



ARTIGO DE REVISÃO

Análise crítica dos aspectos fisiopatológicos, diagnósticos e terapêuticos da doença metabólica óssea em recém-nascidos de muito baixo peso

Critical analysis of pathophysiological, diagnostic and therapeutic aspects of metabolic bone disease in very low birth weight infants

Monique Catache¹, Cléa R. Leone²

Resumo

Objetivo: realizar uma revisão sistemática sobre a fisiopatologia, o diagnóstico e a abordagem da doença metabólica óssea em recém-nascidos de muito baixo peso.

Métodos: revisão bibliográfica utilizando o banco de dados Medline, abrangendo estudos dos últimos vinte anos.

Resultados: o aumento da sobrevivência dos recém-nascidos de muito baixo peso foi acompanhado de uma elevação da incidência da doença metabólica óssea. Trata-se de uma alteração no processo de mineralização óssea no período neonatal, envolvendo baixos estoques minerais ao nascimento, deficiência da oferta mineral no período neonatal e alterações da regulação desse processo, que podem comprometer o crescimento a longo prazo desses recém-nascidos. O diagnóstico baseia-se na associação de fatores de risco, alterações bioquímicas e radiológicas. A intervenção precoce no período neonatal evita a instalação de sua forma mais grave, diminuindo o risco das suas complicações nessa fase, bem como no crescimento dentro do primeiro ano de vida.

Conclusão: o diagnóstico precoce da doença metabólica óssea permite intervenção precoce, prevenindo as complicações decorrentes dessa alteração de mineralização.

J Pediatr (Rio J) 2001; 77 (Supl.1): S53-S62: recém-nascido de muito baixo peso, doença metabólica óssea, deficiência de fósforo, deficiência de cálcio.

Introdução

Os relatos de osteopenia da prematuridade surgem na literatura, a partir do estudo de Ylppo et al.¹, que descreveram sua presença em recém-nascidos de baixo peso. Nessa ocasião, a deficiência de vitamina D foi considerada um

Abstract

Objective: to perform a systematic review on the pathophysiology, diagnosis and approach of metabolic bone disease in very low birth weight infants.

Sources: literature review of articles published in Medline within the last twenty years.

Summary of the findings: the higher survival of very low birth weight infants was concurrent with the increased incidence of metabolic bone disease. The process of bone mineral acquisition suffers some alterations during the neonatal period, including low bone mineral content at birth, insufficient mineral supply in the neonatal period, and regulatory disorders, which may compromise growth and development on the long run. The diagnosis is based on the association of risk factors, and biochemical and radiological alterations. The early intervention in the neonatal period prevents the development of severe metabolic bone disease, reducing complications during the first year of life.

Conclusions: the early diagnosis of metabolic bone disease allows for early intervention, thus preventing complications that may originate from the alterations in bone mineral acquisition.

J Pediatr (Rio J) 2001; 77 (Supl.1): S53-S62: very-low-birth-weight infants, metabolic bone disease, phosphorus deficiency, calcium deficiency.

fator etiológico importante, o que motivou sua utilização como suplemento nutricional, levando a uma redução de sua incidência na década seguinte.

Após esse período, poucos estudos abordaram a presença de osteopenia da prematuridade até o ano de 1943, quando Benjamin et al.², realizando balanços metabólicos em recém-nascidos pré-termo (RNPT), concluíram que o leite materno, utilizado como oferta nutricional única, era insuficiente em relação à oferta mineral, favorecendo a

1. Mestre em Pediatria pela Fac. de Medicina da USP. Médica Assistente.

2. Professora Livre-docente em Pediatria pela Fac. de Medicina da USP. Médica Chefe.

Berçário Anexo à Maternidade do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da FMUSP.

ocorrência de alterações de mineralização óssea. Reforçando esses achados, em 1946, Von Sidow et al.³ descreveram o aparecimento de osteopenia da prematuridade em recém-nascidos (RN) em aleitamento materno exclusivo sem suplementação de fósforo (P).

A partir da década de 60, os estudos desenvolvidos começaram a enfatizar a necessidade de suplementação mineral, principalmente de P, para garantir uma adequada velocidade de mineralização óssea, semelhante à intra-uterina, nas primeiras semanas de vida, em recém-nascidos pré-termo (RNPT).

Shaw et al.⁴ descreveram em suas investigações uma série de necessidades nutricionais mínimas a serem alcançadas pelos recém-nascidos de muito baixo peso (RN-MBP), para que fosse atingida uma velocidade de crescimento semelhante à intra-uterina. Ao mesmo tempo, outros autores reforçaram a importância do aleitamento materno como fonte nutricional para os RNPT, enfatizando a utilização do leite materno. Já em 1978, Forbes et al.⁵ questionaram se as quantidades de cálcio e fósforo presentes no leite materno eram suficientes para alcançar uma velocidade de mineralização óssea semelhante à intra-uterina nesse grupo de RN.

Sendo o cálcio (Ca) e o fósforo (P) os íons mais abundantes do organismo, com distribuição predominantemente óssea, sua homeostase é fundamental para propiciar um meio ambiente favorável ao processo de mineralização. Uma relação Ca:P adequada, a nível ósseo, favorece o processo de formação de hidroxiapatita e, conseqüentemente, uma mineralização satisfatória. Assim, as ofertas de Ca e P recebidas, tanto na vida intra-uterina, quanto no período neonatal, têm influência importante na homeostase desse processo, além do efeito de vários hormônios, como o hormônio da paratireóide (PTH), a 1,25 diidroxivitamina D [1,25(OH)₂D], a calcitonina, a proteína relacionada ao hormônio da paratireóide (PrPTH) e outros hormônios.

Durante o terceiro trimestre da gestação, ocorre a fase de maior incorporação mineral da vida intra-uterina, alcançando o pico máximo com 34 semanas. Portanto, a oferta mineral de Ca e P recebida durante o período neonatal, em RNPT, exerce influência fundamental nesse processo, uma vez que esses RN foram privados da fase de maior incorporação mineral no período gestacional.

Inicialmente, as alterações de mineralização observadas nos RN-MBP foram denominadas de osteopenia da prematuridade. Este termo foi utilizado procurando caracterizar a situação na qual se observava um quadro de hipomineralização óssea, durante a evolução desses RN no período neonatal. Em outros estudos, foi denominada de raquitismo da prematuridade, pelos achados radiológicos semelhantes à deficiência de vitamina D. Em 1985, foi preconizada a utilização do termo doença metabólica óssea (DMO), que abrange situações que comportam desde a leve hipomineralização óssea, até a presença de alterações radiológicas de raquitismo com fraturas espontâneas, incluindo, assim, as duas alterações descritas anteriormente⁶.

Além disso, o termo raquitismo da prematuridade pode levar à interpretação errônea de que se trate de um quadro de deficiência de vitamina D, que não está envolvida na fisiopatologia da DMO.

A maior sobrevida dos RNPT levou a um aumento na incidência da DMO, despertando um interesse crescente na elucidação de sua fisiopatologia, bem como na definição de um esquema de prevenção e tratamento adequados a esse distúrbio metabólico. Além disso, maior importância tem sido dispensada aos fatores que governam a aquisição mineral óssea, em função do crescimento normal, principalmente para elevar o pico de massa óssea, como estratégia para reduzir fraturas na vida adulta⁷.

O grande desafio no manuseio da DMO é a ausência de alterações bioquímicas e/ou radiológicas bem definidas, que apareçam precocemente, como indicadores da presença de deficiência mineral. Vários estudos têm procurado definir dados laboratoriais como indicativos de diagnóstico de deficiência de Ca e P, mas nenhum se mostrou eficaz na sua detecção. Assim, a definição de parâmetros que estabeleçam o diagnóstico precoce de DMO se faz necessária, permitindo a detecção e intervenção precoces, bem como prevenindo o desenvolvimento de quadros graves, que podem comprometer o crescimento de RNPT a longo prazo.

Metabolismo mineral intra-uterino

O cálcio é o cátion mais abundante do organismo. 98% do Ca corpóreo encontra-se nos ossos, constituindo um de seus principais componentes inorgânicos⁸⁻¹¹.

O fósforo constitui o segundo íon mais abundante do organismo. Sua distribuição é preferencialmente óssea, 80% encontrando-se no esqueleto e 9% no músculo esquelético. O restante se distribui em lípidos de membrana celular, compostos de alta energia (adenosina trifosfato-ATP), proteínas intracelulares de tradução de sinal, ácido ribonucléico (RNA) e ácido desoxirribonucléico (DNA)⁸⁻¹¹.

Em qualquer fase do crescimento, a aquisição mineral óssea é dependente de uma adequada oferta mineral de vitamina D, além de um perfeito controle hormonal, que favoreça a mineralização e limite a mobilização óssea, promovendo um aumento do conteúdo mineral ósseo^{7,12}.

Durante o período intra-uterino, o Ca é transportado ativamente, contra gradiente de concentração, na direção materno-fetal, em nível placentário, sendo os níveis de cordão umbilical mais elevados do que os maternos⁷.

Os níveis séricos maternos de P tendem a diminuir durante a gestação, em função das necessidades fetais elevadas¹³. A concentração de P no feto, no terceiro trimestre da gestação, é maior do que na mãe, sendo a transferência placentária um processo ativo contra gradiente de concentração, utilizando como fonte de energia o gradiente de sódio (Na), com transporte acoplado de P.

O acréscimo mineral intra-uterino ocorre a partir de 24 semanas de idade gestacional até o final da gestação, na

presença de uma relação Ca:P constante, sendo considerada ideal a de 2:1 em nível ósseo e de 1,7:1 no conteúdo corpóreo. O pico máximo da incorporação mineral detecta-se entre 34 e 36 semanas de gestação, observando-se, nessa fase, uma incorporação de Ca em torno de 100-120 mg/kg/dia e de P de 60-75 mg/kg/dia^{9,10,14,15}.

Durante a gestação, ocorre uma adaptação do metabolismo materno, favorecendo o aumento da absorção intestinal de Ca e da reabsorção óssea, procurando corresponder às necessidades fetais⁷.

Essas ações são alcançadas pelo aumento dos níveis circulantes de 1,25(OH)₂D, que favorece a absorção e mobilização óssea. As alterações descritas são independentes dos estoques maternos e de suplementação de vitamina D.

Vários fatores hormonais favorecem o processo de mineralização intra-uterina: a proteína relacionada ao hormônio da paratireóide, que desempenha papel importante na manutenção do gradiente de Ca transplacentário; a produção placentária de 1,25(OH)₂D, que estaria envolvida na regulação da produção de proteínas carreadoras de Ca; baixas concentrações de PTH, que limitam a mobilização mineral óssea; a presença de concentrações elevadas de calcitonina no período fetal, fase na qual parece desempenhar seu papel fisiológico mais importante, favorecendo a deposição mineral; liberação de fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF-I), que estimulam o crescimento ósseo e aumentam a mineralização; altos níveis de estrogênio circulantes no sangue materno, que favorecem a mineralização⁷. O resultado da associação desses fatores é o aumento da formação óssea e a diminuição da reabsorção, o que favorece rápido ganho de conteúdo mineral durante o terceiro trimestre de gestação, ocorrendo 80% da mineralização óssea neste período^{7,14-18}.

Regulação do metabolismo mineral

Vários hormônios estão envolvidos na regulação do metabolismo mineral.

A vitamina D, através da formação dos seus compostos ativos, atua na manutenção dos níveis séricos de Ca, estimulando sua absorção intestinal pela ativação de enzimas locais (Ca/Mg ATPase e Ca/Na ATPase); promovendo a mobilização óssea; aumentando a reabsorção renal de Ca em ação conjunta com o PTH. O composto ativo da vitamina D (1,25(OH)₂D) leva ao aumento da absorção intestinal de P por processo ativo e por favorecer o seu processo de captação. Além disso, em nível ósseo, estimula a formação de proteínas da matriz, favorecendo o processo de mineralização^{8-10,12}.

O hormônio da paratireóide, produzido na glândula paratireóide, tem sua secreção inversamente relacionada às concentrações de Ca e Mg sérico⁹. O PTH aumenta a atividade e o número de osteoclastos, através da liberação de fatores de osteoblastos; intensifica a reabsorção tubular de Ca e diminui a reabsorção de P; eleva a atividade da

25(OH)D-1a hidroxilase, levando à formação da 1,25(OH)₂D; todas essas ações objetivam restaurar os valores da calcemia^{7,9,12}.

Durante a vida fetal, provavelmente a síntese e a secreção do PTH estão suprimidas pelas altas concentrações de Ca sérico existente nesse período^{7,19}.

A proteína relacionada ao hormônio da paratireóide é uma proteína envolvida no metabolismo mineral, não estando definidas quais suas funções específicas na homeostase mineral. O Pr-PTH é encontrado na placenta e nos tecidos fetais, por volta de 8 a 12 semanas de gestação, sugerindo uma ação importante no processo de mineralização óssea^{8,9}. Exerce funções semelhantes ao PTH, tanto na absorção óssea quanto na mineralização, excreção renal de P, reabsorção de Ca e na produção de calcitriol.

A calcitonina consiste num peptídeo produzido nas células parafoliculares (células C) da tireóide. Atua em um receptor ligado à proteína G, inibindo a ação absorvente de osteoclastos induzida pelo PTH e a maturação de células precursoras em osteoclastos maduros, diminuindo a mobilização de Ca e P ósseo⁷.

Sua ação renal leva à diminuição da reabsorção tubular de Ca, Mg, P, Na, aumentando a depuração de água livre. Provavelmente, sua bioatividade module a ação do PTH nos órgãos-alvo⁹.

Durante a vida fetal, observa-se um aumento dos níveis de calcitonina, que bloqueia os efeitos do PTH e Pr-PTH em osteoclastos, com níveis mais elevados do que na vida adulta, sugerindo que seu papel fisiológico mais importante seja na mineralização intra-uterina^{7,12}.

Metabolismo mineral no período neonatal

As concentrações séricas de Ca observadas no período neonatal são de 3 mmol/l nas dosagens de cordão umbilical. Esses níveis são maiores do que os maternos, apresentando uma redução após o nascimento, até atingir um nadir nas primeiras 48 horas de vida. Após esse período, elevam-se, para se manter em níveis mais altos do que os da vida adulta durante toda a infância, para promover um balanço positivo de Ca, com o objetivo de alcançar um desenvolvimento e crescimento esquelético normais²⁰.

A absorção intestinal é o fator determinante do suprimento mineral. O Ca é absorvido no duodeno por dois processos: ativo, com absorção saturável, dependente de níveis adequados de 1,25(OH)₂D; e passivo, dependente do gradiente de concentração entre o lúmen intestinal e a concentração sérica^{21,22}.

Sua absorção varia de 30 a 65%, sendo próxima a 65% quando é administrado leite materno e permanecendo em torno de 40%, na administração de fórmulas especiais para prematuros^{10,17}. Essa absorção é influenciada pela interação proteína-mineral, biodisponibilidade dos sais utilizados na dieta, quantidade absoluta de Ca da dieta, relação Ca:P do leite utilizado, presença de carboidratos, que favorecem a sua absorção, e sofre influência marcante da

ação da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, aumentando sua absorção de 35 para 68%¹⁰.

O estudo desenvolvido por Rowe et al.²³ mostrou uma taxa de absorção de Ca em torno de 74%, com uma taxa de retenção de aproximadamente 70%. Assim, é importante a avaliação dos sais utilizados na dieta, uma vez que sua insolubilidade leva à diminuição da retenção, com comprometimento do processo de mineralização^{7,10,17}.

Em nível renal, o Ca no filtrado glomerular corresponde a 60% da sua concentração plasmática. Ocorre reabsorção principalmente no túbulo proximal (50%), correspondendo a excreção renal a apenas 1-2% do Ca filtrado^{10,24}.

A concentração sérica de fósforo no cordão umbilical é de 1,8 a 2,3 mmol/l. Existe uma elevação nas primeiras 48 horas, independente da absorção intestinal, provavelmente influenciada pela baixa excreção renal desse íon no período neonatal. Os níveis séricos se mantêm elevados durante toda a infância, sugerindo correlação com a taxa de crescimento esquelético. Os valores considerados normais são de $2,3 \pm 0,2$ mmol/l⁹.

A absorção do P acontece principalmente no duodeno e no jejuno. Ocorre por difusão simples e facilitada (80-95%), dependente da concentração intestinal oferecida na dieta e por transporte ativo com o sódio, dependente da ação da $1,25$ vitamina D, sendo o primeiro mecanismo o mais importante determinante da sua absorção^{10,25}.

Sua absorção pode alcançar até 90%, como na administração do leite materno. A absorção de P é considerada ótima, exceto no leite de soja, onde a presença de fitatos compromete sua absorção, por formar complexos com o P^{8,17,21,22}. As taxas de absorção e retenção para o P, encontradas no trabalho de Rowe et al.²³, foram de 76 e 74%, respectivamente.

Sua regulação é feita basicamente pelo rim, podendo levar a grande reabsorção tubular, com níveis urinários praticamente indetectáveis de P^{7,24,25}. Em nível renal, 80% do P filtrado é reabsorvido no túbulo proximal, 10% no túbulo distal e 10% é excretado na urina.

No período neonatal, devido à importância da dieta como fonte de Ca e P, na programação da oferta nutricional de RN de risco para DMO, as quantidades presentes nos diferentes tipos de leite, bem como as prováveis taxas de absorção de Ca e P deverão ser consideradas.

Regulação da homeostase mineral

Ao nascimento, observa-se um aumento da liberação de PTH nas primeiras 48 horas de vida, provavelmente em resposta à queda dos níveis séricos de Ca. À medida que ocorre normalização da calcemia, existe redução das concentrações de PTH, aproximando-se do valor dos adultos por volta da primeira semana de vida^{7,15}.

No RN, os níveis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ se elevam nas primeiras 24 horas de vida, depois variam de acordo com as ofertas de Ca e P da dieta, provavelmente como uma decorrência da

necessidade de maior absorção intestinal desses elementos para manutenção da homeostase mineral^{7,9,17}.

Especial atenção deverá ser dirigida à oferta de vitamina D e exposição solar nesse período, desde que estes constituem as principais fontes desse metabólito. Deve-se salientar ainda, que o leite materno veicula quantidades insuficientes de vitamina D para a manutenção de níveis séricos adequados¹⁰.

As concentrações de calcitonina sérica são maiores no sangue de cordão umbilical do que no sangue materno. Existe um aumento acentuado nos primeiros dias de vida, podendo alcançar de 5 a 10 vezes o valor do adulto, independentemente das concentrações séricas de Ca. Não se conhece ao certo o papel da calcitonina no período neonatal⁹. Parece que esse aumento é estimulado pela ação de catecolaminas e glucagon, que são liberados durante o nascimento^{7,15}.

Oferta de Ca e P no período neonatal

Após o nascimento, a principal fonte nutricional é o leite materno, que é responsável por suprir essas necessidades, promovendo uma melhor adaptação ao período neonatal.

O manuseio nutricional dos RN-MBP ainda é controverso, uma vez que não estão totalmente estabelecidas suas necessidades básicas. A oferta nutricional tem como objetivo principal alcançar a mesma velocidade de crescimento intra-uterino para a mesma idade gestacional pós-concepção, considerando-se o crescimento em peso, comprimento e os valores de retenção de nutrientes e minerais²⁶.

No leite de mães de recém-nascidos de termo (RNT), observa-se um conteúdo médio de Ca de 340 mg/l e de P de 140 mg/l, sofrendo pequenas variações durante as diversas fases da lactação²⁷. A relação Ca: P no leite materno é de 1,8:1 a 2,2:1.

A utilização de leite de vaca, em substituição ao leite materno, deve levar em consideração que, apesar de apresentar maior conteúdo mineral, grande parte é excretada como palmitato de Ca, resultando em menor absorção²⁸.

A utilização do leite materno como fonte nutricional em RN-MBP requer considerações especiais no que diz respeito ao conteúdo mineral. As concentrações minerais encontradas no leite materno variam de 20-25 mg/dl de Ca e 10-15mg/dl de P, apresentando uma relação Ca:P de 1,8 a 2,2:1^{7,10}. Assim, para uma oferta enteral de 200 ml/kg/dia, considerando-se uma taxa de absorção de 60% de Ca e 90% de P, o leite materno fornece, aproximadamente, 60 mg/kg/dia de Ca e 30 mg/kg/dia de P^{14,17,29}. Essas taxas de incorporação ficam muito aquém daquelas previstas para o terceiro trimestre de gestação, que é a fase de maior aquisição mineral.

Para que exista melhoria da oferta mineral, nos RN-MBP alimentados com leite materno exclusivo, foram desenvolvidos aditivos do leite materno que, acrescentados ao leite, sob a forma líquida ou de pó, aumentam as quantidades de minerais, bem como de calorias e proteínas,

promovendo melhora na absorção desses minerais, aproximando-se da incorporação intra-uterina^{25,30,31}. Dessa maneira, a oferta de minerais, decorrente da sua utilização, torna-se aproximadamente de 60 mg/dl de Ca e 33 mg/dl de P²⁹.

As soluções de Ca e P, manipuladas como complemento nutricional, constituem uma opção para se alcançar uma oferta mineral mais adequada, o que permite a correção de distúrbios de mineralização, na ausência de aditivos do leite materno³².

Outra forma de se alcançar as necessidades nutricionais do RNPT é através da utilização de fórmulas especialmente desenvolvidas para suas necessidades. A utilização dessas fórmulas fornece aproximadamente 70-140mg/dl de Ca e 40-70mg/dl de P, quantidades que se aproximam mais da oferta intra-uterina¹⁰. Assim, a oferta de Ca varia em torno de 110-216mg/kg e de P entre 76-108 mg/kg, ao se atingir uma oferta enteral de 200ml/kg/dia¹⁴.

A atividade da vitamina D no leite humano é insuficiente para a manutenção dos níveis séricos adequados de 25(OH)D, preconizando-se a utilização de 400 UI/dia de vitamina D como suplemento nutricional¹⁹.

Doença metabólica óssea

O termo Doença Metabólica Óssea (DMO) refere-se às alterações de mineralização esquelética observadas em RN-MBP, quando comparado ao esqueleto fetal normal, resultante de deficiente acréscimo mineral no período neonatal^{15,17}.

A DMO não tem apresentação clínica característica, podendo evoluir com parada de crescimento longitudinal, manutenção do perímetro cefálico, com raquitismo na sua forma mais grave, apresentando craniotabes, edema de articulações costocodrais (rosário raquíptico) e alargamento epifisário de ossos longos, principalmente em punhos, evoluindo, em algumas situações, com o aparecimento de fraturas espontâneas^{16,33}. Esses RN podem apresentar quadro de desconforto respiratório tardio, pela falta de sustentação da caixa torácica, com o desenvolvimento de atelectasias, agravando quadros de displasia broncopulmonar¹⁵. As manifestações clínicas aparecem entre a 6ª e a 12ª semanas de vida¹⁴.

Atualmente, considera-se que a DMO atinge todos os RN de risco na sua forma leve, que é a osteopenia^{17,34}, evoluindo para formas mais graves em torno de 30% desses RN¹⁶. Alguns autores reconhecem uma incidência aproximada de 55% para os RN < 1.000g e de 23% para os menores de 1.500g, com uma ocorrência de fraturas em 24% dos casos^{14,17}. A incidência de DMO, de acordo com a oferta nutricional, é de 40% no RNPT em aleitamento materno, 20% para aqueles em aleitamento misto e 16% nos RNPT recebendo fórmulas especiais para prematuros³⁵.

É importante o reconhecimento dessa entidade, que acomete os RN-MBP, pelas alterações de crescimento que podem apresentar na evolução. Vários estudos demonstra-

ram uma diminuição do conteúdo mineral ósseo nos RN-MBP em aleitamento materno exclusivo, quando comparados aos que receberam fórmulas especiais dentro do primeiro ano de vida^{36,37}. Schanler et al.³⁸, acompanhando RNPT após a alta, por período de 2 anos, mostraram que as diferenças observadas com 1 ano de vida não estão mais presentes ao final do 2º ano, com equiparação do conteúdo mineral ósseo (CMO) ao de RNT, com mesma idade pós-concepção. Por outro lado, James et al.³⁹ realizaram estudo comparativo entre RNT e RNPT, ao completarem 40 semanas de idade pós-concepção, tendo verificado que os últimos apresentam menor estatura, menor peso e menor CMO, usando dieta adequada para pré-termo.

O estudo de Lucas et al.⁴⁰ evidenciou que os RNPT, recebendo fórmulas para prematuros, alcançaram percentis mais altos para o peso e maior velocidade de crescimento do que os RN que receberam fórmula para RNT, provavelmente pela maior adequação da oferta nutricional do leite utilizado e maior conteúdo mineral.

Essas diferenças atenuam-se à medida que outros alimentos se tornam a principal fonte nutricional desses lactentes, numa fase em que esses apresentam menores velocidades de crescimento, o que implica em redução das necessidades de Ca e P^{34,41}.

Fatores de risco associados

Algumas situações no período neonatal favorecem o desenvolvimento da DMO^{12,14,16,17,25}:

- todo RN com peso de nascimento menor do que 1.500g, principalmente os menores de 1.000g, são suscetíveis ao seu desenvolvimento. Essa predisposição é mais importante nos RN com menores pesos de nascimento, uma vez que apresentam maiores taxas de crescimento e mineralização óssea para alcançar a equivalência intra-uterina, sofrendo, assim, maior influência da deficiência mineral e da oferta nutricional pós-natal;

- RN com idade gestacional menor do que 32 semanas, principalmente por apresentarem menor depósito mineral ao nascimento, uma vez que são privados da fase de maior incorporação mineral, que ocorre no terceiro trimestre de gestação;

- utilização de nutrição parenteral por tempo prolongado, levando a uma oferta diminuída de Ca e P, quando comparadas à intra-uterina. Além disso, existe a possibilidade de contaminação por alumínio, que tem efeito tóxico, inibindo a mineralização óssea. Outro fator limitante da oferta mineral através da NPP é o volume a ser administrado para cada RN, uma vez que volumes pequenos limitam as quantidades de minerais, pelo risco de precipitação da solução. A solubilidade na solução é dependente dos sais utilizados, do tempo de estoque desta, da temperatura ambiente, do pH, da concentração de aminoácidos e dextrose;

- terapêutica com diuréticos, levando à perda renal de Ca, por inibição da reabsorção de eletrólitos na porção

ascendente da alça de Henle, ocorrendo calciúria proporcional à perda renal de Na;

– situações que levam ao retardo no início da nutrição enteral, seja por impedimentos à sua introdução, seja por limitação do volume a ser utilizado, como ocorre em quadros de insuficiência respiratória, displasia broncopulmonar, persistência do canal arterial, enterocolite necrosante, etc.;

– baixa oferta mineral da dieta, dependente do seu conteúdo no leite utilizado ou por baixo volume administrado;

– displasia broncopulmonar, que apresenta vários fatores de risco associados para o desenvolvimento da DMO: deficiência de oferta mineral enteral, pela limitação do volume administrado; utilização de diuréticos, levando à perda renal de Ca; utilização de corticóides, com diminuição do conteúdo mineral ósseo, seja pela redução da absorção, seja pela perda renal; sedação e imobilização, que parecem favorecer uma menor massa óssea;

– imobilização, que pode levar à perda de massa óssea;

– a utilização de corticóides associa-se a uma diminuição da absorção intestinal de Ca, perda renal de Ca e redução do CMO.

Fisiopatologia

Um dos fatores que, indiscutivelmente, contribuem para o desenvolvimento da DMO, é o fato de que o RNPT apresenta baixos estoques minerais ao nascimento, uma vez que 80% da incorporação óssea ocorre no terceiro trimestre da gestação. Alcançar a mesma velocidade de acréscimo mineral que o intra-uterino nesses RN é um desafio importante na prevenção da DMO, caso esta seja obtida sem que sejam produzidos efeitos metabólicos indesejáveis^{17,25}.

O RNPT, alimentado exclusivamente com leite materno, desenvolve uma síndrome de deficiência de fósforo. A diminuição da oferta desse mineral estimula o aumento da produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, com conseqüente aumento da absorção intestinal de Ca e P^{25,38,39,42}. Além disso, existe uma inibição da liberação de PTH, o que leva à diminuição das perdas renais de P, bem como a um aumento das perdas renais de Ca, levando à hipercalcúria. Essa inibição da liberação do PTH teria um efeito protetor no que diz respeito à mobilização óssea. No entanto, o efeito da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ continua presente, estimulando a ação de osteoblastos, levando à mobilização de Ca e P, pela ativação dos osteoclastos. A manutenção de oferta deficiente de minerais leva a uma mobilização cada vez maior, com conseqüente intensificação da perda óssea^{14,15,43}. Nessa situação, apesar de coexistir uma deficiência de Ca pela baixa oferta nutricional, observa-se uma perda renal importante desse íon, pela ausência de deposição óssea, conseqüente a uma relação Ca:P inadequada⁴⁴.

Os estudos desenvolvidos por Koo et al.^{34,45} mostraram que os níveis séricos de $25(\text{OH})\text{D}$ encontram-se normais, na vigência de suplementação nutricional de 400 UI/dia de

vitamina D, reforçando a hipótese de que a deficiência dessa vitamina não seja um fator determinante de DMO. Já o achado de níveis elevados de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ é sugestivo de deficiência mineral, com aumento da produção desse metabólito, numa tentativa de intensificar a absorção intestinal de Ca e P, com o objetivo de restaurar seu conteúdo corpóreo.

Outros estudos sugerem que a DMO é um estado de elevado *turnover* ósseo. A presença de atividade de fosfatase alcalina elevada, demonstrando ativação osteoblástica, associada ao aumento da excreção urinária de hidroxiprolina, que é um marcador da mobilização óssea, evidencia esse aspecto de elevado *turnover*^{30,33}. Parece que a presença de alterações locais relacionadas à liberação de prostaglandinas e peptídeo PTH-simile possa estar envolvida nesse processo de reabsorção óssea³³.

Estudos, utilizando radioisótopos, mostraram que o Ca urinário nos RNPT tem origem, tanto da dieta, quanto de tecido ósseo. Além disso, a hipercalcúria observada em RNPT, mesmo na vigência de suplementação mineral adequada, com boas taxas de retenção, sugere a presença desse estado de elevado *turnover* ósseo nesses RN⁴⁶.

Tem sido descrita a ocorrência de DMO em RN recebendo fórmulas especiais para pré-termo. Acredita-se que o uso de fórmulas especiais melhore o crescimento e o CMO pelo aumento da oferta de Ca, P e proteínas, sem, no entanto, eliminar a deficiência relativa de P, o que é demonstrado pelo CMO menor do que o esperado para o mesmo período intra-uterino⁴⁷.

Estudos que avaliaram o acréscimo mineral ósseo em RNPT mostraram que existe uma rápida incorporação mineral entre 40 e 60 semanas de idade pós-concepção, chegando a ser 5 vezes maior do que no RNT, comparativamente⁴⁸.

Frente a esses achados, levantou-se a hipótese de que existiria algum mecanismo que, a partir de 40 semanas, restauraria a relação do conteúdo mineral ósseo com peso e estatura, aproximando-o do RNT com mesma idade pós-concepção⁴⁹.

Diagnóstico

Não existe um método diagnóstico definitivo para a DMO. O comprometimento clínico aparece tardiamente e, em algumas situações, não é feito o diagnóstico.

Ainda se faz necessário o desenvolvimento de métodos diagnósticos precisos para essa entidade, para que ocorra menor número de complicações nesses RN, já expostos a uma série de agravos no período neonatal pela sua própria prematuridade.

Alterações bioquímicas

As dosagens bioquímicas têm sido realizadas em RNPT, numa tentativa de detecção precoce da deficiência mineral. Essas alterações, que antecedem o aparecimento das variações de densitometria óssea e radiológicas, são observadas em torno da terceira semana de vida.

A presença de níveis séricos de P menores do que 3,6 mg/dl, em RN em aleitamento materno exclusivo, é sugestiva de deficiência desse mineral, indicando necessidade de monitorização desses RN para o desenvolvimento de DMO^{14,17,50}.

Estudos mostraram que os RN alimentados com leite materno exclusivo apresentam níveis séricos de P mais baixos do que aqueles recebendo fórmulas especiais ou suplementação mineral^{23,51,52}. Os RN alimentados com fórmulas para PT podem ter uma DMO associada, quando apresentam dosagens de Ca normais ou baixas e de P menores do que 5,7 mg/dl⁵⁰. Alguns autores já descrevem essas alterações com 2 semanas de vida¹².

Os níveis séricos de 25(OH)D encontram-se normais, na presença de suplementação de vitamina D, nas doses de 400-800 UI/dia, o que seria suficiente para manter o estado normal de vitamina D no organismo. As dosagens de 1,25(OH)₂D encontram-se normais ou elevadas^{34,45}.

A atividade de fosfatase alcalina consiste predominantemente da isoenzima óssea, sendo apenas 10% a fração correspondente à isoenzima intestinal. Trata-se de uma fosfotransferase localizada nas vesículas da matriz de osteoblastos, sendo responsável pela transferência de resíduos de fosfato para as vesículas, onde se inicia o processo de cristalização na ligação com o Ca. Com o progresso da cristalização, ocorre ruptura das vesículas, com saída de FA para a circulação. Na presença de deficiência mineral, ocorre aumento da síntese de FA, sem que se processe a mineralização, levando ao aumento dos níveis séricos de FA.

O estudo desenvolvido por Lucas *et al.*⁴⁰ mostrou que RN em aleitamento materno, com menores concentrações de Ca e P, apresentavam níveis mais elevados de FA. A elevação da FA ocorreu nas primeiras três semanas de vida, atingindo o pico entre 5 e 6 semanas, mantendo-se elevada por mais tempo nos RN com alterações de DMO^{12,15}.

Embora esses estudos direcionem para uma possível valorização da medida da atividade de fosfatase alcalina para o diagnóstico da DMO, valores desta 6 vezes maiores do que o limite superior indicam necessidade de investigação da presença de DMO¹⁴, não permitindo, no entanto, o diagnóstico da doença, necessitando de outros dados laboratoriais para o seu diagnóstico. Isso decorre do fato de que os valores de atividade de fosfatase alcalina podem se alterar, em especial no RN-PT, devido ao elevado *turnover* ósseo que os caracteriza e que, provavelmente, esteja relacionado a maiores taxas de crescimento.

Nos RN com DMO, observa-se hipofosfatúria importante, chegando a quase 100% a reabsorção tubular de P, quando a excreção esperada de P seria aproximadamente de 2,0-2,3 mmol/l para o RNPT^{12,53}.

O cálculo da fração de excreção de P (FeP) mostra uma diminuição de 20 para 3% no decorrer da primeira semana de vida, permanecendo em níveis mínimos após os três meses de idade⁵³. Além disso, observa-se uma fração de excreção de Ca elevada na deficiência de P, sendo maior do

que 4 mg/kg/dia, já tendo sido descritos valores de até 35 mg/kg/dia^{17,25}. O início da suplementação mineral leva ao aparecimento de fosfatúria, até então praticamente ausente, e diminuição da calciúria para valores próximos de 6 mg/kg/dia⁴⁶.

O cálculo da relação Ca/Creatinina mostra valores de 1-1,7 mmol/l nos RN em aleitamento materno, com resultados maiores do que 0,6 na presença de DMO, pelo aumento da excreção de Ca²⁴.

Alguns autores^{24,44} têm preconizado a monitorização dos níveis urinários de Ca e P como forma de avaliar a presença de mineralização óssea. Numa primeira etapa, em que a oferta mineral é limitada, observa-se calciúria elevada, com a excreção de fósforo praticamente ausente (<1mg/kg/d). À medida que melhora a oferta mineral, começa a aparecer a excreção urinária de fósforo e diminuição da excreção de Ca, refletindo um aumento da incorporação óssea. Assim, a excreção urinária de Ca e P poderia funcionar como parâmetro de oferta e *catch-up* mineral na monitorização da DMO⁴⁴. O estudo desenvolvido por Mancini *et al.*⁵⁴, procurando identificar um marcador precoce da deficiência mineral, mostrou que os valores de calciúria, em coletas de 6 horas, são mais elevados nos RN que desenvolvem a DMO, sempre na presença de hipofosfatúria, em coletas realizadas entre a terceira e quinta semanas de vida, ressaltando a importância da sua monitorização para o diagnóstico da deficiência mineral.

Com base nesses estudos, no Berçário Anexo à Maternidade do Departamento de Pediatria - HC-FMUSP, preconiza-se a monitorização dos valores de calciúria e fosfatúria, em coletas de urina de 6 horas, entre a terceira e quarta semanas de vida, para detecção precoce da deficiência de fósforo. Essa coleta tem como objetivo adequar a oferta mineral nas situações em que a excreção urinária de Ca esteja elevada (>4mg/kg/d), associada a uma redução da excreção de P (<1mg/kg/d) (Figura 1). Considera-se que a elevação da excreção de Ca na presença de hipofosfatúria é sugestiva de uma oferta mineral inadequada, indicando necessidade de reconsiderar a oferta enteral, não somente de Ca e P, mas também de energia e proteínas.

Alterações radiológicas

A anormalidade no estudo radiológico é resultado de uma alteração no processo de remodelação óssea, conseqüente a uma oferta mineral inadequada que leva a uma deficiência de mineralização, na presença de um aumento na formação da matriz óssea¹².

Alterações radiológicas foram demonstradas em 64% dos RN com peso de nascimento <1.000g. Essas modificações só se fazem presentes quando ocorre mobilização óssea importante, com redução de 30 a 40% do conteúdo mineral ósseo^{14,17,55}. Geralmente, são detectadas a partir de 6 semanas de vida e refletem um processo de remodelação anormal, com aumento da matriz óssea, sem intensificação mineral concomitante, sendo detectadas, com maior frequência, mais tardiamente¹².

não incluindo as regiões metafisárias com elevada atividade celular⁵⁶.

Pode-se, também, determinar a espessura óssea (EO) e estabelecer a relação entre o CMO e a EO. Nos RNPT, observa-se uma diminuição do CMO, quando comparados com valores intra-uterinos, e a relação CMO/EO encontra-se diminuída, pois existe um aumento da formação de matriz óssea, numa fase de rápido crescimento linear, associado a uma mineralização limitada pela baixa oferta mineral da dieta^{30,57}.

A utilização da densitometria dupla de fótons, expressa em gramas/cm² de área escaneada, apresenta melhora da precisão, além de utilizar a medida do corpo inteiro, sem sofrer influência dos tecidos adjacentes, uma vez que utiliza coluna e quadril. Essa técnica discrimina o osso dos tecidos moles e do ar, diminuindo sua interferência nas medidas. O tempo dispendido na sua execução é longo, necessitando de sedação dos RN, o que limita sua utilização⁵⁶.

A tomografia computadorizada quantitativa permite a avaliação da densidade mineral, em geral, de coluna lombar, medindo-a na sua área tridimensional. É, no entanto, influenciada pela quantidade de gordura, subestimando a densidade trabecular. A maior desvantagem do método é a elevada dose de radiação.

A mais nova tecnologia é a densitometria de raios-X de dupla energia (DEXA), que se baseia na densitometria por fóton-absorção dupla associada ao RX, o que leva a uma melhoria de sua precisão e diminuição do tempo de exposição. No entanto, esse método ainda requer validação para a faixa pediátrica^{56,58}.

O estudo desenvolvido por Minton *et al.*⁵⁹ mostrou que o RNPT necessita de um período de aproximadamente 12 semanas para alcançar um acréscimo mineral semelhante ao atingido em 5 semanas no período intra-uterino e que as etapas com maior incorporação mineral correspondem às fases de melhoria da oferta enteral.

Estudos revelam que os RN suplementados com aditivos ou aqueles que receberam fórmulas especiais de prematuros apresentam CMO maior do que os alimentados com leite materno exclusivo, embora este ainda permaneça menor do que o intra-uterino^{47,51}.

Recomendações

Todo RNPT que tenha risco de desenvolver a DMO deve ser investigado para a detecção precoce da deficiência mineral e prevenção da instalação de suas formas mais graves.

No Berçário Anexo à Maternidade do Departamento de Pediatria - HC FMUSP, preconiza-se o início da monitorização entre a terceira e quarta semanas de vida, realizando a coleta de urina de 6 horas, para detectar alterações da excreção mineral sugestivas de deficiência mineral, ou seja, hipofosfatúria importante (<1mg/kg/dia) e elevações da excreção urinária de Ca (>4mg/kg/d).

Figura 1 - Algoritmo para detecção da deficiência mineral

Utiliza-se, na descrição das alterações radiológicas, o escore de Koo⁵⁵:

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

Alterações de densitometria óssea

A medida do conteúdo mineral ósseo (CMO) por densitometria vem sendo desenvolvida, numa tentativa de monitorização da velocidade de incorporação mineral do RN. A sua medida representa a quantidade de hidroxipatita por centímetro de osso⁵¹.

A medida do CMO por fóton-absorção simples, expresso em gramas/cm, foi inicialmente descrito como um método rápido e eficaz de verificar mudanças sequenciais no CMO de um mesmo local. Normalmente, nesta técnica, utiliza-se o rádio para a medida. No entanto, a dosagem de um único local compromete a precisão e reprodutibilidade do método, preferindo-se métodos de corpo inteiro¹⁴. Estudos mostraram que esta medida não reflete o metabolismo ósseo como um todo, uma vez que utiliza a dimensão de um único local. Além disso, realiza a medida do osso cortical,

Na presença de hipofosfatúria e hipercaleiúria, indica-se suplementação de Ca e P. Embora as recomendações referentes às ofertas de Ca e P não constituam uma unanimidade na literatura para prevenção do desenvolvimento de DMO, variando com ofertas minerais de Ca entre 77-231 mg/kg/dia e de P entre 55-148 mg/kg/dia, valores de 200 e 100 mg/kg/dia, respectivamente, têm se mostrado suficientes para manter uma curva de mineralização semelhante à intra-uterina²⁶. Alguns estudos mostram que ofertas de 150 e 77 mg/kg/dia de Ca e P, respectivamente, mantendo uma relação de 2:1, são suficientes, evitando-se os efeitos colaterais da utilização de altas doses desses minerais, como a nefrocalcinose, calcificações extra-esqueléticas e acúmulo excessivo de Ca e P nos ossos^{14,23}.

Frente às necessidades minerais preconizadas para a prevenção da DMO, nos RN em aleitamento materno exclusivo, recomenda-se a utilização de suplementação mineral através dos aditivos do leite materno ou fórmulas manipuladas de Ca e P. Após o início da suplementação de Ca e P, deve-se esperar uma diminuição das perdas urinárias de Ca, acompanhada de normalização dos níveis urinários de P (>1mg/kg/d)⁵⁰.

Há controvérsia sobre até quando esses RN devam receber a suplementação mineral. Sabe-se que os RN que receberam fórmulas modificadas para PT, apresentaram mineralização óssea comparável aos RNT por volta dos 6 meses de vida. Já os alimentados com LM, não alcançaram mineralização óssea comparável até os 2 anos de idade³⁸. Existem diferenças importantes no CMO, com 3 e 9 meses de vida, nos RN que receberam suplementação¹⁴.

Assim, no Berçário Anexo à Maternidade do Departamento de Pediatria - HC-FMUSP, recomenda-se a utilização de suplementação mineral até 40 semanas de idade gestacional corrigida, seja através de aditivos do leite materno, seja com a utilização de fórmulas especialmente desenvolvidas para os RNPT, na impossibilidade de utilização do aleitamento materno³².

O estudo desenvolvido por Cooke et al.⁶⁰ mostra diferenças na velocidade de crescimento após a alta hospitalar de RN que receberam fórmulas convencionais e fórmulas para prematuros, sugerindo a importância da oferta nutricional após a alta, numa fase de rápido *catch-up*. Alterações semelhantes foram observadas na pesquisa de Schanler et al.³⁷, que mostrou uma equiparação do CMO dos RNPT aos RNT com 1 ano de vida, nos que receberam fórmulas especiais e, com 2 anos, nos que foram alimentados com leite materno, e só receberam suplementação durante a internação.

Apesar disso, alguns autores recomendam a utilização de suplementação mineral até 3 meses de vida, procurando incluir a fase de maior risco de fraturas desses RN^{14,44}.

Além da suplementação mineral, indica-se a utilização de vitamina D na dose de 400 UI/dia durante o primeiro ano de vida.

O aumento da sobrevivência dos recém-nascidos de muito baixo peso estimulou o interesse pelo entendimento da

doença metabólica óssea que acomete esses recém-nascidos. Os estudos desenvolvidos sobre a DMO demonstram que o comprometimento da mineralização óssea pode se estender até idades mais avançadas, ressaltando a importância do diagnóstico e intervenção o mais precocemente possível, com o objetivo de prevenir as repercussões em longo prazo dessa entidade.

Referências bibliográficas

1. Ylppo AZ. Kinderhielkd,24:111, 1919 apud Rowe JC, Carey DE. Phosphorus deficiency syndrome in very low birth weight infants. *Ped Clin North Am* 1987;34:997-1017.
2. Benjamin HR, Gordon HH, Marples E. Calcium and phosphorus requirements of premature infants. *Am J Dis Child* 1943;65:412.
3. Von Sidow CA. A study of the development of rickets in premature infants. *Acta Paediatr* 1946, suppl 33:1, apud Rowe JC, Carey DE. Phosphorus deficiency syndrome in very low birth weight infants. *Ped Clin North Am* 1987;34:997-1017.
4. Shaw JLC. Malnutrition of the very low birth weight preterm infants. *Proc Nutr Soc* 1974;33:103.
5. Forbes GB. Is human milk the best food for low birth weight babies? *Pediatr Res* 1978;12:434-6.
6. Brooke OG, Lucas A. Metabolic bone disease in preterm infants. *Arch Dis Child* 1985;60:682-85.
7. Hillman L. Bone mineral acquisition in utero and during infancy and childhood. In: Riggs BL, Melton LJ, eds. *Osteoporosis: etiology, diagnosis and treatment*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven;1996.p.449-64.
8. Mimouni FB, Root AW. Disorders of calcium metabolism in the newborn. In: Sperling MA, ed. *Pediatric Endocrinology*. 47ª ed. Philadelphia: WB Saunders Co.;1996.p.95-115.
9. Bainbridge RR, Koo WWK, Tsang RC. Neonatal calcium and phosphorus disorders. In: Lifshitz F, ed. *Pediatric Endocrinology*. 3ª ed. New York: Marcel Dekker Inc.;1996. p.473-96.
10. Koo WWK, Tsang RC. Calcium, magnesium, phosphorus, and vitamin D. In: Tsang RC, Lucas A, Varey R, Zlotkin S, eds. *Nutritional Needs of Preterm Infant: Scientific Basis*. Baltimore: Williams and Wilkins;1993.p.175-89.
11. Broadus AE. Physiological functions of calcium, magnesium, and phosphorus and mineral ion balance. In: Favus MJ. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2ª ed. 1993.p.41-6.
12. Bishop N. Bone disease in preterm infants. *Arch Dis Child* 1989;64:1403-9.
13. Pitkin RM. Calcium metabolism in pregnancy and the perinatal period: a review. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151:99-109.
14. Backström MC, Kuusela AL., Mäki R. Metabolic bone disease of prematurity. *Annals of Medicine* 1996;28:275-82.
15. Mayne PD, Kovar IZ. Calcium and phosphorus metabolism in the premature infant. *Ann Clin Biochem* 1991;28:131-42.
16. Smith SL, Kirchoff KT. Metabolic bone disease in very-low-birth-weight infants: assessment, prevention, and treatment by neonatal nurse practitioners. *JOGNN* 1996;26:297-302.
17. Greer FR. Osteopenia of prematurity. *Annu Rev Nutr* 1994;14:169-85.
18. Ryan S. Bone mineralization and growth. *Eur J Clin Nutr* 1992;46:S41-S44.
19. Salle BL, Glorieux FH, Delvin EE. Perinatal vitamin D metabolism. *Biol Neonate* 1988;54:181-7.
20. Mataloun MMGB. Oferta de minerais a partir do leite materno e níveis séricos de cálcio e fósforo em recém-nascidos de termo: influência do retardo de crescimento intra-uterino [tese]. São Paulo: FMUSP;1997.

21. Lemann J. Intestinal absorption of calcium, magnesium, and phosphorus. In: Favus MJ. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2^a ed. 1993.p.46-50
22. Lemann J. Urinary excretion of calcium, magnesium, and phosphorus. In: Favus MJ, eds. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2^a ed. 1993. p.50-54.
23. Rowe JC, Goetz CA, Carey DE, Horak E. Achievement of in utero retention of calcium and phosphorus accompanied by high calcium excretion in very low birth weight infants fed a fortified formula. *J Pediatr* 1987;110:581-5.
24. Senterre J, Salle B. Renal aspects of calcium and phosphorus metabolism in preterm infants. *Biol Neonate* 1988;53:220-29.
25. Rowe JC, Carey DE. Phosphorus deficiency syndrome in very low birth weight infants. *Pediatr Clin N Am* 1987;34:997-1017.
26. American Academy Pediatrics - Committee on Nutrition. Nutritional needs of low-birth-weight infants. *Pediatrics* 1985;75: 976-86.
27. Demarini S, Tsang RC. Calcium and phosphorus nutrition in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:267-73.
28. Penna HAO, Lima IN, Bresolen AMB, Issler H, Slywith MV. Higiene alimentar. In: Marcondes E. *Pediatria básica*. 7^a ed. São Paulo: Sarvier;1985. p.97-119.
29. Venkataraman PS, Blick KE. Effect of mineral supplementation of human milk on bone mineral content and trace element metabolism. *J Pediatr* 1988;113:220-4.
30. Greer FR, McCormick A. Bone growth with low bone mineral content in very low birth weight premature infants. *Pediatr Res* 1985;20:925-28.
31. Carey DE, Goetz CA, Horak E, Rowe JC. Phosphorus wasting during phosphorus supplementation of human milk feedings in preterm infants. *J Pediatr* 1985;107:790-4.
32. Mancini MC, Prescinotti EAP, Carrazza FR, Ramos JLA, Leone CR. Osteopenia da prematuridade: aspectos clínicos. *Rev Paulista Ped* 1991;9:91-103.
33. Beyers N, Alheit B, Taljaard JF, Hall JM, Hough SF. High turnover osteopenia in preterm babies. *Bone* 1994;15:5-13.
34. Koo WWK, Sherman R, Succop P, Ho M, Buckley D, Tsang RC. Serum vitamin D metabolites in very low birth weight infants with and without rickets and fractures. *J Pediatr* 1989;114: 1017-22.
35. Takada M, Shimada M, Hosono S, Tauchi M, Minato M, Takahashi S, Okuni M, et al. Trace elements and mineral requirements for very low birth weight infants in rickets of prematurity. *Early Hum Dev* 1992;29:333-38.
36. Bishop NJ, King FJ, Lucas A. Increased bone mineral content of preterm infants fed with a nutrient enriched formula after discharge from hospital. *Arch Dis Child* 1993;68:573-8.
37. Abrams AS, Schanler RJ, Tsang RC, Garza C. Bone mineralization in former very low birth weight infants fed either human milk or commercial formula: one-year follow-up observation. *J Pediatr* 1989;114:1041-44.
38. Schanler RJ, Burns PA, Abrams AA, Garza C. Bone mineralization outcomes in human milk-fed preterm infants. *Pediatr Res* 1992;31:583-6.
39. James JR, Congdon PJ, Truscott J, Horsman A. Osteopenia of prematurity. *Arch Dis Child* 1986;61:871-76.
40. Lucas A, Bishop NJ, King FJ, Cole TJ. Randomised trial of nutrition for preterm infants after discharge. *Arch Dis Child* 1992;67:324-27.
41. Friel JK, Andrews WL, Mettew JD, Mckim E, French S, Long DR. Improved growth of very low birthweight infants. *Nutr Res* 1993;13:611-20.
42. Schanler R.J, Garza, C, O'Brian Smith E. Fortified mothers' milk for very low birth weight infants: results of macromineral balance studies. *J. Pediatr* 1985;107:767-74.
43. Rowe J, Rowe D, Horak E, Spackman T, Saltzman R, Robinson S, et al. Hypophosphatemia and hypercalciuria in small premature infants fed human milk: evidence for inadequate dietary phosphorus. *J Pediatr* 1984;104:112-16.
44. Pohlandt F. Prevention of postnatal bone demineralization in very-low-birth-weight infants by individually monitored supplementation with calcium and phosphorus. *Pediatr Res* 1994; 35:125-29.
45. Koo WWK, Krug-Wispe S, Neylan M, Succop P, Oestreich AE, Tsang RC. Effect of three levels of vitamin D intake in preterm infants receiving high mineral-containing milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:182-89.
46. Abrams AS, Yergey AL, Schanler RJ, Vieira NE, Welch TR. Hypercalciuria in premature infants receiving high mineral-containing diets. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994;18:20-4.
47. Greer FR, McCormick A. Improved bone mineralization and growth in premature infants fed fortified own mother's milk. *J Pediatr* 1988;112:961-9.
48. Gross SJ. Bone mineralization in preterm infants fed human milk with and without mineral supplementation. *J Pediatr* 1987;111:450-8.
49. Congdon PJ, Horsman A, Ryan SW, Truscott JG, Durward H. Spontaneous resolution of bone mineral depletion in preterm infants. *Arch Dis Child* 1990;65:1038-42.
50. Aiken CGA, Sherwood RA, Lenney W. Role of plasma phosphate measurements in detecting rickets of prematurity and in monitoring treatment. *Ann Clin Biochem* 1993;30:469-75.
51. Chan GM, Mileur L, Hansen JW. Calcium and phosphorus requirements in bone mineralization of preterm infants. *J. Pediatr* 1988;113:225-9.
52. Laing IA, Glass EJ, Hendry GMA, Westwood A, Path MRC, Elton RA, et al. Rickets of prematurity: calcium and phosphorus supplementation. *J Pediatr* 1985;106:265-68.
53. Karlén J, Aperia A, Zetterström R. Renal excretion of calcium and phosphate in preterm and terms infants. *J Pediatr* 1985;106:814-19.
54. Mancini MC. Importância dos níveis séricos de fósforo na detecção precoce da deficiência desse mineral em recém-nascidos de muito baixo peso [tese]. São Paulo: FMUSP;1999.
55. Koo WWK, Gupta JM, Nayanans VV, Wilkinson M. Skeletal changes in preterm infants. *Arch Dis Child* 1982;57:447-52.
56. Salle BL, Glorieux FH. Assessment of bone mineral content in infants: the new age. *Acta Paediatr* 1993;82:709-10.
57. Greer FR, Lane J, Weiner S, Mazess RB. An accurate and reproducible absorptiometric technique for determining bone mineral content in newborn infants. *Pediatr Res* 1983;17:259-62.
58. Lapillone A, Clarice O, Reygorbellet B, Picaud JC, Glorieux FH, Salle BL. Bone mass and calcium homeostasis in very low birth weight infant feed a preterm formula enriched with calcium and phosphorus. *Pediatr Res* 2000;47:290-A.
59. Minton SD, Steichen JJ, Tsang RC. Bone mineral content in term and preterm appropriate-for-gestational-age infants. *J Pediatr* 1979;95:1037-42.

Endereço para correspondência:

Dra. Monique Catache

Rua Gabriel dos Santos, 503 - apto. 31 – Santa Cecília

CEP 01231-011 – São Paulo – SP