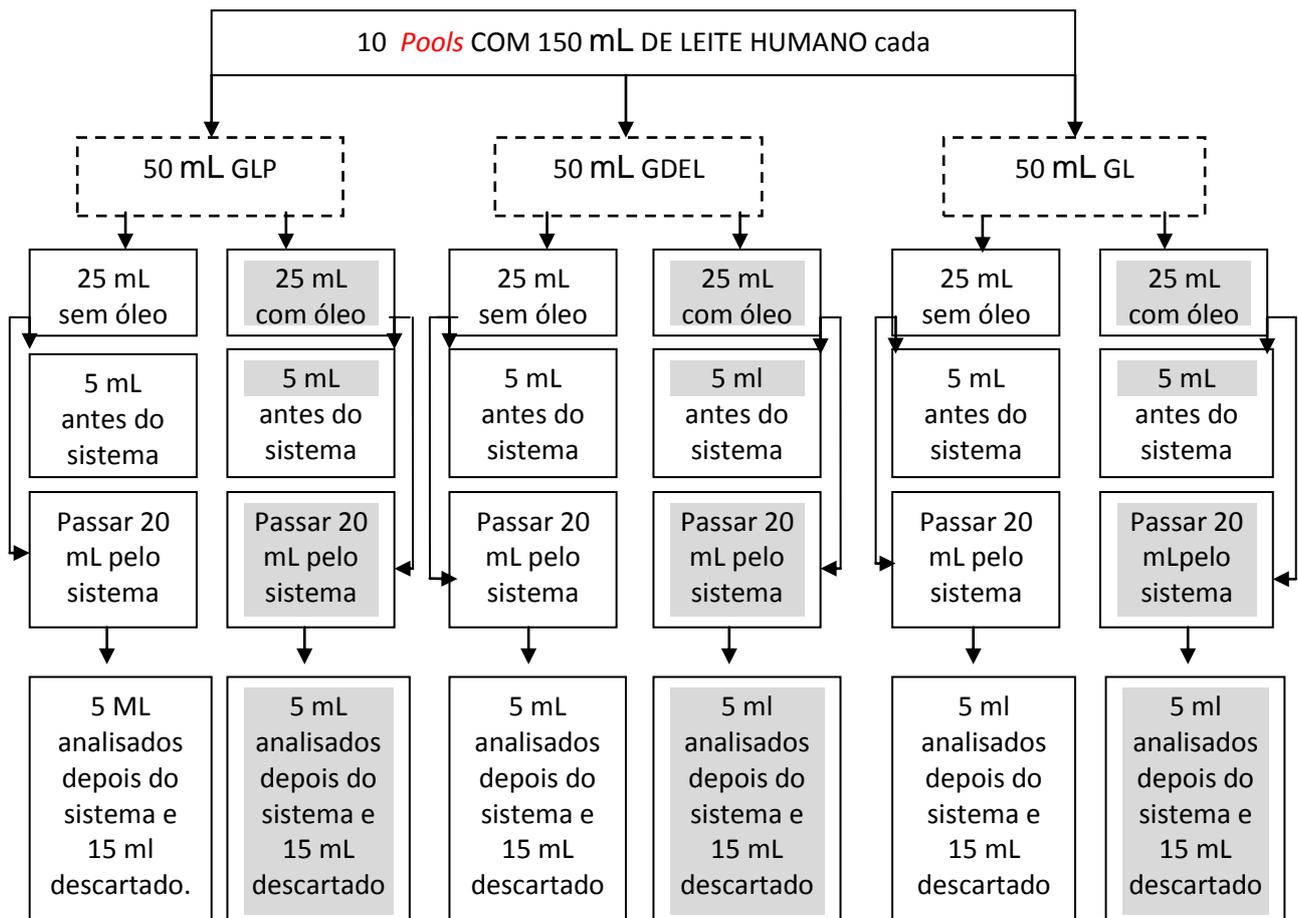


FIGURA 1 – Desenho esquemático dos grupos realizados em cada *pool* de leite humano de banco de leite utilizado neste estudo. Nota: GC (Grupo controle), GDEL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado), GL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose e liofilizado).

2.2 Métodos

Para composição de cada amostra, diferentes frascos de leite oriundo do banco de leite foram descongelados em banho-maria à 40°C e na presença de acidez Dornic ≤ 6 estes leites foram reservados, formando um *pool* de 150 mL e separados em 3 porções (grupos) de 50 mL, sendo que duas delas receberam seus respectivos suplementos preparados no laboratório de nutrição e metabolismo da UFMS (Grupos GDEL e GL).

2.2.1 Preparação do suplemento homólogo de leite humano sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado

O preparo deste suplemento foi elaborado de acordo com o preconizado por Thomaz *et al.*, (2012).

Todo aditivo utilizado nos 10 *pools* do grupo GDEL foi preparado em um único momento, a partir de um volume de 500 mL de leite humano de banco de leite, acidez Dornic ≤ 6 . A retirada da gordura foi realizada em uma desnatadeira modelo 18 GR com capacidade de 100 l/hora (Casa das Desnatadeiras, Brasil), com uma retenção média de 150 mL de leite neste processo.

Os 350 mL restantes foram levados ao evaporador (MARCONI MA 120i[®] Brasil) em temperatura média de 60°C e pressão de ação do vácuo 63 cmHg, com uma redução do volume inicial a aproximadamente 100 mL (FIGURA 2a). Esse volume foi colocado em tubos cônicos de plástico e congelado a -20°C, por 24 horas para retirada da lactose por crioprecipitação, descongelado em banho-maria a 37°C, retirando-se o sobrenadante com uso de uma pipeta Pasteur e transferindo-o a 10 recipientes de vidro. O material precipitado (lactose) foi descartado.

O volume de leite sem lactose foi congelado novamente a -20°C e posteriormente colocado na câmara de vácuo do liofilizador de bancada EDWARDS[®] por 48 horas, estando prontas para serem adicionadas à 50 mL de leite de cada grupo de estudo (FIGURA 2b). Imediatamente antes de sua reconstituição, o conteúdo foi descongelado em banho-maria a 37°C.

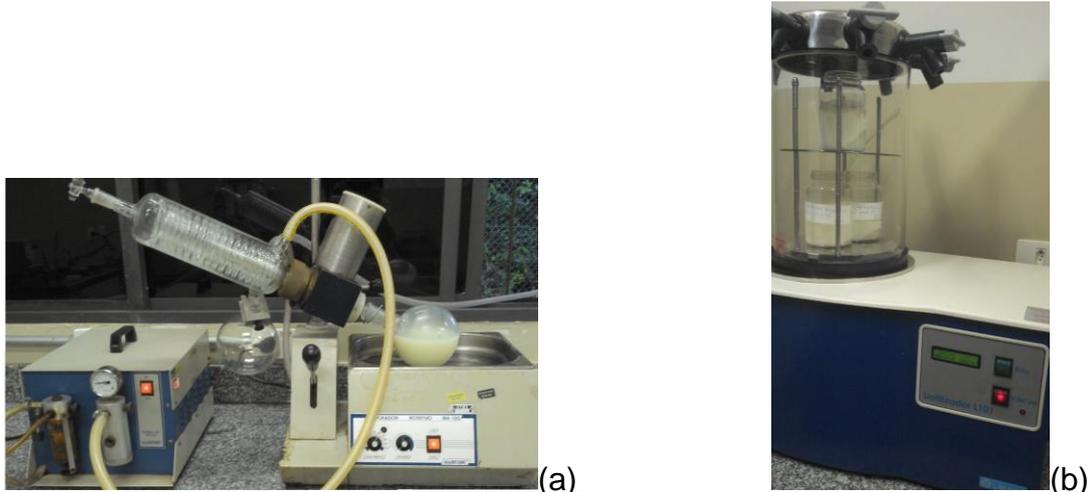


FIGURA 2 – (a) Processo de evaporação do leite desnatado - Evaporador MARCONI MA 120i[®] Brasil; (b) Processo de liofilização - liofilizador de bancada (EDWARDS[®])

2.2.2 Preparação do suplemento homólogo sem lactose e liofilizado

O preparo deste suplemento foi elaborado de acordo com o preconizado por Grance *et al.*, (2015).

Todo aditivo utilizado nos 10 *pools* do grupo GL foi preparado em um único momento, a partir de um volume de 450 mL de leite humano de banco de leite, com acidez Dornic ≤ 6 . Amostras de 45 mL de LH foram congeladas para retirada da lactose por crioprecipitação. Posteriormente, as amostras foram descongeladas em banho-maria a 37 °C e o material sobrenadante removido com uma pipeta de vidro estéril, sendo transferido para recipientes de vidro aproximadamente 40 mL de leite sem lactose, desprezando a lactose precipitada. O leite foi congelado novamente a -20 °C e posteriormente colocado na câmara de vácuo do liofilizador de bancada EDWARDS[®], por 48 horas, estando apta a ser novamente descongelada em banho-maria a 37 °C e reconstituída em 50 mL, nos respectivos *pools*.

2.2.3 Administração do óleo de peixe

Cada um dos grupos teve seu volume dividido em duas porções de 25 mL, sendo que em apenas uma delas foi enriquecida com 0,037 g (0,03 mL) de óleo de peixe, sendo a outra o seu controle.

O óleo de Peixe usado foi o produto comercial OMEGA 3 Stem 1000 mg, provenientes de óleo de peixe marinho de águas geladas, fabricado por Stem

Pharmaceutical[®]. Cada 3,3 g do produto apresentam 0,54 g de EPA (ácido eicosapentaenóico), 0,36 g de DHA (ácido docosahexaenóico). Após assepsia com álcool 70 ° as cápsulas gelatinosas foram cortadas e seu conteúdo depositado em um tubo de vidro. Com uso de uma micropipeta, 0,03 mL (0,037 g) do óleo foram adicionados nas respectivas amostras.

O volume de óleo de peixe a ser utilizado foi calculado a partir do padrão das necessidades nutricionais diárias para o RNMBP de 60 a 75 kcal/kg/dia, sendo a porção lipídica corresponde a 3 g / kg / dia. Considerando um aumento de 25 % no cálculo devido ao muito baixo peso dos RN, o valor lipídico recomendado foi de 0,75g. Foi utilizado uma proporção de ω 3 – ω 6 de 1:3 (CAMELO JR & MARTINEZ, 2005).

2.2.4 Coleta e análise das amostras

Para este experimento foi preparado um *pool* de cada vez, compatível com uma única amostra de leite humano para todos os grupos. Como já descrito, os 150 mL foram divididos em 3 grupos e cada grupo subdividido em duas partes, sendo uma com óleo de peixe e a outra o seu controle.

Inicialmente, 5 mL foram retirados de cada sub grupo e reservados (denominado momento antes do equipo), em seguida os demais 20 mL de cada sub grupo foram inseridos no frasco simulando as condições de nutrição enteral de RN de alto risco internado em unidades neonatais. Os frascos compostos de material plástico transparente (polietileno), graduados com escala de 10 ml, estéreo e com capacidade para 100 mL (Biobase[®]) receberam o alimento e foram colocados na posição vertical em suporte para soro, anexados ao equipo de nutrição enteral com ponta perfurante para adaptação do equipo ao frasco - (NBR 14041/1998 - ABNT, 2008), dispositivo gotejador controlado manualmente para correr o conteúdo em aproximadamente 10 minutos, câmara de gotejamento e tubo confeccionado em PVC flexível, atóxico e de coloração azul claro. Após a passagem do alimento pelo sistema de nutrição, este foi armazenado em um frasco de vidro e então coletados 5 mL ao final (denominado momento após o equipo) ,com conseqüente descarte de 15 mL de leite.

2.2.5 Determinação dos ácidos graxos

Os AGE presentes nas amostras de leite foram extraídos utilizando o método de transesterificação direta dos lipídios (LEPAGE & ROY, 1986). As amostras de leite foram descongeladas a 40 °C, homogeneizadas e esfriadas a 20 °C. Uma alíquota de 0,1 mL do leite foi transferido para um tubo de vidro e acrescentado 2 mL de mistura benzeno-metanol. Foi adicionado ao tubo 0,2 mL de cloreto de acetila e mantido em banho-maria a 100 °C por 60 minutos.

Após resfriar o material foram adicionados 5 mL de carbonato de potássio a 6% e centrifugado a 3.500 rpm por 10 minutos, separando-o em duas fases. A fase superior foi secada sob nitrogênio e ressuspensa com 300 µL de diclorometano contendo 100 mg/µL de C23:0 (padrão interno). Foram então extraídos 2 mL da fase superior e colocados em um *vial* com septo de teflon.

A identificação dos ésteres metílicos ácidos graxos foi realizada em cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo GC-2010) com detector de ionização de chama, injetor “Split/Splitless” e coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária de polietilenoglicol (Carbowax 20M, 30 m x 0,25 mm, Quadrex) (FIGURA 3).



Fonte: <http://www.br.all.biz/cromotgrafos-bgg1005391>

FIGURA 3 – Cromatógrafo gasoso Shimadzu, modelo GC-2010

Foram comparados os respectivos tempos de retenção com os dos padrões de ésteres metílicos (SUPELCO, F.A.M.E. mix C4:0 a C24:0, Sigma-Aldrich),

quantificando-os através da normalização de área e expressando os resultados em percentual de área de cada ácido graxo em relação a área total destes (FIGURA 4).

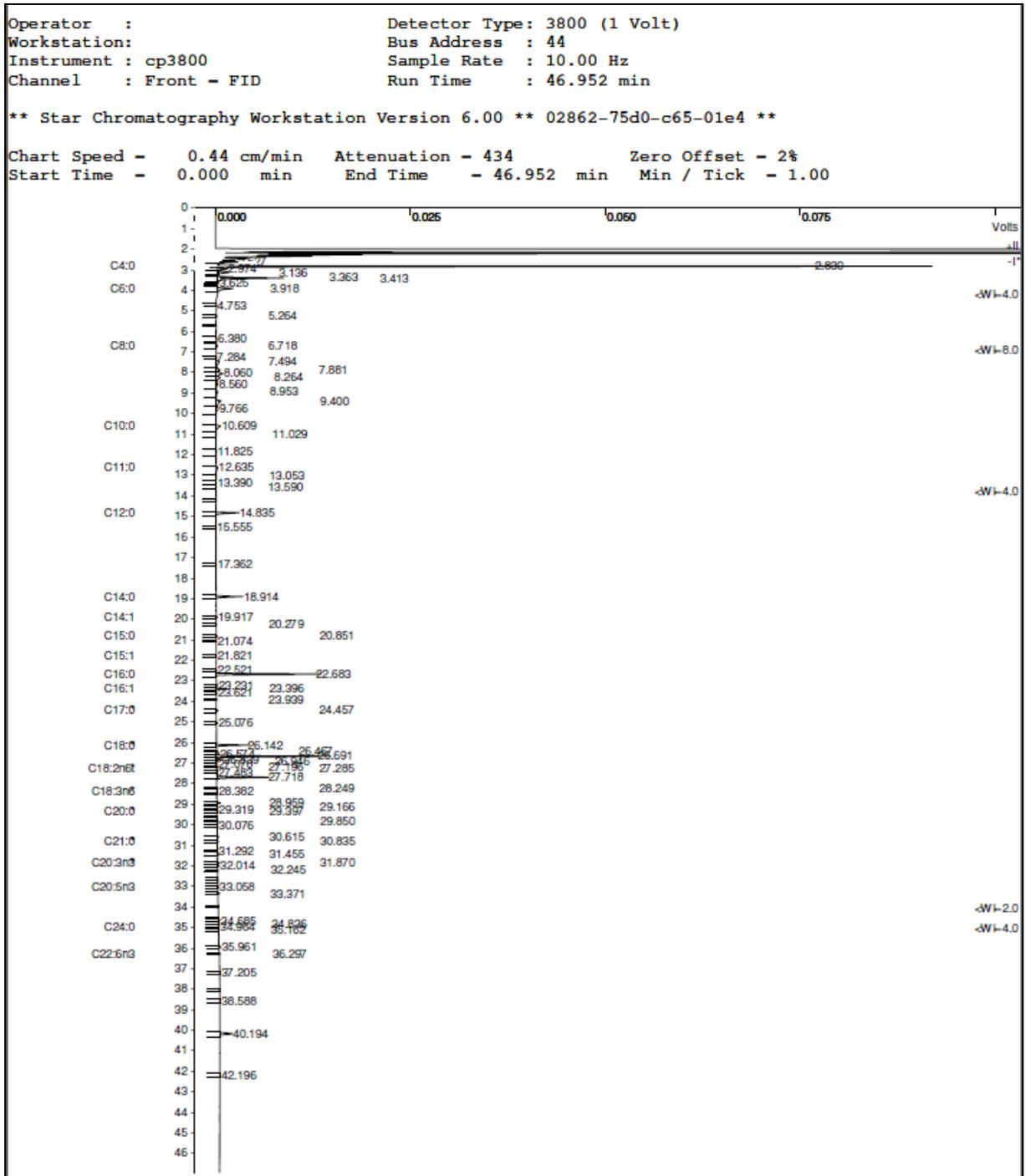


FIGURA 4 - Cromatograma dos ácidos graxos separados e identificados em uma amostra de leite, por meio de cromatografia gasosa.

2.2.6 Análise dos dados

Os dados foram tabulados em Excel[®] e tratados com os respectivos valores do fator FEED de correção para cada ácido graxo identificado, considerando-se como total apenas os ácidos graxos identificados pelo padrão utilizado.

Os dados foram apresentados em média \pm desvio padrão, dispostos de forma descritiva, em tabelas. Para comparação entre os dois momentos de análise de cada ácido graxo, os três grupos de tratamento do leite e o acréscimo ou não de óleo de peixe foi utilizado o teste Anova de 3 vias de medidas repetitivas. Quando identificado efeito ou interação entre as variáveis foi utilizado o teste *t student* independente entre o uso ou não de óleo de peixe e o teste *t student* pareado entre os momentos antes e após o uso do sistema de nutrição, ambos com correção de Bonferroni ($p < 0,01$). A análise estatística foi realizada utilizando-se o “software” SPSS, versão 20.0, considerando um nível de significância de 5 %.

3 RESULTADOS

Para o LA (ω -6) não houve diferença entre os grupos ($p=0,77$), assim como entre as amostras controles e com óleo de peixe ($p=0,16$), ou mesmo do momento de utilização do sistema de nutrição enteral ($p=0,57$).

Houve interação entre o momento de uso do sistema de nutrição e o óleo de peixe ($p=0,006$), com significativa diminuição nas concentrações de LA logo após o acréscimo de óleo ao leite ($12,22 \pm 1,70$ %) em relação ao seu controle ($13,91 \pm 3,21$ %) ($p=0,01$), porém, sem diferença entre os leites com ou sem óleo de peixe após passarem pelo sistema ($p=0,84$). Houve uma diminuição nas concentrações entre os momentos de uso do sistema de nutrição nos leites sem acréscimo e com acréscimo de óleo, mas esta diferença não foi significativa ($p=0,05$ e $p=0,04$; respectivamente. Teste *t* independente com correção de Bonferroni).

Não houve interação entre o momento de uso do sistema de nutrição e os grupos com diferentes leites ($p=0,32$), entre os grupos e o óleo ($p=0,74$) ou entre os momentos, os grupos de tratamento e o óleo de peixe ($p=0,37$). Os valores das concentrações do LA estão descritas na tabela 1.

TABELA 1 – Concentrações de ácido linoleico (%) nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.

Momentos de coleta	Grupos de tratamento		
	GC (n=10)	GDEL (n=10)	DL (n=10)
Sem óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	13,48±1,40	13,16±2,17	15,08±4,91
Após o sistema de nutrição	12,98±2,50	12,74±3,17	12,76±1,85
Com óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	12,12±1,91	12,33±1,60	12,20±1,74
Após o sistema de nutrição	13,25±2,08	12,72±2,63	12,86±1,27

Nota: GC(Grupo controle), GDEL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado), GL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose e liofilizado). Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão.

Quanto ao ALA (ω -3), não houve diferença entre os grupos leites testados ($p=0,14$), assim como do óleo de peixe ($p=0,58$), contudo, houve diferença entre os momentos de utilização do sistema de nutrição ($p=0,02$), com maiores concentrações de ALA antes dos leites passarem pelo sistema ($0,83\pm0,19$ %) em relação ao momento depois ($0,78\pm0,11$ %).

Não houve interação entre o momento de utilização do sistema de nutrição enteral e os grupos dos diferentes leites analisados ($p=0,26$), entre o momento e o acréscimo de óleo de peixe ($p=0,20$), entre os grupos e o acréscimo de óleo ($p=0,39$) ou mesmo entre o momento, os grupos e o óleo de peixe ($p=0,21$). Os valores das concentrações do ALA estão detalhados na tabela 2.

TABELA 2 – Concentrações de ácido α - linolênico nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.

Momentos de coleta	Grupos de tratamento		
	GC (n=10)	GDEL (n=10)	DL (n=10)
Sem óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	0,80±0,14	0,79±0,08	0,98±0,36
Após o sistema de nutrição	0,75±0,13	0,76±0,13	0,81±0,10
Com óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	0,78±0,16	0,82±0,13	0,82±0,77
Após o sistema de nutrição	0,80±0,12	0,76±0,10	0,80±0,11

Nota: GC(Grupo controle), GDEL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado), GL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose e liofilizado). Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão.

Em relação ao ARA, não houve diferença entre os grupos de leites analisados ($p=0,38$), do acréscimo do óleo de peixe ($p=0,93$), ou mesmo do momento de uso do sistema de nutrição enteral ($p=0,83$). Não houve interação entre o momento e o grupo de tratamento ($p=0,23$), entre o momento e o óleo de peixe ($p=0,17$) ou entre o momento, o tratamento e o óleo de peixe ($p=0,56$) (TABELA 3).

A análise das concentrações do EPA não apontou efeito do tratamento ($p=0,72$), porém apontou efeito do óleo de peixe ($p<0,001$), com maior concentração de EPA nos leites com óleo ($1,07\pm 1,43\%$) em relação aos sem acréscimo de óleo ($0,11\pm 0,45\%$), assim como o efeito do momento de uso do sistema de nutrição enteral ($p<0,001$), apresentando menores concentrações de EPA após o leite passar pelo sistema ($0,14\pm 0,24\%$) em relação ao momento antes do sistema ($1,04\pm 1,45\%$).

Houve interação entre o momento e o óleo de peixe ($p<0,001$), sendo evidenciado um aumento de EPA após o acréscimo do óleo antes de utilizar o sistema de nutrição ($p<0,0001$), entretanto, houve uma diminuição de EPA após o leite com óleo passar pelo sistema de nutrição enteral ($p<0,0001$), sendo que não houve esta diferença nos leites sem óleo ($p=0,39$). As concentrações de EPA depois do sistema não foram diferentes entre os leites com ou sem óleo de peixe ($p=0,53$).

Não houve interação entre o momento de utilização do sistema de nutrição enteral e o tratamento nos diferentes leites analisados ($p=0,92$), entre o tratamento e o uso de óleo ($p=0,70$), ou mesmo entre o momento, o tratamento e o óleo de peixe ($p=0,92$) (TABELA 4).

TABELA 3 – Concentrações de Ácido Aracádico nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.

Momentos de coleta	Grupos de tratamento		
	GC (n=10)	GDEL (n=10)	DL (n=10)
Sem óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	0,26±0,33	0,33±0,45	0,17±0,22
Após o sistema de nutrição	0,72±1,00	0,22±0,38	0,31±0,60
Com óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	0,22±0,38	0,24±0,47	0,75±0,95
Após o sistema de nutrição	0,30±0,68	0,16±0,35	0,39±0,29

Nota: GC (Leite humano puro), GDEL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado), GL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose e liofilizado). Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão.

Tabela 4 – Concentrações de ácido Eicosapentaenoico (EPA) (%) nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.

Momentos de coleta	Grupos de tratamento		
	GC (n=10)	GDEL (n=10)	DL (n=10)
Sem óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	0,07±0,07	0,09±0,09	0,10±0,08
Após o sistema de nutrição	0,18±0,28	0,06±0,08	0,13±0,16
Com óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	2,12±1,85	2,10±1,45	1,73±1,42
Após o sistema de nutrição	0,25±0,25	0,19±0,41	0,05±0,05

Nota: GC (Grupo controle), GDEL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado), GL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose e liofilizado). Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão

Para o DHA não houve diferença entre os diferentes leites analisados ($p=0,94$), porém, houve diferença entre os grupos controle e com uso de óleo de peixe ($p<0,001$), com maior concentração de DHA nos leites com óleo ($0,74\pm0,89\%$) em relação aos sem acréscimo de óleo ($0,18\pm0,12\%$). Houve diferença entre o momento de uso do sistema de nutrição enteral ($p<0,001$), apontando uma diminuição nas concentrações de DHA após seu uso ($0,20\pm0,17\%$) em relação ao momento antes ($0,71\pm0,90\%$).

Houve interação entre o momento de uso do sistema e o óleo de peixe ($p<0,001$), com significativa diminuição nas concentrações de DHA após o leite acrescido com óleo passar pelo sistema de nutrição enteral ($p<0,0001$), sendo que não houve diferença significativa entre os momentos de uso do sistema de nutrição nos leites sem acréscimo de óleo ($p=0,22$).

As concentrações de DHA antes do sistema foram significativamente maiores no grupo com óleo ($p<0,0001$), entretanto, depois estas não foram diferentes entre os leites com ou sem óleo de peixe ($p=0,69$). Não houve interação entre o momento e o tratamento ($p=0,75$), entre o tratamento e o óleo de peixe ($p=0,63$), ou mesmo entre o momento, tratamento e óleo de peixe ($p=0,96$) (TABELA 5).

TABELA 5 – Concentrações de ácido Docosaehexahenóico (DHA) (%) nos diferentes grupos de tratamento de leite humano, nos momentos antes e após utilização do sistema de nutrição enteral com e sem o acréscimo de óleo de peixe.

Momentos de coleta	Grupos de tratamento		
	GC (n=10)	GDEL (n=10)	DL (n=10)
Sem óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	0,13±0,10	0,16±0,08	0,19±0,97
Após o sistema de nutrição	0,21±0,20	0,14±0,10	0,24±0,13
Com óleo de peixe			
Antes do sistema de nutrição	1,13±1,23	1,41±0,92	1,17±0,89
Após o sistema de nutrição	0,26±0,18	0,22±0,25	0,15±0,07

Nota: GC (Grupo controle), GDEL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose, desnatado, evaporado e liofilizado), GL (Leite humano enriquecido com suplemento homólogo sem lactose e liofilizado). Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão.

4 DISCUSSÃO

Não houve efeito do tratamento em nenhum dos ácidos graxos analisados, ou seja, as concentrações dos ácidos graxos essenciais LA, ALA, ARA, EPA e DHA não variaram em decorrência do tratamento sofrido no leite, permitindo afirmar que os *pools* do GC não apresentaram piores concentrações de AGE do que leites suplementados, rejeitando a hipótese inicial deste estudo.

O grupo controle (GC) não recebeu suplementação. Esta deve ser apenas uma situação experimental, pois há mais de duas décadas já está mundialmente estabelecida a fundamental necessidade de suplementação de leite humano para alimentação de RNMBP (MOREIRA & ROCHA, 2004; VIEIRA, *et al.*, 2004).

O leite materno, mesmo que da própria mãe do RN prematuro, não apresenta suporte nutricional condizente com as necessidades fisiológicas deste RN. A prematuridade proporciona uma imaturidade funcional em diversos órgãos e sistemas, uma vez que em ambiente uterino este bebê deveria receber ininterruptamente os nutrientes necessários para seu total desenvolvimento. Entretanto, manter um suporte nutricional ininterrupto após o nascimento pode ser uma intervenção danosa ao sistema digestório (MOREIRA & ROCHA, 2004; CAMELO JR & MARTINEZ, 2005; MARTINS & KREBS, 2009; KUMAR & SUNDARAM, 2011).

Este estudo não evidenciou diferenças significativas entre as concentrações de AGE nos três grupos, concordando com o estudo de Martin *et al.*, (2006) que

apontam o déficit de AGE na população brasileira, com um hábito alimentar pautado em soja, milho e carne bovina e escassez de grãos ricos em AGE (Linhaça, aveia, óleo de canola) e peixes marinhos. Estima-se que o consumo médio de peixe de água salgada pela população brasileira seja em torno de 1,9 kg/ano (IBGE, 2010).

Esta inadequada oferta de AGE pode sugerir que mesmo a sobreposição lipídica pelos suplementos homólogos ao leite materno não promove melhora deste perfil. Não está sendo questionada neste momento a interferência do sistema de nutrição enteral de forma individualizada, pois todos os grupos de tratamento apresentaram comportamento equivalente em suas concentrações, mesmo antes de passarem pelos sistemas. Dessa forma, mesmo o incremento com óleo de peixe manteve os grupos de tratamento em equivalência quanto às suas concentrações de AGE.

Apesar do GC não utilizar suplemento e apresentar perfil de AGE semelhante aos grupos suplementados, a prática de suplementação nutricional permanece extremamente relevante para RNMBP, promovendo um melhor ganho de peso, comprimento e perímetro cefálico, diminuição do tempo de internação, principalmente em RNMBP de países em desenvolvimento (KUMAR & SUNDARAM, 2011).

O leite humano disponível em unidades neonatais é frequentemente suplementado com aditivos comerciais heterólogos ao leite humano, de origem bovina, apresentando diferença nutricional qualitativa e quantitativa, em especial aminoácidos e ácidos graxos, porém, a partir do momento em que estes bebês tão vulneráveis passaram a receber suplementação, mesmo que de origem bovina, houve um significativo decréscimo de mortalidade infantil neonatal, principalmente precoce (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005; 2012).

Tal fato justifica que os estudos de Thomaz *et al.*, (2012) e de Serafin (2015) tiveram como grupo controle o alimento comercial FM85[®] (Nestlé), e ambos os estudos mostraram sua eficácia de modo factível, garantindo o acréscimo de nutrientes, sem aumento da oferta de lactose ou de volume, uma vez que as autoras utilizaram suplemento evaporado e/ou liofilizado.

Houve uma diminuição nas concentrações de LA nos leites analisados quando acrescido de óleo de peixe. A utilização do teste t como pós-teste necessitou da aplicação da correção de Bonferroni para minimizar erros Tipo I, diminuindo o nível de significância do teste para 0,01, assim, mesmo com a diminuição das

concentrações de LA após a passagem dos leites pelo sistema, esta não mostrou diferença.

Ambos os ácidos graxos (ALA e LA) apresentam 18 carbonos, com suas insaturações no terceiro e sexto carbono, respectivamente, sendo necessariamente dependentes de uma dieta pela ausência de enzimas no organismo humano para sua conversão, reclassificando-os como estritamente essenciais (MARTIN *et al.*, 2006). O uso do óleo de peixe não aumentou as concentrações de LA, pelo contrário, os grupos sem óleo apresentaram valores superiores antes de passarem pelo sistema de alimentação, porém, sem serem observadas perdas após a passagem.

O óleo também não foi efetivo em relação a aumentar as concentrações de ALA, porém, a manutenção dos valores de LA e ALA nos alimentos propostos sem uso de óleo, após passar pelo sistema de nutrição enteral, garante que o RNPT os receba de forma adequada. Clinicamente, isto reflete em uma melhor orientação terapêutica com garantia do recebimento do nutriente ofertado.

Estes ácidos graxos (ALA e LA) não são intercambiáveis, porém utilizam as mesmas enzimas na produção dos demais ácidos graxos de suas respectivas séries. Desta forma, o equilíbrio entre estes AGE é preponderante para que as enzimas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ dessaturase atuem de forma correta (KUS & MANCINI-FILHO, 2010), entretanto, o consumo de álcool, tabaco, estresse, diabetes, alta ingestão de gorduras trans e envelhecimento parece promover a diminuição destas enzimas (MARTIN, *et al.*; 2006). A conversão de LA e ALA em seus derivados pode ser inibida também pela ingestão insuficiente de proteínas, energia, vitaminas B3, B6 e C, e minerais como zinco, cobre, magnésio (SILVA *et al.*, 2007).

Neste estudo, a concentração média de LA, considerando-se todos os grupos e momentos, foi de $12,97 \pm 1,74$ % para o total de ácidos graxos identificáveis, enquanto que para ALA esse valor foi de $0,81 \pm 0,10$ %. De qualquer forma, as concentrações de ALA estão semelhantes aos valores identificados em outros 10 estudos relatados por Costa e Sarabense (2010), identificando concentrações semelhantes com 0,78% em nutrízes argentinas e 0,88 % em espanholas, porém, nos demais estudos os valores foram superiores a 1,10 % chegando a 2,22 % em nutrízes brasileiras. Silva *et al* (2007) estabelecem que em mulheres ocidentais o LA varia entre 10 e 17 %, enquanto o ALA varia entre 0,8 e 1,4 % os ácidos graxos.

Mas não basta considerar um valor adequado separadamente, pois é a proporção entre LA e ALA que garante o equilíbrio metabólico. A preocupação sobre a elevada concentração de LA está relacionada ao seu acúmulo nos fosfolipídios das membranas celulares, podendo resultar, em longo prazo, na excessiva produção de eicosanóides, com consequentes demasiados processos inflamatórios. Há algumas divergências sobre a adequada equivalência de LA e ALA, sendo recomendada pelo Comitê de Especialistas da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura FAO/WHO uma variação entre 5:1 a 10:1 (LÓPEZ-TORRES *et al.*, 2007).

A análise realizado permitiu identificar uma proporção entre LA:ALA de 17:1. Essa discrepância interfere no metabolismo e está semelhante a população de países ocidentais com baixa ingestão de peixes, com proporção em torno de 10:1 e 20:1, na contramão de países como Japão (2:1 a 4:1) (MARTIN, *et al.*, 2006).

Concentrações dos ácidos graxos ALA não foram alteradas pelo uso de óleo de peixe, por serem muito baixas suas concentrações neste produto. De acordo com a tabela nutricional da embalagem do óleo de peixe utilizada, uma porção de 3,3 g do produto contém 1,2 g de gordura poliinsaturada, sendo 0,54 g de EPA e 0,36 g de DHA. Foram utilizados 0,037 g do óleo para cada 50 mL de leite reconstituído.

A alimentação materna balanceada é a única maneira viável de adequar as concentrações de LA e ALA no leite. Mas como a maior parte do leite utilizado é de banco de leite, essas concentrações dependem das dietas próprias desta população, no caso, pobres em peixes. O processo de manipulação do leite como congelamento, descongelamento e pasteurização são essenciais, mas infelizmente todos estas práticas pré-exposição, somadas a utilização do tubo de alimentação, afetam significativamente a concentração lipídica disponível para absorção na porção intestinal (RYYAN *et al.*, 2015)

Merey (2014) analisou as concentrações de AGE no leite materno e não identificou diferença entre o perfil lipídico de LA de lactantes suplementadas com óleo de linhaça, óleo de peixe ou o grupo controle. Em relação ao ALA, o grupo controle apresentou valores superiores ao grupo óleo de peixe, sendo que os leites de mães suplementadas com óleo de linhaça apresentaram as menores concentrações deste AGE, com a proporção de LA: ALA acima dos valores preconizados na literatura. Silva (2014) em estudo semelhante observou que as nutrízes suplementadas com farinha de linhaça apresentaram maiores

concentrações de ALA em relação ao grupo controle, garantindo a proporção recomendada pela FAO/WHO (TABELA 6).

TABELA 6 – Descrição das concentrações de ácido linoleico (LA) e α -linolênico (ALA) e sua proporção no leite materno em diferentes estudos com mulheres de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Estudos	AGE		Proporção
	LA	ALA	
Neste estudo	11,25±1,88	0,71±0,13	16:1
Merey (2014)			
Grupo Controle	37,10 ±3,25	2,97± 0,43	12:1
Grupo óleo de linhaça	25,90 ±5,19	0,62±0,12	39:1
Grupo Óleo de peixe	29,88 ±1,66	1,85± 0,23	16:1
Silva (2014)			
Grupo Controle	12.99±1.09	0.85±0.10	15:1
Grupo farinha de linhaça	11.19±1.35	1.32±0.22	9:1
Grupo Óleo de peixe	14.20±1.28	0.99±0.12	14:1

Valores expressos em porcentagem do total de ácidos graxos identificados. .Obs: Nos estudos de Merey (2014) e Silva (2014) os valores correspondem aos valores após as mães terem sido suplementadas. Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão.

Para preparo dos *pools* foi utilizado leite do banco de leite do mesmo hospital, em Campo Grande - Mato Grosso do Sul, onde os estudos de Merey (2014) e Silva (2014) foram desenvolvidos, portanto, com uma população economicamente e culturalmente semelhante. Nota-se que apenas as nutrizes suplementadas com a linhaça atingiram proporções que permitissem equilíbrio metabólico entre estes dois ácidos graxos, sendo os demais considerados inadequados. Esta população é residente da região centro-oeste do Brasil, com baixo consumo de pescados e dieta rica em soja e milho, contribuindo para aumento de LA.

Os ácidos graxos ARA, EPA e DHA serão metabolizados no organismo humano a partir dos ácidos graxos LA e ALA, essencialmente obtidos pela dieta. Mesmo com a imaturidade hepática presente nos RNPT, estima-se que alguma quantidade de ARA e DHA possa ser metabolizada até mesmo por prematuros, mas a presença de maiores concentrações destes AGE no leite materno nas primeiras semanas de vida do bebê sugere a necessidade de complementar estas concentrações em fórmulas (MARTIN, *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007; LÓPEZ-TORRES *et al.*, 2007).

Quanto ao ARA não houve efeito do momento de utilização do sistema de nutrição, assim como não teve modificação pelo acréscimo do óleo de peixe. As cápsulas não referem conter ARA, que pertence a família ω -6, e como seu precursor

é abundante nas dietas brasileiras, acredita-se não haver necessidade de suplementação com este ácido graxo.

O valor médio de ARA identificado foi de $0,34 \pm 0,30\%$ dentro dos ácidos graxos identificados. Este valor está abaixo dos $0,50\%$ sugerido por Lópes-Torres *et al.*, (2007), podendo comprometer a formação de eicosanoides, leucotrienos, prostaglandinas e tromboxanos, além de, comprometer a qualidade funcional da membrana fotorreceptora da retina e células cerebrais (MARTIN, *et al.*; 2006; KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

Apesar do ARA ser dependente do metabolismo de LA para sua adequada concentração no organismo e neste estudo terem sido identificadas altas concentrações de ácido linoleico foram encontrados baixos valores de ARA. Isto pode ser explicado pela maior disponibilidade de LA no organismo humano, este dispondo

de uma medida compensatória para aumentar a afinidade da enzima $\Delta 5$ dessaturase pela série ω -3, e promover um equilíbrio metabólico. Entretanto, esta população de mulheres lactantes corre riscos semelhantes aos identificados em outros estudos cujo estilo de vida inclui dietas ocidentais pobres em peixes marinhos, e esta desproporção de ácidos graxos ômega 6:3 não pode ser compensada (MARTIN *et al.*, 2006; COSTA & SABARENSE, 2010).

Logo após reconstituição dos suplementos não foi possível perceber visualmente separação do leite em fases, tornando-se um produto único, uma emulsão. O equilíbrio natural nas concentrações dos diversos componentes do leite facilita sua passagem como menor interferência do sistema de nutrição (CHEFTEL *et al.*, 2000; FENNEMA, 2010). Este padrão mais homogêneo garantiu a passagem dos cinco AGE analisados neste estudo nos leites sem acréscimo de óleo, garantindo a eficácia do sistema de nutrição utilizada em unidades de neonatologia, em relação a estes macronutrientes.

A concentração média de EPA sem acréscimo de óleo identificada neste estudo foi de $0,09 \pm 0,08\%$, compatível ao sugerido por Lópes-Torres *et al.*, (2007) onde sua concentração deve ser $<10\%$. Em especial, a manutenção das concentrações de EPA faz-se necessária por sua participação no metabolismo de leucotrienos, prostaciclina, tromboxanas e prostaglandinas, sendo importante sua presença na alimentação do prematuro. Sua incorporação ao alimento do prematuro se justifica pela taxa de conversão de ALA em EPA ser considerada baixa (5 %). O

DHA é produzido em uma aproximada taxa de conversão mais baixa ainda (0,5 %) a partir da elongação do EPA em ácido docosapentaenóico (22:5 ω -3) e sua consequente dessaturação, sendo o produto final do AGE da série ω -3 (KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

Há uma boa biodisponibilidade de DHA no leite materno, conforme tempo de lactação, com valores superiores às fórmulas infantis (SILVA *et al.*, 2007). As análises de DHA no leite materno da população estudada apontaram que antes do acréscimo do óleo de peixe a concentração média de DHA foi de $0,16 \pm 0,09$ % e após suplementação o valor médio foi de $0,21 \pm 0,17$ % dos ácidos graxos identificados pela cromatografia gasosa, ressaltando que não houve diferença entre esses momentos.

O mais preocupante é que tais valores estão inferiores às diversas recomendações internacionais de suplementação de leite humano (Associação Americana de Dieteticista e Nutricionistas do Canadá – mínimo de 0,2 %; European Food Safety Authority – mínimo de 0,3 %; Sociedade Internacional de Ácidos Graxos e Lipídeos – 0,35 %; Comitê de Especialistas da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura FAO/WHO – 0,35 %; British Nutrition Foundation-0,4 %) (KUS & MANCINI-FILHO, 2010).

Kus & Mancini-Filho (2010) ressaltam que a proporção média de EPA e DHA encontrada neste estudo nos grupos de tratamento antes do acréscimo de óleo foi de 1:1,5, em acordo com uma sugestão de proporção destes ácidos graxos no leite materno entre 1:2 e 2:1, apesar de pouco conhecida pelo escasso número de estudos sobre os efeitos benéficos desta proporção.

Apesar de não ter sido indicada pelo Ministério da Saúde no Brasil um teor mínimo de AA e DHA, o mesmo recomenda um percentual máximo de AA inferior a 0,6 % e de DHA de 0,35 %, com uma relação AA:DHA de 1,5-2:1. Neste estudo os valores respeitam estas diretrizes, tanto nas concentrações quanto na proporção, apesar de estar abaixo dos valores recomendados por instituições internacionais já descritas (BRASIL, 2014).

Prematuros necessitam receber suplementação até que atinjam 1.500 g e iniciem o aleitamento materno por sucção, de modo que, por vezes, o tempo necessário desta suplementação para atingir níveis plasmáticos desejáveis não seja alcançado (HEIMAN & SCHANLER, 2006; TURAN *et al.*, 2012). Não está bem estabelecido o motivo pelo qual nem todas as fórmulas comerciais não são

completas em relação aos AGE, apesar de alguns estudos apontarem o déficit de DHA e EPA (SILVA *et al.*, 2007; TURAN *et al.*, 2012). A atual tecnologia utilizada pela indústria alimentícia precisa descobrir um modo de incorporar esta gordura de tal forma que ela não se separe da parte aquosa do leite.

Este estudo apontou efeito do óleo de peixe com maior concentração de EPA e DHA nos leites com óleo em relação aos sem acréscimo de óleo. Este efeito era esperado, pois as cápsulas de óleo utilizadas apresentavam basicamente EPA e DHA, e não houve nenhum outro processo de manipulação depois de incorporado o óleo ao leite dos diferentes grupos, exceto sua introdução no sistema de nutrição enteral.

Todavia, houve efeito do momento de uso do sistema de nutrição enteral com significativa diminuição das concentrações de EPA e DHA, após o leite com óleo passar pelo sistema. Visualmente, foi possível observar a separação do óleo acrescentado ao leite e, apesar do conteúdo ter sido manualmente agitado antes de ser colocado no frasco, parece não ter havido uma emulsificação. Entretanto, os AGPICL naturalmente presentes no leite puro ou suplementado apresentaram um bom trânsito pelo sistema de nutrição, já que não houve diferença entre seus teores nos leites sem óleo.

As partículas de gordura presentes no leite se encontram em emulsão, sobre a forma de micelas. Ao introduzir o óleo ao leite é formada uma suspensão hidrófoba, sendo que quanto maior o tamanho das partículas, maior a velocidade de sedimentação ou separação das fases por decantação, desta forma, processos de homogeneização podem reduzir o tamanho das partículas com consequente dispersão, estabilizando a emulsão do óleo e da água do leite (CHEFTEL *et al.*, 2000; FENNEMA, 2010). Esses autores ressaltam que os fosfolipídeos presentes naturalmente nas membranas dos ácidos graxos do leite se misturam à interface, com uma de suas extremidades com afinidade aquosa, enquanto a outra apresenta afinidade lipídica, chamada de elevado balanço hidrófilo/lipófilo.

Seria interessante que tecnologias metodologias futuras incluíssem uma homogeneização mais efetiva do produto, visando promover emulsificação. Embora o uso de agentes espessantes hidrófilos, como a lecitina, podem aumentar a viscosidade da fase dispersante (ácidos graxos), estabilizando a emulsão (CHEFTEL *et al.*, 2000), na nutrição delicada do RNPT requer cuidados em relação às concentrações utilizadas, tanto pela imaturidade na digestibilidade de nutrientes

como pela necessidade de controle de osmolalidade do produto final, evitando enterocolite necrosante (PANCZUK *et al.*, 2016).

Vieira *et al.*, (2004) compararam o conteúdo energético do leite humano administrado a recém-nascidos de muito baixo peso ao nascimento e apontaram que o processamento do leite de banco diminui substantivamente o creme (analisado em crematócrito) e também do conteúdo energético. Para Heiman & Schanler (2006), há uma grande variabilidade de nutrientes dos leites utilizados na alimentação de RNPT, sendo que a gordura é o nutriente mais susceptível a variar. Os fatores para tal variação são inerentes ao próprios leite, que varia de uma nutriz para outra, assim como, conforme o período do dia de uma mesma nutriz, as circunstâncias de coleta, armazenamento e distribuição do leite.

Os referidos autores sugerem que os processos de congelamento e descongelamento provocam rompimento nas membranas dos glóbulos (micelas) de gordura, com conseqüente coalescência e maior aderência às paredes do sistema plástico de nutrição enteral. Esta aderência, em parte, se deve a atração entre as moléculas de gordura e os componentes plásticos do sistema, devido as afinidades químicas caracterizadas pela estrutura das olefinas.

Em geral, os materiais em nutrição enteral utilizados nos serviços de neonatologia no Brasil são semelhantes, de baixo custo, adquiridos por meio de licitações. Porém, sua qualidade e eficácia devem ser levadas em consideração pelos gestores de saúde, pois RNMBP apresentam maior fragilidade sistêmica com um alto risco de mortalidade, assim como para desenvolver atrasos no desenvolvimento motor e cognitivo destas crianças. De acordo com Vieira *et al.*, (2004), as técnicas utilizadas nestes procedimentos também interferem, podendo gerar perdas de até 34% de gorduras por um posicionamento horizontalizado da seringa, tempo prolongado de infusão e a não homogeneização do leite antes de sua administração.

Durante este experimento pode-se observar que mesmo após agitação, o leite volta a formar fases, onde a gordura naturalmente se desloca para a parte superior. Heiman e Schanler (2006) sugerem que o oferecimento do alimento seja por meio de uma seringa na vertical com sua ponta voltada para cima, permitindo que a gordura seja entregue primeiro, além da possibilidade de se arrastar algumas gorduras residuais pela porção aquosa do leite restante.

Mesmo sendo introduzidos apenas 20 mL de leite, o que corresponde ao volume máximo ofertado em seringa, se propôs a utilização do frasco plástico, visto que nas unidades de atendimento neonatal a partir deste volume passa-se a utilizar frascos de nutrição, com constante crescimento do volume ofertado, comprometendo o perfil de AGE disponibilizados ao final da nutrição.

Uma vez que a gordura exógena não se mistura com o leite humano, Heiman e Schanler (2006) sugerem sua administração em doses fracionadas diretamente no tubo de nutrição enteral antes da oferta do leite. Esta prática é rotina nos serviços de neonatologia para administração de TCM, mas o volume de óleo de peixe utilizado neste estudo foi de 0,03 mL para uma alíquota de 20 mL de leite ofertado, sendo necessário o uso de uma micropipeta, material específico de laboratório, não utilizado na prática clínica e seu uso seria contrário à rotina dos serviços de neonatologia.

Para Kus e Mancini-Filho (2010), a ingestão de óleo de peixe é capaz de aumentar os níveis plasmáticos de EPA e DHA, demorando em torno de um mês para atingir níveis estacionários. Na alimentação do RNPT, a questão é como fornecer esta taxa lipídica, pois a maioria das fórmulas infantis, tanto para termo como para prematuros, são pobres em EPA e DHA. O acréscimo do óleo parecia ser uma medida simples, de fácil manuseio e baixo custo, mas os resultados apontaram uma significativa perda destes nutrientes quando passados pelo sistema de nutrição enteral, devido a afinidade química com o material do equipo, inviabilizando esta prática. Portanto, o desafio clínico está em mimetizar o processo metabólico materno, uma vez que a suplementação da mãe torna-se infinitamente mais eficaz que as adequações dietéticas ao neonato.

Merey (2014) suplementou 15 gestantes do município de Campo Grande - Mato Grosso do Sul, com óleo de peixe e óleo de linhaça e as comparou a um grupo controle. A autora observou aumento nas concentrações de DHA em amostras de leite do grupo linhaça superior aos do grupo controle, porém com semelhança ao grupo com óleo de peixe. A diminuição das concentrações de EPA foi considerada benéfica por desencadear menor exacerbação da resposta imunitária. Foi possível concluir que suplementar gestantes e posteriormente nutrizes com suplementos ricos em AGE série ω -3 como o óleo de linhaça pode ser uma alternativa economicamente viável, visto que este é mais barato que o óleo de peixe, facilitando o acesso à maioria da população.

Silva (2014) suplementou 60 nutrizes do município de Campo - Mato Grosso do Sul com farinha de linhaça e óleo de peixe, comparando-as a um grupo controle, demonstrando maiores valores de EPA e DHA no leite materno das participantes que usaram óleo de peixe. O estudo reforça a ideia de que adequar concentrações de AGE na lactante melhora o perfil destes lipídios no leite materno, garantindo concentrações fisiológicas adequadas. Entretanto, os prematuros não conseguem receber alimentação exclusiva de suas mães, utilizando leite de banco, cujas doadoras apresentam diferentes perfis nutricionais e em diferentes momentos de lactação (MARTINS & KREBS, 2009).

As concentrações dos ácidos graxos ARA, EPA e DHA identificados no presente estudo, no estudo de Merey (2014) e de Silva (2014) estão detalhadas na tabela 7.

A manutenção de DHA dentro de limites desejáveis é capaz de promover uma adequada formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, sendo encontradas grandes concentrações nas membranas celulares destes órgãos (MARTIN, *et, al.*; 2006).

Contudo, não basta suprir a quantidade de DHA e EPA sem levar em consideração os demais nutrientes. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina a obrigatoriedade de se manter a quantidade de vitamina E em fórmulas infantis dentro de valores estabelecidos em suas Resoluções (RDC n. 43 e 44 de 2011), porém esta deve ser calculada de acordo com seu perfil de ácidos graxos (BRASIL, 2014).

TABELA 7 – Descrição das concentrações de ácido aracdônico (ARA), eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA) no leite materno em diferentes estudos com mulheres de Campo Grande - Mato Grosso do Sul.

Estudos	AGE ^(a)		
	ARA	EPA	DHA
Presente estudo	0,34±0,08	0,09±0,08	0,15±0,08
Merey (2014)			
Grupo Controle	2,96±0,62	0,10±0,04	0,35±0,11
Grupo óleo de linhaça	3,06±1,17	0,00±0,00	1,78±0,53
Grupo Óleo de peixe	8,95±1,91	0,13±0,04	0,80±0,20
Silva (2014)			
Grupo Controle	0,44±0,06	0,01±0,00	0,08±0,01
Grupo farinha de linhaça	0,49±0,08	0,04±0,02	0,09±0,02
Grupo Óleo de peixe	0,82±0,23	0,08±0,01	0,17±0,03

^(a)Valores apresentados em % de ácidos graxos identificados expressos em média±desvio padrão..Obs: Nos estudos de Merey (2014) e Silva (2014) os valores correspondem aos valores após a mães terem sido suplementadas

No presente estudo não foram analisados os efeitos da sonda gástrica, o que pode ser uma barreira à disponibilidade final dos nutrientes presentes no leite.

5 CONCLUSÕES

As concentrações dos AGE não foram diferentes entre os leites analisados. O acréscimo de óleo de peixe nos leites não aumentou as concentrações de ALA, LA e ARA, apenas de EPA e DHA, porém após o uso do sistema de nutrição enteral diminuíram as concentrações de ALA, EPA e DHA levando a valores semelhantes ao leite sem óleo, ou seja, não sendo eficaz o uso de óleo de peixe com o sistema de nutrição enteral utilizado.

REFERÊNCIA

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT, NBR ISO nº. 8536 – 4:2008 – Equipamento de infusão para uso medico – Parte 4: Equipos de infusão para uso individual, alimentação por gravidade, :2008.AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Breastfeeding and the Use of Human Milk. **Pediatrics**, v.129, n.3. 2012.

_____. Breastfeeding and the Use of Human Milk. **Pediatrics**, v.115, n.2, p:496 – 506. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos/** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2008. 160 p

_____. Ministério da saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Ações Pragmáticas e Estratégicas. **Atenção à saúde do recém-nascido: guia para profissionais de saúde**, v.4 – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência de Produtos Especiais Gerência Geral de Alimentos. **Perguntas e Respostas sobre Fórmulas Infantis**. – Brasília: Anvisa, 2014. 21p

CAMELO JR, J.S.; MARTINEZ, F.E. Dilemas nutricionais no pré-termo extremo e repercussões na infância, adolescência e vida adulta. **J Pediatr**, v.81, n.1(supl), p:S34-S42. 2005.

CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H.; BESANÇON, P. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos**. v II., Zaragoza: Acribia, 2000.

COSTA, A.G.V.; SARABENSE, C.M. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. **Rev Nutr**, Campinas, v.23, n.3, p:445-457. 2010.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**, 3ed. Zaragoza: Acribia, 2010.

FLEITH, M.; CLANDININ, M.T. Dietary PUFA for preterm and term infants: review of clinical studies. **Crit Rev Food Sci Nutr**.v.45, n.3, p:205-29. 2005.

GRANCE, T.R.S; SERAFIN, P.O, THOMAZ, D.M.C, PALHARES, D.B. Aditivo homólogo para a alimentação do recém-nascido pré-termo de muito baixo peso. **Rev. Paul. Pediatr.**, v.33, n.1. 2015.

HEIMAN, H; SCHANLER, R.J. Benefits of maternal and donor human milk for premature infants. **Early Human Development**, v.82, p:781–787. 2006.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares – FOP 2008-2009**. Aquisição alimentar domiciliar per capita Brasil e Grandes Regiões. 2010. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/pof20082009_aquisicao.pdf. Acesso em 18-02-16.

KUMAR P.; SUNDARAM V. **Protein supplementation of human milk for promoting growth in preterm infants**: RHL commentary (last revised: 1 July 2011).The WHO Reproductive Health Library, Geneva: World Health Organization. Disponível em: http://apps.who.int/rhl/newborn/cd000433_kumarp_com/en/. Acesso em:09/02/16.

KUS, M.M.M.; MANCINI-FILHO, J. Ácidos Graxos. ILSI Brasil -International. Life Sciences Institute do Brasil. **Série de publicações ILSI Brasil**: Funções plenamente reconhecidas de nutrientes; v.17. São Paulo, 2010.

LEPAGE, G; ROY, C.C. Direct transesterification of all classes of lipids in a one- step reaction. **Journal of Lipid Research**, v.27, p.114–120. 1986.

LÓPEZ-TORRES, E.; DOBLAS, P.A.; GUERRERO DEL VALLE, V.E.; LINARES, M.C. Evaluación clínica de los ácidos grasos omega-3 en la gestación, la lactancia y el desarrollo infantil. **Clin Invest Gin Obst**. v.34, n.3, p:100-5. 2007.

MARTINS, AC; ALMEIDA, VV; RUIZ, MR; VISENTAINER, JEL; MATSHUSHITA, M; SOUZA, NE; VISENTAINER, JV. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rer. Nutr**, v.19, n.6, p:761-770. 2006.

MARTINS, E.C.; KREBS, V.L.J. Effects of the use of fortified raw maternal milk on very low birth weight infants. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v.85, n.2, p:157-162. 2009.

MALCOLM C.A.; MCCULLOCH D.L.; MONTGOMERY, C.; SHEPHERD, A; WEAVER, L.T. Maternal docosahexaenoic acid supplementa-tion during pregnancy and visual evoked potential develop-ment in term infants: a double blind, prospective, randomised trial. **Arch Dis Child Fetal Neonatal**, v.88, p: 383-90. 2003.

MEREY, L.S.F. **Repercussões dos ácidos graxos poli-insaturados em gestantes e recém-nascidos suplementados com ômega-3 e óleo de linhaça dourada.** 132p. *Doutorado). Programa de Pós graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro–Oeste - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2014.

MOREIRA, M.E.L.; ROCHA, A.D. Nutrição do recém-nascido prematuro. In: MOREIRA, M.E.L.; LOPES, J;M;A; CARALHO, M., orgs. **O recém-nascido de alto risco: teoria e prática do cuidar** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2004. 564 p. Disponível em: <http://static.scielo.org/scielobooks/wcgvdpdf/moreira-9788575412374.pdf>. Acesso em: 21/01/2014.

RAYYAN, M; ROMMEL , N; ALLEGAERT, K. The Fate of Fat: Pre-Exposure Fat Losses during Nasogastric Tube Feeding in Preterm Newborns. **Nutrients**, v.7,p: 6213-6223. 2015.

PANCZUK, J.K.; UNGER, S.; FRANCIS, J.; BANDO, N.; KISS, A.; O’CONNOR, D.L. Introduction of Bovine-Based Nutrient Fortifier and Gastrointestinal Inflammation in Very Low Birth Weight Infants as Measured by Fecal Calprotectin. **Breastfeeding Medicine**, v.11, n.1. 2016.

PALHARES, D.B; THOMAZ, D.M; TAVARES, L.V.M; SERAFIN, P.O. Effect of diet on serum amino acid profile in very-low-birthweight neonates. In: BERHARDT, L.V. **Advances in medicine**. v.4. Nova Science Publishers, 2012.

SANTOS, M.M., MARTINEZ, F.E., SIEBER, V.M., PINHATA, M.M.M., FELIN, M.L.S. Acceptability and growth of VLBW – Infants Fed with Own Mother’s Milk Enriched with a Natural or Commercial Human Milk Fortifier. **Pediatric Research**, v.41, p: 231-231. 1997

SILVA, D.R.B., MIRANDA JÚNIOR, P.F.; SOARES, E.A. A importância dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa na gestação. **Rev. Bras. Saúde. Mater. infant**, .n.7, v.2, p:123-133. 2007.

SERAFIN, P.O. Crescimento de recém-nascidos pré-termo de muito-baixo- peso alimentados com aditivo homólogo integral sem lactose liofilizado. (Doutorado) Programa de Pós Graduação de Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS. 2015.

SILVA, L. **Concentração de ácidos graxos poli-insaturados no leite de mulheres doadoras antes e após suplementação com linhaça ou ômega-3.** (Mestrado) Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro–Oeste - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2014.

THOMAZ, D M.C; SERAFIN, P.O.; PALHARES, D B. MELNIKOV, P; VENHOFEN, L; VARGAS, M O.F. Comparação entre suplementos homólogos do leite humano e um suplemento comercial para recém-nascidos de muito baixo peso. **J.Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.88, n.2, p:119 – 124, 2012.

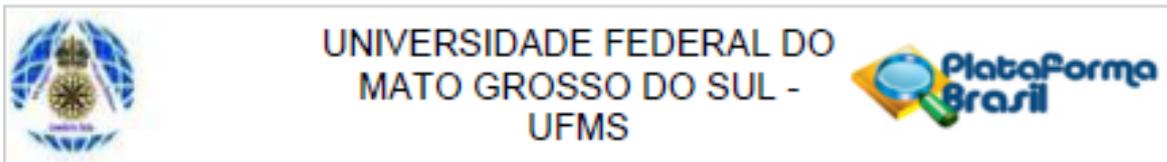
TORRES, A.G., TRUGO, N.M. Evidence of inadequate docosahexaenoic acid satatus in Brazilian pregnant and lactating women. **Revi Saúde Púb**, v.43, n.2, p:359-68. 2009.

UBUK, N.S.; AKOH, C.C. Production of Human Milk Fat Analogue Containing Docosahexaenoic and Arachidonic Acids. **J Agric Food Chem**, v.60, 4402–4407, 2012.

VALENZUELA, A.B., NIETO, SK. Ácidos grasosomega-6 y omega-3 em la nutrición perinatal: su importância em el desarrollo del sistema nervioso y visual. **Rev Chil Pediatr**, n.74, p:149-57. 2003.

VIEIRA, A.A.; MOREIRA, M.E.L; ROCHA, A.D. PIMENTA, H.L; LUCENA, S.L. Análise do conteúdo energético de leite humano administrado a recém-nascidos de muito baixo peso. **J Pediatr**, v.80, n.6, p:490-4, 2004.

ANEXO 1



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Suplemento homólogo do leite humano para enriquecimento de leite humano de banco de leite associado ao óleo omega-3 líquido na alimentação do recém-nascido de muito baixo peso

Pesquisador: karla de toledo candido muller

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 18070513.6.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Patrocinador Principal: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 545.618

Data da Relatoria: 27/02/2014

Apresentação do Projeto:

Estudo com ensaio clínico randomizado com uma amostra não probabilística de 45 recém-nascidos de muito baixo peso na UTI neonatal do HU com objetivo de aditivar o omega 3 na alimentação do recém nascido pela sonda nasogástrica para acompanhar o crescimento durante um período aproximado de 20 dias. Será realizado um projeto piloto com 5 RNMBP

com análise da osmolaridade do produto e a tolerância gastrointestinal.

Os RNMBP serão alocados aleatoriamente por sorteio simples em dois grupos:

Grupos LH+FM85: Receberá LH enriquecido com suplemento comercial heterólogo a base de leite de vaca. O módulo alimentar em pó FM85 comercializado pela Nestlé constitui-se de um composto de proteínas hidrolisadas hipoalergênicas, maltodextrina e minerais, específico para RNMBP, destinado a suplementar o leite humano (SERAFIN, 2010).

Grupo LH+SH+omega 3: Receberá LH enriquecido de suplemento homólogo de leite humano e 0,3ml óleo ômega-3 líquido, diretamente na sonda nasogástrica do bebê.

Crêterios de inclusão: recém nascidos de muito baixo peso (RNMBP), estáveis clinicamente, independente do uso de ventilação mecânica ou respiração espontânea, com peso 1250g e idade gestacional de 32 semanas, alimentados exclusivamente via enteral, internados na Unidade de Terapia Intensiva - NHU - UFMS

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** bioetica@propp.ufms.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



Continuação do Parecer: 545.618

Não serão incluídos RNMBP instáveis clinicamente, com quadro infeccioso instalado, que apresentem má formação congênita ou de etnia indígena. Serão excluídos os que apresentarem piora clínica, que iniciarem uso de antibioticoterapia, sugarem ao seio ou que forem a óbito durante o estudo.

Objetivo da Pesquisa:

Preparar um suplemento para leite humano a partir de leite humano de banco de leite por extração da lactose, liofilização e associar com óleo ômega-3 líquido para suplementar a alimentação do recém-nascido pré-termo de muito baixo peso.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos estão relacionados com as reações adversas com a utilização do ômega 3 em recém nascidos de muito baixo peso internados em UTI. Os riscos do estudo serão monitorados com avaliação da tolerância gastrointestinal, verificação dos sintomas clínicos relacionados à alimentação como resíduo gástrico (volume maior que 20% do volume ofertado), vômitos e características das fezes, em caso dos sinais descritos, o alimento será suspenso.

Os benefícios esperados é o incremento do crescimento (peso e altura) e do desenvolvimento cerebral (perímetro cefálico).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Houve atendimento das solicitações do parecer consubstanciado e retificação no método de administração do ômega 3 (modificação de suplementação para aditivo homólogo associado com óleo de omega 3 na alimentação do recém-nascido de muito baixo peso).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Projeto apresentou as autorizações pendentes dos laboratórios que irão fazer a análise do leite e da participação do Banco de Leite.

Recomendações:

Idem abaixo

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Projeto atendeu as solicitações do parecer e encontra-se aprovado.

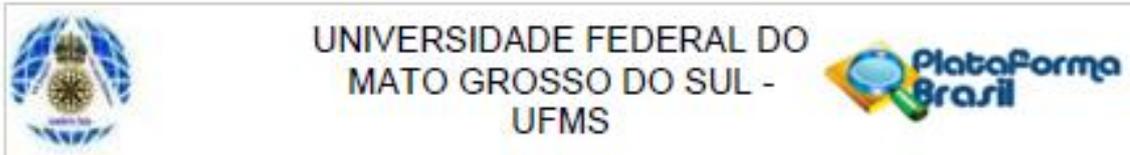
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
 Bairro: Caixa Postal 549 CEP: 79.070-110
 UF: MS Município: CAMPO GRANDE
 Telefone: (67)3345-7187 Fax: (67)3345-7187 E-mail: bioetica@propp.ufms.br



Continuação do Protocolo: 545.618

Considerações Finais a critério do CEP:

CAMPO GRANDE, 28 de Fevereiro de 2014

**Assinador por:
Edilson dos Reis
(Coordenador)**