O sexo masculino é fator de risco independente para pior desenvolvimento neurológico na idade corrigida de 20 meses, em lactentes muito prematuros e alimentados com leite humano: estudo de coorte

Male sex is an independent risk factor for poor neurodevelopmental outcome at 20 months' corrected age, in human milk-fed very preterm infants: a cohort study

Israel Macedo1,2, Luís Pereira-da-Silva2,3, Lília Brito1, Manuela Cardoso1

1 Maternidade Dr. Alfredo da Costa, Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central, Lisboa, Portugal.
2 NOVA Medical School, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal.
3 Hospital Dona Estefânia, Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central, Lisboa, Portugal.

DOI: 10.31744/einstein_journal/2019A04607
neonatal cofactors. Methods: Consecutive inborn human milk-fed infants, with gestational age <33 weeks, were eligible. In-hospital energy and protein intakes have relied on measured human milk composition. The Bayley Scales of Infant Development II mental and psychomotor developmental indexes were used to assess neurodevelopment at 20 months’ corrected age. After univariate analysis, some covariables were used for linear multiple regression. Results: Thirty-two infants were included, with a mean (standard deviation) gestational age of 29.8 (1.8) weeks, and a median birth weight of 1168g (interquartile range 990-1419g). Minimum recommended intakes were achieved in 63.6% and 15.2% of infants for protein and energy, respectively. The mental and psychomotor developmental indexes were within normal limits in 93.8% of infants. The mean mental and psychomotor developmental indexes were significantly lower in males. Only male sex negatively and significantly affected the mental and psychomotor developmental indexes (B=-9.44; 95%CI: -17.64- -1.23; adjusted r²=0.17; p=0.026), adjusted to gestational age and measured energy intake. Conclusion: In human milk-fed very preterm infants, males had a significantly lower mental and psychomotor developmental indexes score at 20 months’ corrected age, adjusted for gestational age and measured energy intake.

Keywords: Human, milk; Neurodevelopment disorders; Nutrients; Infant, premature; Sex

ISRCTN ID: 27916681

I INTRODUÇÃO

O sexo masculino já foi descrito como fator de risco independente para pior desenvolvimento neurológico em lactentes prematuros.(1,2) Foram propostos alguns motivos para explicar essa desvantagem de prematuros do sexo masculino, como pior resposta adaptativa ao estresse pré-natal,(3) estado pró-oxidativo da placenta,(4) e algumas características morfológicas específicas do cérebro.(5,6)

O tipo de alimentação é um fator independente importante para o desenvolvimento cognitivo. Em lactentes muito prematuros, a ingestão de leite humano (LH) nos primeiros dias de vida parece estar independentemente associada a um melhor neurodesenvolvimento.(7,8)

Ainda não se sabe ao certo se os requisitos nutricionais no período neonatal são diferentes para lactentes prematuros do sexo masculino e feminino, e se o neurodesenvolvimento é afetado. Estudo com lactentes prematuros não encontrou nenhuma interação da dieta e do sexo com o neurodesenvolvimento na idade corrigida de 9 meses.(9) Por outro lado, alguns autores sugeriram que a nutrição subótima no ambiente hospitalar pode alterar a organização cerebral e o prognóstico neurocognitivo, com sensibilidade particular no sexo masculino.(10,11) Além disso, há relatos de melhora no neurodesenvolvimento de lactentes prematuros do sexo feminino, que receberam quantidades mais altas de proteínas(10) e ácido docosa-hexaenoico.(12)

Estudos publicados, que avaliaram a associação entre a dieta nos primeiros dias de vida e o neurodesenvolvimento ajustado ao sexo, em lactentes prematuros alimentados com LH, não mediram a composição do LH. Em vez disso, a ingestão de nutrientes fornecidos pelo LH baseou-se em suposição da composição do leite, ou no crescimento como medidas equivalentes de suporte nutricional.(10,11,13-15)

Nossa hipótese, no presente estudo, foi de um melhor prognóstico para o sexo feminino, ajustado para a ingestão de energia e proteínas, e para a proporção proteico-energética, medidas no ambiente hospitalar, além de outras covaráveis neonatais relevantes.

OBJETIVO

Determinar a associação entre sexo e neurodesenvolvimento em lactentes alimentados com leite humano muito prematuros.

I MÉTODOS

Desenho do estudo e participantes

Trata-se de análise secundária baseada em estudo de coorte de nascimentos, desenhado para avaliar a associação da ingestão de nutrientes intra-hospitalar com a composição corporal e o desfecho em termos de desen- volvimento neurológico. Foi investigada a associação entre o sexo e o neurodesenvolvimento na idade corrigida de 20 meses. O estudo foi realizado na Unidade de Terapia Intensiva da Maternidade Dr. Alfredo da Costa, Centro Hospitalar de Lisboa Central, em Lisboa, Portugal. O estudo foi aprovado pelo Comité de Ética do hospital e registrado no ISRCTN (ID: 27916681). Foi obtido Consentimento Livre e Esclarecido dos pais ou representantes legais de cada uma das crianças.

O protocolo do estudo foi descrito em outra publicação.(16) Em suma, lactentes consecutivos nascidos em instituições especializadas, com <33 semanas de gestação, alimentados com LH na quantidade mínima de 80mL/kg/dia (criterio de conveniência para tolerância à nutrição enteral) foram considerados como candidatos neste estudo. Lactentes com malfomações congênitas significativas e trigêmeos (ou mais) foram excluídos. Lactentes com diagnóstico de erros inatos do metabolismo, ou que foram posteriormente alimentados com fórmula acima de 12,5% do volume ingerido por nutrição enteral, ou aqueles transferidos, que vieram a óbito ou não estavam disponíveis para as avaliações de desenvolvimento neurológico foram excluídos. Em nossa unidade, a nutrição enteral é administrada a cada 3 horas (oito vezes ao dia); como criterio de conveniência, os lactentes foram considerados predominantemente ali-
O sexo masculino é fator de risco independente para pior desenvolvimento neurológico na idade corrigida de 20 meses.

As variáveis independentes clínicas e demográficas registradas foram sexo, gestação única ou gemelar, idade gestacional (IG), peso ao nascimento, pequeno para a IG (peso ao nascimento < percentil 10), e ingestão diária medida de proteínas e energia, além da proporção proteico-energética, pontuação na Score for Neonatal Acute Physiology – Perinatal Extension II (SNAP-PE II) e uso pré- e pós-natal de corticosteroides, diagnóstico de sepse de início tardio, enteroocolite necrosante grave (grau ≥3B), hemorragia peri-intraventricular grave (grau ≥3), leucomalácia periventricular multicística, dias de ventilação invasiva e suplementação de oxigênio, retinopatia da prematuridade (doença em estágio 3 ou superior) e doença pulmonar crônica.

A IG foi determinada por ultrassom pré-natal precoce, ou pelo primeiro dia do último ciclo menstrual e, no caso de tecnologias de reprodução assistida, adicionando-se 2 semanas antes da data de concepção.

Protocolo de nutrição
Os lactentes foram alimentados de acordo com o protocolo de nutrição da unidade de terapia intensiva neonatal, com base em recomendações internacionais e nacionais de nutrição parenteral (NP) e enteral de neonatos. A NP foi iniciada nas primeiras 2 horas após o nascimento, com 2,5g/kg/dia de aminoácidos, sendo aumentada até 3,8-4,0g/kg/dia; lípídeos parenterais foram iniciados nas primeiras 24 horas após o nascimento, a 1g/kg/dia, e aumentados até 3g/kg/dia. A nutrição enteral trófica precoce (10 a 20mL/kg/dia) foi iniciada nos primeiros 2 a 4 dias após o nascimento com LH; subsequentemente, a nutrição enteral foi aumentada, e a NP, proporcionalmente reduzida. Até 35 semanas de idade corrigida, usou-se exclusivamente LH (leite da própria mãe – LPM, ou LH de doadora – LHD). Se o LPM não fosse suficiente após 35 semanas de idade corrigida, usou-se fórmula para prematuros, devido à limitação no estoque de LHD. A nutrição foi prescrita por médicos, em colaboração com um nutricionista.

O LHD e o LPM foram armazenados congelados no banco de leite da maternidade. Para cada lactente, uma amostra de 3mL da soma das coletas diárias de LPM foi avaliada com analisador de infravermelho médio (Miris AB, Uppsala, Suécia). A composição do LHD foi analisada sempre. Os médicos, o nutricionista e o psicólogo desconheciam a composição do LH durante todo o período de estudo. Quando predominou a amamentação natural (volume ingerido e composição desconhecidos), a análise de composição do LPM foi suspensa.

Um fortificante de LH (Aptamil FMS®, Milupa/Danone GmbH, Friedrichsdorf, Alemanha) foi usado quando a ingestão de LH tivesse sido, no mínimo, 100mL/kg/dia. O método de fortificação padrão foi suplementação com proteína modular (Aptamil Protein Supplement® em pó, Milupa/Danone GmbH, Friedrichsdorf, Alemanha) e/ou com triglicerídeos modulares de cadeia média (óleo MCT OIL, SHS Nutricia/Danone®, GmbH, Friedrichsdorf, Alemanha), considerando-se o teor mais baixo de proteína reportado para o LH. Os volumes administrados de LPM e LHD foram usados para calcular a ingestão de energia e proteínas, e a proporção proteico-energética.

Avaliação do desenvolvimento neurológico
Os índices de desenvolvimento mental e psicomotor (MDI – mental developmental indexes) e (PDI – psychomotor developmental indexes) da Bayley Scales of Infant Development II (BSID-II) foram usados para avaliar o desenvolvimento funcional nesta amostra de estudo. É uma ferramenta validada para crianças com até 42 meses de idade. O MDI mede as funções cognitiva, de linguagem e pessoal-social, e a escala motora mede o controle das funções motoras grossa e fina. A confiabilidade da pontuação de ambas as escalas foi demonstrada na amostra normativa de crianças, com coeficientes de consistência interna variando entre 0,78 e 0,93, para o MDI, e entre 0,75 e 0,91, para o PDI.

A confiabilidade da pontuação do teste-reteste na amostra normativa foi de moderada a alta para faixa etária próxima à examinada neste estudo (r=0,91, para o MDI, e r=0,79, para o PDI, aos 24 meses de idade). Os escores médios de MDI e PDI foram classificados como dentro dos limites normais (≥85), atraso leve (70 a 84) ou atraso grave (<70).

A avaliação de neurodesenvolvimento foi inicialmente agendada para a idade corrigida de 18 meses. No entanto, outras avaliações tinham sido programa-
das para esta idade, e ficou decidido que a avaliação de neurodesenvolvimento seria adiada por 2 meses (para 20 meses de idade corrigida) para que fossem realizadas em melhores condições.

**Análise estatística**

A análise estatística foi realizada com os programas R versão 3.4.0 (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) e *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 13 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Para determinar a associação entre a ingestão intra-hospitalar de nutrientes e o neurodesenvolvimento na 20a semana de idade corrigida, uma amostra de 75 lactentes foi estimada para detectar qualquer diferença ≥11 no MDI ou PDI, e desvio padrão (DP) de ≥8 pontos em variável com distribuição normal, com nível de significância estabelecido em 0,05 e 80% de poder. A normalidade das variáveis numéricas contínuas foi testada, usando-se o teste de Shapiro-Wilk, e os dados são expressos de acordo com medidas centrais e de dispersão adequadas. A análise univariada foi realizada pelos testes *t* de Student, *U* de Mann-Whitney, *r* de Pearson ou tau-b de Kendall, conforme apropriado. As variáveis categóricas foram descritas em seus valores absolutos e frequências relativas comparadas, usando o teste *χ²* ou o teste exato de Fisher. Quando a análise de composição do LPM não foi possível, análise *post-hoc* para dedução dos valores faltantes foi realizada, conforme descrito anteriormente. O efeito das covariáveis foi primeiro explorado por análise univariada, selecionando-se as associações com *p*<0,15 e, após esclarecimento de todas as suposições, por regressão linear múltipla. O método reverso foi, então, usado, com o MDI e o PDI como variáveis dependentes, e o sexo como variável independente.

**RESULTADOS**

O estudo foi interrompido antes que o tamanho de amostra calculado fosse alcançado, devido a impedimentos logísticos. O período de inclusão de participantes foi de 1º de fevereiro de 2014 a 28 de fevereiro de 2015 (13 meses), durante o qual 156 lactentes candidatos foram identificados (Figura 1).

A avaliação de neurodesenvolvimento foi realizada em 32 lactentes, sendo 26 muito prematuros (≥28 semanas) e 6 prematuros extremos (<28 semanas). As características e desfechos clínicos desses lactentes, assim como a comparação entre os sexos, estão resumidos na tabela 1. Todos os lactentes receberam um ciclo completo de betametasona no pré-natal. Não houve registro de caso de pequeno para a IG, corticosteroides no pós-natal, enterocolite necrosante grave, leucomalácia periventricular multicística e retinopatia da prematuridade, nem de lactentes transferidos ou que vieram a óbito. Não foram encontradas diferenças significativas entre os sexos em relação à ingestão de proteínas e energia, e a proporção proteico-energética (Tabela 2), gemelaridade, SNAP-PE II, sepse de início tardio, dias de suplementação de oxigênio, doença pulmonar crônica, corticosteroides no pós-natal, enterocolite necrosante grave e hemorragia peri- e intraventricular grave. Em comparação aos 56 lactentes excluídos devido à alimentação com fórmula, a proporção de sexo masculino-feminino não diferiu significativamente (*p*=0,82); no entanto, os 33 lactentes que foram incluídos tinham IG mais baixa (média [DP] de 29,8 [1,8] *versus* mediana de 31,7 com intervalo interquartil – IIQ – de 29,9-32,1 semanas de gestação; *p*=0,002); prevalência mais baixa de gemelaridade (12% *versus* 70%, *p*<0,0001) e tempo de internação mais longo (mediana de 51 [IIQ: 35-62] *versus* 39 [IIQ: 29-51] dias; *p*=0,016).

Durante a hospitalização, os lactentes foram alimentados exclusiva ou predominantemente com LH, ou amamentados naturalmente. Iniciou-se o uso de LH fortificado no sétimo dia após o nascimento (sem diferenças entre os sexos), o que se estendeu para todos os lactentes no 28º dia após o nascimento. A ingestão mínima diária recomendada de nutrientes foi alcançada...
O sexo masculino é fator de risco independente para pior desenvolvimento neurológico na idade corrigida de 20 meses.

Em toda a amostra, a pontuação média (DP) do MDI foi de 100,2 (11,5) e do PDI, 97,4 (8,0). A pontuação média do MDI ficou dentro dos limites normais para 30 (93,8%) dos lactentes e indicou atraso leve e grave em dois lactentes do sexo masculino, respectivamente. A pontuação do PDI ficou dentro dos limites normais para 30 (93,8%) dos lactentes e indicou atraso leve em um lactente do sexo feminino e em um do sexo masculino, respectivamente. Não houve diferenças significativas na pontuação do MDI e PDI quando se compararam lactentes prematuros extremos com os muito prematuros.

Na análise univariada, a distribuição do MDI no sexo masculino apresentou tendência a pontuações maiores. O MDI e o PDI no sexo masculino, e o PDI em ambos os sexos continuaram apresentando distribuição normal. A pontuação média do MDI foi significativamente menor no sexo masculino, e não houve diferenças significativas na pontuação média do PDI entre os sexos (Tabela 3).

Apenas as covariáveis do MDI foram analisadas. A pontuação do MDI teve fraca correlação negativa com a IG (r = -0,274; p = 0,129) e fraca correlação positiva com a ingestão diária de energia (r = 0,289; p = 0,109). Apenas o sexo, a IG e a ingestão diária de energia foram selecionados para a regressão múltipla linear, porque as outras covariáveis não atendiam os critérios para inclusão nos modelos multivariados. A ingestão diária de energia e a IG não afetaram significativamente a pontuação do MDI; apenas sexo masculino teve efeito negativo significativo (B = -9,44; IC95%: -17,64- -1,23; r² ajustado=0,17; p = 0,026) sobre a pontuação do MDI, ajustada para a IG (Tabela 4). Especificamente, a pontuação no MDI foi 9,44 pontos mais baixa (IC95%: -17,64- -1,23) no sexo masculino que no feminino.
**DISCUSSÃO**

Neste estudo, foi constatado que, dentre os lactentes muito prematuros, os do sexo masculino tiveram pontuação significativamente mais baixa no MDI (-9,44) do que o sexo feminino na idade corrigida de 20 meses, ajustada para IG e ingestão energética diária. Este modelo explica 17% da variação no MDI. Esses resultados foram observados em um contexto de nutrição subótima, com apenas 63,6% e 15,2% dos lactentes tendo atingido a ingestão mínima recomendada de proteínas e calorias, respectivamente. Isso reflete a baixa efetividade do método de fortificação usado. (16) Apesar da nutrição precoce subótima, o MDI e o PDI ficaram dentro dos limites normais em 93,8% dos lactentes com idade corrigida de 20 meses.

Diversos estudos já relataram que o sexo masculino apresenta associação independente com piores desfechos de desenvolvimento neurológico em lactentes prematuros, em ampla faixa de idades gestacionais. Nos lactentes prematuros tardios ou muito prematuros, foram relatadas pontuações no MDI significativamente mais baixas na idade corrigida de 24 meses para o sexo masculino. (43, 44) Em uma grande amostra de lactentes muito prematuros, uma correlação fraca a moderada foi anteriormente reportada entre a ingestão subótima de nutrientes e a velocidade de ganho de peso. (155) Em um grande estudo de coorte de lactentes muito prematuros, um escore z de perda de peso durante a hospitalização neonatal foi associado a piores desfechos neurológicos na idade corrigida de 24 meses para o sexo masculino. (10, 11) Em outra coorte de lactentes com peso muito baixo ao nascimento, observou-se que o PDI aplicado aos 24 meses de idade corrigida aumentou quanto maior a ingestão de proteínas e energia durante a primeira semana após o nascimento, principalmente no sexo masculino. (10, 11)

Em nosso estudo, a pontuação do MDI apresentou fra-ca correlação positiva com a ingestão de energia no intra-hospitalar, embora esse efeito tenha sido perdido após ajustarmos para a IG.

O motivo específico para essa maior vulnerabilidade do sexo masculino ainda não está claro, mas pode ter relação com um prejuízo da resposta adaptativa ao estresse pré-natal e possível influência disso no desenvolvimento inicial do cérebro. (3) Um estado pró-oxidativo foi observado na placenta de lactentes do sexo masculino prematuros nascidos nas 72 horas após exposição à betametasona pré-natal, em comparação ao sexo feminino, indicando desvantagem fisiológica para o sexo masculino após o nascimento. (4) Em nossa amostra, todos os lactentes receberam corticosteroides no pré-natal. Em imagens de ressonância magnética tridimensionais, revelou-se menor interface entre as substâncias cinzenta e branca corticais em lactentes muito prematuros do sexo masculino em comparação ao feminino. (5) Em um estudo sobre as diferenças entre os sexos quanto ao volume cerebral aos 8 anos de idade, apenas os meninos nascidos prematuros apresentaram volume de substância branca significativamente reduzido em comparação aos meninos nascidos a termo, porém o volume de substância branca foi equivalente entre meninas prematuras e nascidas a termo. (6)

Este estudo tem pontos positivos, que devem ser reconhecidos. Estudamos uma coorte homogênea de lactentes prematuros alimentados com LH de forma exclusiva ou predominante, no ambiente hospitalar. Isso é importante, porque já se sabe que a alimentação precoce com LH é independentemente associada a um melhor neurodesenvolvimento. (7, 8) Nesse contexto, este é o primeiro estudo que avalia a associação entre o sexo e a idade corrigida de 30 meses para lactentes do sexo masculino que sobre-viveram ao nascimento ≤25 semanas de gestação na coorte do estudo EPICure. (52)

O desfecho neurológico em lactentes prematuros do sexo masculino parece ser mais sensível à nutrição subótima do que no sexo feminino. (10, 11) Em nossa amostra, uma correlação fraca a moderada foi anteriormente reportada entre a ingestão subótima de nutrientes e a velocidade de ganho de peso. (15) Em um grande estudo de coorte de lactentes muito prematuros, um escore z de perda de peso durante a hospitalização neonatal foi associado a piores desfechos neurológicos na idade corrigida de 24 meses para o sexo masculino. (10, 11) Em outra coorte de lactentes com peso muito baixo ao nascimento, observou-se que o PDI aplicado aos 24 meses de idade corrigida aumentou quanto maior a ingestão de proteínas e energia durante a primeira semana após o nascimento, principalmente no sexo masculino. (10, 11)

Em nosso estudo, a pontuação do MDI apresentou fraça correlação positiva com a ingestão de energia no intra-hospitalar, embora esse efeito tenha sido perdido após ajustarmos para a IG.

O motivo específico para essa maior vulnerabilidade do sexo masculino ainda não está claro, mas pode ter relação com um prejuízo da resposta adaptativa ao estresse pré-natal e possível influência disso no desenvolvimento inicial do cérebro. (3) Um estado pró-oxidativo foi observado na placenta de lactentes do sexo masculino prematuros nascidos nas 72 horas após exposição à betametasona pré-natal, em comparação ao sexo feminino, indicando desvantagem fisiológica para o sexo masculino após o nascimento. (4) Em nossa amostra, todos os lactentes receberam corticosteroides no pré-natal. Em imagens de ressonância magnética tridimensionais, revelou-se menor interface entre as substâncias cinzenta e branca corticais em lactentes muito prematuros do sexo masculino em comparação ao feminino. (5) Em um estudo sobre as diferenças entre os sexos quanto ao volume cerebral aos 8 anos de idade, apenas os meninos nascidos prematuros apresentaram volume de substância branca significativamente reduzido em comparação aos meninos nascidos a termo, porém o volume de substância branca foi equivalente entre meninas prematuras e nascidas a termo. (6)

Este estudo tem pontos positivos, que devem ser reconhecidos. Estudamos uma coorte homogênea de lactentes prematuros alimentados com LH de forma exclusiva ou predominante, no ambiente hospitalar. Isso é importante, porque já se sabe que a alimentação precoce com LH é independentemente associada a um melhor neurodesenvolvimento. (7, 8) Nesse contexto, este é o primeiro estudo que avalia a associação entre o sexo e a idade corrigida de 30 meses para lactentes do sexo masculino que sobre-viveram ao nascimento ≤25 semanas de gestação na coorte do estudo EPICure. (52)

O desfecho neurológico em lactentes prematuros do sexo masculino parece ser mais sensível à nutrição subótima do que no sexo feminino. (10, 11) Em nossa amostra, uma correlação fraca a moderada foi anteriormente reportada entre a ingestão subótima de nutrientes e a velocidade de ganho de peso. (15) Em um grande estudo de coorte de lactentes muito prematuros, um escore z de perda de peso durante a hospitalização neonatal foi associado a piores desfechos neurológicos na idade corrigida de 24 meses para o sexo masculino. (10, 11) Em outra coorte de lactentes com peso muito baixo ao nascimento, observou-se que o PDI aplicado aos 24 meses de idade corrigida aumentou quanto maior a ingestão de proteínas e energia durante a primeira semana após o nascimento, principalmente no sexo masculino. (10, 11)
e o neurodesenvolvimento, ajustado pela ingestão de nutrientes com base na composição do LH — e não na ingestão estimada, ou no crescimento, como medidas equivalentes de suporte nutricional.\(^{(10,11)}\)

No entanto, este estudo também teve limitações. Devido ao término prematuro do estudo, a amostra ficou pequena e, assim, possivelmente não atingiu o poder necessário para detectar associações significativas entre ingestão de nutrientes e neurodesenvolvimento. Ainda assim, na análise multivariada, o tamanho de amostra estudado atingiu poder suficiente para detectar associações significativas entre sexo e neurodesenvolvimento, ajustado para a ingestão de nutrientes. A variação não explicada no MDI pode ser decorrente da subestimação de variáveis, devido ao pequeno tamanho da amostra, ou a fatores de confusão não controlados, como condições socioeconômicas, escolaridade materna e estímulos ambientais.\(^{(11,13)}\) Em nossa coorte, a distribuição dos sexos foi desigual; no entanto, ajustamos para esse fator em nossos modelos multivariados. Finalmente, existe viés de exclusão, porque os lactentes que concluíram o estudo eram significativamente mais imaturas, mais frequentemente fetos únicos e permaneceram no hospital por mais tempo do que aqueles que foram excluídos. Com esse viés, lactentes mais vulneráveis a um pior neurodesenvolvimento podem ter sido incluídos. Ainda assim, a principal variável independente não foi afetada, porque a proporção de sexo feminino-masculino não foi significativamente diferente quando comparados os lactentes incluídos e excluídos neste estudo.

**CONCLUSÃO**

O sexo masculino é um fator de risco independente para índice de desenvolvimento mental mais baixo em lactentes nascidos muito prematuros, no contexto de nutrição subótima. Este estudo reforça que, em lactentes prematuros alimentados com leite humano, uma avaliação precisa do efeito da nutrição no prognóstico de neurodesenvolvimento deve considerar o sexo e levar em conta a composição medida do leite humano, em vez da ingestão estimada ou crescimento como medidas equivalentes de suporte nutricional.
21. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. J Pediatr. 1978;92(4):529-34.

22. de Vries LS, Eken P, Pierrot V, Daniels H, Cesaer P. Prediction of neurodevelopmental outcome in the preterm infant: short latency cortical somatosensory evoked potentials compared with cranial ultrasound. Arch Dis Child. 1992;67(10 Spec No):1177-81.

23. Jefferies A. Retinopathy of prematurity: recommendations for screening. Paediatr Child Health. 2010;15(10):667-74.

24. Becker B, Reinhardt D, Risselmann K, Morgenroth K, Kemperdick H, Lemburg P. Pulmonary dysplasia in infancy. Pathogenesis, pneumologic course studies and therapy possibilities. Monatsschr Kinderheilkd. 1984;132(7):525-33. German.

25. Lovisatti L, Padovani EM, Osti G, Fanos V, Bergamo Andreis IA, Riggio S. The lung of the severely premature infant: radiologic aspects. Radiol Med. 1984;70(9):633-6. Italian.

26. Engle WA; American Academy of Pediatrics Committee on Fetus and Newborn. Age terminology during the perinatal period. Pediatrics. 2004;114(5):1362-4.

27. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, Domellöf M, Embleton ND, Fuschi C, Goulet O, Kalhan SC, Kolacek S, Koletzko B, Lapillonne A, Mihatsch W, Moreno L, Neu J, Painoekter B, Puntil J, Rigo J, Riskin A, Salle B, Sauer P, Shamir R, Szajewska H, Thureen P, van Goudoever JB, Ziegler EE. ESPGHAN Committee on Nutrition. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010;50(1):85-91.

28. Koletzko B, Goulet O, Hunt J, Krohn K, Shamir R; Parenteral Nutrition in the newborn: first update of the national consensus, ML, Paulino E, Alexandrino AM; on behalf of the Portuguese Neonatal Society. 

29. Ziegler EE. Meeting the nutritional needs of the low-birth-weight infant. Ann Nutr Metab. 2011;58(Suppl 1):S1-8. Review.

30. Pereira-da-Silva L, Castela J, Malheiro I, Nona M, Macedo I, Rocha G, Rosa ML, Paulino E, Alexandrino AM, on behalf of the Portuguese Neonatal Society. [Parenteral Nutrition in the newborn: first update of the national consensus, 2008]. Acta Pediatr Port. 2008;39(3):125-34. Portuguese.

31. Pereira-da-Silva L, Gomes A, Macedo I, Alexandrino AM, Pissarra S, Cardoso M; on behalf of the Portuguese Neonatal Society. [Enteral feeding in infants born preterm: update of the National Consensus]. Acta Pediatr Port. 2014;45(4):326-39. Portuguese.

32. Alan S, Atasay B, Cakir U, Yildiz D, Kılıc A, Kahvecioglu D, et al. An intention to achieve better postnatal in-hospital-growth for preterm infants: adjustable protein fortification of human milk. Early Hum Dev. 2013;89(12):1017-23.

33. Sidereus DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. BMC Pediatr. 2014;14(1):216. Review.

34. Wojcik KY, Rechtman DJ, Lee ML, Montoya A, Medo ET. Macronutrient analysis of a nationwide sample of donor breast milk. J Am Diet Assoc. 2009;109(1):137-40.

35. Bayley N. Bayley Scales of Infant and Toddler Development. 2a ed. San Antonio: Psychological Corporation; 1993. 374 p.

36. Cirelli I, Bickle Graz M, Tolsa JF. Comparison of Griffiths-II and Bayley-II tests for the developmental assessment of high-risk infants. Infant Behav Dev. 2015;41:17-25.

37. Connolly BH, Dalton L, Smith JB, Lambeth NG, McCay B, Murphy W. Concurrent validity of the Bayley Scales of Infant Development II (BSID-II) Motor Scale and the Peabody Developmental Motor Scale II (PDMS-2) in 12-month-old infants. Pediatr Phys Ther. 2006;18(3):150-6.

38. Bos AF. Bayley-II or Bayley-III: what do the scores tell us? Dev Med Child Neurol. 2013;55(11):978-9.

39. Ramel SE, Gray HL, Christiansen E, Boys C, Georgieff MK, Demerath EW. Greater early gains in fat-free mass, but not fat mass, are associated with improved neurodevelopment at 1 year corrected age for prematurity in very low birth weight preterm infants. J Pediatr. 2016;173:108-15.

40. Romeo DM, Brogna C, Sini F, Romeo MG, Costa F, Ricci D. Early psychomotor development of low-risk preterm infants: influence of gestational age and gender. Eur J Paediatr Neurol. 2016;20(4):518-23.

41. Hintz SR, Kendrick DE, Vohr BR, Kenneth Poole W, Higgins RD, The NIchd Neonatal Research Network F; Nichd Neonatal Research Network. Gender differences in neurodevelopmental outcomes among extremely preterm, extremely-low-birthweight infants. Acta Paediatr. 2006;95(10):1239-48.

42. Peacock JL, Marston L, Marlow N, Calvert SA, Greenough A. Neonatal and infant outcome in boys and girls born very prematurely. Pediatr Res. 2012;71(3):305-10.

43. Leijn I. Factors of importance for neurodevelopment in preterm infants. Acta Paediatr. 2010;99(5):642-4.