



LISBOA

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Pediatria

### **Importância do Leite Humano na Prevenção da Enterocolite Necrosante em Recém-nascidos Prematuros**

Margarida João Costa Vardasca

---

**MAIO'2017**



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Pediatria

### **Importância do Leite Humano na Prevenção da Enterocolite Necrosante em Recém-nascidos Prematuros**

Margarida João Costa Vardasca

**Orientado por:**

Dr<sup>a</sup> Graça Oliveira

---

**MAIO'2017**

## **Resumo**

A enterocolite necrosante (ECN) é uma doença potencialmente fatal que afeta recém-nascidos (RN) prematuros, tendo taxas significativas de mortalidade e morbidade e uma incidência crescente. Embora a sua etiologia seja ainda desconhecida, acredita-se que seja uma patologia de causa multifatorial. Entre os fatores implicados na sua patogénese estão a prematuridade, a fonte de leite dos RN e a sua microbiota intestinal. A imaturidade geral dos RN prematuros, associada às complicações decorrentes da assistência neonatal, torna estes RN mais suscetíveis a infeções e outras patologias, nomeadamente, a ECN.

Nos RN prematuros, para além de haver uma limitação das funções de defesa do intestino, a microbiota intestinal é significativamente diferente da microbiota intestinal dos RN de termo, havendo uma marcada ausência de bactérias benéficas, especialmente, bifidobactérias. Esta disbiose intestinal é, provavelmente, o fator mais preponderante na fisiopatologia da ECN, sendo responsável pela predisposição dos RN prematuros para esta patologia.

Não existindo ainda um tratamento totalmente eficaz para a ECN, a prevenção primária deve ser a prioridade. Assim, o leite humano surge como um importante fator protetor contra a ECN. Entre os benefícios do leite humano destacam-se o seu efeito anti-inflamatório, o aumento do fluxo sanguíneo microvascular intestinal, a manutenção da integridade da mucosa intestinal e, essencialmente, o seu efeito prebiótico, sendo que vários componentes, nomeadamente, os oligossacáridos do leite humano, têm sido implicados nestes efeitos. Vários estudos mostram que a microbiota intestinal dos RN alimentados com leite humano tem grande predomínio de bifidobactérias, comparativamente à microbiota dos RN alimentados com leite artificial.

Existe uma associação consistente entre a administração de leite humano e a redução da mortalidade, morbidade e incidência associadas à ECN nos RN prematuros, sendo que o seu risco aumenta com a administração de leite artificial. A alimentação com leite humano é, portanto, uma estratégia efetiva na prevenção da ECN nos RN prematuros.

## **Palavras-chave**

Enterocolite necrosante, leite humano, prematuridade, microbiota

## **Abstract**

Necrotizing enterocolitis (NEC) is a potentially fatal disease that affects preterm infants, with significant mortality and morbidity rates and a rising incidence. Although its etiology is still unknown, it is believed to be a multifactorial disease. Prematurity, the source of the milk taken by the infants and their gut microbiota are among the factors implicated in its pathogenesis. The general immaturity of preterm infants, associated with complications resulting from neonatal care, makes these infants more susceptible to infections and other diseases as NEC.

In preterm infants, in addition to a limitation of intestinal defense functions, the gut microbiota is significantly different from the gut microbiota of term infants, with a marked absence of beneficial bacteria, especially bifidobacteria. This intestinal dysbiosis is probably the most important factor in the pathophysiology of NEC, being responsible for the predisposition of preterm infants to this disease.

As there is still no effective treatment for NEC, primary prevention should be the priority. Thus, human milk appears to be an important protective factor against NEC. Among the benefits of human milk are its anti-inflammatory effect, increased intestinal microvascular blood flow, maintenance of the integrity of the intestinal mucosa and, essentially, its prebiotic effect, with several components, namely human milk oligosaccharides, being implicated in these effects. Several studies show that the gut microbiota of infants fed with human milk has a higher prevalence of bifidobacteria than the microbiota of infants fed with artificial milk.

There is a consistent association between the administration of human milk and the reduction of the mortality, morbidity and incidence associated with NEC in premature infants and its risk increases with the administration of artificial milk. Therefore, feeding with human milk is an effective strategy for the prevention of NEC in premature infants.

## **Keywords**

Necrotizing enterocolitis, human milk, prematurity, microbiota

*O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.*

## Índice

Resumo .....	3
Abstract .....	4
Acrónimos .....	6
Introdução .....	7
1. Enterocolite necrosante .....	8
1.1. Epidemiologia .....	8
1.2. Etiopatogenia .....	8
1.3. Apresentação clínica e diagnóstico .....	9
1.4. Tratamento e prevenção .....	10
2. Prematuridade .....	11
3. Microbiota intestinal .....	12
3.1. Desenvolvimento e estabelecimento da microbiota intestinal nos RN .....	12
3.2. Microbiota intestinal dos RN prematuros .....	13
4. Leite humano e ECN .....	15
4.1. Componentes do leite humano que conferem proteção contra a ECN .....	16
4.1.1. Nitrato/Nitrito .....	16
4.1.2. L-Glutamina .....	16
4.1.3. Oligossacáridos do leite humano .....	17
4.1.4. Lactoferrina .....	18
4.1.5. Fatores de crescimento .....	18
Conclusão .....	19
Agradecimentos .....	20
Referências bibliográficas .....	21

## **Acrónimos**

*B. infantis* – *Bifidobacterium longum subspecies infantis*

DSNLT – *disialyllacto-N-tetraose*

ECN – enterocolite necrosante

FCE – fator de crescimento epidérmico

FCELH – fator de crescimento epidérmico ligado à heparina

GI – gastrointestinal

OLH – oligossacáridos do leite humano

ON – óxido nítrico

RN – recém-nascidos

RNEBPN – recém-nascidos de extremo baixo peso ao nascer

RNMBPN – recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer

UCIN – Unidades de Cuidados Intensivos Neonatais

## Introdução

A enterocolite necrosante (ECN) é uma doença devastadora que afeta recém-nascidos (RN) prematuros. [1] Continua a ser uma das emergências gastrointestinais e cirúrgicas mais comuns em RN prematuros de muito baixo peso, sendo que a sua incidência está a aumentar. [1], [2] Está associada a taxas significativas de mortalidade e morbidade, onde se incluem necessidade de cirurgia, dependência prolongada de nutrição parentérica, infecções recorrentes e síndrome do intestino curto. [3]

A ECN afeta aproximadamente 5-10% de todos os recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer (RNMBPN) e 10-12% dos RN extremamente prematuros. A mortalidade sobe para níveis de 40-50% nos RN extremamente prematuros que necessitam de cirurgia. [3]

Enquanto a fisiopatologia da ECN não é ainda totalmente conhecida, sabe-se que a ausência da microbiota comensal nos RN prematuros possibilita às muitas bactérias patogénicas presentes nas Unidades de Cuidados Intensivos Neonatais (UCIN) causarem ECN. [1], [4] Por outro lado, está já bem estabelecido que o risco de ECN aumenta com a administração de leite artificial e, pelo contrário, diminui com a administração de leite humano, pois este induz a maturação intestinal dos RN. [1], [5] Os benefícios do aleitamento materno são conhecidos há muito tempo. [6] Existe uma associação consistente entre a amamentação e a redução da mortalidade e morbidade por infeções gastrointestinais e respiratórias, assim como também diminui a síndrome de morte súbita do lactente e a ECN nos RN prematuros. [7]

Há um consenso generalizado de que a administração de leite humano é a estratégia mais efetiva contra a ECN, devido aos seus componentes específicos. [1], [8] Segundo a Academia Americana de Pediatria, o desenvolvimento de ECN em qualquer idade gestacional está relacionado com o tipo de leite escolhido, a quantidade administrada e o *timing* de introdução, sendo que esta academia recomenda a utilização de leite humano em vez de leite artificial em todos os RN prematuros. [9]

Com este trabalho pretende-se, então, fazer uma revisão bibliográfica da literatura sobre a temática da ECN, incluindo a sua relação com a microbiota intestinal e o modo como o aleitamento materno pode contribuir para a prevenção da ECN, explorando a evidência científica destas associações.

# **1. Enterocolite necrosante**

## **1.1. Epidemiologia**

A ECN é a doença gastrointestinal (GI) potencialmente fatal mais comum em RN. [10] Apesar de mais de três décadas de investigação, a ECN continua a ser uma das emergências médicas e cirúrgicas mais frequentemente adquiridas em RNMBPN [11], constituindo mesmo a maior causa de mortalidade e morbidade em RN prematuros. Aproximadamente 7% dos RNMBPN desenvolvem ECN, 20 a 30% destes acabam por morrer e aqueles que sobrevivem têm um risco substancial de complicações a longo prazo, nomeadamente, atraso no neuro-desenvolvimento e síndrome do intestino curto. [1], [10], [12]

Estudos recentes mostram que tanto a incidência como o número de mortes por ECN estão a aumentar. [2], [10], [11] Tal pode justificar-se pelo aumento da sobrevivência de RN com cada vez mais baixo peso ao nascer e menor idade gestacional, o que se deve à melhoria dos cuidados neonatais.

A ECN ocorre em 1 a 3 em cada 1000 nados vivos, tendo uma frequência igual em ambos os sexos. Esta patologia afeta habitualmente RN prematuros nascidos entre as 30 e as 32 semanas de gestação e é diagnosticada durante a segunda semana de vida. Entre todos os RN com ECN, a mortalidade encontra-se entre 10 a 50%. Já a mortalidade cirúrgica diminuiu nas últimas décadas de 70% para valores entre 20 e 50%. [10]

## **1.2. Etiopatogenia**

A verdadeira etiologia da ECN é ainda desconhecida. Acredita-se que, provavelmente, a ECN é uma patologia de causa multifatorial, que surge num hospedeiro geneticamente suscetível. Os fatores implicados na sua patogénese incluem a prematuridade (função intestinal imatura), a fonte de leite (humano ou artificial), a colonização microbiana, a alteração da mucosa intestinal e, de alguma forma, a instabilidade hemodinâmica. Estes fatores promovem, em conjunto, a lesão da mucosa, o que parece ser o evento inicial, levando posteriormente a isquemia e necrose intestinais. [13]

O nascimento prematuro é, então, o determinante major do desenvolvimento da ECN, uma vez que esta patologia surge quase exclusivamente em RN prematuros, sendo a sua incidência inversamente proporcional à idade gestacional aquando do nascimento.

Vários aspetos relacionados com a imaturidade intestinal dos RN prematuros podem contribuir para a predisposição para ECN, incluindo a propensão inflamatória, a disfunção da barreira intestinal e a diminuição das defesas imunitárias. [12]

A colonização bacteriana desempenha um papel fundamental na patogénese da ECN. Habitualmente, a colonização normal do trato GI ocorre rapidamente após o parto, no entanto, nos RN prematuros está alterada, em grande medida, pelo ambiente das UCIN. A motilidade intestinal imatura associada à prematuridade também predispõe o crescimento excessivo de bactérias, que não é seletivo devido à coexistência da imaturidade da defesa da mucosa no hospedeiro. Por outro lado, o aumento da permeabilidade GI potencia a translocação bacteriana. Assim, todos estes fatores apoiam e promovem a invasão de microrganismos patogénicos na circulação sanguínea e ativam a resposta imunológica, com intensa resposta inflamatória intestinal. [13]

Existem outros fatores, ainda um pouco controversos e baseados em dados observacionais, que potencialmente também conferem um risco aumentado de ECN. Entre eles estão o reduzido aporte de oxigénio intestinal pela anemia, a regulação vascular aberrante do intestino e/ou a transfusão de eritrócitos, que podem ser responsáveis por lesões de reperfusão intestinal. Para além disso, acredita-se também que o uso de leite artificial em vez de leite humano possa contribuir para o aumento do risco de ECN, estando a utilização de leite humano associada a uma diminuição de 77% do risco de ECN comparativamente ao uso de leite artificial. [8], [12], [14]

### **1.3. Apresentação clínica e diagnóstico**

A ECN afeta mais frequentemente o íleo terminal, o cego e o cólon ascendente. Os sinais clínicos típicos envolvem distensão abdominal, vômitos biliosos ou hemáticos, diarreia, eritema da parede abdominal e presença de sangue nas fezes. O diagnóstico é baseado em evidências radiológicas, incluindo distensão, pneumatose e perfuração intestinal, esta última associada a pneumoperitoneu. [10], [15] É de referir que a pneumatose intestinal, presença de ar na parede intestinal em consequência do crescimento bacteriano excessivo, é um sinal radiológico virtualmente patognomónico de ECN, estando presente em até 95 a 98% dos casos. De facto, a presença de gás intramural confirma o diagnóstico de ECN, ainda que a sua ausência não exclua a patologia. [15]

Contudo, nas fases mais iniciais, a ECN é difícil de diagnosticar, pois a apresentação inicial da doença inclui febre, apneia, bradicardia, letargia e leve intolerância alimentar, sintomas mais inespecíficos que são comuns a muitos outros processos sépticos. [1]

#### **1.4. Tratamento e prevenção**

Na maioria dos casos, não existe ainda tratamento eficaz para a ECN, isto é, sem patologia sequelar. [1] O atual regime de tratamento para lactentes com ECN inclui suporte cardiorrespiratório e hemodinâmico, decompressão gástrica, antibioterapia de largo espectro e nutrição parentérica. A intervenção cirúrgica, necessária em até 50% dos casos, envolve resseção do intestino necrótico ou drenagem peritoneal e é indicada quando não se verifica melhoria com a terapêutica médica ou em caso de pneumoperitoneu. [1], [10]

Ao longo dos últimos anos, foram desenvolvidas diferentes estratégias de prevenção da ECN. [10] Dado que mais de 90% dos casos de ECN ocorrem em RN prematuros, a prevenção de nascimentos pré-termo deveria ser uma prioridade, a fim de prevenir a ECN; no entanto, não existe qualquer método eficaz para o conseguir atualmente. Por outro lado, a ECN frequentemente progride de sinais inespecíficos para necrose extensa numa questão de horas com tratamento médico e cirúrgico, tornando a prevenção secundária difícil de alcançar. [2], [11]

Desta forma, a prevenção primária da ECN deve ser a prioridade. Recentemente, os progressos no conhecimento da fisiopatologia da doença e o investimento na área dos ensaios clínicos têm proporcionado uma nova esperança na prevenção da ECN. É nesta medida que o leite humano tem sido apresentado como um fator protetor contra a ECN, sendo, conseqüentemente, uma importante arma na prevenção primária desta patologia. [11]

## 2. Prematuridade

A Organização Mundial da Saúde define como pré-termo qualquer criança nascida antes das 37 semanas de gestação, ou seja, consideram-se prematuros todos os RN vivos com menos de 37 semanas completas de gestação (<259 dias), contadas a partir do primeiro dia do último período menstrual.

Com os avanços da tecnologia, nomeadamente, com a criação das UCIN equipadas com tecnologia médica de ponta, tem havido um aumento da sobrevivência de prematuros cada vez menores, RNMBPN, peso inferior a 1500 g, e recém-nascidos de extremo baixo peso ao nascer (RNEBPN), peso inferior a 1000 g, que antes eram considerados inviáveis. [16]

No entanto, a mortalidade e a morbilidade neonatais continuam a ser maiores entre os RN prematuros. Isto resulta do facto dos RN prematuros serem mais vulneráveis a inúmeras patologias, sendo que o risco de sequelas a longo prazo, bem como a mortalidade, aumentam exponencialmente com a diminuição da idade gestacional. [17]

A imaturidade geral dos RN prematuros pode levar à disfunção de qualquer órgão ou sistema corporal, sendo que estes podem sofrer comprometimentos ou intercorrências ao longo do seu desenvolvimento. É importante salientar a vulnerabilidade biológica dos prematuros e os riscos originados no processo terapêutico nas UCIN, considerando-se a utilização de procedimentos de alta complexidade e o período de internamento prolongado. Os RN prematuros estão frequentemente sujeitos à utilização de cateteres centrais, nutrição parentérica e ventilação mecânica. [16], [18] Verifica-se que, devido às complicações médicas da prematuridade, bem como às complicações decorrentes das terapêuticas instituídas, estes RN são mais suscetíveis a infeções e outras patologias, nomeadamente, displasia broncopulmonar, lesão cerebral, retinopatia da prematuridade, sépsis e ECN. [16], [17]

Assim, devido à imaturidade do sistema imunitário, em muitos RN prematuros existe uma limitação das funções de defesa do intestino, nomeadamente, redução da integridade das junções de oclusão epiteliais, défice de componentes do revestimento mucoso e défice de IgA, o que pode contribuir para o desenvolvimento de ECN. [11]

### 3. Microbiota intestinal

Em indivíduos saudáveis, todo o trato GI está colonizado com bactérias, distribuídas de forma heterogênea. O estômago e o intestino delgado constituem ambientes desfavoráveis à colonização e proliferação bacterianas, por sua vez, o íleo é um sítio de transição bacteriológica, entre a escassa população bacteriana do jejuno e a densa flora do cólon.

No cólon, principalmente na sua porção proximal, as bactérias encontram condições favoráveis para proliferarem devido ao peristaltismo lento, à ausência de secreções intestinais e ao abundante suprimento nutricional. Dentro da população bacteriana do cólon, o gênero *Bacteroides* é o mais frequente, mas os *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, família *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* e *Clostridium* também estão presentes, sendo que se considera uma microbiota intestinal saudável aquela onde exista grande quantidade de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. [4]

#### 3.1. Desenvolvimento e estabelecimento da microbiota intestinal nos RN

Durante muito tempo, acreditou-se que o intestino fetal era estéril, sendo banhado apenas por líquido amniótico. [4] No entanto, a evidência mais recente sugere, por um lado, que a aquisição da microbiota pode começar logo no útero e, por outro lado, que a transferência placentária de microrganismos pode influenciar o desenvolvimento da microbiota. [12] Apesar disto, a colonização bacteriana intestinal inicia-se essencialmente no momento do nascimento, quando o RN é exposto a diferentes espécies de microrganismos presentes na mãe (canal vaginal, região perineal e pele) e no meio ambiente. [4], [12] Nessa altura, há uma seleção da flora com persistência de algumas populações bacterianas e eliminação de outras.

O estabelecimento da microbiota normal nos RN é um processo progressivo, lento e que depende do equilíbrio entre bactérias benéficas e patogênicas. Fatores intrínsecos, nomeadamente, a saúde do RN e o seu estado imunológico e fatores extrínsecos, como a dieta da mãe, a prematuridade, o tipo de parto (eutócico ou cesariana), o tipo de aleitamento (materno ou artificial) e a utilização de antibióticos, são todos fatores que influenciam o processo de colonização e o tipo de organismos que se estabelece. [4]

A microflora da criança nascida por parto vaginal é composta, inicialmente, pela flora materna que contamina o canal de parto, incluindo enterobactérias, estafilococos e

enterococos. [12] Na criança que nasce de cesariana, não há participação da flora materna e o meio ambiente torna-se a fonte inicial de contaminação. Nestas crianças, o estabelecimento de uma flora estável ocorre mais tardiamente, a frequência de colonização por lactobacilos e bifidobactérias é menor do que naquelas nascidas por parto vaginal, sendo mais comum a presença de bactérias anaeróbias (*Bacteroides* e *Clostridium*).

Após o nascimento e exposição ao meio ambiente, a alimentação é o fator que mais influencia o desenvolvimento da microbiota intestinal. Na flora do RN com aleitamento materno há grande predomínio das bifidobactérias e lactobacilos (> 90%), havendo pequena quantidade de espécies bacterianas potencialmente patogênicas. Pelo contrário, os RN alimentados com fórmulas artificiais desenvolvem uma flora mais diversa, sem predomínio de bifidobactérias (40 a 60%). [4]

Portanto, há desde logo uma proliferação seletiva de microrganismos no trato GI dos RN, ou seja, ocorrem importantes alterações na microbiota intestinal e, conseqüentemente, no microbioma intestinal, isto é, nos genes expressos por esses microrganismos. [19]

### **3.2. Microbiota intestinal dos RN prematuros**

A microbiota intestinal dos RN prematuros é significativamente diferente da microbiota intestinal dos RN de termo. Os RN prematuros são geralmente colonizados com Firmicutes (predominantemente estafilococos, estreptococos e enterococos) e Proteobactérias (predominantemente *Enterobacteriaceae* gram-negativas) e apresentam uma marcada ausência de bifidobactérias durante várias semanas ou meses. [19] A esta composição inadequada da microbiota intestinal dos RN prematuros, com um equilíbrio desfavorável entre bactérias comensais e patogênicas, dá-se o nome de disbiose. Tal situação é consequência de uma combinação de fatores ambientais inerentes às UCIN, nomeadamente, a exposição frequente a antibióticos e está também relacionada com fatores endógenos, incluindo o genótipo e a imaturidade das respostas imunes intestinais dos RN prematuros.

Considera-se que a disbiose intestinal é, precisamente, o fator mais preponderante na fisiopatologia da ECN, o que torna os RN prematuros especialmente suscetíveis a esta patologia. Vários estudos mostram uma evidente associação entre ECN

e disbiose precoce, revelando que existe um agravamento da disbiose antes do surgimento da ECN. [11], [19]

#### 4. Leite humano e ECN

De acordo com a Academia Americana de Pediatria, o uso de leite humano é considerado o padrão normativo para a alimentação nos lactentes, estando associado a efeitos benéficos a curto e longo prazo na saúde neonatal, da criança, do adolescente e do adulto. A alimentação exclusiva com leite humano é recomendada nos primeiros seis meses de vida e, em combinação com alimentos sólidos, é aconselhável prolongar a amamentação até aos dois anos de idade. [20]

O leite humano, completa formulação natural de hormonas, anticorpos, antimicrobianos e nutrientes, é a única fonte de alimentação através da qual os lactentes adquirem todos os elementos necessários ao seu desenvolvimento, para além de prevenir várias patologias agudas e crónicas. [8], [20] De facto, o leite humano é uma fonte complexa e completa de moléculas bioativas que ajudam a proteger o RN contra doenças infecciosas, enquanto enriquecem seletivamente a microbiota intestinal, tornando-a protetora e benéfica. [20]

Vários estudos correlacionam a amamentação com uma melhoria da resposta imunitária, do desenvolvimento cognitivo, do crescimento e, de uma forma geral, com uma melhoria dos parâmetros de saúde. Por outro lado, o aleitamento materno tem sido também consistentemente associado à redução da morbilidade e da mortalidade por infeções respiratórias e gastrointestinais, síndrome de morte súbita do lactente e ECN em RN prematuros. [7], [8], [20]

Comparando com os lactentes alimentados com leite humano exclusivo, os lactentes alimentados com leite artificial têm um risco mais elevado de morbilidade infecciosa durante o primeiro ano de vida, o que pode ser explicado pela presença de fatores imunes inatos e específicos no leite materno, nomeadamente, anticorpos IgA. [21] Assim, o leite humano é considerado uma ótima fonte nutricional para todos os RN, sendo especialmente importante para os RN prematuros. No que diz respeito à ECN, uma dieta entérica contendo pelo menos 50% de leite humano nos primeiros 14 dias de vida está associada a uma diminuição de 6 vezes na incidência desta patologia. [22] Por outro lado, há estudos que demonstram que entre os RN prematuros, aqueles que não consomem leite humano têm um risco de ECN 2,4 vezes superior. Uma vez que a terapêutica preventiva e curativa da ECN disponível atualmente é muito limitada, a taxa de mortalidade é de aproximadamente 30%. [23] Neste sentido, o risco acrescido de desenvolver ECN que se verifica nos RN alimentados com leite artificial é clinicamente muito significativo. [21]

Há ainda um estudo que demonstrou que os RNMBPN que não receberam leite humano exclusivo durante um período mínimo de 7 dias tiveram um risco 4 vezes superior de desenvolver ECN, comparativamente àqueles que foram alimentados de forma exclusiva com leite humano durante, pelo menos, 7 dias. Este resultado sublinha a potencial importância de um número mínimo de dias de consumo de leite materno para que o mesmo tenha um efeito preventivo contra a ECN. [14]

Posto isto, e uma vez que os efeitos benéficos do leite humano estão relacionados com a sua particular composição [8], vários estudos têm tentado identificar e caracterizar os componentes presentes no leite humano que podem potencialmente mediar efeitos protetores contra a ECN. [23]

#### **4.1. Componentes do leite humano que conferem proteção contra a ECN [1]**

No que diz respeito ao efeito protetor do leite humano contra a ECN, vários componentes têm sido implicados neste papel, nomeadamente, nitratos/nitritos, L-glutamina, oligossacáridos do leite humano (OLH), lactoferrina e fatores de crescimento.

##### **4.1.1. Nitrato/Nitrito**

O óxido nítrico (ON) é produzido por várias células, incluindo os macrófagos e o epitélio intestinal. Nos RN, a conversão bacteriana de nitrato em nitrito está reduzida comparando com crianças mais velhas, desta forma, a única fonte de nitrito de sódio é a dieta. Estudos realizados pelo Hospital Pediátrico de Pittsburgh e pela Faculdade de Medicina de Pittsburgh, em 2014, demonstraram que o leite humano, quando comparado com o leite artificial, é mais rico em nitrato de sódio, o qual é precursor de ON e nitrito. Através da utilização de modelos experimentais de animais com ECN, ficou claro que o nitrato ou o nitrito de sódio podem ter um efeito protetor na patogénese desta doença, devido aos seus efeitos vasodilatadores a nível intestinal, que provocam um aumento do fluxo sanguíneo, evitando a necrose intestinal. [1]

##### **4.1.2. L-Glutamina**

A L-Glutamina é um aminoácido presente no leite humano, que estimula a proliferação de células intestinais. A deficiência nutricional deste componente tem sido

apontada como fator de risco para a ECN, tendo sido reportada a diminuição dos níveis plasmáticos de L-Glutamina pelo menos 10 dias antes do início da ECN. [1]

#### 4.1.3. Oligossacáridos do leite humano

Os OLH, hidratos de carbono não digeríveis, constituem um dos principais componentes do leite humano, sendo tidos como grandes responsáveis pelo seu efeito protetor contra o desenvolvimento de ECN. A principal função dos OLH é modelar a microbiota intestinal dos RN, o que tem consequências a longo prazo. [19] Os OLH também influenciam a atividade das células imunitárias, reduzindo a infiltração e a ativação de neutrófilos e fornecem um substrato para a proliferação de bactérias benéficas, *Lactobacillus* e *Bifidobacteria*. [1], [24]

A predominância de bifidobactérias nas fezes de RN saudáveis alimentados com leite humano começou a ser descrita há mais de 100 anos, levando à hipótese de que o leite humano continha “fatores bifidogênicos” que estimulavam o crescimento dessas bifidobactérias. Mais tarde, verificou-se que os OLH possuem, de facto, esse papel “bifidogênico” funcionando como prebióticos, no sentido em que promovem o crescimento de determinadas espécies bacterianas capazes de os degradar e consumir.

*Bifidobacterium longum subspecies infantis* (*B. infantis*) é, assim, a única espécie entre as bactérias intestinais com a capacidade de metabolizar qualquer estrutura dos OLH, pelo facto do seu genótipo codificar um conjunto de glicosidases e transportadores de oligossacáridos que não é encontrado nas outras espécies bacterianas. Experiências *in vitro* mostram que na presença de OLH, *B. infantis* prolifera melhor do que as outras estirpes bacterianas, ao mesmo tempo que apresenta uma atividade anti-inflamatória e diminui a permeabilidade intestinal. [19], [24], [25]

Para além disso, *Jantscher-Krenn* et al investigaram um modelo animal de ECN, que demonstrou que os OLH melhoram a sobrevivência e atenuam a gravidade da ECN. Estão, atualmente, identificados cerca de 200 OLH, no entanto, foi encontrado um OLH específico que medeia a proteção contra a ECN, o *disialyllacto-N-tetraose* (DSNLT). Este estudo é importante, não apenas como um meio inovador de prevenção da ECN, mas também por identificar este OLH como um biomarcador, no sentido em que pode identificar os RN em maior risco de desenvolvimento de ECN, com base na concentração de DSNLT presente no leite materno. [1]

#### **4.1.4. Lactoferrina**

A Lactoferrina é uma glicoproteína presente no leite humano de várias espécies animais, que, devido às suas propriedades antimicrobianas, tem sido implicada nos efeitos benéficos do leite humano na prevenção da ECN. Este componente também mostrou atenuar a libertação de citocinas pró-inflamatórias e estimular a proliferação de enterócitos, a qual é essencial na manutenção da integridade da mucosa intestinal, um fator importante na patogénese da ECN. [1]

#### **4.1.5. Fatores de crescimento**

O leite humano é conhecido por ser rico em vários fatores de crescimento, que em conjunto promovem a saúde da mucosa intestinal, através dos seus efeitos na migração, proliferação e maturação do epitélio intestinal. Particularmente, o fator de crescimento epidérmico (FCE), crítico para o desenvolvimento intestinal, pode ser encontrado no leite humano. Vários investigadores demonstraram, em modelos animais, que o FCE atenua a gravidade da ECN, protege contra a rutura da barreira intestinal, normaliza a expressão de proteínas nas junções de oclusão do intestino e inibe a apoptose de enterócitos, frequentemente observada na ECN.

O fator de crescimento epidérmico ligado à heparina (FCELH) foi outro fator de crescimento estudado num modelo experimental de ECN, tendo sido demonstrado que protege contra a ECN, promovendo a migração e proliferação de enterócitos. Além disso, *Besner* e o seu grupo de trabalho também descobriram que o FCELH aumenta o fluxo sanguíneo microvascular intestinal. [1]

## Conclusão

Apesar de todas as investigações levadas a cabo nas últimas décadas, a ECN continua a ser responsável por taxas de mortalidade e morbidade muito elevadas entre os RN prematuros. O aumento da sobrevivência de RN prematuros de muito baixo peso tem, de certa forma, contribuído para o aumento da incidência desta patologia.

Na medida em que não existe ainda um tratamento eficaz para a ECN e a prevenção secundária é muitas vezes dificultada pela rápida progressão da doença, a prioridade centra-se na prevenção primária. É neste sentido que vários estudos se têm debruçado no potencial contributo do leite humano como fator protetor e preventivo da ECN.

Devido à sua composição única, o leite humano tem inúmeras propriedades que interferem na patogénese da ECN, diminuindo a sua incidência. Entre os benefícios do leite humano responsáveis por conferir esta proteção, destacam-se o seu efeito anti-inflamatório, o aumento do fluxo sanguíneo microvascular intestinal, a manutenção da integridade da mucosa intestinal e, essencialmente, o facto de atuar como prebiótico, ao modelar a microbiota intestinal dos RN prematuros, promovendo a proliferação de bactérias benéficas.

Os estudos demonstram que o aleitamento materno está associado a uma diminuição do risco de ECN, comparativamente à utilização de leite artificial. A evidência científica mostra que há uma diminuição clara do risco de ECN quando se promove uma dieta contendo pelo menos 50% de leite humano nos primeiros 14 dias de vida do RN ou quando o RN é alimentado com leite humano exclusivo durante um período mínimo de 7 dias.

Estes dados apoiam as recomendações da Academia Americana de Pediatria, que incentiva a alimentação com leite humano a todos os RNMBPN. Existe, desta forma, um consenso geral ao afirmar que o aleitamento materno é a estratégia mais eficaz na prevenção da ECN.

Assim, deve ser feito um esforço por parte dos profissionais de saúde, nomeadamente, pediatras e obstetras, no sentido de promover a alimentação dos RN prematuros com leite materno/humano, uma vez que este mostrou ser uma importante arma na luta pela redução da mortalidade e morbidade associadas à ECN.

## **Agradecimentos**

À Dr.<sup>a</sup> Graça Oliveira, por se ter mostrado sempre tão disponível na orientação deste trabalho.

À minha família e a todos aqueles que me acompanham e apoiam.

## Referências bibliográficas

- [1] M. Good, C. P. Sodhi, and D. J. Hackam, “Evidence-based feeding strategies before and after the development of necrotizing enterocolitis.,” *Expert Rev. Clin. Immunol.*, vol. 10, no. 7, pp. 875–84, 2014.
- [2] A.-C. Chen, M.-Y. Chung, J. H. Chang, and H.-C. Lin, “Pathogenesis implication for necrotizing enterocolitis prevention in preterm very-low-birth-weight infants.,” *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 58, no. 1, pp. 7–11, 2014.
- [3] G. Athalye-Jape, K. More, and S. Patole, “Progress in the field of necrotising enterocolitis--year 2012.,” *J. Matern. Neonatal Med.*, vol. 26, no. 7, pp. 625–32, 2013.
- [4] A. Margarida, D. Santos, A. Andrade, M. Carvalho, T. Monteiro, and A. Salazar, “ARTIGO REVISÃO BIBLIOGRÁFICA Microflora intestinal!: uma barreira imunológica desconhecida Gut microbiota!: an unknown immunologic barrier,” vol. 1, pp. 1–24, 2010.
- [5] K. W. Reisinger, L. de Vaan, B. W. Kramer, T. G. A. M. Wolfs, L. W. E. van Heurn, and J. P. M. Derikx, “Breast-Feeding Improves Gut Maturation Compared With Formula Feeding in Preterm Babies,” *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 59, no. 6, pp. 720–724, 2014.
- [6] I. Le Huërrou-Luron, S. Blat, and G. Boudry, “Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects.,” *Nutr. Res. Rev.*, vol. 23, no. 1, pp. 23–36, 2010.
- [7] M. S. Kramer, “‘Breast is best’: The evidence,” *Early Hum. Dev.*, vol. 86, no. 11, pp. 729–732, 2010.
- [8] E. Verduci *et al.*, “Epigenetic effects of human breast milk,” *Nutrients*, vol. 6, no. 4, pp. 1711–1724, 2014.
- [9] K. Herrmann and K. Carroll, “An exclusively human milk diet reduces necrotizing enterocolitis.,” *Breastfeed. Med.*, vol. 9, no. 4, pp. 184–90, 2014.
- [10] G. Schmolzer *et al.*, “Multi-modal approach to prophylaxis of necrotizing enterocolitis: Clinical report and review of literature,” *Pediatr. Surg. Int.*, vol. 22, no. 7, pp. 573–580, 2006.
- [11] H.-Y. Lin, J. H. Chang, M.-Y. Chung, and H.-C. Lin, “Prevention of necrotizing enterocolitis in preterm very low birth weight infants: Is it feasible?,” *J. Formos. Med. Assoc.*, vol. 113, no. 8, pp. 1–8, 2013.

- [12] R. M. Patel and P. W. Denning, “Intestinal microbiota and its relationship with necrotizing enterocolitis.,” *Pediatr. Res.*, vol. 78, no. 3, pp. 232–8, 2015.
- [13] R. J. Schanler, “Em tempo: leite humano! é a estratégia alimentar para prevenir a enterocolite necrosante,” *Rev. Paul. Pediatr.*, vol. 33, no. 2, pp. 131–133, 2015.
- [14] K. S. Kimak, M. M. de Castro Antunes, T. D. Braga, K. G. Brandt, and M. de C. Lima, “Influence of Enteral Nutrition on Occurrences of Necrotizing Enterocolitis in Very-Low-Birth-Weight Infants,” *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 61, no. 4, pp. 445–450, 2015.
- [15] D. Penha, E. Rosado, P. Cabral, E. Pinto, A. Tavares, and A. Costa, “Enterocolite Necrosante Neonatal!: Uma Revisão Iconográfica Das Alterações Radiológicas,” *Rev. Clínica Hosp. Profr. Doutor Fernando Fonseca*, vol. 2, no. 1, pp. 34–36, 2013.
- [16] R. I. D. A. Chagas, C. M. U. Ventura, G. M. J. De Lemos, D. F. M. Dos Santos, and J. J. Da Silva, “Análise dos fatores obstétricos, socioeconômicos e comportamentais que determinam a frequência de recém-nascidos pré-termos em utero neonatal,” *Rev. Soc. Bras. Enferm. Ped.*, pp. 7–11, 2009.
- [17] Oliveira, “Recém-Nascidos Prematuros De Muito Baixo Peso!: Acompanhamento Do Crescimento Nos Primeiros Doze Meses De Recém-Nascidos Prematuros De Muito Baixo Peso!: Acompanhamento Do,” *Pediatria (Santiago)*, 2007.
- [18] Ü. Parm, T. Metsvaht, M. L. Ilmoja, and I. Lutsar, “Gut colonization by aerobic microorganisms is associated with route and type of nutrition in premature neonates,” *Nutr. Res.*, vol. 35, no. 6, pp. 496–503, 2014.
- [19] Mark A. Underwood, Bruce German, Carlito B. Lebrilla, and David A. Mills, “*Bifidobacterium longum* subspecies *infantis*: champion colonizer of the infant gut,” *Pediatr Res.*, vol. 77, no. 0, pp. 229–235, 2015.
- [20] A. R. Pacheco, D. Barile, M. A. Underwood, and D. A. Mills, “The Impact of the Milk Glycobiome on the Neonate Gut Microbiota,” *Annu Rev Anim Biosci.*, vol. 3, pp. 419–445, 2015.
- [21] A. Stuebe, “The risks of not breastfeeding for mothers and infants.,” *Rev. Obstet. Gynecol.*, vol. 2, no. 4, pp. 222–31, 2009.
- [22] A. Kantorowska, J. C. Wei, R. S. Cohen, R. A. Lawrence, J. B. Gould, and H. C. Lee, “Impact of Donor Milk Availability on Breast Milk Use and Necrotizing Enterocolitis Rates,” *Pediatrics*, vol. 137, no. 3, pp. 1–8, 2016.
- [23] S. J. McElroy *et al.*, “The ErbB4 Ligand Neuregulin-4 Protects against

- Experimental Necrotizing Enterocolitis,” *Am. J. Pathol.*, vol. 184, no. 10, pp. 2768–2778, 2014.
- [24] L. Bode, “Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama,” *Glycobiology*, vol. 22, no. 9, pp. 1147–1162, 2012.
- [25] M. A. Underwood, “Human milk for the premature infant,” *Pediatr Clin North Am.*, vol. 60, no. 1, pp. 189–207, 2013.