

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
Curso de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição
Área de Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos

Luciano Bruno de Carvalho Silva

Mestre em Alimentos e Nutrição

ISOLADO PROTÉICO DO SORO DE LEITE COMO PERSPECTIVA NO
CUIDADO NUTRICIONAL DE INDIVÍDUOS COM ESCLEROSE LATERAL
AMIOTRÓFICA

CAMPINAS

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Si38i Silva, Luciano Bruno de Carvalho
Isolado protéico do soro de leite como perspectiva no cuidado
nutricional de indivíduos com esclerose lateral amiotrófica / Luciano
Bruno de Carvalho Silva. -- Campinas, SP: [s.n.], 2008.

Orientador: Jaime Amaya-farfán
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.Faculdade
de Engenharia de Alimentos

1. Esclerose amiotrófica lateral. 2. Desnutrição. 3.
Suplementação. 4. Disfagia. 5. Proteínas do soro de leite. 6.
Ingestão alimentar. I. Amaya-Farfán, Jaime. II. Universidade
Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.
Título.

(cars/fea)

Título em inglês: Milk whey protein isolate as a perspective on nutritional care for amyotrophic
lateral sclerosis patients

Área de concentração: Nutrição Experimental Aplicada à Tecnologia de Alimentos

Palavras-chave em inglês (Keywords): Amyotrophic lateral sclerosis, Malnutrition,
Supplementation, Dysphagia, Milk Whey proteins,
Food intake

Titulação: Doutor em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora: Jaime Amaya-Farfan

Adriane Elizabete Antunes

Anamarli Nucci

Ariovaldo Armando da Silva

Érika Maria Marcondes Tassi Granja

Lucia Figueiredo Mourão

Data da defesa: 15/01/08

Programa de Pós Graduação: Programa em Alimentos e Nutrição

Luciano Bruno de Carvalho Silva

Mestre em Alimentos e Nutrição

**ISOLADO PROTÉICO DO SORO DE LEITE COMO PERSPECTIVA NO
CUIDADO NUTRICIONAL DE INDIVÍDUOS COM ESCLEROSE LATERAL
AMIOTRÓFICA**

Tese apresentada como exigência para obtenção do
Título de Doutor em Alimentos e Nutrição - Área de
Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de
Alimentos à Faculdade de Engenharia de Alimentos
da Universidade Estadual de Campinas

Orientador

Professor Doutor Jaime Amaya-Farfán

UNICAMP

2008

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán
Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas

Profa. Dra. Adriane Elizabete Antunes
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios - Instituto de Tecnologia de
Alimentos

Profa. Dra. Anamarli Nucci
Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Ariovaldo Armando da Silva
Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas

Profa. Dra. Érika Maria Marcondes Tassi Granja
Instituto de Biologia - Universidade Estadual de Campinas

Profa. Dra. Lucia Figueiredo Mourão
Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas

“ Ah!
Se o mundo inteiro
Me pudesse ouvir
Tenho muito prá contar
Dizer que aprendi...
E na vida a gente
Tem que entender
Que um nasce prá sofrer
Enquanto o outro rir..
Mas quem sofre
Sempre tem que procurar
Pelo menos vir achar
Razão para viver...
Ver na vida algum motivo
Prá sonhar
Ter um sonho todo azul
Azul da cor do mar...
Mas quem sofre
Sempre tem que procurar
Pelo menos vir achar
Razão para viver...
Ver na vida algum motivo
Prá sonhar
Ter um sonho todo azul
Azul da cor do mar...”

Tim Maia (Cantada por um paciente)

“ Esperança! ”

Palavra formada na prancha de comunicação alternativa, juntando as letras do alfabeto disponíveis por meio de varredura (somente com indicação pelos olhos), por um paciente com comprometimento apendicular.

A vocês, pacientes que colaboraram para que novas perspectivas se abrissem, e a todos os pacientes com esclerose lateral amiotrófica, que todos os dias, incansavelmente lutam pela vida,

A Adriana, minha princesa, meu amor, minha vida, pela confiança, apoio, companheirismo, paciência sempre,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán pela orientação, apoio, confiança, oportunidade e respeito. Serei eternamente grato. Ao professor, toda minha admiração e respeito!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa nos primeiros meses de curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

À Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG pela liberação para cursar o doutorado.

À Profa. Dra. Anamarli Nucci, pela oportunidade, pela solicitude e ensinamentos, indispensáveis.

À Profa. Dra. Lucia Figueiredo Mourão e ao Prof. Dr. Ariovaldo Armando Silva, pela amizade, profissionalismo e ética.

À Profa. Dra. Adriane Elizabete Antunes, por toda ajuda, amizade e pela oportunidade em trabalharmos juntos.

Aos membros da Banca Examinadora pelas contribuições e sugestões a esta tese.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, na pessoa da Pesquisadora Fernanda Vissotto, sempre solícita e dedicada.

A todos dos Ambulatórios de Neurologia e Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da Unicamp, em especial a fonoaudióloga Aline Wolf.

Aos meus grandes parceiros Núbia, Sara e Marcondes. Sem vocês com certeza este trabalho não teria acontecido!

Aos funcionários da Coordenadoria de Pós-Graduação, em especial ao Cosme, pelos esclarecimentos e ajuda.

Aos amigos Ari de Paula e Isabel Botelho pela amizade e ensinamentos.

Ao meu saudoso pai, cuja presença, muitas vezes foi sentida ao meu lado.

À minha maravilhosa mãe Maria Aparecida, por me preparar para a vida, e aos meus irmãos Priscilla, Silas, Bruno e André que tanto amo.

À minha avó Geralda e minha tia Carmelita, pelos ensinamentos, apoio e orações. Amo muito vocês!!!

À minha “nova” família, Denise, Paulo Sergio, Marcos, Dona Wilma e Carlos, pelos momentos de descontração.

Aos meus amigos da UNIFAL-MG, nas pessoas de Cristiane, Daniela, Eliane, Eveline, Flavia, Luciana, Márcia, Marcos, Neide, Simone, Tânia e Valéria. Muito obrigado por tudo!

A minha grande amiga Olga Lucia pela amizade e apoio.

À Michelle Anderson pelos meses de ajuda, principalmente nas análises de ingestão alimentar.

Às alunas Elaine e Fernanda pelo apoio durante a formatação da Tese.

A todos, que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para que este trabalho se efetivasse.

Meus mais sinceros agradecimentos!!!

"Não há lugar para a sabedoria onde não haja paciência." (Santo Agostinho)

RESUMO

SILVA, Luciano Bruno de Carvalho. *Isolado protéico do soro de leite como perspectiva no cuidado nutricional de indivíduos com Esclerose Lateral Amiotrófica*. Campinas, 2007. 170 f. Tese (Doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008.

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença progressiva neurodegenerativa que envolve, neurônios motores do córtex cerebral, cérebro e medula espinhal. Em aproximadamente 50% dos pacientes, a doença afeta inicialmente os braços. Em 25%, a doença afeta as pernas e, em 25%, o início da doença é bulbar. Ocorre desnutrição em 16%-50% dos pacientes com ELA, principalmente pela disfunção da deglutição. Para 50% dos casos, a ELA é comumente fatal dentro de 3-4 anos a partir da ocorrência de pneumonia. Muitas complicações nutricionais que acontecem com o paciente com ELA, geralmente se devem à viscosidade da dieta. Os líquidos de baixa viscosidade dificultam a deglutição de pacientes que apresentam controle laríngeo reduzido. O objetivo do presente trabalho foi diagnosticar o estado nutricional, bem como avaliar o efeito da suplementação com isolado protéico do soro de leite aglomerado com polissacarídeo no estado nutricional e condições gerais de pacientes com ELA. A investigação da ingestão alimentar se deu por meio da avaliação do consumo alimentar, qualitativo e quantitativo, de pacientes com ELA. Aplicou-se o questionário de frequência de consumo alimentar e o recordatório de 24 horas. Todos os pacientes apresentaram inadequação para energia, fibras, cálcio e vitamina E. Considerando-se a predominância topográfica do comprometimento muscular na doença, foram observadas diferenças significativas entre pacientes predominantemente bulbares e de predomínio apendicular. Nos pacientes com maior envolvimento apendicular (GA) houve maior ingestão energética ($p=0,02$), de gordura saturada ($p=0,03$), monoinsaturada ($p=0,04$) e polinsaturada ($p=0,001$), além de colesterol ($p=0,001$) e fibras ($p=0,001$). Nos pacientes com predominância bulbar (GB) houve dificuldade no manejo da consistência da dieta. A partir daí, foram elaborados suplementos a base de proteínas do soro de leite e polissacarídeo. O aglomerado contendo 70% de isolado protéico do soro de leite e 30% de amido modificado (70% WPI:30%AM) na concentração de 28g em 250mL em todos os sistemas avaliados, suco de laranja e leite integral, exibiu viscosidade entre 2122,66 e

5110,60 centipoises, além de maior nota, nos testes sensoriais, 6,97 (\pm 0,15), quando comparado aos outros produtos, não diferindo ($p=0,681$) do espessante comercial, que obteve nota 6,91 (\pm 0,38). Baseando-se nestes resultados, sugeriu-se a utilização do aglomerado 70%WPI:30%AM para terapia nutricional de pacientes com ELA. Previamente à administração do suplemento, em função dos poucos dados sobre as técnicas de avaliação nutricional em ELA, foram correlacionados os indicadores mais comuns na avaliação nutricional, funcional e respiratória dos pacientes. No GA, observou-se correlação entre: Pressão inspiratória máxima ($P_{i_{max}}$) e expiratória máxima ($P_{e_{max}}$) ($r=-0,76$); $P_{e_{max}}$ e oximetria de pulso ($r=0,58$); $P_{i_{max}}$ e porcentagem de perda de peso (%PP) ($r=0,59$); e entre $P_{i_{max}}$, escore total e subescala respiratória (ALSFRS) com %PP ($r=0,59$). No GB, houve correlação entre $P_{e_{max}}$ e IMC ($r=0,97$). Em ambos GA e GB, observaram-se correlação entre índice de massa corporal (IMC) e as variáveis: massa (kg), gordura (%), circunferência braquial e punho (cm), pregas cutâneas tricípital, subescapular e supra-ílica (mm), circunferência muscular do braço (cm), área muscular e gordurosa do braço (mm^2). Definidas as técnicas de avaliação, 16 pacientes foram divididos em dois grupos: suplementado (70%WPI:30%AM) e controle (maltodextrina) e submetidos a avaliação nutricional, respiratória e funcional durante 4 meses. No grupo suplementado verificou-se melhora do estado nutricional geral, aumento do peso e Índice de Massa Corporal-IMC, circunferência e área muscular do braço (CMB e AMB), albumina, linfócitos e leucócitos, diminuindo os marcadores do catabolismo muscular, creatina quinase, aspartato-amino-transferase e alanina-amino-transferase. No grupo controle, observou-se diminuição do peso, IMC, CMB e AMB e aumento da área gordurosa do braço, sem alterações significativas nos parâmetros bioquímicos. O presente estudo mostrou que o suplemento 70%WPI:30%AM melhorou o estado nutricional e condições gerais pacientes com ELA, podendo ser utilizado na prática clínica.

Termos de Indexação: esclerose lateral amiotrófica, desnutrição, suplementação, disfagia, proteínas do soro de leite, ingestão alimentar.

ABSTRACT

SILVA, Luciano Bruno de Carvalho. *Milk whey protein isolate as a perspective on nutritional care for amyotrophic lateral sclerosis patients.* **Campinas, 2007. 170 f. Tese (Doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008.**

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disorder that involves, motor neurons in the cerebral cortex, brainstem, and spinal cord. In approximately 50% of the patients, the disease first affects the arms, in 25% the legs and in 25% the onset is bulbar. Malnutrition occurs in 16%-50% of patients with ALS, mainly for swallowing difficulty. For 50% of the cases, ALS is frequently fatal inside of 3-4 years from the pneumonia occurrence. Many of the nutritional complications that occur with ALS sufferers are due to the low viscosity of the diet. Fluid liquids are difficult to swallow by patients with reduced deglutition control. The objective of the present work was to diagnosis the nutritional state as well as evaluating the effect of the supplementation with milk whey protein isolate agglomerated with modified starch in the nutritional state and general conditions of patients with ALS. The investigation of the alimentary intake was evaluate quantitatively and qualitatively food intake in patients with ALS. We employed the frequency questionnaire and the 24h-diet history. All patients presented inadequate energy, fibers, calcium and vitamin E intake. Taking into account predominantly affected muscle groups, we found significant differences between patients with bulbar or appendicular onset. Patients with appendicular ALS had higher intake of energy ($p=0.02$), saturated fat ($p=0.03$), monounsaturated fat ($p=0.04$), polyunsaturated fat ($p=0.001$), as well as cholesterol ($p=0.001$) and fibers ($p=0.001$). In the patients with predominance to bulbar (GB) had difficulty in the handling of the consistency of the diet. From there, supplements had been elaborated from protein base of whey milk and modified starch. The agglomerate contend 70% whey protein isolate and 30% modified starch (70%WPI:30%MS), in all the systems evaluated, at a concentration of 112g/L showed a viscosity between 2,122 and 5,110cP. In the sensory tests, the 70%WPI:30%MS in orange juice obtained the highest score, 6.97 (± 0.15), in relation to the other agglomerates, not differing ($p=0.681$) from the commercial thickener, 6.91 ($p=0.380$). Based on these results, the agglomerate

70%WPI:30%MS was suggested for use in the nutritional therapy of patients with ALS. Previously the administration of the supplement, in function of the few data on the techniques of nutritional evaluation in ALS, had been correlated the pointers most common in the nutritional, functional and respiratory evaluation of the patients. Among the GA type significant correlation was observed between maximal inspiratory (MIP) and expiratory (MEP) pressure ($r=-0.76$), MEP and pulse oxymetry ($r=0.58$), MIP and percent weight loss (%WL; $r=0.59$), and between MIP, total and subscale respiratory scores (ALSFRS-R) with %WL. With regard to the GB, correlation was found between MEP and BMI ($r=0.97$). In both GA and GB correlations were noticed between the BMI and the variables mass (kg), fat (%), arm and fist circumference (cm), and tricipital, subscapular and supra-iliac skinfolds (mm), as well as the arm muscle circumference (cm) and fatty arm muscular area (mm^2). After defined the evaluation techniques, 16 patients were randomized to two groups, treatment (70%WPI:30%MS) and placebo (maltodextrin). They underwent prospective nutritional, respiratory and functional assessment for 4 months. Patients in the treatment group presented weight gain, increased BMI, increased arm muscle area and circumference, higher albumin, white blood cell and total lymphocyte counts, and reduced markers of skeletal muscle turnover (creatine-kinase, aspartate transferase and alanine transferase). In the placebo group, biochemical measures did not change, but weight and BMI declined. Our results indicate that the agglomerate 70%WPI:30%MS may be useful in the nutritional therapy of patients with ALS.

Indexing terms: amyotrophic lateral sclerosis, malnutrition, supplementation, dysphagia, milk whey proteins, food intake.

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO II

Figura 1	Analysis of preference of the foods containing added agglomerates isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at the concentration of 18 at 28 g in 250 mL at 25°C.....	99
-----------------	--	----

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO IV

Figura 1	Proteic-caloric malnutrition score (PCMS) throughout 4 months in patients with ALS. Control Group (CON) and Treatment Group (SPL).....	136
-----------------	--	-----

LISTA DE TABELAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1	Classificação do estado nutricional segundo os parâmetros propostos por Blackburn; Harvey (1982) e Blackburn; Thornton (1979).....	18
Tabela 2	Classificação da viscosidade, em valores de centipoise (cP), de acordo com a ADA (2002) para o cuidado nutricional de indivíduos com disfagia	26
Tabela 3	Porcentagem de proteínas no leite bovino em base úmida.....	32

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO I

Tabela 1	Valores de referência diária de nutrientes.....	60
Tabela 2	Alimentos mais referidos de consumo diário, semanal e mensal pelos pacientes com ELA.....	63
Tabela 3	Avaliação da adequação de energia e nutrientes, segundo os valores de referência e de acordo com o nº de pacientes.....	64
Tabela 4	Comparação do consumo energético e de nutrientes entre indivíduos com ELA com manifestação inicial bulbar e apendicular.....	65

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO II

Tabela 1	Proximate composition of the protein sources: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa).....	86
Tabela 2	Solubility of the protein sources: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at 25 °C.....	87
Tabela 3	Total amino acids (g/100g of protein) of the protein sources: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa), compared to reference IOM (2002).....	88
Tabela 4	Granulometric distribution of the protein sources and agglomerate: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) using screen of <150, 250, 350 and 500 µm.....	90
Tabela 5	Water activity of the agglomerates: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at initial time (T ₀) and after thirty days (T ₃₀), at 25 °C.....	91
Tabela 6	Water absorption capacity (WAC) of the protein sources and agglomerate: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at 25 °C during 30 minutes.....	92
Tabela 7	Apparent density (ρ_{ap}), particle density (ρ_{part}) and porosity P(%) of the protein sources and agglomerate: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa).....	94
Tabela 8	Apparent viscosity (η'), in centpoise (cP), of the protein sources: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at the concentration of 18 at 28 g in 250 mL of foods (water, whole milk and orange juice) at 25 °C.....	96
Tabela 9	Apparent viscosity (η'), in centpoise (cP), of the agglomerates: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at the concentration of 18 at 28 g in 250 mL of foods (water, whole milk and orange juice) at 25 °C.....	97

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO III

Tabela 1	Demographic data (n=20).....	115
Tabela 2	Correlations of nutritional functional and respiratory indicators of bulbar and apendicular groups.....	116
Tabela 3	Anthropometric profile of patients with ALS according to the predominance symptoms.....	116
Tabela 4	Spearman correlation coefficients of BMI and other nutritional markers according to the predominance symptoms of the disease.....	117

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO IV

Tabela 1	Values of food intake throughout 4 months in patients with ALS.....	133
Tabela 2	Influence of the nutritional supplementation with agglomerate milk whey protein on body weight (kg), body mass index (IMC-kg/m ²), fat mass (%) e fat free mass (%).	134
Tabela 3	Influence of the nutritional supplementation with agglomerate of 70% WPI:30%MS on body composition: tricipital skinfolds (TSF), bicipital skinfolds (BSF), supra-iliac skinfolds (SISF), subscapular skinfolds (SESF) and sum of four skinfolds (mm).	135
Tabela 4	Influence of nutritional supplementation with agglomerate of 70% WPI:30%MS on body composition: midarm circumference (MAC), wrist circumference (WC), midarm muscle circumference (MAMC), airm muscle area (AMA) and airm fat area (AFA) (cm ²).	135
Tabela 5	Influence of nutritional supplementation with agglomerate of milk whey protein on biochemical parameters.....	137
Tabela 6	ALSFRS-R: Level of significance enters the first and second time of control and supplemented groups.....	138

LISTA DE ABREVIATURAS

%G	-	Porcentagem de gordura
%MM	-	Porcentagem de massa magra
%P	-	Percent porosity
%PP	-	Porcentagem de perda de peso
%WL	-	Percent weight loss
ADA	-	American Dietetic Association
AI	-	Ingestão adequada
ALS	-	Amyotrophic lateral sclerosis
ALSFRS-R	-	Amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale revised
AM	-	Amido modificado
AMA	-	Airm muscle area
AMB	-	Área muscular do braço
BMI	-	Body mass index
BSF	-	Bicipital skinfolds
CasCa	-	Calcium caseinate
CB	-	Circunferência braquial
CMB	-	Circunferência muscular do braço
CON	-	Grupo controle
Cp	-	Centpoises
CP	-	Circunferência do punho
CRP	-	C-reactive protein
DH	-	Degree of hydrolysis
EAR	-	Necessidade média estimada

ELA	-	Esclerose lateral amiotrófica
FFM	-	Fat free mass
FVC	-	Forced vital capacity
GA	-	Appendicular group
GB	-	Bulbar group
IMC	-	Índice de massa corporal
MAC	-	Midarm circumference
MAMC	-	Midarm muscle circumference
MEP	-	Maximal expiratory pressure
MIP	-	Maximal inspiratory pressure
PCMS	-	Protein-calorie malnutrition score
PE _{max}	-	Pressão expiratória máxima
pI	-	Isoelectric point
PI _{max}	-	Pressão inspiratória máxima
PS	-	Protein solubility
QFA	-	Questionário de frequência alimentar
RDA	-	Recommended dietary allowances
SDS	-	Sodium dodecyl sulphate
SESF	-	Subscapular skinfolds
SF	-	Skinfolds
SISF	-	Supra-iliac skinfolds
SPL	-	Grupo suplementado
TMB	-	Taxa metabólica basal
TNBS	-	Trinitro-benzene sulphonic acid

TSF	-	Tricipital skinfolds
VET	-	Valor energético total
WAC	-	Water absorption capacity
WC	-	Wrist circumference
WPC	-	Whey protein concentrate
WPH	-	Whey protein hidrolysate
WPI	-	Whey protein isolate

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
REFERÊNCIAS.....	36
ARTIGO I.....	52
ARTIGO II.....	76
ARTIGO III.....	107
ARTIGO IV.....	124
CONCLUSÕES GERAIS.....	145
APÊNDICES.....	149

ÍNDICE GERAL

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1	Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA).....	11
2.2	Ingestão alimentar em ELA.....	13
2.3	Antropometria e composição corporal.....	15
2.4	Parâmetros bioquímicos.....	21
2.5	Disfagia.....	23
2.6	Textura dos alimentos.....	25
2.7	Complicações respiratórias.....	28
2.8	Avaliação funcional.....	29
2.9	Suporte nutricional.....	30
2.9.1	Suplementação oral com proteínas do soro de leite.....	32
2.9.2	Vias alternativas de nutrição.....	34
2.10	Considerações finais.....	35
3	REFERÊNCIAS.....	36
4	ARTIGO I: Avaliação da ingestão alimentar de indivíduos com Esclerose Lateral Amiotrófica.....	52
	Resumo.....	55
	Abstract.....	55
	Resumen.....	56
	Introdução.....	57
	Métodos.....	58
	Avaliação da ingestão alimentar.....	58

Avaliação da função da deglutição segundo a ALSFRS-R.....	62
Análise Estatística.....	62
Resultados.....	62
Discussão.....	65
Conclusões.....	70
Agradecimentos.....	71
Referências Bibliográficas.....	71
5 ARTIGO II: Milk whey proteins for use in oral nutritional therapy for amyotrophic lateral sclerosis patients.....	76
Abstract.....	78
Introduction.....	79
Materials & Methods.....	82
Raw material.....	82
Proximate composition of the protein sources.....	82
Determination of the degree of hydrolysis.....	82
Solubility of the protein sources.....	82
Determination of total amino acid.....	83
Agglomerate production	83
Agglomeration process.....	83
Granulometric distribution.....	83
Water activity of the agglomerated products.....	84
Water absorption capacity.....	84
Bulk density.....	84
Particle density.....	84

Porosity.....	85
Viscosity.....	85
Analysis of preference of the foods containing added agglomerates.....	85
Statistical analyses	86
Results & Discussion.....	86
Proximate composition of the protein sources.....	86
Determination of the degree of hydrolysis.....	87
Solubility of the protein sources.....	87
Total amino acid contents of the protein sources.....	88
Agglomeration process yield.....	89
Granulometric distribution.....	89
Water activity	90
Water absorption capacity of the protein sources and the agglomerates.....	91
Apparent density, particle density and porosity.....	93
Apparent viscosity of the protein sources and agglomerated products.....	96
Analysis of preference of the foods containing added agglomerates.....	99
Conclusions.....	100
Acknowledgements.....	101
References.....	102
6 ARTIGO III: Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional assessment.....	107
Abstract.....	110
Resumo.....	110
Method.....	112
Nutritional Assessment.....	112

Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale, revised.....	113
Respiratory Assessment.....	114
Statistical Analysis.....	114
Results.....	115
Discussion.....	117
Conclusions.....	120
Acknowledgement.....	121
References.....	121
7 ARTIGO IV: Oral supplementation with milk whey proteins improve nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis.....	124
Abstract.....	127
Methods.....	128
Inclusion criteria.....	129
Exclusion criteria.....	129
Nutritional intervention phase.....	129
Nutritional supplementation.....	129
Dietary evaluation.....	130
Nutritional evaluation.....	131
Biochemistry evaluation.....	132
Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised.....	132
Statistical Analysis.....	132
Results.....	133
Food intake.....	133
Anthropometry.....	134
Biochemistry.....	136

Functional evaluation.....	138
Discussion.....	138
Conclusion.....	140
Acknowledgement.....	141
References.....	141
8 CONCLUSÕES GERAIS.....	145
9 APÊNDICES.....	149

1

Introdução Geral

1 INTRODUÇÃO GERAL

A esclerose lateral amiotrófica (ELA), conhecida nos Estados Unidos como Doença de Lou Gehrig, e na França como doença de Charcot, caracteriza-se por paralisia progressiva secundária ao comprometimento dos neurônios motores, neurônio motor superior e neurônio motor inferior. Os sintomas e sinais mais comuns são atrofia e fraqueza muscular, fasciculações, câimbras, hipertonia e hiperreflexia. Nos estágios mais avançados, observa-se diminuição da força muscular respiratória, perda progressiva de peso corporal e alterações na ingestão alimentar (NELSON *et al.*, 2000).

Vários fatores são inerentes à ingestão alimentar na ELA. Dentre eles: inapetência, disfagia, fraqueza, dispnéia e depressão (STANICH *et al.*, 2004; NELSON *et al.*, 2000; KASARSKIS *et al.*, 1996; WELNETZ, 1990; SLOWIE *et al.*, 1983).

Kasarskis *et al.* (1996) e Slowie *et al.* (1983) verificaram 70% dos indivíduos com ingestão energética abaixo da recomendação diária adequada (RDA) e 84% dos pacientes com ingestão acima para proteínas. Stanich *et al.* (2004) verificaram valores acima da RDA para lipídios na maioria dos pacientes com ELA selecionados em seu estudo.

SILVA *et al.* (2007a e 2007b) analisaram o perfil nutricional dos pacientes atendidos nos Ambulatórios de Disfagia e de Neuromuscular do Hospital das Clínicas da Unicamp – HC/UNICAMP. Foram feitas avaliações interdisciplinares, nas quais os homens apresentaram baixa ingestão calórica, de aproximadamente 1600 kcal. Entre as mulheres, também foi observada baixa ingestão calórica, em torno de 1700 kcal/dia.

Pacientes com ELA geralmente apresentam rápida perda de peso associada à redução da ingestão alimentar, aumento do tempo de alimentação, fadiga, desidratação e depressão (WRIGHT *et al.*, 2005). A associação destes fatores pode resultar em aumento do gasto energético e conseqüentemente hipercatabolismo.

Diferentes estudos confirmam a correlação entre a redução do Índice de Massa Corporal (IMC) e a diminuição da sobrevivência em indivíduos com ELA (KASARSKIS *et al.*, 1996; DESPORT *et al.*, 2003; HEFFERNAN *et al.*, 2004). Mazzini *et al.* (1995) demonstraram 53% dos indivíduos com IMC abaixo de 20 kg/m² e 55% com porcentagem de perda de peso (%PP) maior que 15%. Desport *et al.* (1999) relataram a prevalência de desnutrição em 16,3% dos indivíduos. Desport *et al.* (2001) mostraram declínio do IMC com o curso natural da doença. Slowie *et al.* (1983) observaram correlação entre a diminuição da ingestão alimentar e diminuição da dobra cutânea tricípital (DCT).

Em pacientes com ELA, a progressão do grau de disfagia é um dos fatores que dificultam a manutenção da alimentação por via oral, aumentando as complicações respiratórias, com início de ventilação invasiva, dificuldade de locomoção do paciente para o atendimento ambulatorial e os quadros depressivos (MAZZINI *et al.*, 1995).

Muitas complicações nutricionais que acontecem com o paciente com ELA, geralmente se devem à baixa viscosidade da dieta. Os líquidos de baixa viscosidade dificultam a deglutição de pacientes que apresentam controle laríngeo reduzido. Isso ocorre porque estes líquidos são deglutidos rapidamente e não exercem sua forma dentro da cavidade oral. Desse modo, parte do alimento líquido pode penetrar nas vias aéreas ainda abertas, resultando em broncoaspiração e pneumonia aspirativa, agravando o estado nutricional do paciente, e com a progressão, podem provocar desidratação. O espessamento correto de alimentos pode minimizar tais intercorrências (SOUZA *et al.*, 2003).

Neste contexto, visando a otimização do cuidado nutricional do paciente com disfagia, o guia americano “National Dysphagia Diet (ADA): Standardization for Optimal Care” estabeleceu padrões e limites de variação de viscosidades. Tais padrões e limites não representam, necessariamente, as variações esperadas, mas servem como base para discussões e análise da prescrição dietética. Estes valores são classificados em centipoise

(cP) em “ralo” (1-50 cP - água), “néctar” (51-350 cP – suco de manga), “mel” (351-1750 cP) e “pudim” (> 1750 cP) (ADA, 2002).

Ingredientes como as proteínas do soro de leite, quando modificadas química e/ou fisicamente e associadas a outros colóides podem alterar a viscosidade de sistemas. No entanto, isoladamente, estas fontes não são capazes de atingir a viscosidade padronizada pela ADA (2002) em fluidos, mas aglomeradas a fontes de carboidratos, como o amido modificado, poderão promover aumento da viscosidade de sistemas alimentares para valores próximos àqueles da ADA.

Além dos efeitos funcionais tecnológicos, as proteínas do soro apresentam atividade imunomoduladora em indivíduos portadores do vírus HIV⁺ (MORENO, 2002; BOUNOUS *et al.*, 1993), atividade anticâncer (DIAS, 2004; McINTOSH; LE LEU, 2001; HAKKAK *et al.*, 1999; CHMIEL, 1998), atividade antiúlcera (MATSUMOTO, 2001) e proteção do sistema cardiovascular (DA COSTA, 2004), dentre outras.

Tendo em vista a importância do conhecimento em relação aos hábitos alimentares desta população para o aconselhamento dietético mais eficaz, bem como para elaboração de orientações específicas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o consumo alimentar (qualitativo e quantitativo) de indivíduos com diagnóstico de esclerose lateral amiotrófica. Esta investigação deu origem ao primeiro artigo da Tese “***Avaliação da ingestão alimentar de indivíduos com Esclerose Lateral Amiotrófica***”. A partir dos resultados obtidos do estudo de ingestão alimentar, com verificação de dificuldade de manejo nutricional, o presente trabalho teve como proposta adicional desenvolver um suplemento protéico, a base de proteínas do soro de leite e amido modificado com capacidade espessante para terapia nutricional de pacientes com ELA, dando origem ao segundo artigo desta Tese “***Milk whey proteins for use in oral nutritional therapy for amyotrophic lateral sclerosis patients***”.

Para avaliação do efeito do produto desenvolvido em pacientes com ELA, primeiramente foram verificadas as principais medidas para avaliação nutricional de indivíduos com ELA, e então foram realizadas correlações entre os fatores nutricionais, funcionais e parâmetros respiratórios dos indivíduos, o que deu origem ao terceiro artigo da Tese ***“Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional assessment”***.

Uma vez verificados e definidos os parâmetros utilizados na avaliação da evolução nutricional, funcional e respiratória, prosseguiu-se a suplementação nutricional e avaliação do efeito da suplementação nutricional com o aglomerado contendo 70% de isolado protéico do soro de leite e 30% de amido modificado, no estado nutricional de indivíduos com ELA, dando origem ao quarto artigo da Tese ***“Oral supplementation with milk whey proteins improve nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis”***.

A apresentação geral da Tese foi desenvolvida conforme a Norma da Comissão de Pós-Graduação/FEA/UNICAMP para Teses em formato alternativo (ATO INTERNO CPG/FEA N° 004/2003). Conforme descrito, serão apresentados quatro Artigos Originais, precedidos de Resumo e Introdução Geral, Revisão Bibliográfica sobre o tema em questão e seguidos das Conclusões Gerais.

REFERÊNCIAS

ADA. 2002. **National Dysphagia Diet: Standardization for Optimal Care**. National Dysphagia Diet Task Force. Chicago, IL: The American Dietetics Association. 47 p.

BOUNOUS, G.; BARUCHEL, S.; FALUTZ, J.; GOLD, P. Whey protein as a food supplement in HIV-seropositive individuals. **Clinical and Investigative Medicine**, Ottawa, v. 16, p. 204-209, 1993.

CHMIEL, K. F. Anti-tumor effects of dietary whey protein and its value for head and neck cancer patients. In: International Dairy Federation: Proceedings of the 3rd International Whey Conference 1997; Chicago. Brussels, Belgium: International Dairy Federation; 1998. p. 310-314.

DA COSTA, E. L. **Efeito do processamento térmico e enzimático na obtenção de hidrolisados do isolado protéico do soro de leite com atividade anti-hipertensiva.** Campinas: 2004. Tese (Doutor em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

DESSPORT, J. C.; PREUX, P. M.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; CLAVELOU, P.; BEAUFRÈRE, B.; BONNET, C.; COURATIER, P. P. Validation of bioelectrical impedance analysis in patients with amyotrophic lateral sclerosis. **American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, v.77, p. 1179-1185, 2003.

DESSPORT, J. C.; PREUX, P. M.; MAGY, L.; BOIRIE, Y.; VALLAT, J. M.; BEAUFRÈRE, B.; COURATIER, P. Factor correlated with hypermetabolism in patients with amyotrophic lateral sclerosis. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 74, p. 328-334, 2001.

DESSPORT, J. C.; PREUX, P. M.; TRUONG, T. C.; VALLAT, J. M.; SAUTEREAU, D.; COURATIER, P. Nutritional status is a prognostic factor for survival in ALS patients. **Neurology**, Minneapolis, v. 53, p. 1059-1063, 1999.

DIAS, N. F. G. P. **Propriedades imunoestimulatórias e antitumoral de concentrados protéicos do soro de leite bovino, de caseína e de um isolado protéico de soja.**

Campinas: 2004. Tese (Doutor em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

HAKKAK, R.; KOROURIAN, S.; RONIS, M.; IRBY, D.; KECHCLANA, S.; ROWLAND. Dietary prevention of mammary cancer in multiparous female rats whey protein, but nor soy protein isolate. **Proceedings of the American Association for Cancer Research**, Chicago, v. 40, 2010, 1999.

HEFFERNAN, C.; JENKINSON, C.; HOLMES, T.; FEDER, G.; KUPFER, R.; LEIGH, R.; MCGOWAN, P. N.; RIO, A.; SIDHU, P. S. Nutritional management in MND/ALS patients: an evidence based review. **Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders**, London, v. 5, p. 72-83, 2004.

KASARSKIS, E.; BERRYMAN, S.; VANDERLEEST, J. G.; SCHNEIDER, A. R.; MCCLAIN, C. J. Nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis: relation to the proximity of death. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 63, p. 130-137, 1996.

MAZZINI, L.; CORRÁ, T.; ZACCALA, M.; MORA, G.; DEL PIANO, M.; GALANTE, M. Percutaneous endoscopic gastrostomy and enteral nutrition in amyotrophic lateral sclerosis. **Journal of Neurology**, New York, v. 242, p. 695-698, 1995.

MATSUMOTO, H.; SHIMOKAWA, Y.; USHIDA, Y.; TOIDA, T.; HAYASAWA, H. New biological function of bovine alpha-lactalbumin: protective effect against ethanol and stress-induced gastric mucosal injury in rats. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 65, p. 1104-1111, 2001.

McINTOSH, G. H.; LE LEU, R. K. The influence of dietary proteins on colon cancer risk. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 21, p. 1053-1066, 2001.

MORENO, Y. M. F. **Influência das proteínas de soro de leite bovino do estado nutricional, composição corporal e sistema imune em coorte de crianças com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)**. Campinas, SP, 2002. 145p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Universidade de Campinas, 2002.

NELSON, L. M.; MATKIN, C.; LONGSTRETH, W. T, MCGUIRE, V. Population – based case – control study of amyotrophic lateral sclerosis in Western Washington State. II. Diet. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 151, p. 164-173, 2000.

SILVA, L. B. C.; MOURÃO, L.; LIMA, N. M. F. V.; ALMEIDA, S. R. M.; FRANCA, M. J.; NUCCI, A.; AMAYA-FARFAN, J. **Amyotrophic lateral sclerosis: nutritional status and functional conditions**. Annual Dysphagia Research Society Meeting, Vancouver, Canada, March 8-10, 2007a.

_____**Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): Nutritional profile and swallowing ability in patients with dysphagia**. Annual Dysphagia Research Society Meeting, Vancouver, Canada, March 8-10, 2007b.

SLOWIE, L. A.; PAIGE, M. S.; ANTEL, J. P. Nutritional considerations in the management of patients with ALS amyotrophic lateral sclerosis. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 83, p. 44-47, 1983.

SOUZA, B. B. A.; MARTINS, C.; CAMPOS, D. J.; BALSINI, I. D.; MEYER, L. R. **Nutrição e Disfagia: Guia para profissionais**. Curitiba, PR, Brasil: Nutroclínica. 2003.

STANICH, P.; PEREIRA, A. M. L.; CHIAPPETA, A. L. M. L.; NUNES, M.; OLIVEIRA, A. S. B.; GABBAI, A. A. Suplementação nutricional em pacientes com doença do neurônio motor/esclerose lateral amiotrófica. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 19, p. 70-78, 2004.

WELNETZ, K. Maintaining adequate nutrition and hydration in the dysphagic ALS patient. **Journal of Continuing Education in Nursing**, Thorofare, v. 21, p. 62-71, 1990.

WRIGHT, L.; COTTER, D.; HICKSON, M.; FROST, G. Comparison of energy and protein intakes of older people consuming a texture modified diet with a normal hospital diet. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, Oxford, v. 18, p. 213-219, 2005.

2

Revisão Bibliográfica

Esclerose Lateral Amiotrófica: Considerações nutricionais para avaliação e acompanhamento da evolução clínica do paciente

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Esclerose Lateral Amiotrófica

A esclerose lateral amiotrófica (ELA), caracteriza-se por paralisia progressiva secundária ao comprometimento dos neurônios motores, neurônio motor superior e neurônio motor inferior. Os sintomas e sinais mais comuns são atrofia e fraqueza muscular, fasciculações, câimbras, hipertonía e hiperreflexia (GIL *et al.*, 2007; NELSON *et al.*, 2000).

“Amiotrófico vem do grego: *A* significa não ou negativo; *mio* se refere ao músculo; *trófico* nutrição. *Amiotrófico* significa sem nutrição muscular. Quando um músculo não é nutrido, ele atrofia ou sofre emaciação. *Lateral* identifica as áreas da medula espinhal onde se localizam partes das células nervosas que nutrem os músculos. A medida em que essa área sofre degeneração, ocorre cicatrização ou endurecimento – *esclerose* – na região” (BRADLEY, 2007).

A ELA é conhecida como doença de Charcot, em homenagem ao seu maior estudioso, Jean-Martin Charcot que a descreveu pela primeira vez em 1869. Nos Estados Unidos, a ELA é conhecida como Doença de Lou Gehrig, em homenagem ao famoso jogador de beisebol falecido 1941 em decorrência da doença.

A ELA pode apresentar manifestações iniciais apendicular ou bulbar. Quando as manifestações iniciais são apendiculares, a musculatura dos membros é acometida e os sintomas começam em um ou vários membros ou em todos ao mesmo tempo. As

manifestações bulbares instalam-se após meses ou anos com a progressão da doença, começando pela musculatura inervada por meio dos nervos bulbares, afetando a fala, a voz e a deglutição. Na maioria dos casos, observa-se combinação das duas formas (BACH, 2004).

A incidência da ELA é de 0,4 a 2,4/100.000 indivíduos/ano (MITSUMOTO; NORRIS, 1994). Na Europa, a incidência é de aproximadamente 1,8 a 2,2 casos/ 100.000 pessoas. No Brasil, a incidência é de 1,5 casos/100.000 pessoas, em média 2.500 pacientes/ano (DIETRICH-NETO *et al.*, 2000).

A doença afeta, preferencialmente, indivíduos do sexo masculino em relação ao sexo feminino, na proporção de 1,8:1. No Brasil, a idade média de início é 52 anos, sendo 48,5 anos para os homens e 53,1 anos para as mulheres. Mundialmente, a idade de início ocorre entre 59 e 65 anos. Cerca de 4 a 6% dos casos ocorrem em pessoas com menos de 40 anos (DIETRICH-NETO *et al.*, 2000).

A ELA apresenta um curso progressivo, com óbito ocorrendo, em média, 2 a 5 anos após o início da doença (NORRIS; SHEPHERD; DENYS, 1993; LI; ALBERMAN; SWASH, 1990). Alguns casos, cerca de 8 a 22% sobrevivem por aproximadamente 10 anos. O prognóstico tende a piorar em indivíduos com início bulbar, com idade avançada e com predomínio de atrofia (WALLING, 1999; EISEN *et al.*, 1993; MACKAY, 1963). A maior causa de óbito é a insuficiência respiratória (com ou sem pneumonia), devido a associação com disfagia e broncoaspiração (OLIVEIRA; GABBAI, 2001).

De acordo com o El Escorial, revisado em 1998, as formas de apresentação são definidas pelos critérios: *ELA esporádica*, forma clássica, que ocorre isoladamente; *ELA familiar*, presente em uma ou mais gerações e associada a diferentes padrões de herança e mutações definidas, como a mutação no gene da enzima superóxido dismutase cobre/zinco (SOD-1), no cromossomo 21 e deficiência de hexosaminidase A/B; *Síndromes ELA plus*,

caracterizada por manifestações clínicas de outras doenças neurológicas, como: extrapiramidal (distonia, parkinsonismo), cerebelar (incoordenação motora), cortical (demência), autonômico (hipotensão postural), sensitivo (hipoestesia, parestesia, ataxia sensitiva) e ocular (paralisia dos movimentos oculares) (ROWLAND; SHENEIDER, 2001); *ELA com anormalidades laboratoriais de significado incerto*, com anormalidades laboratoriais definidas, com significado indeterminado sobre a patogênese da ELA; *Síndromes que mimetizam a ELA*, que ocorrem como consequência de outros processos patogênicos que não os da ELA (síndrome pós-poliomielite e neuropatias motoras multifocais com ou sem bloqueio de condução) (El Escorial revisado, 1998).

Nos estágios mais avançados da doença, observa-se diminuição da força muscular respiratória, perda progressiva de peso corporal, e alterações na ingestão alimentar (NELSON *et al.*, 2000).

Vários fatores são inerentes à ingestão alimentar na ELA. Dentre eles: inapetência, disfagia, fraqueza, dispnéia e depressão (STANICH *et al.*, 2004; NELSON *et al.*, 2000; KASARSKIS *et al.*, 1996; WELNETZ, 1990; SLOWIE *et al.*, 1983). A associação desses fatores pode resultar em comprometimento do estado nutricional e desnutrição.

2.2 Ingestão alimentar em ELA

Poucos estudos sobre ingestão alimentar em pacientes com ELA estão disponíveis na literatura. Dentre eles destacam-se estudos de Kasarskis *et al.* (1996) que verificaram 70% dos indivíduos com ingestão energética abaixo da RDA e ingestão de proteínas acima da RDA para 84% dos pacientes. Slowie *et al.* (1983) encontraram, assim como Kasarskis *et al.* (1996), 70% de inadequação para energia utilizando o recordatório de 24 horas em

pacientes com ELA. Stanich *et al.* (2004), verificaram valores acima da RDA para lipídios na maioria dos pacientes com ELA selecionados em seu estudo.

Silva *et al.* (2007a e 2007b) analisaram o perfil nutricional dos pacientes atendidos nos Ambulatórios de Disfagia e de Neuromuscular do Hospital das Clínicas da Unicamp – HC/UNICAMP. Foram feitas avaliações interdisciplinares, verificando-se nos homens, baixa ingestão calórica, de aproximadamente 1600 kcal. Entre as mulheres, também foi observada baixa ingestão calórica, em torno de 1700 kcal/dia.

Assim como na maioria das doenças neuromusculares, na ELA também podem ser observadas alterações, que aumentam o catabolismo muscular, refletindo diretamente sobre a síntese protéica e na excreção de minerais. Em estágios iniciais da doença, conforme estudo realizado com 94 pacientes com ELA, não foram observados déficits de vitaminas como E e C, mas com a evolução da doença, foram verificadas manifestações clínicas e bioquímicas de carência (LUDOLPH, 2006).

Para se estimar a ingestão alimentar, alguns países da Europa e Canadá usam como principais práticas o recordatório de 24 horas, registro alimentar de 3 dias e de 7 dias. Para estimativa dos requerimentos de energia, os profissionais usaram as equações de Schofield (1985) e Harris e Benedict (1919). Para estimar a adequação de macronutrientes os pesquisadores usaram os padrões das *Recommended Dietary Allowances* (NCR, 1989), Department of Health (1991) e do Institute of Medicine (IOM, 2002; IOM, 2001; IOM 2000; IOM 1997).

No Brasil os poucos estudos realizados com estes indivíduos relatam a utilização das RDAs para micronutrientes e para proteínas, as recomendações da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SILVA *et al.*, 2007a; STANICH *et al.*, 2004). Para estimativa dos requerimentos de energia, a equação mais usada foi a de Harris e Benedict (1919) modificada por Long; Schaffel; Geiger (1979).

De acordo com Harris e Benedict:

Homens: $TMB^* = 66 + (13,7 \times \text{massa em kg}) + (5 \times \text{altura em cm}) - (6,8 \times \text{idade em anos})$

Mulheres: $TMB^* = 655 + (9,6 \times \text{massa em kg}) + (1,7 \times \text{altura em cm}) - (4,7 \times \text{idade em anos})$

*TMB = taxa metabólica basal

Modificado por Long; Schaffel; Geiger (1979):

$VET^* = TMB \times \text{fator de atividade} \times \text{fator de injúria}$

*VET = valor energético total

Como fator de atividade, considera-se 1,2 para pacientes que não deambulavam e 1,3 para pacientes que deambulavam. Como fator de injúria, 1,1 para doenças crônicas (LONG; SCHAFFEL; GEIGER, 1979). Considerando o gasto energético de 10 a 20% acima para indivíduos com ELA (PIQUET, 2006), alguns profissionais também trabalham com 35 kcal/kg de peso atual.

Em relação a ingestão hídrica, a estimativa de acordo com Thomas (2001), deve ser de 30-35mL/kg considerando a idade.

2.3 Antropometria e composição corporal

Pode-se avaliar o estado nutricional através de métodos objetivos, tais como: antropometria, composição corporal, parâmetros bioquímicos e consumo alimentar; ou subjetivos, como o exame físico e a avaliação global subjetiva. A antropometria envolve a obtenção de medidas do tamanho corporal, suas proporções e a relação com padrões que reflitam o desenvolvimento dos indivíduos adultos. As medidas mais utilizadas são peso, estatura, circunferências e dobras cutâneas (STANICH *et al.*, 2004; KASARSKIS *et al.*, 1996; SLOWIE *et al.*, 1983).

Peso (P)

Para pacientes que não deambulavam, na ausência de uma balança metabólica, o peso é aferido com cadeira de rodas. Previamente à pesagem do paciente, as cadeiras são pesadas e o valor descontado no momento da calibração da balança. Os pacientes que deambulam, o peso corpóreo é aferido em pé em balanças tipo plataforma ou digital (STANICH *et al.*, 2004). O peso também pode ser aferido em balanças tipo cadeira, disponíveis no mercado.

Altura (A)

A altura, para indivíduos que não deambulam, é aferida com o indivíduo sentado o mais próximo possível da extremidade da cadeira, com o joelho esquerdo flexionado em ângulo de 90°. O comprimento entre a superfície plantar e o joelho é medido com auxílio de fita métrica. A altura é estimada segundo as equações propostas por Chumlea; Roche; Steinbaugh (1985), onde:

$$\text{Altura homens} = [64,19 - (0,04 \times \text{idade em anos})] + (2,02 \times \text{altura do joelho em cm})$$

$$\text{Altura mulheres} = [84,88 - (0,24 \times \text{idade em anos})] + (1,83 \times \text{altura do joelho em cm})$$

Índice da massa corporal (IMC)

Usualmente, utiliza-se a relação entre massa corporal e altura como indicador de Índice de Massa Corporal (IMC = massa corporal kg/altura m²).

Esse índice classifica-se em:

- IMC < 16 kg/m²: desnutrição grave
- 16 - 16,9 kg/m²: desnutrição moderada
- 17,0- 18,49 kg/m²: desnutrição leve
- 18,5 - 24,9 kg/m²: eutrófico

- 25,0 - 29,9 kg/m²: Sobrepeso
- 30,0 - 34,9 kg/m²: Obesidade grau I
- 35,0 - 39,9 kg/m²: Obesidade grau II
- > 40 kg/m²: Obesidade grau III (Organización Mundial de La Salud, 1985)

Kasarskis *et al.* (1996) confirmam a correlação entre a redução do IMC e diminuição da expectativa de vida. Em trabalhos realizados por Mazzini *et al.* (1995), 53% dos pacientes com ELA apresentaram IMC <20Kg/m² e 55% apresentaram perda de peso > 15% do peso usual.

Circunferência do braço (CB)

A circunferência do braço é aferida no braço não dominante estendido ao longo do corpo, medida no ponto médio entre o processo acrômio e o olécrano, com fita métrica plástica, flexível e inelástica (LOHMAN; ROCHE; MARTORELL, 1991). Desport; Maillot (2002) utilizam a CB para cálculo da circunferência muscular do braço (CMB) e acompanhamento do estado nutricional dos pacientes com ELA.

Dobras cutâneas

Dobra cutânea tricipital (DCT) = determinada paralelamente ao eixo longitudinal do braço, na face posterior, sendo seu ponto exato de reparo a distância média entre a borda súpero-lateral do acrômio e o olécrano.

Dobra cutânea bicipital (DCB) = determinada no sentido do eixo longitudinal no braço, na sua face anterior, no ponto meso-umeral do bíceps.

Dobra cutânea subescapular (DCSE) = obtida obliquamente ao eixo longitudinal seguindo a orientação dos arcos costais, sendo localizada a 2 cm do ângulo inferior da escápula.

Dobra cutânea suprailíaca (DCSI) = aferida afastando-se levemente o braço direito do paciente para trás procurando não influenciar na obtenção da medida. Esta dobra é individualizada no sentido oblíquo a 2 cm acima da crista ilíaca ântero-superior na altura da linha axilar anterior.

Para avaliação da CB e dobras cutâneas, utiliza-se como padrão de referência o trabalho de Frisancho (1981).

Classificação do estado nutricional

Segundo a Tabela de Distribuição em Percentis, calcula-se a percentagem de adequação dos parâmetros supracitados, considerando-se o percentil 50 (P50) como padrão.

$$\% \text{ adequação} = \text{valor parâmetro estudado} / \text{valor P50} \times 100$$

Para a classificação do estado nutricional, utiliza-se os valores da Tabela 1.

Tabela 1. Classificação do estado nutricional segundo os parâmetros propostos por Blackburn; Harvey (1982) e Blackburn; Thornton (1979).

Parâmetros	Obesidade	Sobrepeso	Eutrofia	DPC¹ leve	DPC moderada	DPC grave
CB ²	≥ 120%	120-110%	110-90%	90-80%	80-70%	≤ 70%
DCT ³	≥120%	120-110%	110-90%	90-80%	80-70%	≤ 70%

¹DPC: Desnutrição protéico-calórica; ²CB: Circunferência braquial; ³DCT: Dobra cutânea triциptal.

Para a determinação do estado nutricional os parâmetros antropométricos são analisados em conjunto. Os valores obtidos segundo percentagem de adequação são

classificados pelo Escore de Desnutrição Protéico Calórico (DPC). O Escore de DPC representa a soma de todos os parâmetros de avaliação nutricional em percentagem de adequação dividido pelo número de parâmetros avaliados (BLACKBURN; HARVEY, 1982).

$$\text{Escore DPC} = \frac{\% \text{ adq PI} + \% \text{ adq DCT} + \% \text{ adq CB} + \% \text{ adq CMB} + \% \text{ adq AMB}}{\text{Números de parâmetros}}$$

Números de parâmetros

% adq PI = % de adequação a partir do peso ideal

% adq DCT = % de adequação da dobra cutânea tricipital

% adq CB = % de adequação da circunferência braquial

% adq CMB = % de adequação da circunferência muscular do braço

% adq AMB = % de adequação da área muscular do braço

O valor obtido pelo escore de DPC permite classificar os pacientes em:

Eutrofia: > 100%

DPC leve: < 100% e > 80%

DPC moderada: < 80% e > 60%

DPC grave: < 60%

Porcentagem de perda de peso (%PP)

A porcentagem de alteração de peso usual ou porcentagem de perda de peso (%PP) é determinada utilizando o peso usual e atual do paciente, conforme a seguinte equação:

$$\% \text{ PP} = \frac{\text{Peso Usual} - \text{Peso Atual}}{\text{Peso Usual}} \times 100$$

A % PP é altamente reflexiva da extensão da doença. Pacientes com valores de % PP acima de 10% são classificados como desnutridos e acima de 10% desnutrição grave (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005).

Bioimpedância elétrica

A análise de bioimpedância elétrica (BIA) é uma técnica não-invasiva que pode ser usada para estimar a composição corporal. O método usa a corrente de baixa amperagem (frequência única ou múltipla) que passa entre dois eletrodos colocados na pele sob a hipótese de que a resistência da corrente (impedância) varia de maneira inversamente proporcional ao líquido presente nos tecidos e ao teor de eletrólitos. A BIA apresenta boa correlação com a composição corporal feita com a diluição de isótopo, em condições controladas (O'BRIEN; YOUNG; SAWKA, 2002).

Em ELA, em função das limitações e das dificuldades na avaliação nutricional, a BIA tem sido uma boa ferramenta no diagnóstico nutricional. Trata-se de uma técnica fácil, não invasiva onde obtém-se a massa livre de gordura e a massa de gordura, além da estimativa do grau de hidratação. Em 2003, foi validada a equação para a BIA em pacientes com ELA através de estudos transversais e longitudinais, sendo esta otimizada a 50 kHz (DESSPORT *et al.*, 2003).

Radioabsorciometria de feixes duplos (DEXA)

A radioabsorciometria de feixes duplos (DEXA) é um método invasivo que vêm se tornando uma medida popular na avaliação da composição corporal, em países desenvolvidos (MADSEN; JENSEN; SORENSEN, 1997; TOTHILL *et al.*, 1996; SNEAD; BIRGE; KOHRT, 1993). Esse método permite a avaliação estrutural da composição corporal, dividindo a massa corporal em três componentes básicos: tecido macio livre de minerais e gordura, conteúdo mineral ósseo e gordura (LASKEY, 1996).

Alguns estudos mostram a utilização desta técnica em pacientes com ELA (TADAN *et al.*, 1998; NAU *et al.*, 1995; KANDA *et al.*, 1994), no entanto Desport *et al.* (2003) ressalta que o equipamento é de alto custo, e que o fato do paciente permanecer na posição

horizontal com os braços estendidos ao longo do corpo por mais de 10 minutos pode ser um problema para indivíduos com ELA.

2.4 Parâmetros bioquímicos

A escolha dos parâmetros laboratoriais está baseada naqueles exames que demonstram as alterações bioquímicas mais rápidas e que permitam acompanhar a evolução do estado nutricional do paciente.

Índice de Creatinina/Altura: relação entre a excreção de creatinina em 24 horas de um paciente e a excreção esperada de creatinina em 24 horas de um adulto sadio normal. Determina o grau de depleção da proteína somática do paciente. Índices de creatinina/altura entre 60% e 80% refletem depleção moderada da proteína somática, e valores inferiores a 60% depleção grave (ESCOTT-STUMP, 2007).

Creatinina Plasmática Total: volume plasmático x creatinina plasmática total. Cada miligrama de creatinina plasmática total corresponde a 0,88 ou 0,98 kg de músculo esquelético (ESCOTT-STUMP, 2007).

Balanço Nitrogenado: relação entre a ingestão de nitrogênio em 24 horas e a excreção de nitrogênio em 24 horas. O balanço nitrogenado é considerado positivo entre 4 e 6 g. Valores inferiores – balanço nitrogenado negativo – podem predizer hipercatabolismo (ESCOTT-STUMP, 2007).

Proteínas Totais: responsáveis pela pressão oncótica. Em indivíduos eutróficos, existe equilíbrio entre albumina (4,0-5,8g%) e globulina (1,0-3,0g%). A relação entre essas deve ser entre A/G=1,5-2,5 (ESCOTT-STUMP, 2007).

Albumina e Transferrina: Evidenciam estado de proteína visceral. A albumina (meia-vida de 16 a 18 dias) pode ser correlacionada com mudanças na circunferência muscular do braço. A transferrina (meia vida de 6 a 8 dias) é um bom indicador de síntese hepática protéica (BLACKBURN; THORNTON, 1979).

Pré-Albumina: Observa-se diminuição dos níveis séricos desta proteína em infecções e traumatismos. Meia-vida de 2 dias e valores normais $22,4\text{mg}\% \pm 7\text{mg}\%$ (ESCOTT-STUMP, 2007).

Proteína Ligadora de Retinol: Proteína específica para o transporte de vitamina A alcoólica. Além de ser bom indicador de prova renal, em ELA, pode ser utilizada devido a meia vida de 10 horas, refletindo alterações agudas de desnutrição protéica (ESCOTT-STUMP, 2007).

Hemograma: Pedido rotineiro na prática clínica. Geralmente são avaliados: Hemácias, Hemoglobina, Hematócrito, Ferro Sérico, Capacidade Total de Transporte de Ferro (CTF) e Ferritina.

Contagem Total de Linfócitos: Contagem total de leucócitos e o percentual de linfócitos. A depressão na imunidade celular está relacionada ao aumento da morbidade e mortalidade por doença infecciosa (BLACKBURN; THORNTON, 1979).

Em estudo realizado por Rio e Cawadias (2007), foram discutidas as principais técnicas adotadas por nutricionistas de alguns centros de tratamento de ELA na Europa e do Canadá, para avaliação nutricional de indivíduos com ELA. Os pesquisadores encontraram somente 22% dos nutricionistas com experiência maior que 4 anos com ELA. Dentre os métodos para avaliação nutricional mais utilizados estavam o peso, usado por 100% dos profissionais, %PP (96%), IMC (83%) e circunferência braquial (9%). A impedância bioelétrica, validada por Desport *et al.* em 2003, assim como a DEXA, não foram relatadas pelos profissionais dos centros investigados por Rio e Cawadias.

Verificando as medidas adotadas pela literatura pertinente, assim como em outras doenças, em ELA pode-se notar a utilização de parâmetros como o peso, %PP e IMC, além das dobras cutâneas, BIA, DEXA e calorimetria indireta. Dos parâmetros bioquímicos, foram relatados albumina e creatinina (RIO; CAWADIAS 2007; DESPORT *et al.*, 2003; DESPORT *et al.*, 2001; SILANI; KASARKIS, YANAGISAWA, 1998).

2.5 Disfagia

Com a evolução clínica da ELA, são comuns manifestações como disartria (alteração da fala), dispnéia (alteração respiratória), disfonia (alteração da voz) e disfagia (alteração da deglutição). Essas manifestações ocorrem em função da progressiva disfunção da musculatura respiratória, ocasionada pela degeneração dos neurônios motores do trato corticobulbar (CHIAPPETTA; ODA, 2004).

Em 17 a 30% dos pacientes com ELA, os músculos bulbares, principalmente os grupos musculares do véu do palato e língua são os primeiros afetados, resultando em

disfagia progressiva, e conseqüentemente dificuldade na ingestão de alimentos e líquidos (CALIA; ANNES, 2003; MITSUMOTO; NORRIS, 1994; GUBBAY *et al.*, 1985).

A fraqueza orolaringofaríngea afeta a sobrevivência de indivíduos com ELA, principalmente, pelo risco contínuo de pneumonia aspirativa e sepsis e, pela ingestão alimentar inadequada podendo resultar em desnutrição (KARSARKIS *et al.*, 1996).

A desnutrição decorrente de disfagia, ou de outros fatores associados como atrofia muscular e da fraqueza diafragmática aumenta o risco relativo ao óbito em quase oito vezes em pacientes com ELA (MITSUMOTO *et al.*, 2003; DESPORT *et al.*, 1999).

O envolvimento da musculatura da língua e orbicular dos lábios, com a evolução da ELA, desencadeia diminuição da onda pressórica, da peristalse faríngea, da elevação e anteriorização da laringe, ocasionando engasgos, mesmo com saliva (WATTS; VANRYCKEGHEM, 2001; STRAND *et al.*, 1996).

Na ELA, a disfagia para líquidos é mais comum que para sólidos. O escape precoce, ou seja, quando o alimento chega a valécula antes do início da deglutição faríngea, é mais freqüente com líquidos ralos e a maior causa de aspiração traqueal. Resíduos faríngeos são mais comumente observados no decorrer da doença. As consistências pastosa e sólida podem causar penetração laríngea e aspiração traqueal após a deglutição. As alterações da deglutição ocorrem devido à influência do trânsito oral, redução da movimentação da base de língua, redução da elevação e anteriorização da laringe e da contração faríngea (CHIAPPETTA; ODA, 2004; LOGEMAN, 1998; CAMPBELL; ENDERBY, 1984; *apud* CHIAPPETTA, 2005).

Para minimizar intercorrências respiratórias e nutricionais no tratamento da disfagia, a avaliação interdisciplinar é extremamente importante, sendo a modificação da textura dos alimentos uma alternativa para a manutenção da via oral.

2.6 Textura dos alimentos

A textura é a soma das sensações cinestésicas, derivadas da degustação de um alimento. Isso engloba todas as sensações percebidas na cavidade oral. Ou seja, textura é a relação do alimento frente à aplicação de forças (CAMPOS, 1989). Esta, por sua vez, está relacionada às propriedades físicas percebidas pelos olhos antes de consumir o alimento, pelo sentido do tato no manuseio, pelos receptores da boca durante o consumo e pela audição durante a mastigação. Existem, pelo menos, sete características de textura importantes (WRIGHT *et al.*, 2005; TYMCHUCK, 1999), conforme citadas a seguir:

Firmeza ou dureza: é a força requerida para a compressão de um alimento pastoso (pudim ou banana entre a língua e o palato).

Elasticidade: é o grau em que o alimento retorna à forma original depois de ser comprimido (marshmallow).

Fraturabilidade: é a força que causa a quebra de um alimento sólido pela ação de duas forças opostas (morder uma cenoura).

Mastigabilidade/Dureza: é a força necessária para deformar alimentos sólidos (mastigação de uma salsicha um pouco antes de iniciar a sua quebra).

Adesividade: é a atração entre a superfície do alimento e outra (a força necessária para remover a pasta de amendoim aderida ao palato).

Coesão: é o grau em que o alimento se deforma quando é comprimido. (quando uma papa de bolacha é comprimida entre a língua e o palato).

Viscosidade: é a taxa de fluxo por unidade de força (taxa na qual um iogurte é drenado pela sucção através de um canudo).

A viscosidade do alimento é uma das variáveis mais importantes da deglutição. Os líquidos ralos dificultam a deglutição de pacientes que apresentam controle laríngeo

reduzido. Isso ocorre porque os líquidos ralos são deglutidos rapidamente e não mantêm sua forma dentro da cavidade oral. Desse modo, parte do alimento líquido pode escorrer prematuramente para a faringe e, assim, penetrar nas vias aéreas ainda abertas. Ou seja, antes que a deglutição tenha efetivamente ocorrido. Para evitar esse efeito, deve ser determinada a viscosidade ideal para a deglutição ocorrer de maneira segura (SOUZA *et al.*, 2003).

É importante entender a definição de viscosidade porque esta influencia muitos aspectos da avaliação e manejo da disfagia. A viscosidade pode ser definida como resistência do líquido ao fluxo e é medida em *centipoises* (ctps ou cP). A água é um exemplo de líquido ralo, cuja viscosidade é de, aproximadamente, 1 cP à temperatura de 25 °C (MILLS, 1999).

Existem diferentes tipos de viscosidade, que podem ser facilmente alcançadas utilizando espessantes comerciais. Estes tipos podem ser classificados em valores de centipoise (cP) (Tabela 2) em *ralo* (1-50 cP), *néctar* (51-350 cP), *mel* (351-1750 cP) e *pudim* (> 1750 cP) (ADA, 2002).

Tabela 2. Classificação da viscosidade, em valores de centipoise (cP), de acordo com a ADA (2002) para o cuidado nutricional de indivíduos com disfagia.

Classificação	Viscosidade (cP)
Ralo	1-50
Néctar	51-350
Mel	351-1750
Pudim	> 1750

Fonte: ADA, 2002

No Quadro 1 está apresentado um exemplo de uma dieta modificada com restrição a “líquido ralo” (1-50 cP) e sólido para indivíduos com ELA e comprometimento da deglutição.

Quadro 1. Dieta modificada com restrição a “líquido ralo” (1-50 cP) e “sólidos” para indivíduos com ELA e comprometimento da deglutição. Características: Alimentos macios, úmidos e todos liquidificados. Os alimentos líquidos são todos espessados. O exemplo de cardápio contém aproximadamente 2.000 quilocalorias.

Refeição	Alimento	Ingredientes (Porções)	Viscosidade (cP)
<i>Café da manhã:</i>	Mingau de farinha Láctea	Leite: 100 mL Farinha Láctea: 25 g	910
	Banana amassada	1 unidade – 90 g	2.900
<i>Lanche:</i>	Suco mamão espessado	Água: 30 mL Mamão: 170 g	870
<i>Almoço:</i>	Sopa de legumes com carne (liquidificada)	Água (600 mL), carne (75 g), abobrinha (30 g), chuchu (30 g), beterraba (50 g), cenoura (30 g), batata (30 g), arroz cru (50 g)	3.520
	Suco de laranja espessado	Suco de laranja: 200 mL Espessante: 10 g	320
<i>Lanche:</i>	Vitamina de frutas (mamão, banana e maçã)	<i>Leite fluido resfriado (10°)</i> <i>(200 mL), mamão (100 g), banana (90 g), maçã (50 g)</i>	1.090
<i>Jantar:</i>	Canja de galinha	Água (600 ml), frango (75 g), arroz cru (50 g), mandioquinha (120 g), cenoura (30 g)	4.680
	Mousse de maracujá	100 g	3.790
<i>Ceia:</i>	Mingau de milho	Leite: 100 mL Farelo de Milho: 25 g	840

* Adaptado de Peres *et al.* (2006).

2.7 Complicações respiratórias

A função muscular respiratória passa a ser afetada com o enfraquecimento dos músculos respiratórios, o que leva à hipoventilação, hipercapnia, dispnéia, infecções pulmonares e insuficiência respiratória (OLIVEIRA; GABBAI, 2001; HAYASHI, 2000; KAPLAN; HOLLANDER, 1994; SCHIFFMAN; BELSH, 1993).

A insuficiência respiratória pode desenvolver-se tanto como consequência natural da evolução da doença ou pode ser aguda, pela precipitação de infecção pulmonar ou pneumonia aspirativa (KAPLAN; HOLLANDER, 1994).

A avaliação precoce da função pulmonar e das pressões respiratórias máximas deve ser realizada assim que o diagnóstico de ELA for confirmado, uma vez que o comprometimento respiratório é o fator limitante para sobrevivência do indivíduo com ELA. A avaliação respiratória tem como objetivo estabelecer a presença ou a ausência do comprometimento respiratório, sua gravidade, proporcionar dados para comparações futuras e planejamento terapêutico (SHIFFMAN; BELSH, 1993).

A avaliação clínica da capacidade vital (CV) permite a obtenção de dados tanto da função muscular quanto pulmonar e acompanhar a gravidade do comprometimento respiratório. O declínio progressivo da capacidade vital ao longo da doença deve-se à fraqueza muscular respiratória e à complacência pulmonar reduzidas, em parte devido à micro atelectasias ou a restrição do movimento da caixa torácica (TIDWELL, 1993; HOWARD; WILES; LOH, 1989). A CV em torno de 50% do previsto está associada a sintomas respiratórios, mas valores abaixo de 20 a 30% do previsto podem ser preditivos de falência respiratória e óbito (HARDIMAN, 2000; MILLER *et al.*, 1999).

Black e Hyatt (1969), descreveram casos de pacientes com ELA com sintomas de dispnéia, com CV, fluxo expiratório máximo e ventilação voluntária máxima próximos do

normal, mas com significativo decréscimo na pressão inspiratória máxima ($PI_{máx}$) e pressão expiratória máxima ($PE_{máx}$) que estavam reduzidas em média 34% e 47% do previsto. Com base em seus dados, propuseram a relação entre o grau de dispnéia e o grau de fraqueza muscular respiratória obtido pela mensuração da $PI_{máx}$, e $PE_{máx}$, especialmente quando outros resultados como teste de função pulmonar, encontram-se normais.

Shiffman e Belsh (1993) estudaram 36 pacientes com diagnóstico de ELA com o objetivo de determinar o grau de prejuízo muscular respiratório e a subsequente taxa de declínio da função respiratória desses pacientes. Constataram que, embora 81% não relatassem sintomas respiratórios, 86% apresentaram evidência de alguma fraqueza muscular respiratória determinada pela redução na CV, na $PI_{máx}$ e $PE_{máx}$.

2.8 Avaliação funcional

O instrumento de medida *Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale* (ALSFRS) foi elaborado para avaliar a função das atividades de vida diária na ELA e detectar melhora ou declínio da função após um período de estudo (JACKSON; ROSENFELD, 2002). A ALSFRS é derivada do instrumento *Amyotrophic Lateral Sclerosis Severity Scale e da Unified Parkinson Rating Scale* (COURATIER; TORNY; LACOSTE, 2006). Trata-se de uma escala validada e de uso internacional que avalia a função física, comprometimentos bulbares, apendiculares e respiratórios na ELA (COURATIER; TORNY; LACOSTE, 2006; DE GROOT *et al.*, 2006; JACKSON; ROSENFELD, 2002; CEDARBAUM *et al.*, 1999). É um instrumento utilizado em estudos longitudinais bem como na prática clínica, pois se correlaciona com outras medidas de progressão da ELA (força muscular e capacidade vital forçada) e níveis de incapacidade da ELA (ALS CNFT Treatment Study, 1996). Os componentes da escala se agrupam em

quatro domínios: função bulbar, função motora fina, função motora grossa e função respiratória.

Cedarbaum *et al.* (1999), assinalou que na ALSFRS os componentes da escala não estavam equitativamente divididos, pois havia três itens para as funções motora grossa, fina e bulbar e apenas um item para a função respiratória. Desta forma, a escala foi revisada em 1999 e passou a conter 12 itens (ALSFRS-R): fala, deglutição, salivação, escrita, alimentação (uma subdivisão foi realizada para pacientes com ou sem gastrostomia), vestir/higiene, transferência na cama/ajuste lençóis, andar, subir escadas, dispnéia, ortopnéia e insuficiência respiratória. Cada item é pontuado em 5 níveis: 0 para incapaz e 4 para normal; então variando de 0 a 40, sendo que o escore menor representa pior estado clínico.

A adição dos itens ortopnéia e insuficiência respiratória resultou em uma escala mais sensível às mudanças e com melhor capacidade de predizer a sobrevivência que a original ALSFRS (CEDARBAUM *et al.*, 1999). A ALSFRS-R é uma escala simples, de fácil e rápida aplicação (até 10 minutos), podendo ser administrada pelo médico, enfermeiro, fisioterapeuta ou profissional de saúde treinado e familiarizado com o instrumento (JACKSON; ROSENFELD, 2002).

2.9 Suporte nutricional

O suporte nutricional pode retardar a perda de peso e a atrofia muscular. Pesquisas têm demonstrado que a perda de peso corporal associada às alterações bulbares (disfagia e respiração) requer suporte nutricional precoce e específico (KASARSKIS *et al.*, 1996; SLOWIE *et al.*, 1983).

A constante atrofia muscular, característica das doenças progressivas pode mascarar o aumento da demanda metabólica. Uma vez que as energias estão canalizadas para a manutenção da ventilação pulmonar, justifica-se o aumento do gasto energético basal dos pacientes com ELA (STANICH *et al.*, 2004; KASARSKIS *et al.*, 1996; NAU *et al.*, 1995; SHIMIZU; HAYASHI; TANABE, 1991).

Em um estudo com pacientes com ELA, sob programa de suplementação nutricional oral, verificou-se diminuição progressiva do índice de massa corporal (IMC) nos pacientes com paralisia bulbar progressiva e preservação dessas variáveis nos pacientes com ELA. A relação massa magra/massa gorda manteve-se durante o estudo para ambos os grupos. A classificação do estado nutricional não se modificou para 70% dos pacientes. Os resultados demonstraram que a suplementação preveniu a piora do estado nutricional, mas não foi capaz de corrigir as médias globais de adequação (STANICH *et al.*, 2004).

É comum na prática clínica a utilização de suplementos de vitaminas, principalmente de vitamina E. Sugere-se que a suplementação desta vitamina, cuja quantidade ainda não definida, possa melhorar o perfil nutricional de indivíduos com ELA (BORASIO; VOLTZ, 1997). A suplementação oral com creatina monoidratada na concentração de 3g/dia não demonstrou melhora do estado nutricional em ELA. No entanto, a suplementação energética e protéica é utilizada por grande parte dos profissionais, e mostrou ser eficiente no estado nutricional de indivíduos com ELA (RIO; CAWADIAS, 2007; HEFFERNAN *et al.*, 2004).

2.9.1 Suplementação oral com proteínas do soro de leite

O leite é constituído por água (87,3%), lactose (4,6%), gordura (3,9%), proteínas (3,2%), substâncias minerais (0,65%) e ácidos orgânicos (0,2%). Dentre as proteínas, as caseínas representam 80% e as proteínas do soro de leite, 20%.

O soro do leite (Tabela 3) é composto pelas frações α -lactoalbumina (α -La), β -lactoglobulina (β -Lg), lactoferrina, lactoperoxidase, imunoglobulinas e glicomacropéptídeos (KINSELLA; WHITEHEAD, 1989).

Tabela 3. Porcentagem de proteínas no leite bovino em base úmida.

Composição	%
Caseínas	80
Proteínas do soro	20
α -lactoalbumina	50-55
β -lactoglobulina	20-25
Albumina do soro bovino	5-10
Imunoglobulinas	10-15
Lactoferrina	1-2
Lactoperoxidase	0,5
Glicomacropéptídeo	10-15

Fonte: USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 16 (2003).

A qualidade das proteínas do soro de leite vem sendo observada desde 1978 por Bounous e Kongshavn (1988), a partir de pesquisas realizadas para analisar os efeitos de diferentes proteínas alimentares no sistema imune de animais, quando se verificou que o

isolado protéico do soro de leite contém altas quantidades dos aminoácidos cistina e glutamilsteína que são precursores da glutatona (GSH), e que a mistura dessas proteínas desempenha papel importante na manutenção dos níveis celulares de GSH, necessários para garantir uma resposta imune eficiente. As proteínas do soro apresentaram ações fisiológicas específicas, estando associadas a vários efeitos biológicos observados em estudos com animais e humanos, que variam desde atividade anticâncer, melhora na função digestiva, melhora do desempenho físico, além de modulação do sistema imune (PACHECO *et al.*, 2006; TASSI; AMAYA-FARFÁN; AZEVEDO, 1998; McINTOSH; ROGESTER, 1998; BRINK, 1996).

Em estudo com crianças infectadas pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV-I) e suplementadas com proteínas do soro de leite por 6 meses, foi observado, aumento da GSH nos linfócitos (BARUCHEL *et al.*, 1998). Em outro estudo, realizado no HC-UNICAMP, a suplementação nutricional em crianças HIV+, com concentrado protéico do soro de leite (WPC) rico em cisteína, aumentou os níveis de GSH nos eritrócitos, sugerindo melhora na relação entre os linfócitos T CD4⁺/CD8⁺ (MORENO, 2002). Em adultos infectados pelo HIV-I com suplementação alimentar semelhante, apresentou aumento dos níveis de GSH plasmática e de células mononucleadas (MICKE *et al.*, 2001; BOUNOUS *et al.*, 1993).

Bounous e Molson (2003) demonstraram que o WPC e o hidrolisado do soro do leite (WPH) são boas fontes de cisteína, aminoácido limitante para síntese intracelular de GSH durante a resposta imune. A glutatona (GSH- γ -glutamilsteínilglicina) é o tiol livre mais abundante nas células humanas; desempenha função importante como antioxidante de lipídios, proteínas e alguns materiais genéticos (LU, 1999; ANDERSON, 1998; SEN, 1997), participando em diversos processos biológicos como remoção de hidroperóxidos,

proteção contra efeitos de radiações ionizantes, manutenção das ligações sulfidríla das proteínas e modulação da atividade de enzimas pela mudança nas ligações dissulfeto (AKERBOON; SIES, 1981), e ainda é um modo de armazenamento de cisteína; participa do metabolismo de prostaglandinas, linfócitos bem como na funcionalidade do sistema imunológico e proliferação celular (BRODY, 1994).

Tendo em vista as propriedades funcionais fisiológicas e tecnológicas das proteínas do soro de leite, associado a todas as peculiaridades e complicações clínicas dos pacientes com ELA, principalmente àqueles com comprometimento bulbar, sugere-se a utilização destas fontes protéicas como coadjuvante no tratamento da disfagia, no estado nutricional e consequentemente na evolução da ELA.

2.9.2 Vias alternativas de alimentação em ELA

Diferentes autores relatam a necessidade de via alternativa de nutrição a partir dos seguintes critérios: capacidade vital em torno de 50% do predito, presença de disfagia moderada a grave e diminuição de 10% do peso corpóreo nos últimos três meses. (STANICH *et al.*, 2004; MITSUMOTO *et al.*, 2003; ALBERT *et al.*, 2001; SILANI; KASARSKIS; YANAGISAWA, 1998; LISBETH *et al.*, 1994).

A gastrostomia endoscópica percutânea (GEP) representa uma opção no tratamento sintomático do paciente com ELA (MILLER *et al.*, 1999).

Ao comparar a utilização de nutrição enteral via sonda nasogástrica e gastrostomia endoscópica percutânea (GEP) em pacientes com ELA, observa-se diferença significativa no índice de massa corporal (IMC) dos pacientes com GEP em relação aos com sonda nasogástrica, além da melhor aceitação social e, consequentemente, da qualidade de vida

dos pacientes estudados, justificando a utilização desta técnica quando a ingestão via oral não for segura (MAZZINI *et al.*, 1995).

2.10 Considerações finais

Esta Revisão Bibliográfica foi realizada para fundamentar a hipótese da Tese e reúne informações científicas que catalogam as principais práticas para avaliação, com enfoque nutricional, em indivíduos com ELA. A literatura pertinente e disponível para consulta é limitada. Trabalhos sobre a ingestão alimentar, técnicas específicas de avaliação do estado nutricional bem como do uso de suplementos são escassos.

3

Referências

3. REFERÊNCIAS

ADA. 2002. **National Dysphagia Diet: Standardization for Optimal Care**. National Dysphagia Diet Task Force. Chicago, IL: The American Dietetics Association. 47 p.

AKERBOON, T. P. M.; SIES, H. Assay of glutathione , glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. **Methods in Enzymology**, New York, v. 77, p. 373-382, 1981.

ALBERT, S. M.; MURPHY, P. L.; DEL BENE, M.; ROWLAND, L. P.; MITSUMOTO, H. Incidence and predictors of GEP placement in ALS/MND. **Journal of Neurological Sciences**, v.191, p. 115-119, 2001.

ALS CNTF Treatment Study (ACTS) Study Group. A double-blind placebo-controlled clinical trial of subcutaneous recombinant human ciliary neurotrophic factor (rHCNTF) in amyotrophic lateral sclerosis. **Neurology**, Minneapolis, v. 46, p. 1224-1249, 1996.

ANDERSON, M. E. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. **Chemical and Biological Interactions**, v.111, p.1-14, 1998.

BACH, J. R. **Guia de exame e tratamento das doenças neuromusculares**. São Paulo: Santos editora Ltda, 2004. 166 p.

BARUCHEL, S.; BOUNOUS, G.; OLIVIER, R.; VIAU, G.; WAINBERG, M. A. Nutriceutical Modulation of Glutathione with a Humanized Native milk Serum Protein Isolate, *ImmunocalTM*: Application in AIDS and cancer. p. 447-461. *In*: MONTAGNIER, L.; OLIVIER, R.; PASQUIER, C. **Oxidative Stress in Cancer, AIDS, and Neurodegenerative Disease**, New York: Marcel Dekker, 1998. 558 p.

BLACK, L. F.; HYATT, R. E. Maximal respiratory pressures: normal values and relationship to age and sex. **American Review of Respiratory Disease**, New York, v. 99, p. 696–702, 1969.

BLACKBURN, G. L.; HAVEY, K. B. Nutritional assessment as a routine in clinical medicine. **Postgraduate Medicine**, New York, v. 71, p. 46-63, 1982.

BLACKBURN, G. L.; THORNTON, P. A. Nutrition assessment of the hospitalized patient. **Medicine Clinical Nutrition of American**, v. 63, p. 1103-1115, 1979.

BORASIO, G. D.; VOLTZ, R. Palliative care in amyotrophic lateral sclerosis. **Journal of Neurology**, New York, v. 244, p.S11-S7, 1997. Supl. 4.

BOUNOUS, G.; BARUCHEL, S.; FALUTZ, J.; GOLD, P. Whey protein as a food supplement in HIV-seropositive individuals. **Clinical and Investigative Medicine**, Ottawa, v. 16, p. 204-209, 1993.

BOUNOUS, G.; KONGSHAVN, P. A. L.; GOLD, P. The Immunoenhancing Property of Dietary Whey Protein Concentrate. **Clinical and Investigate Medicine**, Ottawa, v. 11, n. 4, p. 271-278, 1988.

BOUNOUS, G.; MOLSON, J.H. The antioxidant system. **Anticancer Research**, Ulrich, v. 23, p. 1411-1415, 2003.

BRADLEY, W. Esclerose Lateral Amiotrófica. Disponível em <http://www.tudosobreela.com.br/relacoes/entrevistas02.shtml?sessao=entrevistas> [2007 Jun 30].

BRINK, W. The life extension protein: that fights disease and extends lifespan. **Life Extention Report**, Life Extention Foundation, Scottsdale, v.1, p. 21-28, 1996.

BRODY, T. **Inorganic nutrients**. In BRODY, T. Ed. Nutritional Biochemistry, San Diego: Academic Press, 1994, p.485-642.

CALIA, L. C.; ANNES, M. Afecções neurológicas periféricas. In: LEVY, J. A.; OLIVEIRA, A. S. B. Ed. **Reabilitação em doenças neurológicas – guia terapêutico prático**. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 31-64.

CAMPBELL, M. J.; ENDERBY, P. Management of motor neurone disease. **Journal of the Neurological Sciences**. Amsterdam, v. 64, p. 65–71, 1984.

CAMPOS, S. D. S. Textura de alimentos. In CAMPOS, S. D. S (Ed). **Reologia e textura dos alimentos**. Campinas: ITAL, 1989. p.15..

CEDARBAUM, J. M.; STAMBLER, N.; MALTA, E.; FULLER, C.; HILT, D. THURMOND, B. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. BDNF ALS Study Group (Phase III). **Journal of the Neurological Science**, Detroit, v. 169, p. 13-21, 1999.

CHIAPPETTA, A. L. M. L. **Disfagia Orofaringea em Pacientes com Doença do Neurônio Motor/Esclerose Lateral Amiotrófica**. São Paulo, 2005. 124. Tese (Doutor em Ciências) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo.

CHIAPPETTA, A. L. M. L.; ODA, A. L. Doenças neuromusculares. In: FERREIRA, L. P.; BENEFILOPES, D. M.; LIMONGI, S. C. Ed. **Tratado de fonoaudiologia**. São Paulo: Roca, 2004. 330-342 p.

CHUMLEA, M. A. C.; ROCHE, A. F.; STEINBAUGH, M. L. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. **Journal of American Geriatrics Society**, New York, v. 33, p. 116-120, 1985.

COURATIER, P.; TORNAY, F.; LACOSTE, M. Échelles fonctionnelles de la sclérose latérale amyotrophique. **Revue Neurologique**, Paris, v. 162, n. 4, p. 502-507, 2006.

DE GROOT, I. J. M.; POST, M. W. M.; VAN HEUVELN, T.; VAN DEN BERG, L. H.; LINDEMAN, E. Measurement of decline of functioning in persons with amyotrophic lateral sclerosis: responsiveness and possible applications of the Functional Independence Measure, Barthel Index, Rehabilitation Activities Profile and Frenchay Activities Index. **Amyotrophic Lateral Sclerosis and other Neuron Disorders**, London, v. 7, p. 167-172, 2006.

DEPARTMENT OF HEALTH. Report on health and social subjects. **Dietary reference values for food energy and nutrients for the UK**. London: HMSO, n. 41, 1991.

DESPOURT, J. C.; PREUX, P. M.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; CLAVELOU, P.; BEAUFRÈRE, B.; BONNET, C.; COURATIER, P. P. Validation of bioelectrical impedance analysis in patients with amyotrophic lateral sclerosis. **American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, v.77, p. 1179-1185, 2003.

DESPOURT, J. C.; PREUX, P. M.; MAGY, L.; BOIRIE, Y.; VALLAT, J. M.; BEAUFRÈRE, B.; COURATIER, P. Factor correlated with hypermetabolism in patients with amyotrophic lateral sclerosis. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 74, p. 328-334, 2001.

DESSPORT, J. C.; PREUX, P. M.; TRUONG, T. C.; VALLAT, J. M.; SAUTEREAU, D.; COURATIER, P. Nutritional status is a prognostics factor for survival in ALS patients. **Neurology**, Minneapolis, v. 53, p. 1059-1063, 1999.

DESSPORT, J. C.; MAILLOT, F. Nutrition et Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA). **Nutrition Clinique et Métabolisme**, Paris, v.16, p. 91-96, 2002.

DIETRICH-NETO, F.; CALLEGARO, D.; DIAS-TOSTA, E.; SILVA, H. A.; FERRAZ, M. E.; LIMA, J. M. B.; OLIVEIRA, A. S. B.. Amyotrophic Lateral Sclerosis in Brazil: 1998 National Survey. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 58, n. 3, p.607-515, 2000.

EISEN, A.; SCHULZER, M.; MACNEIL, M.; PANT, B.; MARK, E. Duration of amyotrophic lateral sclerosis is age dependent. **Muscle and Nerve**, New York, v. 16, p. 27-32, 1993.

EL ESCORIAL REVISITED: Revisited criteria for the diagnosis of ALS.-World Federation of Neurology research group on motor diseases. A consensus conference held at Airlie House Worrenton Virginia on april 2-4, 1998. Disponível em <http://www.wfnals.org/articles/elescorial1998.htm>.>[2007 Maio 03].

ESCOTT-STUMP, S. **Nutrição: Relacionada ao diagnóstico e tratamento**. 5^a ed. Barueri: Ed. Monole, 2007. 746-758.

FRISANCHO, A. R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. **American of Journal Clinical Nutrition**, New York, v. 34, p. 540-545, 1981.

GIL, J.; PREUX, P. M.; ALIOUM, A.; KETZOIAN, C.; DESPORT, J. C.; DRUET-CABANAC, M.; COURATIER, P. Disease progression and survival in ALS: First multi-state model approach. **Amyotrophic Lateral Sclerosis and other Motor Neuron Disorders**, London, v. 8, n. 4, p. 224-229, 2007.

GUBBAY, S. S.; KAHANA, E.; ZILBER, N.; COOPER, G.; PINTOV, S.; LEIBOWITZ, Y. Amyotrophic lateral sclerosis. A study of its presentation and prognosis. **Journal of Neurology**, New York, v.232, p.295-300, 1985.

HARDIMAN, O. Symptomatic treatment of respiratory and nutritional failure in amyotrophic lateral sclerosis. **Journal of Neurology**, New York, v. 247, p. 243-251, 2000.

HARRIS, J. A.; BENEDICT, F. G. A biometric study of basal metabolism in man. Washington, DC: Carnegie Institute of Washington, 1919.

HAYASHI, M. C. B. **Estudo da ação aguda da aminofilina endovenosa nos músculos respiratórios de pacientes com esclerose lateral amiotrófica.** São Paulo: 2000. Tese (Doutor em Ciências) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo.

HEFFERNAN, C.; JENKINSON, C.; HOLMES, T.; FEDER, G.; KUPFER, R.; LEIGH, R.; MCGOWAN, P. N.; RIO, A.; SIDHU, P. S. Nutritional management in MND/ALS patients: an evidence based review. **Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders**, London, v. 5, p.72-83, 2004.

HOWARD, S.; WILES, C. M.; LOH, L. Respiratory complications and their management in motor neuron disease. **Brain**, Oxford, v. 112, p. 1155-1170, 1989.

INSTITUTE OF MEDICINE. Energy. In: Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington, D.C.: The National Academy Press, 2002. Disponível em: <<http://www.nap.edu>> [2007 Abril 14].

INSTITUTE OF MEDICINE. In: Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorous, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington, D.C.: The National Academy Press, 1997. Disponível em: <<http://www.nap.edu>> [2007 Abril 14].

INSTITUTE OF MEDICINE. In: Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Washington, D.C.: The National Academy Press, 2000. Disponível em: <<http://www.nap.edu>> [2007 Abril 14].

INSTITUTE OF MEDICINE. In: Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc (2001). Washington, D.C.: The National Academy Press, 2001. Disponível em: <<http://www.nap.edu>> [2007 Abril 14].

JACKSON, C. E.; ROSENFELD, J. Quantitative assessment and outcome measures in neuromuscular disease. In: Katirji B, Kaminski HJ, Preston DC, Ruff RL, Shapiro BE. **Neuromuscular Disorders in Clinical Practice**. Ohio: Butterworth Heinemann: 2002. p.309-338.

KANDA, F.; FUJII, Y.; TAKAHASHI, L.; FUJITA, T. Dual-energy X-ray absorptiometry in neuromuscular diseases. **Muscle and Nerve**, New York, v. 17, p. 413-415, 1994.

KAPLAN, L. M.; HOLLANDER, D. Respiratory Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis. **Clinics in Chest Medicine**, Philadelphia, v. 15, n. 4, p. 675-681, 1994.

KASARSKIS, E.; BERRYMAN, S.; VANDERLEEST, J. G.; SCHNEIDER, A. R.; MCCLAIN, C. J. Nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis: relation to the proximity of death. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 63, p.130-137, 1996.

KINSELLA, J. E.; WHITEREAD, D. M. Proteins in Whey: Chemical, physical and functional properties. In: **Advances in Food Nutritional Research**, London: Academic Press, 1989, v.33, p.343-439.

LASKEY, M. A. Dual-energy x-ray absorptiometry and body composition. **Nutrition**, New York, v. 12, n. 1, p. 45-52, 1996.

LI, T. M.; ALBERMAN, E.; SWASH, M. Clinical features and associations of 560 cases of motor neuron disease. **Journal of Neurology and Neurosurgery and Psychiatry**, London, v. 53, p. 1043-1045, 1990.

LISBETH, M. H.; MATHUS, V.; LOUWERSE, L. S.; MERKUS, M. P.; TYTGAT, G. N. J.; VIANNEY, J. M. B. Percutaneous endoscopic gastrostomy in patients with amyotrophic lateral sclerosis and impaired pulmonary function. **Gastrointestinal Endoscopy**, Denver, v. 40, p. 463-469, 1994.

LOGEMANN, J. A. **Evaluation and Treatment of Swallowing Disorders**. 2nd edition. Austin texas: Pro-ed, 1998. 406 p.

LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Abridged edition, 1991.

LONG, C. L.; SCHAFFEL, N.; GEIGER, J. W. Metabolic response to injury and illness: Estimation of energy and protein needs from indirect calorimetry and nitrogen balance. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v. 3, p. 452-456, 1979.

LU, S. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. **FASEB Journal**, Bethesda, v.13, p.1169-1183. 1999.

LUDOLPH, A. C. 135th ENMC International Workshop: Nutrition in amyotrophic lateral sclerosis 18-20 of March 2005, Naarden, The Netherlands. **Neuromuscular Disorders**, Oxford, p. 1-9, 2006.

MACKEY, R. P. Course and prognosis in amyotrophic lateral sclerosis. **Archives of Neurology**, Chicago, v. 8, p. 17-27, 1963.

MADSEN, O. R.; JENSEN, J. E. B.; SORENSEN, O. H. Validation of a dual energy x-ray absorptiometer: measurement of bone mass and soft tissue composition. **European Journal Applied Physiology**, Heidelberg, v. 75, p. 554-558, 1997.

MAHAN, K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 11^a ed. São Paulo: Ed. Roca, 2005. 407 p.

MAZZINI, L.; CORRÁ, T.; ZACCALA, M.; MORA, G.; DEL PIANO, M.; GALANTE, M. Percutaneous endoscopic gastrostomy and enteral nutrition in amyotrophic lateral sclerosis. **Journal of Neurology**, New York, v. 242, p. 695-698, 1995.

McINTOSH, G. H.; ROGESTER, G. O. Whey proteins as functional food ingredient? **International Dairy Journal**, Barking, v.8, p.425-434, 1998.

MICKE, P.; BEEH, K. M.; SCHALLK, J. K.; BUHL, R. Oral Supplementation with Whey Proteins Increases Plasma Glutathione levels of HIV- infected Patients. **European Journal of Clinical Investigation**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 171-178, 2001.

MILLER, R. G.; ROSENBERG, J. A.; GELINAS, D. F.; MITSUMOTO, H.; NEWMAN, D.; SUFIT, R. Practice parameter: The care of the patient with amyotrophic lateral sclerosis (an evidence-based review). **Neurology**, Minneapolis, v. 52, p. 1311- 1323, 1999.

MILLS, R. H. Rheology overview: control of liquid viscosities in dysphagia management. **Nutritional in Clinical Practice**, Silver Spring, v. 14, p. S52-6, 1999.

MITSUMOTO, H.; DAVIDSON, M.; MOORE, D.; GAD, N.; BRANDS, M.; RINGEL, S.; ROSENFELD, J.; SHEFNER, J. M.; STRONG, M. J.; SUFIT, R.; ANDERSON, F. A. ALS CARE Study Group Percutaneous endoscopic gastrostomy (GEP) in patients with ALS and bulbar dysfunction. **ALS and other motor disorders**, Sweden, v. 4, p. 177-185, 2003.

MITSUMOTO, H.; NORRIS, F. H. **Amyotrophic Lateral A Comprehensive Guide to management**, New York: Demos Publications, 1994. 342 p.

MORENO, Y. M. F. **Influência das proteínas de soro de leite bovino do estado nutricional, composição corporal e sistema imune em coorte de crianças com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)**. Campinas, SP, 2002. 45p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Universidade de Campinas, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (US). **Recommended dietary allowances**. Washington: National Academic Press; 1989.

NAU, K. L. Individuals with amyotrophic lateral sclerosis are in caloric balance despite losses in mass. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v. 192, p.S47-S49, 1995.

NAU, K. L.; BROMBERG, M. B.; FORSSHEW, D. A.; KATCH, V. L. Individuals with amyotrophic lateral sclerosis are in caloric balance despite losses in mass. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v. 129, p. 47-49, 1995.

NELSON, L. M.; MATKIN, C.; LONGSTRETH, W. T, MCGUIRE, V. Population – based case – control study of amyotrophic lateral sclerosis in Western Washington State. II. Diet. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 151, p. 164-173, 2000.

NORRIS, F.; SHEPHERD, R.; DENYS, E. U. K. Onset natural history and outcome in idiopathic adult motor neuron disease. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v. 118, p. 48-55. 1993.

O'BRIEN, C.; YOUNG, A.J.; SAWKA, M. N. Bioelectrical impedance to estimate changes in hydration status. **International Journal of Sports and Medicine**, Stuttgart, v. 23, p. 361-366, 2002.

OLIVEIRA, A. S. B.; GABBAI, A. A. **Doenças neuromusculares**. In: PRADO, F. C.; RAMOS, J. A.; VALLE, J. R.; ED-BORGES, D. R.; ROTHSCHILD, H. A. Atualização Terapêutica. 20^a ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001. 816-826 p.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. **Necesidades de energia y proteínas. Informe de uma reunion consultiva conjunta FAO/OMS/UNU de expertos**. Genebra, 1985.

PACHECO, M. T. B.; BIGHETTI, E.; ANTÔNIO, M.; CARVALHO, J. E.; ROSANELI, C. F.; SGARBIERI, V. C. Efeito de um hidrolisado de proteínas de soro de leite e de seus peptídios na proteção de lesões ulcerativas da mucosa gástrica de ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n.1, p. 47-55, 2006.

PERES, S. P. B.; MANZANO, F. M.; MARQUES, I. L.; SILVA, L. B. C.; MOURA, R. M. X. **Manual de Técnicas e Receitas para Espessamento de Alimentos: utilização de diferentes amidos espessantes**. Bauru: HRAC-USP, 2006. 10-68 p.

PIQUET, M. A. Nutritional Approach for patients with amyotrophic lateral sclerosis. **Revue Neurologique**, Paris, v. 2, p. S177-4S187, 2006.

RIO, A.; CAWADIAS, E. Nutritional advice and treatment by dietitians to patients with amyotrophic latera sclerosis/motor neurone disease: a survey of current practice in England, Wales, Northern Ireland and Canada. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, Oxford, v. 20, p. 1-13, 2007.

ROWLAND, L. P.; SHENEIDER, N. A. Amyotrophic lateral sclerosis. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 344, n. 22, p. 1688-1700, 2001.

SCHIFFMAN, P. L.; BELSH, J. M. Pulmonary function at the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. **Chest**, Chicago, v. 103, p. 508-513, 1993.

SCHOFIELD, W. N. Predicting basal metabolic rate, new standards and a review of previous work. **Human Nutrition Clinical Nutrition**, London, v. 39, p. 5-41, 1985.

SEN, C. K. Nutritional Biochemistry of Cellular Glutathione. **The Journal Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 8, p. 660-672, 1997.

SHIMIZU, T.; HAYASHI, H.; TANABE, H. Energy metabolism of ALS patients under mechanical ventilation and tube feeding. **Clinical neurology and neurosurgery**, Assen, v. 31, p. 255-259, 1991.

SILANI, V.; KASARKIS, E. J.; YANAGISAWA, N. Nutritional management in amyotrophic lateral sclerosis: a worldwide perspective. **Journal of Neurology**, New York, v. 243, p.S13-S19, 1998. Supl. 2.

SILVA, L. B. C.; MOURÃO, L.; LIMA, N. M. F. V.; ALMEIDA, S. R. M.; FRANCA, M. J.; NUCCI, A.; AMAYA-FARFAN, J. **Amyotrophic lateral sclerosis: nutritional status and functional conditions**. Annual Dysphagia Research Society Meeting, Vancouver, Canada, March 8-10, 2007a.

_____**Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): Nutritional profile and swallowing ability in patients with dysphagia**. Annual Dysphagia Research Society Meeting, Vancouver, Canada, March 8-10, 2007b.

SLOWIE, L. A.; PAIGE, M. S.; ANTEL, J. P. Nutritional considerations in the management of patients with ALS amyotrophic lateral sclerosis. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 83, p. 44-47, 1983.

SNEAD, D. B.; BIRGE, S. J.; KOHRT, M. Age-related differences in body composition by hydrodensitometry and dual-energy-x-ray absorptiometry. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 74, n. 2, p. 770-775, 1993.

SOUZA, B. B. A.; MARTINS, C.; CAMPOS, D. J.; BALSINI, I. D.; MEYER, L. R. **Nutrição e Disfagia: Guia para profissionais**. Curitiba, PR, Brasil: Nutroclínica. 2003.

STANICH, P.; PEREIRA, A. M. L.; CHIAPPETA, A. L. M. L.; NUNES, M.; OLIVEIRA, A. S. B.; GABBAI, A. A. Suplementação nutricional em pacientes com doença do neurônio motor/esclerose lateral amiotrófica. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 19, p.70-78, 2004.

STRAND, E. A.; MILLER, R. M.; YORKSTON, K. M.; HILLEL, A. D. Management of oral-pharyngeal dysphagia symptoms in amyotrophic lateral sclerosis. **Dysphagia**, New York, v. 11, p. 129-139, 1996.

TADAN, R.; KRUSINSKI, P. B.; HISER, J. R. **The validity and sensitivity of dual energy X-ray absorptiometry in estimating lean body mass in amyotrophic lateral sclerosis**. In: Proceedings of the 9th International Symposium on ALS/MND, Munich, 16-18 November 1998. Munich: ALS Association, 1998. 48 p.

TASSI, E. M. M.; AMAYA-FARFÁN, J.; AZEVEDO, R. A. Hydrolyzed α -lactalbumin as a source of protein to the exercising rat. **Nutrition Research**. Tarrytown, v. 18, p. 875-881, 1998.

THOMAS, B. **Manual of Dietetic Practice**. 3rd edition. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2001.

TIDWELL, J. Pulmonary Management of the amyotrophic lateral patient. **The Journal of neuroscience Nursing**, Chicago, v. 25, n. 6, p. 337-342, 1993.

TOTHILL, P.; HAN, T. S.; AVENELL, A.; MCNEILL, G.; REID, D. M. Comparisons between fat measurements by dual-energy x-ray absorptiometry, underwater weighing and

magnetic resonance imaging in healthy women. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 50, p. 747-752, 1996.

TYMCHUCK, D. Textural property considerations of food for dysphagia. **Nutrition in Clinical Practice**, Silver Spring, 14, p.S57-S59, 1999.

U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 2003. Composition of Foods. Raw, Processed, Prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Release 16. Nutrient Data Laboratory homepage. Disponível em <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR18/SR18_doc.pdf>.

WALLING, A. D. Amyotrophic lateral Sclerosis: Lou Gehrig's Disease. **American Family Physician**, Kansas City, v. 59, n. 6, p. 1489-1496, 1999.

WATTS, C. R.; VANRYCKEGHEM, M. Laryngeal dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis: a review and case report. *BMC Ear, Nose and Throat disorders* 2001.

WELNETZ, K. Maintaining adequate nutrition and hydration in the dysphagic ALS patient. **Journal of Continuing Education in Nursing**, Thorofare, v. 21, p. 62-71, 1990.

WRIGHT, L.; COTTER, D.; HICKSON, M.; FROST, G. Comparison of energy and protein intakes of older people consuming a texture modified diet with a normal hospital diet. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, Oxford, v. 18, p. 213-219, 2005.

4

Artigo I

*“Avaliação da ingestão alimentar de indivíduos com Esclerose Lateral
Amiotrófica”*

**AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR DE INDIVÍDUOS COM
ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA**

Luciano Bruno de Carvalho Silva

Lucia Figueiredo Mourão

Ariovaldo Armando Silva

Núbia Maria Freire Vieira Lima

Marcondes Franca Junior

Anamarli Nucci

Jaime Amaya-Farfán

Artigo a ser submetido à Revista Brasileira de Nutrição Clínica

Avaliação da ingestão alimentar de indivíduos com Esclerose Lateral Amiotrófica

Evaluation of the food intake of individuals with Amyotrophic Lateral Sclerosis

Evaluación de la ingestión alimentaria de pacientes con Esclerosis Lateral

Amiotrófica

Luciano Bruno de Carvalho Silva¹, Lucia Figueiredo Mourão², Ariovaldo Armando Silva³, Núbia Maria Freire Vieira Lima⁴, Marcondes Franca Junior⁵, Anamarli Nucci⁶,
Jaime Amaya-Farfán⁷

¹Nutricionista, mestre e doutorando em Alimentos e Nutrição do Departamento de Alimentos e Nutrição (DEPAN) - Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), professor assistente do Departamento de Nutrição - Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

²Fonoaudióloga, professora do curso de Fonoaudiologia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM/UNICAMP).

³Otorrinolaringologista e Foniatra, professor da FCM-UNICAMP Ambulatório de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas, HC/UNICAMP.

⁴Fisioterapeuta - Departamento de Neurologia, FCM/UNICAMP,

⁵Neurologista - Departamento de Neurologia, FCM/UNICAMP,

⁶Livre-Docente - Departamento de Neurologia, FCM/UNICAMP, responsável pelo setor de Doenças Neuromusculares do HC/UNICAMP;

⁷Livre-Docente FEA/UNICAMP, responsável pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA/UNICAMP).

Endereço para correspondência:

Luciano Bruno de Carvalho Silva

Rua Monteiro Lobato 80, Cidade Universitária Zeferino Vaz, Barão Geraldo

CEP 13083-862, Campinas SP – Brasil.

Fax 55 19 35214060. E-mail: luciano@unifal-mg.edu.br.

Resumo

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) caracteriza-se por paralisia progressiva, secundária ao comprometimento de neurônios motores inferiores e superiores. Com a evolução da doença observa-se disfunção motora generalizada e insuficiência respiratória, perda progressiva de peso corporal e alterações na ingestão alimentar. O trabalho teve como objetivo avaliar o consumo alimentar, qualitativo e quantitativo, de pacientes com ELA, acompanhados no setor de Doenças Neuromusculares do HC-UNICAMP. Aplicou-se questionário de frequência de consumo alimentar e o recordatório de 24 horas, em 23 pacientes. Os alimentos mais consumidos diariamente foram óleo (100%), arroz (96%), leite (96%), feijão (91%) e pão francês (74%). Todos os pacientes apresentaram inadequação para energia, fibras, cálcio e vitamina E. Considerando-se a predominância topográfica do comprometimento muscular na doença, foram observadas diferenças significativas entre pacientes predominantemente bulbares e de predomínio apendicular. Nos pacientes com maior envolvimento apendicular houve maior ingestão energética ($p=0,02$), de gordura saturada ($p=0,03$), monoinsaturada ($p=0,04$) e polinsaturada ($p=0,001$), além de colesterol ($p=0,001$) e fibras ($p=0,001$). Os resultados obtidos permitiram conhecer os hábitos alimentares desta população e estimar a ingestão alimentar. Os dados podem ser aplicados no atendimento nutricional, e orientações específicas poderão proporcionar uma alimentação mais adequada.

Unitermos: Esclerose lateral amiotrófica, estado nutricional, consumo alimentar, avaliação nutricional

Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disorder of motor neurons, characterized by progressive motor handicap, late respiratory failure, severe weight loss and deficient nutritional intake. The objective of this study was to evaluate quantitatively and qualitatively food intake in patients with ALS regularly followed at the neuromuscular outpatient clinic of HC-UNICAMP. We employed the frequency questionnaire and the 24h-diet history in 23 patients. Oil (100%), rice (96%), milk (96%), beans (91%) and bread (74%) were the most frequent items of the daily diet in these individuals. All patients presented inadequate energy, fibers, calcium and vitamin E intake. Taking into account predominantly affected muscle groups, we found significant differences between patients

with bulbar or appendicular onset. Patients with appendicular ALS had higher intake of energy ($p=0.02$), saturated fat ($p=0.03$), monounsaturated fat ($p=0.04$), polyunsaturated fat ($p=0.001$), as well as cholesterol ($p=0.001$) and fibers ($p=0.001$). In this study, we were able to characterize nutritional habits in these patients and estimate their food intake. These findings might be useful in the nutritional management of patients with ALS by indicating more adequate advice for this population.

Key words: Amyotrophic lateral sclerosis, nutritional status, alimentary consumption, nutritional assessment.

Resumen

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) se caracteriza por la paralización progresiva, secundaria al comprometimiento de las neuronas motoras, neurona motora inferior y superior. En los estadios más avanzados de la enfermedad, se registra disminución de la fuerza muscular respiratoria, pérdida progresiva del peso y alteraciones en la ingestión de alimentos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el consumo alimentar actual, cualitativo y cuantitativo de pacientes con ELA observados en ambulatorio de enfermedades neuromusculares HC-UNICAMP. Fueron aplicados: un cuestionario de frecuencia de consumo alimentar y el recordatorio de 24 horas, en 23 pacientes. Los alimentos más consumidos diariamente fueron aceite (100%), arroz (96%), leche líquida (96%), fríjol (91%) y pan francés (74%). Todos los pacientes evaluados presentaron inadecuación en energía, fibras, calcio y vitamina E. Tomándose como base la predominancia topográfica de lo comprometimiento muscular de la enfermedad, fue posible observar diferencias significativas entre pacientes predominantemente bulbares y apendiculares. Se observó en los apendiculares ingestión energética mayor ($p=0,02$), grasas saturadas ($p=0,03$), monoinsaturadas ($p=0,04$) y poliinsaturadas ($p=0,001$), además de colesterol ($p=0,001$) y fibras ($p=0,001$). Los resultados obtenidos permitieron conocer los hábitos alimentarios de esta población y estimar la ingestión alimentar. Los datos poden ser aplicados en la atención nutricional y orientaciones específicas podrían proporcionar una alimentación más adecuada.

Unitérminos: Esclerosis lateral amiotrófica, estado nutricional, consumo alimentar, evaluación nutricional

Introdução

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) caracteriza-se por paralisia progressiva, secundária ao comprometimento dos neurônios motores, dos neurônios motores superiores e dos neurônios motores inferiores¹⁻³.

A progressão característica da ELA leva ao comprometimento motor generalizado. Nos estágios mais avançados da doença, observa-se diminuição da força muscular respiratória, disfagia, perda progressiva de peso corporal e alterações na ingestão alimentar⁴.

Vários fatores influenciam a ingestão alimentar na ELA, dentre eles: inapetência, disfagia, fraqueza, dispnéia e depressão⁴⁻⁸.

Poucos estudos sobre ingestão alimentar na ELA são encontrados na literatura. Dentre eles destacam-se os de Kasarskis et al.⁷, que verificaram 70% dos indivíduos com ingestão abaixo da *Recommended Dietary Allowances* (RDA) e ingestão de proteínas acima da RDA para 84% dos pacientes. Slowie et al.⁵ também encontraram 70% de inadequação para energia, utilizando o recordatório de 24 horas. Stanich et al.⁸ verificaram valores acima da RDA para lipídios na maioria dos seus pacientes com ELA

Silva et al.^{9,10} analisaram o perfil nutricional dos pacientes atendidos nos Ambulatórios de Disfagia e de Neuromuscular do HC-UNICAMP em avaliações interdisciplinares, verificando que os homens tiveram baixa ingestão calórica, de aproximadamente 1600 Kcal/dia e as mulheres em torno de 1700 Kcal/dia.

Na ELA, assim como na maioria das doenças neuromusculares, pode ocorrer aumento do catabolismo muscular, refletindo diretamente sobre a síntese protéica e na excreção de minerais. Em estágios iniciais da ELA, conforme estudo realizado com 94 pacientes, não foram observados déficits de vitaminas como E e C, mas com a evolução da doença, manifestações clínicas e bioquímicas de carência foram verificadas¹¹.

Com a evolução da ELA, hábitos e preferências alimentares podem necessitar de modificações. A disfagia pode resultar em ingestão e absorção inadequada de alimentos, levando a desnutrição e a várias deficiências nutricionais¹².

O trabalho teve como objetivo avaliar o consumo alimentar, qualitativo e quantitativo, de indivíduos com diagnóstico de ELA.

Métodos

Avaliação da ingestão alimentar

O presente estudo transversal, descritivo e comparativo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FCM-UNICAMP (nº 428/2006) e todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Dos pacientes acompanhados no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-UNICAMP, 23 concordaram em participar e foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão: diagnóstico definido de ELA, pelo critério El Escorial¹³, de ambos os sexos independente do tempo de doença e exclusão clínico-laboratorial de outras patologias neurológicas. Foram excluídos também aqueles com via alternativa de nutrição e ventilação mecânica invasiva.

Foi aplicado o recordatório de 24 horas¹⁴, em diferentes dias, 6 vezes em cada indivíduo, possibilitando conhecer os aspectos quantitativos e qualitativos da dieta do paciente. Para tanto, foi questionada a alimentação habitual, incluindo quantidade, marca comercial e preparação de cada alimento. Por meio desse método, avaliou-se a ingestão energética (Valor Energético Total — VET); a porcentagem de carboidratos, proteínas e lipídios, em relação ao VET ingerido; a porcentagem de gorduras saturadas, polinsaturadas

e monoinsaturadas, em relação ao VET consumido; fibras, cálcio, ferro, retinol e ácido ascórbico, sendo que os cálculos foram efetuados pelo *software* DIET PRO[®] 4.0¹⁵.

O conteúdo de fibras, colesterol, gorduras saturadas, polinsaturadas e monoinsaturadas dos alimentos foi acrescentado ao DIET PRO[®] 4.0, tendo como base a Tabela de Composição de Alimentos de Philippi¹⁶, Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)¹⁷ e Tabela da United States Department of Agriculture (USDA)¹⁸.

Para estimar a adequação de carboidratos e lipídios utilizou-se as RDAs¹⁹, e para proteínas as recomendações da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição²⁰. Para os micronutrientes, seguiu-se como referência o padrão do Institute of Medicine^{21,22,23,24}, sendo que para cálcio seguiu-se a Ingestão Adequada (AI). Para ferro, retinol, ácido ascórbico, vitamina E, zinco e selênio usou-se a Necessidade Média Estimada (EAR) como parâmetros de comparação. Os pontos de corte utilizados como referência diária de nutrientes estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de referência diária de nutrientes

Nutrientes	Referência Diária*	
Carboidratos ¹	50-60% do VET consumido	
Proteínas ²	1,0 a 1,2 g proteína/kg peso atual/dia	
Lipídios ¹	25-30% do VET consumido	
Gordura saturada ¹	<10% do VET consumido	
Gordura monoinsaturada ¹	10-15% do VET consumido	
Gordura polinsaturada ¹	aprox. 10% do VET consumido	
Colesterol total ¹	< 300 mg	
Fibras ⁶	20-35 g	
Ferro ⁵		
	Homens	6,0 mg
	Mulheres < 50 anos	8,1 mg
	Mulheres ≥ 51 anos	5,0 mg
Cálcio ³		
	31-50 anos	1.000 mg
	≥ 51 anos	1.200 mg
Ácido ascórbico ⁴		
	Homens	75 mg
	Mulheres	60 mg
Retinol ⁵		
	Homens	625 mEq
	Mulheres	500 mEq
Vitamina E ⁴		12 mg
Zinco ⁵		
	Homens	9,4 mg
	Mulheres	6,8 mg
Selênio ⁴	Mulheres	45 mg

*Fonte: Recommended Dietary Allowances, 1989¹; Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN), 1990²; Institute of Medicine (DRI), 1997³; Institute of Medicine (DRI), 2000⁴; Institute of Medicine (DRI), 2001⁵; Institute of Medicine (DRI), 2002⁶.

Para investigar a adequação de energia, foi utilizada a equação de Harris e Benedict²⁵, modificada por Long, et al.²⁶.

De acordo com Harris e Benedict:

Homens: $TMB^* = 66 + (13,7 \times \text{massa em kg}) + (5 \times \text{altura em cm}) - (6,8 \times \text{idade em anos})$

Mulheres: $TMB^* = 655 + (9,6 \times \text{massa em kg}) + (1,7 \times \text{altura em cm}) - (4,7 \times \text{idade em anos})$

*TMB = taxa metabólica basal

Modificado por Long et al.²⁶:

$VET^* = TMB \times \text{fator de atividade} \times \text{fator de injúria}$

*VET = valor calórico total

Como fator de atividade, considerou-se 1,2 em pacientes incapacitados para andar e 1,3 em pacientes que deambulavam. Como fator de injúria, considerou-se 1,1 para doenças crônicas²⁶. Para indivíduos com ELA, alguns autores²⁷ consideram o gasto energético de 10 a 20% acima daquele do indivíduo saudável; outros consideram 35 kcal/kg de peso atual. No entanto, utilizou-se a equação de Harris e Benedict, modificada por Long et al.²⁶ por ser mais específica.

Para avaliar o consumo qualitativo, utilizou-se o Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFA)²⁸. O questionário foi testado previamente no público-sujeito, e possuía 72 alimentos que foram separados em 8 grupos²⁹: cereais, hortaliças do grupo III (percentual de carboidratos $\geq 10\%$) e leguminosas; frutas e suco de frutas; hortaliças do grupo I e II (percentual de carboidratos $< 5\%$ e $< 10\%$, respectivamente); leite e derivados; gorduras e óleos; carnes, frango, peixes, ovos, vísceras e embutidos; adoçantes e produtos dietéticos; açúcar, produtos que contêm açúcar e produtos de pastelaria (salgados fritos e assados). A frequência de consumo foi avaliada da seguinte forma: diária (quando o alimento era consumido todos os dias, pelo menos uma vez), semanal (quando era consumido toda semana, pelo menos uma vez), mensal (quando era consumido de 1 a 3 vezes por mês), nunca ou raramente (quando o alimento não era usado ou seu uso era esporádico, com frequência menor que uma vez ao mês).

Os dados sobre frequência alimentar foram processados no programa Epi-Info, versão 6.04³⁰.

Avaliação da função da deglutição segundo a “Revised Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS-R)”

A ALSFRS é uma escala validada e de uso internacional que avalia a função física, atividades de vida diária e comprometimento bulbar, apendicular e respiratório na ELA. Esta escala foi revisada em 1999 e contém 12 itens (ALSFRS-R), sendo utilizado nesta pesquisa somente o item deglutição, o qual foi pontuada em 5 níveis: 0 para impossibilidade de alimentação oral e 4 para deglutição normal; o escore menor representa pior função de deglutição³¹.

Análise estatística

Para comparar variáveis numéricas entre dois grupos independentes utilizou-se o teste de Mann Whitney, adotando-se o nível de significância inferior a 0,05. Os dados foram analisados no programa SPSS for Windows 15.0³².

Resultados

Dos 23 pacientes avaliados, 19 (83%) eram do sexo masculino e 4 (17%) do feminino, com mediana de idade de 45 anos, extremos de 32 e 68 anos.

Em relação à renda familiar, 97% possuíam renda mensal de até 5 salários mínimos, sendo que destes, 83% apresentavam renda per capita de até 2 salários.

Com relação ao fracionamento das refeições, verificou-se que 14 (61%) dos entrevistados faziam de cinco a seis refeições por dia. Das 9 pessoas que faziam menos de cinco refeições diárias, 7 (30%) consumiam quatro e 2 (9%) consumiam três refeições. Não foi observada diferença significativa quanto ao número de refeições dos pacientes com

maior e menor renda per capita ($p=0,563$). Quanto à escolaridade, 91% possuíam, no máximo, 4 anos de estudo.

Os alimentos mais citados como consumidos diariamente e semanalmente pelos pacientes com ELA estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Alimentos mais referidos de consumo diário, semanal e mensal pelos pacientes com ELA.

Alimentos mais consumidos diariamente	%	Alimentos mais consumidos semanalmente	%	Alimentos mais consumidos mensalmente	%
Óleo de soja	100	Batata inglesa	99	Peixe	87
Arroz	96	Macarrão	99	Carne suína	87
Açúcar	96	Cenoura	97	Manteiga	83
Leite	96	Banana	83	Chocolate	64
Feijão	91	Ovos	83	Embutidos	57
Suco de frutas	78	Mamão	83		
Café	78	Frango	74		
Pão francês	74	Carne de bovina	65		
Suplemento hipercalórico	65	Refrigerante	61		
Margarina	30	Abóbora	60		
		Queijo	35		

A adequação da ingestão de energia e nutrientes, em relação aos seus respectivos valores de referência, está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Avaliação da adequação de energia e nutrientes, segundo os valores de referência e de acordo com o nº de pacientes.

Nutrientes	Referência Diária*	Adequado	Abaixo	Acima
Energia (homens) (kcal)	2284,51 ^a	5 (26%)	8 (42%)	6 (32%)
Energia (mulheres) (kcal)	2029,47 ^b	1 (25%)	-	3 (75%)
Carboidratos	50-60% do VET consumido ¹	11 (48%)	8 (35%)	4 (17%)
Proteínas	1,0 a 1,2 g proteína/Kg peso atual/dia ²	18 (78%)	5 (22%)	-
Lipídios	25-30% do VET consumido ¹	13 (56%)	2 (9%)	8 (35%)
Gordura saturada	<10% do VET consumido ¹	11 (48%)	-	12 (52%)
Gordura monoinsaturada	10-15% do VET consumido ¹	2 (9%)	-	21 (91%)
Gordura polinsaturada	aprox. 10% do VET consumido ¹	21 (91%)	-	2 (9%)
Colesterol	< 300 mg ¹	23 (100%)	-	-
Fibras	20-35 g ⁶	-	23 (100%)	-
Ferro				
Homens	6,0 mg ⁵	19 (100%)	-	-
Mulheres < 51 anos	8,1 mg ⁵	2 (50%)	-	-
Mulheres ≥ 51 anos	5,0 mg ⁵	2 (50%)	-	-
Cálcio				
31-50 anos	1.000 mg ³	-	4 (13%)	-
≥ 51 anos	1.200 mg ³	-	19 (87%)	-
Ácido ascórbico				
Homens	75 mg ⁴	11 (58%)	4 (21%)	4 (21%)
Mulheres	60 mg ⁴	2 (50%)	-	2 (50%)
Retinol				
Homens	625 mg ⁵	9 (47%)	10 (53%)	-
Mulheres	500 mg ⁵	3 (75%)	1 (25%)	-
Vitamina E	12 mg ⁴	-	23 (100%)	-
Zinco				
Homens	9,4 mg ⁵	6 (32%)	13 (68%)	-
Mulheres	6,8 mg ⁵	2 (50%)	2 (50%)	-
Selênio	45 mg ⁴	17 (74%)	5 (26%)	-

^a Valor mediano do VET para homens; ^b valor mediano do VET para mulheres (Harris e Benedict, 1919 e Long; Schaffel; Geiger 1979). *Fonte: Recommended Dietary Allowances, 1989¹; Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN), 1990²; Institute of Medicine (DRI), 1997³; Institute of Medicine (DRI), 2000⁴; Institute of Medicine (DRI), 2001⁵; Institute of Medicine (DRI), 2002⁶.

Tomando-se como base a topografia da deficiência motora na ELA, observou-se diferenças significativas entre pacientes com predominância bulbar e aqueles de predominância apendicular. Nos pacientes com maior manifestação apendicular, havia maior ingestão energética (p=0,02), de gordura saturada (p=0,03), monoinsaturada (p=0,04) e polinsaturada (p=0,001), além de colesterol (p=0,001) e fibras (p=0,001), quando comparados com os de predominância bulbar, conforme dados apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Comparação do consumo energético e de nutrientes entre indivíduos com ELA com manifestação inicial bulbar e apendicular.

Nutrientes	Bulbar		Apendicular		p*
	Média ± DP	Mediana (min-max)	Média ± DP	Mediana (min-max)	
Energia (kcal)	2008,7 ± 307,8	2030 (1564,9-2522,4)	2495,8 ± 457,8	2471,1 (1792,67-2431,2)	0,02
Carboidratos (g)	289 ± 76,2	267,1 (196,4-396,9)	321,29 ± 62,5	322,3 (208,4-397,1)	0,38
Proteínas (g)	63,8 ± 18,9	66,8 (39,5-92,1)	80,4 ± 31,4	76,9 (40,2-140)	0,43
Lipídios (g)	80,3 ± 14,1	81,6 (60,2-106,6)	96,5 ± 39,3	81,8 (52,4-173,2)	0,92
Gordura saturada (g)	12,7 ± 1,7	13,1 (9,5-15)	13,8 ± 9,5	19 (9,1-28,9)	0,03
Gordura monoinsaturada (g)	10,3 ± 1,4	10,2 (8,1-11,9)	11,2 ± 1,0	11,3 (9,3-12,85)	0,04
Gordura polinsaturada (g)	12,1 ± 2,2	11,9 (9,4-15,7)	21,25 ± 9,3	17,1 (10,2-41,8)	0,00
Colesterol (mg)	154,7 ± 44,6	142,9 (94,8-231,7)	217,6 ± 37,5	221 (156-279,2)	0,01
Fibras (g)	11,1 ± 1,9	12,5 (9,1-14,6)	14,6 ± 1,6	14,8 (11,9-17,1)	0,01
Ferro (mg)	7,7 ± 1,8	7,4 (5,5-11,7)	8,37 ± 1,7	7,9 (6,1-12,2)	0,63
Cálcio (mg)	453,7 ± 236,4	449,8 (115,9-996,4)	511,6 ± 192,5	591,9 (162,4-698)	0,72
Ácido ascórbico (mg)	97,1 ± 54,6	81,9 (27,3-210,1)	118,3 ± 59,2	111,1 (23,2-258,1)	0,65
Retinol (mEq)	626,7 ± 151,1	581,9 (443,4-922,1)	563,4 ± 220,3	593,8 (227,6-950,6)	0,19
Vitamina E (mg)	3,8 ± 1,8	4,4 (1,2-6,5)	5,5 ± 1,4	5,1 (2,9-7,3)	0,18
Zinco (mg)	8,7 ± 3,5	9,9 (2,8-13,1)	9,9 ± 3,7	12,1 (4-13,7)	0,86
Selênio (µg)	53,5 ± 15,3	57,1 (22,1-75,5)	58,7 ± 24,1	62,6 (10,1-85,4)	0,81

* Teste de Mann Whitney considerando o nível de significância inferior a 0,05.

Os escores referentes ao item de deglutição, avaliado segundo a escala ALSFRS-R, foram diferentes levando em consideração a predominância da doença, bulbar ou apendicular. No grupo bulbar, os escores foram inferiores ($p=0,046$) quando comparados ao grupo apendicular. Os escores variaram de 3 a 4 e de 1 a 3 para os pacientes com predominância apendicular e bulbar, respectivamente.

Discussão

Avaliando a frequência de consumo de cereais, feijão e hortaliças do grupo III, observou-se que os alimentos mais ingeridos diariamente foram arroz (96%), feijão (91%) e pão francês (74%), sendo o macarrão (99%) e batata inglesa (99%) os mais consumidos

semanalmente (Tabela 2). A batata-baroa e inhame foram os menos consumidos, sendo que 64% e 61%, respectivamente, relataram consumi-los raramente.

Verificou-se baixo consumo diário de frutas. Entretanto, o suco de laranja natural foi consumido por 78% dos pacientes, diariamente. A maioria (64%) adicionava o suplemento hipercalórico de marca comercial ao suco de laranja, resultando em uma preparação mais espessa, o que facilitava o processo de deglutição. O principal motivo relatado para o baixo consumo de frutas foi o preço. As frutas mais consumidas semanalmente foram a banana (83%) e o mamão (83%) (Tabela 2), principalmente em função da consistência que facilitava seu consumo “in natura” ou como espessante de outras preparações. O mamão, em 24% dos casos, era usado como espessante de água inclusive, para facilitar o processo de deglutição comprometido pela disfagia.

Analisando o consumo de hortaliças do grupo I e II, notou-se que as mais consumidas semanalmente foram cenoura (97%) e abóbora (60%) (Tabela 2), na maioria das vezes (92%) cozidas, também por facilitarem a obtenção de preparações com consistências diversas. A hortaliça mais citada como raramente consumidas foi o pepino (61%), que segundo relatos, era de maior dificuldade de deglutição.

Folhosos eram consumidos esporadicamente. Em 22% dos pacientes estes alimentos foram retirados da alimentação, corroborando com Yorkston et al. 2004³³, que mostraram a exclusão de alimentos de maior dificuldade de deglutição de acordo com a classificação da disfagia. Mesmo naqueles que não apresentavam queixas de disfagia, foi observado baixo consumo de folhosos.

O consumo diário de leite foi relatado por 96% dos pacientes (Tabela 2). No entanto, 82% dos indivíduos relataram consumir 1 copo americano (200 mL) de leite/dia. O queijo foi consumido semanalmente por 35% dos pacientes, sendo o preço o fator limitante.

Quanto ao consumo de gorduras e óleos, 100% dos avaliados utilizavam diariamente o óleo vegetal (Tabela 2), prevalecendo o óleo de soja (96%). A margarina vegetal foi diariamente utilizada por 30% dos pacientes. A manteiga foi citada como de uso mensal e consumida por 83% dos pacientes. O azeite de oliva foi citado como raramente consumido.

Do grupo das carnes e ovos, os mais consumidos semanalmente foram os ovos (83%), seguidos do frango (74%) e da carne bovina (65%) (Tabela 2). Grande parte dos pacientes ou cuidadores (92%), pela limitação motora da doença, relatou maior facilidade na utilização de frango e ovos como fontes de proteína. Oitenta e sete por cento dos pacientes consumiam o peixe e a carne suína em frequência mensal. As vísceras foram citadas como raramente consumidas por 93% dos indivíduos.

De acordo com o relato dos pacientes, o consumo de carnes, frutas e embutidos são os mais raros devido a limitações financeiras.

O refrigerante foi citado como de consumo semanal por 61% dos pacientes. Verificou-se que 74% dos indivíduos relataram que sua ingestão estava ligada ao “prazer” que esta bebida lhes proporcionava. Digno de nota é que, muitas vezes, a ingestão de líquidos não era segura, devido a disfagia a líquidos, principalmente em função da baixa viscosidade desses produtos (aproximadamente 10 centpoise-cP). No entanto, Bülow et al.³⁴ demonstraram que as bebidas carbonatadas podem melhorar o trânsito oral e faríngeo, pela elevação laríngea, diminuindo a incidência de aspiração pulmonar. Como medida de segurança, todos os alimentos ou formulações com viscosidade inferior a 50cP devem ser excluídos ou modificados, no que diz respeito à viscosidade, quando constatado que o paciente apresenta alterações na deglutição, principalmente a líquidos ralos¹².

Tendo-se como referência o valor mediano do VET para os homens, foi observada maior frequência de inadequação alimentar (42%) com valores abaixo da RDA, enquanto

que as mulheres (75%) apresentaram valores acima. Nau³⁵ em seu estudo, utilizando também o recordatório de 24 horas, verificou que 87% dos pacientes tinham consumo alimentar adequado, segundo a RDA de 1989, com ingestão alimentar em torno de 2100 kcal. Em contraste, Slowie⁵ avaliando a ingestão alimentar de 20 pacientes de ELA ambulatoriais, encontrou ingestão energética em torno de 2000 kcal para homens (83% da RDA), e ingestão média de 1200 kcal, para mulheres (67% da RDA).

No que se refere à ingestão de macronutrientes foi observada maior frequência de adequação para proteínas (78%), lipídios (56%) e carboidratos (48%) (Tabela 3). É importante ressaltar que mesmo com 78% de adequação, a ingestão de proteínas está bem próxima ao limite inferior. Além disso, a proveniência de fontes vegetais, principalmente, pode limitar sua biodisponibilidade.

Em relação à ingestão de energia, Kasarskis et al.⁷ estudaram 16 pacientes com ELA, verificando que 6% dos indivíduos excederam a RDA, enquanto que 70% estavam abaixo da RDA, diferentemente do presente estudo. Em relação à ingestão de proteínas, os mesmos autores encontraram valores acima da RDA para 84% dos pacientes. Stanich et al.⁸ verificaram valores acima da RDA para lipídios na maioria dos pacientes com ELA.

Quando a ingestão de macronutrientes foi avaliada conforme a predominância da doença, se apendicular ou bulbar, foi possível notar diferenças significativas na ingestão energética (Tabela 4), de fibras e frações lipídicas. É comum em pacientes com predominância bulbar da ELA, alterações na deglutição, o que pode limitar a ingestão energética⁴. Já a ingestão de fibra foi baixa nas duas formas de manifestação da doença (Tabela 4), no entanto, naqueles com deficiência bulbar houve relativamente menor ingestão. O fato pode ser explicado pelas limitações quanto à ingestão de fontes alimentares de fibra, que geralmente são de mais difícil deglutição nesses pacientes. A baixa ingestão de alimentos fonte de fibra foi relatada por 64% desses pacientes e, pode estar relacionada

com o alto índice de constipação intestinal (64%) encontrado, observações também relatadas em outro estudo³⁶.

A maioria dos pacientes apresentou adequação de ingestão (Tabela 3) para vitamina C, sendo o consumo de suco de laranja importante fonte da vitamina para os pacientes.

O estudo mostrou que todos os pacientes exibiram inadequação de ingestão para vitamina E pela baixa ingestão de fontes alimentares da mesma. É comum na prática clínica a utilização de suplementos de vitaminas, principalmente de vitamina E. Rio et al³⁷ sugeriram que a suplementação com esta vitamina, em quantidade ainda não definida, possa melhorar o perfil nutricional de indivíduos com ELA. A ingestão de vitamina E deve ser encorajada e indicada, preferencialmente, através de fontes alimentares (azeite de oliva e óleo de girassol).

Apesar do leite ser citado como de consumo diário, pôde-se observar que a quantidade ingerida/dia foi em torno de 200 mL. Estes dados, associados à baixa ingestão de seus derivados e a baixa ingestão de alimentos fonte de cálcio, podem estar relacionados com a inadequação de ingestão desse nutriente, encontrada em 100 % dos pacientes.

Kasarskis e Neville³⁸ sugeriram que indivíduos com ELA não são necessariamente hipercatabólicos, mas com a progressão da doença, a demanda energética pode ser aumentada. Dois conjuntos de fatores são de grande importância no que diz respeito à ingestão alimentar de indivíduos com ELA, as disfunções articulares, limitando a manipulação e preparo dos próprios alimentos; e, as disfunções bulbares, expressas principalmente por disfagia, levando a modificação no padrão alimentar dos pacientes³⁹. Neste sentido alguns estudos^{5,7} sugeriram a existência de correlação entre a ingestão calórica inadequada, e a perda de peso corporal em indivíduos com disfagia média a grave. Estas alterações podem levar a desnutrição e desidratação.

Nutricionistas de experiência europeia no tratamento da ELA, em situações de baixa ingestão energética, geralmente utilizam suplementos hipercalóricos e protéicos como forma de garantir a ingestão de macro e micronutrientes³⁷. Os resultados apresentados no estudo mostram que 62% dos pacientes relataram consumo diário de suplementos hipercalóricos, no entanto, utilizados de forma inespecífica, seguindo as indicações do rótulo. Também foi observado, com a utilização dos itens de deglutição da escala ALSFRS-R, que 22% dos pacientes apresentavam disfagia, com dificuldade de obtenção da consistência indicada pelo fonoaudiólogo. A nosso ver, o acompanhamento nutricional individualizado é necessário para a adequação e orientação específica.

É importante ressaltar que dados de ingestão alimentar são utilizados para nortear os cuidados nutricionais e gerais do paciente com ELA. A ingestão calórica inferior a 80% da RDA pode resultar em perda de peso. Em situações nas quais a ingestão calórica é insuficiente, a gastrostomia percutânea endoscópica tem sido uma alternativa de nutrição e, geralmente indicada quando a porcentagem de perda de peso acima de 10%, há disfagia média ou grave e a medida da capacidade vital forçada é menor que 50%³³.

Estudos de diagnóstico alimentar na ELA, a exemplo do apresentado, permitem conhecer os hábitos alimentares de determinada população e estimar a ingestão de nutrientes, sendo úteis ao aconselhamento dietético mais eficaz, às orientações específicas e seguras, contribuindo para o melhoramento da qualidade de vida dos pacientes. Para que as orientações sejam implementadas são necessários trabalhos educativos com pacientes e/ou cuidadores.

Conclusões

Na população do estudo, os alimentos mais consumidos diariamente foram óleo, arroz, feijão, pão francês e leite. Constatou-se inadequação alimentar para energia, fibras,

cálcio e vitamina E. Observou-se diferença significativa entre pacientes com ELA de predomínio bulbar e apendicular, sendo que em pacientes com maior manifestação apendicular, houve maior ingestão energética ($p=0,02$), de gordura saturada ($p=0,03$), monoinsaturada ($p=0,04$) e polinsaturada ($p=0,001$), além de colesterol ($p=0,001$) e fibras ($p=0,001$), quando comparados com os de predominância bulbar. O maior comprometimento na deglutição verificada nos pacientes com predominância bulbar pode ter influenciado na ingestão qualitativa e quantitativa. Além das peculiaridades da doença repercutir em alimentação, a renda *per capita* dos pacientes parece ter influenciado no baixo consumo qualitativo de alimentos.

Com base nos resultados obtidos, estes pacientes devem ser orientados com relação ao consumo de alimentos e preparações com maior conteúdo de proteínas de alto valor biológico, fibras, cálcio e vitamina E.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão de bolsa de doutorado (LBCS).

Referências bibliográficas

1. Tadan R, Bradley WG. Amyotrophic lateral sclerosis: Part 1. Clinical features, pathology, and ethical issues in management. *Ann Neurol* 1985;18:271-80.
2. Tadan R, Bradley WG. Amyotrophic lateral sclerosis: Part 2. Etio-pathogenesis. *Ann Neurol* 1985;18:419-31.
3. Rosen AD, Bradley WG. Amyotrophic lateral sclerosis. Clinical features and prognosis. *Arch Neurol* 1978;35:638-42.

4. Nelson LM, Matkin C, Longstreth W T, Mcguire V. Population – based case – control study of amyotrophic lateral sclerosis in Western Washington State. II. Diet. *Am J Epidemiol* 2000;151:164-173.
5. Slowie LA, Paige MS, Antel JP. Nutritional considerations in the management of patients with ALS. *J Am Diet Assoc* 1983; 83:44-7.
6. Welnetz K. Maintaining adequate nutrition and hydration in the dysphagic ALS patient. *J Contin Educ Nurs* 1990;21:62-7.
7. Kasarskis E, Berryman S, Vanderleest JG, Schneider AR, McClain CJ. Nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis: relation to the proximity of death. *Am J Clin Nutr* 1996;63:130-7.
8. Stanich P, Pereira AML, Chiappeta ALML, Nunes M, Oliveira ASB, Gabbai AA. Suplementação nutricional em pacientes com doença do neurônio motor/esclerose lateral amiotrófica. *Rev Bras de Nutri Clin* 2004;19:70-8.
9. Silva LBC, Mourão L, Wolf A, Sordi M, França MJr, Nucci A, Amaya-Farfan J. Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): Nutritional profile and swallowing ability in patients with dysphagia. Annual Dysphagia Research Society Meeting, Vancouver, Canada, March 8-10, 2007 Vancouver, Canada. a
10. Silva LBC, Mourão L, Lima NMFV, Almeida SRM, França MJr, Nucci A, Amaya-Farfan J. Amyotrophic lateral sclerosis: nutritional status and functional conditions. Annual Dysphagia Research Society Meeting, Vancouver, Canada, March 8-10, 2007. Vancouver, Canada. b
11. Ludolph AC. 135th ENMC International Workshop: Nutrition in amyotrophic lateral sclerosis 18-20 of March 2005, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscular Disorders* 2006:1-9.
12. Souza BBA, Martins C, Campos DJ, Balsini ID, Meyer LR. *Nutrição e Disfagia: Guia para profissionais*. Curitiba, PR, Brasil: Nutroclínica, 2003.

13. El Escorial revisited: Revisited criteria for the diagnosis of ALS.-World Federation of Neurology research group on motor diseases. A consensus conference held at Airlie House, Worrenton, 1998; Virginia on April 2-4.
14. Fisberg RM, Martini LA, Slater B. Métodos de Inquéritos Alimentares. In: Fisberg RM, Slater B, Marchioni DML, Martini LA, editores. Inquéritos Alimentares: Métodos e bases científicas. São Paulo: Manole, 2005. p 2-7.
15. Diet Pro, versão 4.0: Sistema de suporte à avaliação nutricional e prescrição de dietas. Monteiro JBR, Esteves EA. Agromídia Software, 2001. CD-ROM
16. Philippi ST. Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional. Brasília, 2001. p.133.
17. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos/NEPA-UNICAMP-Versão II-2ºed- Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. p.113.
18. U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 2003. Composition of Foods. Raw, Processed, Prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Release 16. Nutrient Data Laboratory homepage. Disponível em <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR18/SR18_doc.pdf>.
19. National Research Council (US). Recommended dietary allowances. Washington: National Academic Press; 1989.
20. Vannucchi H, Menezes EW, Campana AO, Lajolo FM. Aplicações das recomendações adaptadas à população brasileira. Ribeirão Preto, editora Legis Suma, 1990.
21. Institute of Medicine. In: Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorous, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington, D.C.: The National Academy Press, 1997. Disponível em: <<http://www.nap.edu>>.
22. Institute of Medicine. In: Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Washington, D.C.: The National Academy Press, 2000. Disponível em: <<http://www.nap.edu>>.

23. Institute of Medicine. In: Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc (2001). Washington, D.C.: The National Academy Press, 2001. Disponível em: <<http://www.nap.edu>>.
24. Institute of Medicine. Energy. In: Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington, D.C.: The National Academy Press, 2002. Disponível em: <<http://www.nap.edu>>.
25. Harris JA, Benedict FG. A biometric study of basal metabolism in man. Washington, DC: Carnegie Institute of Washington, 1919.
26. Long CL, Schaffel N, Geiger JW. Metabolic response to injury and illness: Estimation of energy and protein needs from indirect calorimetry and nitrogen balance. JPEN 1979; 3:452-456.
27. Piquet MA. Nutritional Approach for patients with amyotrophic lateral sclerosis. Rev Neurol 2006; 2 (suppl4):S177-4S187.
28. Cintra IP, Heyde MED, Schmitz BAS, Franceschini SCC, Sigulem DM. Métodos de inquéritos dietéticos. Cad Nutrição 1997;13:11-23.
29. Brasil. Ministério da Saúde. Guia alimentar para a população brasileira: Promovendo a alimentação saudável. Brasília, 2006. p.189.
30. Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, et al. Epi Info, Version 6.04: A word-processing, database, and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 1997.
31. Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, Fuller C, Hilt D, Thurmond B. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. BDNF ALS Study Group (Phase III). Journal Neurol Sci 1999;169:13-21.
32. Norussis M J. Statistical Package for Social Science (SPSS) for Windows Advanced Statistics Release 15.0. Chicago: SPSS;2006.

33. Yorkston KM, Miller RM, Strand EA. Management of speech and swallowing in degenerative diseases. Texas:Pro-Ed., 2006. p.265.
34. Bülow M, Olsson RO. Ekberg. Videoradiographic Analysis of How Carbonated Thin Liquids and Thickened Liquids Affect the Physiology of Swallowing in Subjects with Aspiration on Thin Liquids. *Acta Radiol* 2003;44:366–372.
35. NAU KL. Individuals with amyotrophic lateral sclerosis are in caloric balance despite losses in mass. *J Neurol Science* 1995;192 (suppl):S47-S49.
36. Borasio GD, Voltz R. Palliative care in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* 1997;244 (suppl4):S11-S7.
37. Rio A, Cawadías E. Nutritional advice and treatment by dietitians to patients with amyotrophic lateral sclerosis/motor neurone disease: a survey of current practice in England, Wales, Northern Ireland and Canada. *J Hum Nutr Diet* 2007;20:1-13.
38. Karsarkis EJ, Neville HE. Management of ALS. *Neurology* 1996;47(Suppl):S118-S120.
39. Silani V, Karsarkis EJ, Yanagisawa N. Nutritional management in amyotrophic lateral sclerosis: a worldwide perspective. *J Neurology* 1998;243(2 Suppl):S13-S19.

5

Artigo II

“Milk whey proteins for use in oral nutritional therapy for amyotrophic lateral sclerosis patients”

**MILK WHEY PROTEINS FOR USE IN ORAL NUTRITIONAL THERAPY
FOR AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS PATIENTS**

Luciano Bruno de Carvalho Silva

Fernanda Zaratini Vissotto

Jaime Amaya-Farfán

Artigo a ser submetido à revista International Dairy Journal

Milk whey proteins for use in oral nutritional therapy for amyotrophic lateral sclerosis patients

Luciano Bruno de Carvalho Silva*, Fernanda Zaratini Vissotto, Jaime Amaya-Farfán

State University of Campinas, Faculty of Food Engineering, Campinas, SP, Brazil

* To whom correspondence should be sent: Monteiro Lobato Street 80 – CEP 13083-862. Universidade Estadual de Campinas, SP, Brazil. Tel: 55-19-35214059, Fax: 55-19-35214060. E-mail: luciano@unifal-mg.edu.br.

Abstract

Agglomerates based on milk whey proteins and modified starch were developed for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients, aimed at adjusting the viscosity of different food systems. Modified starch (MS), calcium caseinate (CaCas), whey protein isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) were used. After characterisation, the sources were agglomerated with the carbohydrate and an increase in the porosity of about 73% and also in the viscosity of the agglomerates were observed. In all the systems evaluated, the WPI agglomerate at a concentration of 112g/L showed a viscosity between 2,122 and 5,110cP, and the agglomerates of WPC and WPH between 1,115-2,880cP and 6651-2,600cP, respectively. CaCas exhibited high values in water and milk of 3,200cP and 6,651cP, respectively, and low values of 640cP in orange juice. In the sensory tests, the 70% WPI:30%MS agglomerate in orange juice obtained the highest score, 6.97 (\pm 0.15), in relation to the other agglomerates, not differing ($p=0.681$) from the commercial thickener, 6.91 ($p=0.380$). Based on these results, the agglomerate 70% WPI:30%MS was suggested for use in the nutritional therapy of patients with ALS.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, dysphagia, viscosity, supplementation, milk whey proteins, malnutrition.

1. Introduction

The term “amyotrophic” comes from the Greek, where *a* signifies “without” or “non”; *myo* refers to “muscle”; and *trophic* to “nutrition”. Thus *amyotrophic* signifies “without muscle nutrition”. When a muscle is not nourished, it atrophies or suffers emaciation. *Lateral* identifies the areas of the spinal marrow where parts of the nerve cells that nourish the muscles are located. As this area undergoes degeneration, scarring, hardening or sclerosis will occur in the region.

Also known as Lou Gehrig’s disease, amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is characterised by progressive paralysis, secondary to the compromise of the motor neurons, upper motor neuron and lower motor neuron. In the more advanced stages of the disease, decreases in respiratory muscle strength, progressive losses of body weight and muscle mass and dysphagia or difficulty in swallowing are observed (Nelson et al., 2000).

According to the United States National Health Institute, ALS is diagnosed in approximately 5,000 people per year. In Brazil, according to the data of the Brazilian ALS Association, “abrELA”, the incidence of the disease is 1.5 cases/million inhabitants, or 2,500 patients per year (Bradley, 2007).

In approximately 50% of the patients, the disease first affects the arms, in 25% the legs and in 25% the onset is bulbar. The bulbar dysfunction is defined as the paralysis or weakness of the muscles controlling swallowing and speaking, as also the movements of the jawbone, lips and tongue, signifying that the voice and swallowing will be affected first, possibly leading to dysphagia. However, independent of the type of initial manifestation, with the progression of the disease, the individual will present difficulty in swallowing.

The progressive muscle atrophy may mask the increase in metabolic demand, since metabolic energy is channelled to maintain pulmonary ventilation, thus justifying the

increase in basal energy expended by ALS patients (Shimizu, et al., 1991; Nau et al., 1995; Stanich et al., 2004; Silva et al., 2007a).

In a study carried out with patients suffering from ALS, a mean calorie ingestion of 2,100 kcal was observed, varying from 1,150 to 3,300 kcal, values below the recommended daily values (FAO/WHO, 1985 for neurologically compromised individuals). Silva et al. (2007b), analysing the body mass index (BMI) and caloric ingestion by patients with ALS, found a BMI below 18 g/m² (malnutrition) and caloric ingestion between 1350 and 2050 kcal in 46% of the patients (Almeida et al., 2007). Low protein ingestion was observed as compared to the other macronutrients (ADA, 1996; Nardurkar et al., 2004).

In patients with ALS, progression of the degree of dysphagia makes it difficult to maintain oral feeding, increases respiratory complications with the start of invasive ventilation, makes locomotion difficult for the patient to attend outpatients departments and stimulates depression (Mazzini et al., 1995). Nevertheless the use of alternative means of nutrition can result in metabolic alterations and a decrease in the quality of life of these individuals.

Many of the nutritional complications that occur with ALS sufferers are due to the low viscosity of the diet. Fluid liquids are difficult to swallow by patients with reduced deglutition control. This happens because such liquids can be swallowed very quickly and do not maintain any defined shape in the oral cavity. Thus part of the liquid food may penetrate the airways, which are still open, resulting in broncho-aspiration and aspiration pneumonia, worsening the nutritional state of the patient and with the progression of the disease, leading to dehydration. Proper thickening of the foods can minimise such inter-occurrences (Souza et al., 2003).

In this context and aiming to optimise the nutritional care of ALS sufferers, the American guide “National Dysphagia Diet: Standardization for Optimal Care” established

standards and limits for the variation in viscosity, with the objective of making the diet adequate for patients with compromised swallowing capacity. Such standards and limits do not necessarily represent the expected variation, but serve as a basis for discussion and for an analysis of the prescribed diet. These values are classified in centipoise (cP) as “thin” (1-50 cP – water), “nectar” (51-350 cP – mango juice), “honey” (351-1750 cP) and “pudding” (> 1750 cP) (ADA, 2002).

Different brands of modified starches have been indicated for use in the diets of individuals with difficulty in swallowing, such as Thick & Easy® (Hormel HealthLabs/Fresenius), Resourse Thicken Up® (Novartis) and Nutilis® (Nutricia/Support). All of these products are exclusively carbohydrate.

Ingredients such as milk whey proteins, when chemically or physically modified, can alter the viscosity of food systems. However, on their own, they are unable to reach the viscosity standardised by the ADA (2002) for fluids, but agglomerated with carbohydrate sources such as modified starch, they could increase the viscosity of food systems to values close to those cited by the ADA.

Based on the high malnutrition indices and difficulty in nutritional handling of ALS patients, the main objective of this study was to develop and sensory test a protein supplement based on milk whey proteins and modified starch, with adequate thickening capacity, for nutritional therapy in ALS patients.

2. Materials & Methods

2.1. Raw material

Whey protein isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) from Glanbia Foods Inc. (Monroe, Wisconsin, USA) were used, donated by the Integral Medicine Teaching and Research Institute, São Paulo, Brazil; calcium caseinate (CaCas) and modified starch (Thick & Easy – Hormel Health Labs).

2.2. Proximate composition of the protein sources

The moisture, total solids, ash and protein contents were determined according to AOAC (1990). Total lipids were determined according to Bligh & Dyer (1959), and total carbohydrates were estimated by difference, subtracting the sum of the values obtained in the other determinations from 100%.

2.3. Determination of the degree of hydrolysis

The degree of hydrolysis (DH) was determined based on the Adler-Niessen (1979) method, which consists of the spectrophotometric measurement of the chromophore formed in the reaction between trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) and amino groups, under alkaline conditions. After 1 hour of incubation, the reaction was interrupted by lowering the pH with 0.1M HCl. The sample was dispersed in sodium dodecyl sulphate (SDS) and the reaction occurred in 0.2125 M phosphate buffer, pH 8.2 L-leucine (0 to 2.0 mM) was used as the standard and the readings made at 340 nm.

2.4. Solubility of the protein sources

The protein solubility (% PS) was determined according to the method of Morr et al., (1985). The effects of pH (2.5 to 7.5) were studied for all the protein sources: WPI, WPC, CaCas and WPH.

2.5. Determination of total amino acids

The total amino acids were determined by reversed phase liquid chromatography (Hagen et al, 1989) after a 24 h acid hydrolysis step, in 20% HCl plus phenol, followed by derivatization with phenylisothiocyanate.

2.6. Agglomerate production

Formulations

Different concentrations of modified starch, calcium caseinate and milk whey protein isolate, concentrate and hydrolysate were used.

Preliminary physicochemical tests were carried out using modified starch as the standard. Concentrations varying from 10 to 50% protein plus modified starch were tested and evaluated for their viscosity profile. The formulation showing a viscosity closest to that of the commercial thickener was submitted to the process of agglomeration. The formulation selected for this study was 70% protein:30% modified starch.

2.7. Agglomeration process

Agglomeration of the formulations was carried out using a pilot plant scale model RCR instantiser (capacity of 5 kg) from ICF Industrie S.p.a. (Maranello-MO, Italy).

The following parameters were used for agglomeration: round 1.5 μm mesh grill, with 50% opening and a rotary dryer at 95 °C with a vapour pressure of 2 bar. After agglomeration and cooling, the products were packed into 500 g packages and stored at a temperature of approximately 10 °C.

2.8. Granulometric distribution

The particle size distribution of the protein sources and agglomerated products was determined using the vibratory Granutest equipment vibrating for 5 minutes with the 150,

250, 350 and 500 μm sieves. The amounts retained on each sieve were weighed and expressed as percentages.

2.9. Water activity of the agglomerated products

This was determined according to AOAC (1990) at zero time (for samples at room temperature). A portable $p_{\text{a,w}}$ kit, model 950 NE from Decagon® was used for the measurements. The equipment was calibrated using saturated solutions of magnesium and lithium chlorides (water activities of 0.1-0.4) and potassium sulphate (water activity of 0.975). The measurements were made in duplicate at room temperature (25.5 °C).

2.10. Water absorption capacity

The water absorption capacity of the protein sources and agglomerated products was measured in triplicate using the method proposed by Baumann (1996) and by Torgensen & Toledo (1977). This technique consists of using a horizontal capillary connected to a Buchner funnel by flexible tubing. 100 g-samples were placed on a Whatman n° 1 filter paper, and the water absorbed at equilibrium expressed as the mLs of water absorbed/g of protein.

2.11. Bulk density

This was determined in triplicate, based on the definition: the mass of particles occupying a defined volume. The analysis consists of standardising the product distribution, based on the volume it occupies (Peleg, 1983), placing 3 g of sample in a 25 mL graduated cylinder with the help of a funnel, thus standardising the distribution and minimising the effects of agglomerate compacting.

2.12. Particle density

This was determined in triplicate using the pycnometer recommended by Pomeranz & Meloan (1994), with toluene as the inert liquid ($\rho=0.866 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$).

2.13. Porosity

The porosity (%P) of the protein sources and agglomerated products was determined according to Peleg (1983).

2.14. Viscosity

The apparent viscosities (η) were determined in a Brookfield DV – III rheometer with a shear rate of 30 rpm (similar to that obtained in the processes of chewing and swallowing a food), using 30 s reading time and spindles 16, 18 and 31, the results being expressed in centipoises (cP). Protein concentrations of 18 and 28 g were used for women and men respectively, representing 30% of the individual's needs. The protein sources or agglomerates were added to the following food systems: water, whole UHT milk and commercial orange juice (pH 4.0 and 1.5% total solids). The viscosity was determined in triplicate at 25 °C.

2.15. Analysis of preference of the foods containing added agglomerates

Two samples were used: control (juice/milk + commercial thickener) and experimental (juice/milk + agglomerated products), 18 g and 28 g for women and men, respectively. The samples were served to the panellist (patients) individually in a monadic way and balanced order, using 50 mL disposable plastic cups coded with 3 digit algorithms. The participation of the 30 patients in the test was voluntary after agreeing to take part and freely signing a consent form. A 9-cm structured hedonic scale was used (Meilgaard et al., 1999). The protocol was approved by the Ethics Committee (n° 428/2006) of the State University of Campinas School of Medicine.

2.16. Statistical analyses

All the results were analyzed by multivariate analysis of variance and the differences amongst the means by Tukey's test. The software used was "Statistica-Basic Statistics and Tables" and "SPSS for windows 15.1".

3. Results & Discussion

3.1. Proximate composition of the protein sources

With the exception of WPC, all the materials used presented a protein concentration above 80% (Table 1). There was no significant difference in protein content between WPI and WPH. The sample with the lowest protein concentration was WPC. With respect to the lipid content, WPC showed the highest values and there was no significant difference ($p=0.835$) between WPI and WPH or between CaCas and WPH. For the ash content, there was a significant difference between WPI and WPC ($p=0.7110$); WPI and CaCas ($p=0.673$); and between WPC and CaCas ($p=0.742$). With respect to moisture content, there was no significant difference ($p=0.0613$) between the samples CaCas and WPH, but WPI and WPC were statistically different from the other samples. WPC showed the highest carbohydrate content and WPI the lowest. WPI is obtained by removing the carbohydrates, lipids and salts from WPC. For this reason, the WPI showed a higher protein concentration and lower carbohydrate and ash contents.

Table 1. Proximate composition of the protein sources: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa).

Sources	Protein (%) ^{1,2,3}	Fat (%) ^{1,2,3}	Ash (%) ^{1,2,3}	Water (%) ^{1,2,3}	Carboidrate (%) ^{2,4}
WPI	92.94 ± 0.01 ^a	0.57 ± 0.02 ^b	1.58 ± 0.69 ^{ab}	4.69 ± 0.03 ^c	0.22
WPC	77.30 ± 0.43 ^c	0.70 ± 0.03 ^a	2.15 ± 0.33 ^a	6.36 ± 0.01 ^a	13.49
CasCa	89.31 ± 0.11 ^b	0.45 ± 0.02 ^c	1.74 ± 0.31 ^a	5.25 ± 0.02 ^b	3.25
WPH	92.38 ± 0.06 ^a	0.51 ± 0.03 ^{bc}	1.39 ± 0.88 ^b	5.16 ± 0.08 ^b	0.56

¹ Values correspond to means (± SD) of three determinations. ² Values expressed in dry basis.

³ Values not sharing similar letter in the same column are different ($p < 0.05$) in Tukey test.

⁴ Calculated by difference = 100 – (protein + total fat + ash + water).

3.2. Determination of the degree of hydrolysis

The DH found was 10.11 mM.g^{-1} , classified as a protein source of medium degree of hydrolysis (7 to 15 mM.g^{-1}).

3.3. Solubility of the protein sources

Milk whey protein concentrates and isolates show good solubility throughout a wide range of pH values, temperatures, protein concentrations, water activities and ionic strengths (Huffman, 1996). Thus this property was shown to be stable in the various pH ranges applied. With CaCas a decrease in solubility was found at pH values close to the isoelectric point (pH 4.6) as shown in Table 2.

Table 2. Solubility of the protein sources: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at 25 °C.

pH	WPI ^{1,2}	WPC ^{1,2}	CasCa ^{1,2}	WPH ^{1,2}
2.5	71.01 ± 1.12 ^{Da}	71.56 ± 1.45 ^{Ca}	86.47 ± 0.94 ^{Aa}	71.41 ± 1.03 ^{Ab}
3.5	82.68 ± 0.45 ^{Aa}	80.93 ± 0.53 ^{Aa}	73.06 ± 0.31 ^{Cb}	58.29 ± 0.31 ^{Bc}
4.5	77.94 ± 0.34 ^{Ca}	77.54 ± 0.11 ^{Ba}	1.82 ± 0.21 ^{Fb}	58.11 ± 0.14 ^{Bb}
5.5	80.63 ± 0.12 ^{Ba}	80.71 ± 0.28 ^{Aa}	38.51 ± 0.47 ^{Eb}	35.03 ± 0.29 ^{Db}
6.5	80.56 ± 0.65 ^{Ba}	81.18 ± 0.56 ^{Aa}	56.45 ± 0.71 ^{Db}	45.39 ± 0.61 ^{Cc}
7.5	80.27 ± 0.16 ^{Ba}	79.88 ± 0.72 ^{Aa}	80.84 ± 0.03 ^{Ba}	71.06 ± 0.85 ^{Ab}

¹ Values correspond to means (\pm SD) of three determinations.

² Values sharing similar capital letter in the same column and minuscule letter in the same line are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

In foods, protein solubility is affected by the pH, ionic strength, temperature, solvent polarity, isolation method, processing conditions, interactions with other components and mechanical treatments (Vojdani, 1996). These factors affect the solubility of the proteins, mainly causing alterations in the hydrophilic and hydrophobic interactions of the surface groups of the protein with the solvent (Damodaram, 1996).

According to Morr & Ha (1993), whey proteins remain soluble around their isoelectric point (pI), that is, in the pH range between 4 and 5, or, according to Giese (1994), between 4 and 6. In the pH range between 4 and 6 no decrease in the values for solubility was found for the sources WPC and WPI.

3.4. Total amino acid contents of the protein sources

The protein sources used present amino acid compositions that attend all the recommendations for essential amino acids based on the Institute of Medicine standard (IOM, 2002) for all stages of life (Table 3).

Table 3. Total amino acids (g per 100 g of protein) of the protein sources: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa), compared to reference IOM (2002).

Amino acids (g/100g of protein)	IOM ² -2002		WPI	WPC	CasCa	WPH
	Pre-school ¹	Adults ¹				
Threonine	2.7	2.4	6.06	5.76	4.31	6.56
Methionine + Cistine	2.5	2.3	5.05	2.84	4.68	4.59
Valine	3.2	2.9	5.20	4.38	5.36	4.94
Leucine	5.5	5.2	14.24	8.92	9.24	10.66
Isoleucine	2.5	2.3	5.57	4.43	4.24	6.24
Phenylalanine + Tyrosine	4.7	4.1	8.69	5.47	9.57	6.34
Lysine	5.1	4.7	10.06	6.35	6.74	8.87
Histidine	1.8	1.7	1.76	1.47	3.06	1.37
Tryptophan	0.8	6.0	*	*	*	*

¹Values based on EAR (estimated average requirement): EAR amino acids/EAR protein; Children (1 to 3 years) EAR protein = 0.88 g/kg/day; adults (> 18 years). EAR protein = 0.66 g/kg/day. ² IOM: Institute of Medicine.

* Amino acid not determined.

According to De Kruif & Holt (2003), caseins have a high (35-45%) apolar amino acid content (Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Pro) and a low sulphur amino acid content, which limits their biological value. Nevertheless, as can be seen in Table 3, the essential amino

acid content of all the samples studied was in agreement with the IOM (2002) reference standard.

Due to the profile presented by the milk whey proteins, they can be recommended for the formulation of various special products such as infant formulas (Hambraceus, 1982), and for muscle metabolism performance, due to the high content of branched chain essential amino acids such as leucine and isoleucine (Steele & Harper, 1990). These peculiarities are extremely important for ALS patients, due to their hypermetabolism and progressive loss of lean mass with the clinical evolution of the disease.

3.5. Agglomeration process yield

The agglomeration process yield was 94.36, 94.53, 93.86 and 92.32% for WPI, WPC, CaCas and WPH, respectively.

3.6. Granulometric distribution

Before the agglomeration process, the milk whey and casein protein sources presented more than 90% of their particles retained on sieves with mesh below 150 μm , a size characteristic of spray dried products (Table 4).

The agglomerates WPI, WPC and WPH mostly presented particles smaller than 250 μm , although with an expressive increase in the diameter of the particles above 500 μm , generally of 40%. The majority of the CaCas particles were larger than 500 μm . WPH showed the smallest particles, justified by the smaller granulometry found in the granulometric distribution of the protein sources presented in Table 4.

Table 4. Granulometric distribution of the protein sources and agglomerate: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) using screen of <150, 250, 350 and 500 μm .

Components	<150 μm ^{1,2}		250 μm ^{1,2}		350 μm ^{1,2}		500 μm ^{1,2}	
	Source	Agglomerate	Source	Agglomerate	Source	Agglomerate	Source	Agglomerate
WPI	99.65 \pm 0.3 ^a	42.57 \pm 1.1 ^b	0.35 \pm 0.9 ^b	4.02 \pm 1.4 ^a	...	14.80 \pm 1.2 ^a	...	38.48 \pm 0.7 ^b
WPC	98.48 \pm 0.4 ^a	43.50 \pm 0.7 ^b	1.52 \pm 0.8 ^a	3.13 \pm 0.4 ^a	...	13.74 \pm 1.8 ^a	...	39.63 \pm 0.4 ^b
CasCa	99.88 \pm 0.5 ^a	42.45 \pm 0.8 ^b	0.12 \pm 0.9 ^b	4.07 \pm 0.5 ^a	...	9.86 \pm 1.3 ^b	...	43.62 \pm 0.5 ^a
WPH	99.37 \pm 0.6 ^a	46.84 \pm 0.9 ^a	0.25 \pm 0.9 ^b	3.86 \pm 0.2 ^a	...	9.82 \pm 0.9 ^b	...	39.48 \pm 0.3 ^b

¹ Values correspond to means (\pm SD) of three determinations.

² Values not sharing similar letter in the same column are different ($p < 0.05$) in Tukey test.

3.7. Water activity

The water activity is defined as the ratio between the water vapour pressure in equilibrium with a food and the vapour saturation pressure at the same temperature (Fontana, 1998). It is a measurement used in the quality control of foods, including powdered foods. In order to retard alterations in this type of product due to undesirable changes such as the exponential growth of microorganisms, enzymatic reactions or enzymatic browning, the value for a_w should be below 0.6.

Table 5 shows the values for water activity of the agglomerated products. The lowest values for a_w were found in the WPH agglomerate and the values for a_w increased for all the agglomerates during the 30 days of storage.

Table 5. Water activity of the agglomerates: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at initial time (T_0) and final time, after thirty days (T_{30}), at 25°C.

Agglomerates	$a_w (T_0)^{1,2}$	$a_w (T_{30})^{1,2}$
	Temp. 25°	
WPI	0.24 ± 0.03^{Ab}	0.30 ± 0.01^{Aa}
WPC	0.25 ± 0.09^{Ab}	0.31 ± 0.10^{Aa}
CasCa	0.25 ± 0.03^{Ab}	0.31 ± 0.01^{Aa}
WPH	0.18 ± 0.06^{Bb}	0.23 ± 0.08^{Ba}

¹ Values correspond to means (\pm SD) of three determinations.

² Values sharing similar capital letter in the same column and minuscule letter in the same line are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

For all the agglomerates the values found for a_w at the beginning of the study (T_0) for all the formulations developed, were within the values reported in the literature for powdered (dehydrated) foods, which, by their very nature, present low a_w values, generally below 0.30 (Vitali & Quast, 1996). However at the end of this study (T_{30}), the a_w had increased to approximately 0.30, suggesting that the packaging used did not present an adequate barrier to water vapour, and that a packaging material showing greater protection should therefore be used to store the agglomerated products.

3.8. Water absorption capacity of the protein sources and the agglomerates

The water absorption capacity of the protein sources varied from 1.82 to 6.11 mL water absorbed/g protein. Table 6 presents the WAC values of the protein sources.

Table 6. Water absorption capacity (WAC) of the protein sources and agglomerate: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at 25 °C during 30 minutes.

Components	WAC (mL absorbed water /g protein) ^{1,2}	
	Source	Agglomerates
WPI	1,82 ± 0,18 ^{Db}	4,02 ± 0,14 ^{Da}
WPC	3,77 ± 0,28 ^{Bb}	6,30 ± 0,23 ^{Ba}
CasCa	6,11 ± 0,10 ^{Ab}	8,17 ± 0,13 ^{Aa}
WPH	2,63 ± 0,09 ^{Cb}	5,15 ± 0,17 ^{Ca}

¹ Values correspond to means (± SD) of three determinations.

² Values sharing similar capital letter in the same column and minuscule letter in the same line are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

Of all the sources, CaCas showed the highest WAC values. No statistical differences were observed between the WAC values of WPH and WPI ($p=0.0712$) or WPC ($p=0.0604$). Nevertheless the samples WPI and WPC were statistically different ($p=0.0021$), WPI showing the higher values.

These findings are in agreement with the literature, where the difference between the WAC of protein sources has been attributed to protein denaturation. Protein sources containing more denatured protein and showing decreased solubility, exhibited higher WAC values (Arrese et al., 1991; Remondetto et al., 2001). This was clearly shown in the case of the CaCas samples, which presented the lowest values for solubility (independent of the isoelectric point) and highest values for WAC. Similar behaviour was shown by the WPC samples which, when compared to WPI, showed higher WAC and lower solubility at pH values of about 6.5, considering 5% probability.

The WAC values were shown to increase for all the products after the agglomeration process, as can be seen in Table 6.

The agglomerate WPH did not differ statistically from the agglomerates WPI ($p=0.0860$) and WPC ($p=0.0968$) with respect to WAC. However, the agglomerates WPI and WPC were statistically different ($p=0.0490$). The CaCas based agglomerate showed the highest values for WAC of all the products evaluated.

In part, the greater WAC observed for CaCas could be due to its granulometry, as compared to the other agglomerates. Increases in granule size improve WAC. To the contrary, products with very small granulometry ($<125\ \mu\text{m}$) show reduced WAC, favouring the formation of clusters on the surface or deposition of residues. Agglomeration results in products with a porous structure that absorb liquids quicker, dissolving in an instantaneous way (Aguilera et al., 1995; Masters, 1972).

The physical-chemical alterations occurring during agglomeration can alter the WAC. One of the peculiarities of the agglomeration process is to moisten the fine particles of the powder with vapour, such that the particles enter into contact or collide with each other, forming porous agglomerates subsequently dried in hot air (Aguilera et al., 1995). Alterations in the protein conformation resulting from this process can affect the thermodynamics of water binding by altering the availability of polar sites or hydration sites. The transition of the compact globular conformation of the protein molecule to a random conformation results in an increase in the available surface area and the exposition of the peptides and lateral amino acid chains, previously hidden, which, in this way, could increase the interaction with water (Kinsella, 1984).

3.9. Apparent density, particle density and porosity

The protein sources WPI and WPC were not statistically different from each other ($p=0.9315$). The CaCas and WPH were significantly different ($p=0.0324$) from each other and from the other protein sources (Table 7).

Table 7. Apparent density (ρ_{ap}), particle density (ρ_{part}) and porosity P(%) of the protein sources and agglomerate: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa).

Components	ρ_{ap} g.cm ⁻³ 1.2.3		ρ_{part} g.cm ⁻³ 1.2.4		P (%) 1.2.5	
	Source	Agglomerate	Source	Agglomerate	Source	Agglomerate
WPI	0.394 ± 0.042 ^{Ba}	0.344 ± 0.005 ^{Bb}	1.088 ± 0.006 ^{Bb}	1.334 ± 0.020 ^{Ba}	64.12 ^{Bb}	74.13 ^{Ba}
WPC	0.391 ± 0.018 ^{Ba}	0.341 ± 0.003 ^{Bb}	1.087 ± 0.003 ^{Bb}	1.332 ± 0.073 ^{Ba}	64.02 ^{Bb}	74.16 ^{Ba}
CasCa	0.366 ± 0.009 ^{Ca}	0.319 ± 0.036 ^{Cb}	1.085 ± 0.005 ^{Bb}	1.329 ± 0.037 ^{Ba}	66.27 ^{Ab}	75.27 ^{Aa}
WPH	0.413 ± 0.004 ^{Aa}	0.363 ± 0.012 ^{Ab}	1.093 ± 0.006 ^{Ab}	1.342 ± 0.001 ^{Aa}	62.21 ^{Cb}	74.89 ^{Ca}

¹ Values correspond to means (± SD) of three determinations.

² Similar letter in the same column are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

³ Similar letter in the same line referent to ρ_{ap} are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

⁴ Similar letter in the same line referent to ρ_{part} are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

⁵ Similar letter in the same line referent to %P are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

The apparent density depends on the intensity of the attractive forces between the particles, the particle size and the number of points of contact. Powdered foods have apparent densities between 0.3 and 0.8 g.cm⁻³. According to Peleg (1983), the ρ_{ap} of powdered milk whey is 0.52 g.cm⁻³, whilst for WPI with protein contents of 85%, this value was 0.38 g.cm⁻³ (Barbosa-Cánovas & Juliano, 2005).

It can be seen that after agglomeration a significant difference was observed between the protein sources (raw material) and the agglomerates, the differences found between the samples of CaCas and WPH remaining ($p=0.033$).

The particle density (ρ_{part}) reflects the existence of internal pores in the powder granules, and is defined as the mean weight of the particles per unit volume, excluding the volume occupied by interstitial air (Maia & Golgher, 1983). It is known as the measurement of true density, and is important in situations where one must obtain the relationship between the weight of the particles and the forces between them (Peleg, 1983; Salazar, 1979).

As in the case of the values obtained in the analyses for ρ_{ap} for the protein sources and agglomerated products, the WPH showed higher values for ρ_{part} for both the protein sources and the agglomerates (Table 7).

According to Peleg (1983), the particle density of the majority of powdered foods is between 1.4 and 1.5 g.cm⁻³, depending on the moisture content. However, for milk whey products, the value for ρ_{part} shown by Barbosa-Cánovas & Juliano (2005) was 1.0 g.cm⁻³, corroborating with the present study. The results of the present study corroborate with the papers cited, the variation being from 1.08 to 1.14 g.cm⁻³.

Porosity is a function of particle size, size distribution and form. The use of porosity allows for and facilitates the treatment and comparisons between powdered foods that could have different particle densities (Peleg, 1983).

As in the case of apparent density, the results for %P of the protein sources and agglomerates showed significant differences between the %P of WPH and of CaCas ($p=0.092$) and those of the other sources used. Amongst the agglomerates, the greatest %P was found for the CaCas samples (Table 7).

The values found in the present study agree with those found by Peleg (1983), who showed that powdered foods with ρ_{part} of about 1.4 g.cm⁻³ showed internal, external or both porosities between 40 and 80%.

The %P can be a parameter showing the efficiency of the agglomeration process. The interstitial space shown, in an irregular array, by large particles, favours wettability (ability of the powder to bind water on the surface), whereas small, symmetrical particles show reduced interstices that hamper water penetration (Maia & Golgher, 1993; Masters, 1972; Salazar, 1979).

3.10. Apparent viscosity of the protein sources and agglomerated products

The viscosity of a food is one of the most important variables in swallowing. Thin liquids make swallowing difficult for patients with reduced oral control, since they are swallowed quickly and fail to maintain any form inside the oral cavity. Part of the liquid food may slip prematurely to the pharynx and thus penetrate the still open airways, that is, before swallowing actually occurs. To avoid this effect, the ideal viscosity for swallowing to occur safely should be determined (Souza et al., 2003).

Considering the protein sources of different food systems as a base, and using protein concentrations of 18 and 28 g, it can be seen that the sources WPI, WPC and WPH showed similar behaviour in water and in milk. CaCas showed higher values in whole milk and lower values in orange juice (Table 8).

Table 8. Apparent viscosity (η'), in centpoise (cP), of the protein sources: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at the concentration of 18 at 28 g in 250 mL of foods (water, whole milk and orange juice) at 25 °C.

Protein source		η' (cP) ^{1,2}		
		Water	Whole milk	Orange juice
[] 18 g of protein	WPI	90.91 ± 0.18 ^{Db}	90.46 ± 0.37 ^{Db}	103.06 ± 0.67 ^{Ba}
	WPC	5.38 ± 0.28 ^{Fb}	6.01 ± 0.53 ^{Fb}	11.30 ± 0.35 ^{Fa}
	CasCa	114.4 ± 1.04 ^{Cb}	192.33 ± 0.34 ^{Ba}	20.29 ± 0.41 ^{Dc}
	WPH	5.30 ± 0.87 ^{Fb}	5.45 ± 0.65 ^{Fb}	10.90 ± 0.07 ^{Fa}
[] 28 g of protein	WPI	140.70 ± 0.61 ^{Bb}	140.46 ± 0.79 ^{Cb}	160.7 ± 0.52 ^{Aa}
	WPC	10.11 ± 0.20 ^{Ea}	10.35 ± 0.45 ^{Eb}	18.60 ± 0.12 ^{Ea}
	CasCa	181.5 ± 1.32 ^{Ab}	302.36 ± 0.47 ^{Aa}	32.15 ± 2.15 ^{Cc}
	WPH	10.14 ± 0.02 ^{Ea}	10.15 ± 0.03 ^{Eb}	18.25 ± 0.98 ^{Ea}

¹ Values correspond to means (\pm SD) of three determinations.

² Values sharing similar capital letter in the same column and minuscule letter in the same line are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

Considering the food system in water as the base, no differences of viscosity were observed between WPC and WPH ($p=0.961$), the same being observed in milk ($p=0.955$)

and juice ($p=0.738$) at a concentration of 18 g of protein. Similar behaviour was observed at a final concentration of 28 g of protein. As in water, the values found for CaCas in milk were greater than the others. In orange juice, WPI showed the highest values and CaCas the lowest (Table 8).

According to the standards established by ADA (2002), both for the use of 18 g (recommended for female adult) and 28 g (recommended for a male adult), the protein sources WPC and WPH were classified as thin liquids (1-50 centipoise – cP) in all the food systems. CaCas was classified as nectar (51-350 cP) in water and milk, and in orange juice this same source was classified as a thin liquid (1-50 cP – water). The low values for the viscosity found with CaCas in the orange juice are related to the system pH of about 4.5, close to the isoelectric point of the casein, which favours precipitation of these sources. WPI was classified as a nectar in all the food systems.

After the agglomeration process, which was the main proposal of the present study, it can be seen that the apparent viscosity increased for all the agglomerates (Table 9).

Table 9. Apparent viscosity (η'), in centipoise (cP), of the agglomerates: isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein and calcium caseinate (CasCa) at the concentration of 18 at 28 g in 250 mL of foods (water, whole milk and orange juice) at 25 °C.

Agglomerates	η' (cP) ^{1,2}			
	Water	Whole milk	Orange juice	
[] 18 g of protein	WPI	1361.33 ± 1.10 ^{Dc}	2701.38 ± 1.50 ^{Db}	3283.31 ± 2.30 ^{Ba}
	WPC	864.33 ± 1.15 ^{Gb}	850.57 ± 0.50 ^{Fc}	2850.00 ± 1.02 ^{Da}
	CasCa	2051.67 ± 2.89 ^{Cb}	4273.33 ± 2.39 ^{Ba}	410.33 ± 0.58 ^{Hc}
	WPH	862.66 ± 1.53 ^{Gb}	854.00 ± 0.21 ^{Fc}	1851.00 ± 1.00 ^{Fa}
[] 28 g of protein	WPI	2122.66 ± 2.31 ^{Bc}	4001.32 ± 1.14 ^{Cb}	5110.66 ± 1.15 ^{Aa}
	WPC	1115.00 ± 0.34 ^{Eb}	1018.18 ± 0.32 ^{Eb}	2980.73 ± 0.62 ^{Ca}
	CasCa	3200.60 ± 0.58 ^{Ab}	6651.66 ± 1.53 ^{Aa}	640.16 ± 0.29 ^{Gc}
	WPH	988.00 ± 0.32 ^{Fc}	1017.00 ± 0.48 ^{Eb}	2600.00 ± 0.01 ^{Ea}

¹ Values correspond to means (± SD) of three determinations.

² Values sharing similar capital letter in the same column and minuscule letter in the same line are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

In relation to the behaviour of the agglomerates in the different systems, it can be seen that those of WPI showed the highest values of viscosity in the orange juice. Those from CaCas showed the highest values in milk and lowest in the orange juice.

Comparing the various agglomerates in a single system, with a final concentration of 18 g protein in water, the highest values were found for CaCas and the lowest for WPI and WPH. Similar behaviour was shown with a final concentration of 28 g of protein. In milk the highest values were again found for CaCas at the two protein concentrations, followed by WPI. The agglomerates WPC and WPH presented no significant differences at the protein concentrations of 18 g ($p=0.52$) and 28 g ($p=0.22$). In orange juice the WPI agglomerates showed the highest values at both concentrations and the CaCas agglomerates the lowest values.

At the concentration of 18 g protein, the WPI agglomerates showed values varying from 1361.33 to 3283.31 cP. In water these agglomerates were classified as honey (351-1750 cP), and in milk and orange juice presented the consistency of pudding (>1750 cP), showing significant differences in all the systems. Lower values were found for the WPC and WPH agglomerates, being classified as honey in water and milk and pudding in orange juice. The CaCas agglomerates showed the highest values in the water and milk systems (pudding), but in orange juice the viscosity was only 410.33 cP (honey).

When used at the concentration of 28 g (Table 9), the WPI agglomerates were classified as pudding in all the systems. In water and milk, WPC showed the same behaviour, being classified as honey, but in orange juice the viscosity was 2980.73 cP (pudding). The CaCas agglomerates showed higher values than the other agglomerates in water and milk and lower values than the others in the orange juice. WPH agglomerates

showed a viscosity of 1005.00 cP in water and 1017 cP in milk, being classified as honey. In orange juice the viscosity of these agglomerates was classified as pudding.

3.11. Analysis of preference of the foods containing added agglomerates

The figure 1 shows the results of the preference tests carried out with ALS patients.

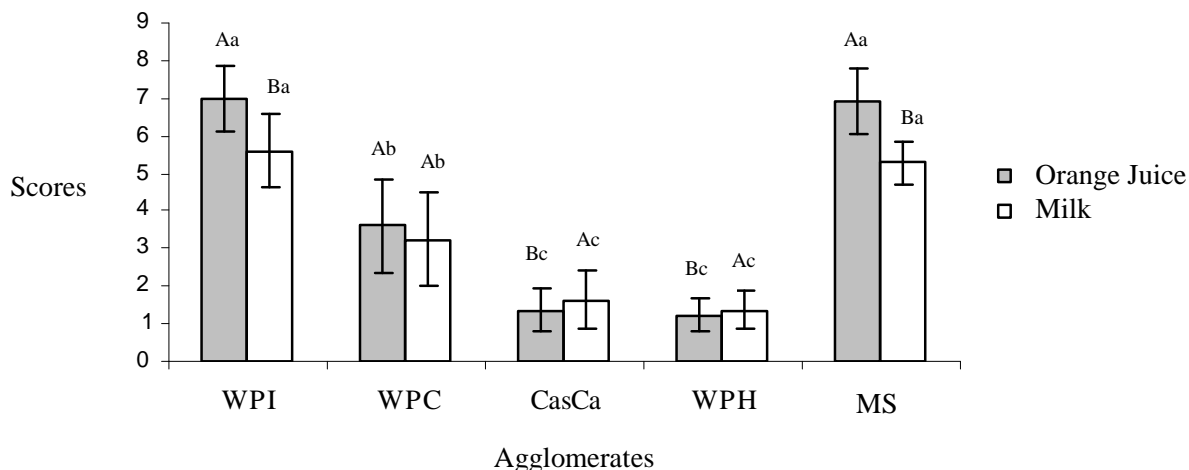


Figure 1. Analysis of preference of the foods containing added agglomerates isolate (WPI), concentrate (WPC) and hydrolysate (WPH) milk whey protein, calcium caseinate (CasCa) and modified starch (MS) at the concentration of 18 at 28 g in 250 mL at 25°C.

* Similar capital letter in the same column that represent the same agglomerate are not different ($p > 0.05$) in Tukey test. Similar minuscule letter in the same column that represent the same food are not different ($p > 0.05$) in Tukey test.

It can be seen that the means for preference of the milk and orange juice systems with added WPI agglomerate differed statistically ($p=0.007$), being between 5.61 and 6.97 (between “liked slightly” and “liked moderately”). No significant difference ($p=0.804$) was observed between the use of this agglomerate and the commercial thickener.

The means found for the agglomerates based on WPC, CaCas and WPH in orange juice were 3.61 (± 1.26), 1.37 (± 0.59) and 1.23 (± 0.42). In milk the means were 3.25 (± 1.26), 1.63 (± 0.77) and 1.37 (± 0.49). For the WPC agglomerates the scores given on the hedonic scale were between “disliked moderately” and “disliked slightly” and for the CaCas and WPH agglomerates between “disliked intensely” and “disliked a lot”.

It is important to point out that in the systems with added 70% WPI:30%MS and with added commercial thickener, means above the cut-off point of 5 (Stone & Sidel, 1993) were obtained, indicating preference for these products.

4. Conclusions

With respect to the proximate composition of the protein sources, the protein concentration of the WPI was higher than those of the other sources. Of all the protein sources, WPI and WPC exhibited the highest values for solubility, independent of pH. The CaCas showed higher solubility at the extreme pH values, but solubility at the isoelectric point was close to 0. WPH showed intermediate solubility with the minimum values at pH values between 3.5 and 6.5. All the sources satisfied the recommendations in terms of essential amino acids according to the IOM of 2002.

The formulations elaborated showed good yields, varying from 92.53 to 94.53%, and an increase in granule size of the products was observed after agglomeration, with more than 38% of the particles presenting diameters greater than 500 μm . Despite the low initial water activity values, the agglomerates showed increased values after 30 days of storage, suggesting that the packaging used did not offer an adequate barrier to water vapour. The greatest values for water absorption capacity were noted for the protein sources and agglomerated products containing CaCas, and an expressive increase in this property was observed for the milk whey protein based agglomerates (WPI, WPC and WPH) after the agglomeration process.

There was no significant difference ($p < 0.05$) in apparent density between the protein sources WPI and WPC, and the values for CaCas were lower than those of WPH. The values for apparent density of the protein sources decreased after agglomeration with modified starch. The mean density of the protein source particles was about $1.09 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, increasing to $1.3 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ after agglomeration, close to the expected value for powdered

foods. Considering the values for the apparent and particle densities, the values for porosity were obtained, showing an increase after agglomeration and resulting in highly porous products, as desired for this type of product.

Of the protein sources, the WPI and CaCas samples at concentrations of 18 and 28 g, presented higher values for viscosity. The former showed similar behaviour in all the systems, but in orange juice the CaCas showed low values for viscosity because of the system pH value (close to the isoelectric point of the caseins). After the agglomeration process, the products were able to modify the system viscosity, approaching that of the ADA standard (2002). The WPI agglomerate stood out because of the values obtained and its versatility in all the systems evaluated. In the sensory preference tests, the WPI agglomerate obtained the highest scores from the patients, not differing from those obtained with the commercial thickener. The WPC, CaCas and WPH samples received below average scores for acceptance.

Considering the set of physical-chemical and nutritional properties of the 70% WPI:30%MS agglomerate as a whole, for use as a food thickener for feeding patients suffering from ALS, it was concluded that it would be an advantageous substitute for the current commercial thickeners in managing of the disease. The cost factor should add to the benefits of a nutritional therapy.

5. Acknowledgements

The authors are grateful to the Integral Medicine Teaching and Research Institute, São Paulo, Brazil, for donating the protein sources; to CNPq, the Brazilian National Research Council, for conceding a doctorate scholarship (LBCS); and to the Institute of Food Technology (ITAL), Campinas, Brazil, for the use of the agglomerator.

6. References

- ADA. (1996). National Dysphagia Diet: *The manual of clinical dietetics*. (5rd ed). Chicago, IL: The American Dietetics Association.
- ADA. (2002) National Dysphagia Diet: *Standardization for Optimal Care*. National Dysphagia Diet Task Force. Chicago, IL: The American Dietetics Association.
- Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 27, 1256-1262.
- Aguilera, J. M., Valle, J. M., & Karel, M. (1995). Caking phenomena in amorphous food powders. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 149-155.
- Almeida, S. R. M., Nucci, A., & Silva, L. B. C. (2007). Avaliação da função respiratória e nutricional na ELA. Estudo Piloto. *VI Congresso Paulista de Neurologia, São Paulo, June 22-23, 2007*. São Paulo, Brasil.
- A.O.A.C. (1990). Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. Washington, DC: W. Horwitz (Eds.).
- Arrese, E. L., Sorgentini, D. A., Wagner, J. R., & Añon, M. C. (1991). Eletrophoretic, solubility, and functional properties of commercial soy protein isolates. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 39, 1029-1032.
- Barbosa-Cánovas, G.V., & Juliano, P. (2005). Physical and Chemical Properties of Food Powders. In C. Onwulata (Eds.), *Encapsulated and Powdered Foods*, (pp.39-71). New York, NY: Taylor & Francis.
- Baumann, H. (1966). Appatur nach Baumann zur Besting der flüssig-keitsaunahme von pulvrigen substanzen. *Fette*. 68, 741 (Seifen, Anstrim).
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.

Bradley, W. (2007). Esclerose Lateral Amiotrófica. Retrieved July 30, 2007, from www.tudosobreela.com.br/relacoes/entrevistas02.shtml?sessao=entrevistas.

Damodaran, S. (1989). Interrelationship of molecular and functional properties of food proteins. In J.E. Linsella (Eds.), *Food proteins* (pp.21-51). Champaign, IL: American Oil Chemists Society.

De Kruif, C.G., & Holt, C. (2003). Casein micelle structure, functions and interactions. In P.F. Fox & P.L.H. CaSweeney (Eds.), *Advanced dairy chemistry, Vol. 1: Proteins* (3rd ed) (pp.233-276). New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

FAO/WHO. (1985). Food and Agriculture Organization of the United Nation / World Health Organization. *FAO/WHO Expert Consultation on Energy and Protein Requirements, Roma, Italy, Technical Reports, Series 724*, 1981. Geneva, Italy.

Fontana, A. J. (1998). Water activiy: why is it important for food safety. *Proceedings of the First NSF International Conference of Food Safety, Albuquerque, NM, November, 1998*. Albuquerque, NM. México.

Giese, J. (1994). Proteins as ingredients: types, functions, applications. *Food Technology*, 48, 50-60.

Hagen, S. R., Frost, B., & Augustin, J. (1989). Pre-column phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. *J. AOAC*, 72, 912–916.

Hambraeus, L. (1982). Nutritional aspects of milk proteins. In P. F. Fox (Ed.), *Development of Dairy Chemistry*, (pp.289-313). London: Applies Science.

Huffman, L. M. (1996). Processing whey protein for use as a food ingredient. *Food Technology*, 50, 49-52.

IOM (Institute of Medicine). (2002). *National Academy of Sciences on Dietary Reference Intakes (DRI's). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Protein and Amino Acids (Macronutrients)*. Washington: National Academy Press.

- Kinsella, J. E. (1994). Milk proteins: physicochemical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 21, 197-287.
- Maia, A. B. R., & Golgher, M. (1983). Parâmetros para a avaliação da qualidade de reconstituição do leite em pó desidratado em secador de aspersão (“spray dryer”). *Boletim SBCTA*, 17, 235-254.
- Masters, K. (1972). *Spray Drying. Chemical and Process Engineering Series*. London: Leonard Hill Books.
- Mazzini, L., Corra, T., Zaccata, M., Mora, G., Del Piano, M., & Galante, M. (1995). Percutaneous endoscopic gastrostomy and enteral nutrition in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology*, 242, 695-698.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B.T. (1999). *Sensory evaluation techniques*. (3rd ed). New York, NY: CRC Press.
- Morr, C. V., German, B., Kinsella, J. E., Regenstein, J. P., Buren, V., Kilara, A., Lewis, B. A., & Mangino, M.E. (1985). Collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *Journal of Food Science*. 50, 1715-1718.
- Morr, C. V., & Ha, E. Y. W. (1993). Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33, 431-476.
- Nardurkar, S., Locke, G. R., Fett, S., Zinsmeister, A.R., Cameron, A. J.; & Talley, N. J. (2004). Relationship between body mass index, diet, exercise and gastro-esophageal reflux symptoms in a community. *Aliment Pharmacology Ther*, 20, 497-505.
- Nau, K. L. (1995). Individuals with amyotrophic lateral sclerosis are in caloric balance despite losses in mass. *Journal Neurology of Science*, 192, 47-9.
- Nelson, L. M., Matkin, C., Longstreth, W. T, & Mcguire V. (2000). Population – based case – control study of amyotrophic lateral sclerosis in Western Washington State. II. Diet. *American Journal of Epidemiology*, 151, 164-173.

- Peleg, M. (1983). Physical characteristics of food powders. In M. Peleg, & E. B. Bagley (Eds), *Physical properties of foods*. (pp.293-321). Westport, CT: AVI Publishing Co. Inc.
- Pomeranz, Y., & Meloan, C. E. (1994). *Food Analysis: Theory and practice* (3rd ed). Westport, CT: AVI Publishing Co. Inc.
- Remondetto, G., Añon, M. C., & González, R. J. (2001). Hydratation properties of soybean protein isolates. *Brasilian Archives of Biology and Technology*, 44, 2001.
- Salazar, J. (1979). Aspectos gerais sobre a produção de leite em pó instantâneo. *Revista do ILCT*, 15-25.
- Shimizu, T., Hayashi H., & Tanabe, H. (1991) Energy metabolism of ALS patients under mechanical ventilation and tube feeding. *Clinical of Neurology*, 31, 255-259.
- Silva, L. B. C., Mourão, L., Wolf, A., Sordi, M., Franca, M. J., Nucci, A., & Amaya-Farfan, J. (2007). Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): Nutritional profile and swallowing ability in patients with dysphagia. *Annual Dysphagia Research Society Meeting, Vancouver, Canada, March 8-10, 2007*. Vancouver, Canada a.
- Silva, L. B. C., Mourão, L., Lima, N. M. F. V., Almeida, S. R. M., Franca, M. J., Nucci, A., & Amaya-Farfan, J. (2007) Amyotrophic lateral sclerosis: nutritional status and functional conditions. *Annual Dysphagia Research Society Meeting, Vancouver, Canada, March 8-10, 2007*. Vancouver, Canada b.
- Souza, B. B. A., Martins, C., Campos, D. J., Balsini, I. D., & Meyer, L. R. (2003). *Nutrição e Disfagia: Guia para profissionais*. Curitiba, PR, Brasil: Nutroclínica.
- Stanich, P., Pereira A. M. L., Chiappeta, A. L. M. L., Nunes, M., Oliveira, A. S. B., & Gabbai, A. A. (2004). Suplementação nutricional em pacientes com doença do neurônio motor/esclerose lateral amiotrófica. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, 19, 70-78.
- Steele, R. D., & Harper, A. E. (1990). Protein. In M. L. Brown (Ed.), *Present knowledge in nutrition*, (6rd ed) (pp.67-79). Washington, DC: Nutritional Foundation.

Stone, H., & Sidel, J. L. (1993). *Sensory Evaluation Practices*, New York, NY: Academic Press.

Torgensen, H., & Toledo, R. T. (1977). Physical properties of protein preparations relates to their functional characteristics in comminuted meat systems. *Journal of Food Science*, 42, 1615-1618.

Vitali, A. A., & Quast, D. G. (1996) Vida de prateleira de alimentos. In S.C.S.R. Moura, S.P.M. M Germen (Eds), *Reações de transformações e vida de prateleira de alimentos processados – Manual técnico n 6* (pp.3-10). Campinas, SP: ITAL.

Vojdani, F. (1996). Solubility. In G. M. Hall (Ed.), *Methods of testing protein functionality* (pp.11-60). London: Blackie Academic & Professional.

6

Artigo III

“Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional assessment”

**AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS: COMBINED NUTRITIONAL,
RESPIRATORY AND FUNCTIONAL ASSESSMENT**

Luciano Bruno de Carvalho Silva

Lucia Figueiredo Mourão

Ariovaldo Armando Silva

Núbia Maria Freire Vieira Lima

Sara Regina Almeida

Marcondes C. Franca Junior

Anamarli Nucci

Jaime Amaya-Farfán

Artigo a ser submetido à revista Arquivos de Neuropsiquiatria

**Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional
assessment**

*LUCIANO BRUNO DE CARVALHO SILVA¹, LUCIA FIGUEIREDO MOURÃO²,
ARIOVALDO ARMANDO SILVA³, NÚBIA MARIA FREIRE VIEIRA LIMA⁴. SARA
REGINA ALMEIDA⁴, MARCONDES C. FRANCA JUNIOR⁵, ANAMARLI NUCCI⁶, JAIME
AMAYA-FARFÁN⁷*

¹Doctoral candidate, Food and Nutrition Department, School of Food Engineering (FEA) and NEPA (Center for Food Security Studies) of the State University of Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil; ²Prof. Doctor PhD Speech Pathologist Medical School (FCM/UNICAMP); ³Prof. Doctor FCM-UNICAMP Otorrionolaringology FCM/UNICAMP; ⁴Physiotherapeutics Dept. of Neurology FCM/UNICAMP; ⁵Neurologist Ambulatory Neuromuscular Diseases HC/UNICAMP; ⁶Associate Prof. FCM/UNICAMP. Ambulatory Neuromuscular Diseases HC/UNICAMP; ⁷Full Prof. FEA/UNICAMP, NEPA/UNICAMP.

* To whom correspondence should be sent: Monteiro Lobato Street, 80 – CEP 13083 – 862 Universidade Estadual de Campinas, SP, Brazil. Tel: 55-19-35214059, Fax: 55-19-35214060. E-mail: luciano@unifal-mg.edu.br.

ABSTRACT– Objective: to establish correlations between nutritional, functional and respiratory indices of patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Method: twenty patients (13 appendicular –GA and 7 bulbar –GB) were included in the multidisciplinary study at the Ambulatory Neurological Clinic of the State University of Campinas Hospital. Results: among the GA type significant correlation was observed between maximal inspiratory (MIP) and expiratory (MEP) pressure ($r=-0.76$), MEP and pulse oxymetry ($r=0.58$), MIP and percent weight loss (%WL; $r=0.59$), and between MIP, total and subscale respiratory scores (ALSFRS-R) with %WL. With regard to the GB, correlation was found between MEP and BMI ($r=0.97$). In both GA and GB correlations were noticed between the BMI and the variables mass (kg), fat (%), arm and wrist circumference (cm), and tricipital, subscapular and supra-iliac skinfolds (mm), as well as the arm muscle circumference (cm) and fatty arm muscular area (mm^2). Conclusion: it is suggested that the application of simple anthropometric measurements could be useful in routine monitoring of patients with ALS.

KEYWORDS: amyotrophic lateral sclerosis, nutritional support in ALS, respiratory tests.

Esclerose Lateral Amiotrófica: correlações dos indicadores da avaliação nutricional, funcional e respiratória

RESUMO – Objetivo: Correlacionar os indicadores utilizados na avaliação nutricional, funcional e respiratória de indivíduos com Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA). Método: Vinte pacientes (13 apendiculares – GA e 7 bulbares – GB) foram incluídos no estudo usando parâmetros nutricionais, respiratórios e escala funcional (ALSFRS-R). Resultados: Entre os pacientes do GA, as correlações observadas foram: Pressão inspiratória máxima

(PI_{max}) e expiratória máxima (PE_{max}) ($r=-0,76$); PE_{max} e oximetria de pulso ($r=0,58$); PI_{max} e porcentagem de perda de peso (%PP) ($r=0,59$); e entre PI_{max} , escore ALSFRS-R com %PP. No GB, houve correlação entre MEP e índice de massa corporal (IMC) ($r=0,97$). Em ambos GA e GB, observaram-se correlação entre IMC e as variáveis: massa, gordura (%), circunferência braquial e punho, pregas cutâneas tricipital, subescapular e supra-íliaca, circunferência muscular do braço (cm), área muscular gordurosa do braço (mm^2). Conclusão: Sugere-se a aplicação deste conjunto de medidas no acompanhamento da evolução clínica de indivíduos com ELA.

PALAVRAS-CHAVE: Esclerose lateral amiotrófica, suporte nutricional em ALS, testes respiratórios, escala ALSFRS-R.

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative condition characterized by progressive weakness and amyotrophy due to degeneration of motor neurons derived from damage to either corticobulbar pathway or brainstem motor nuclei is one of the most important clinical problems encountered in ALS. ALS patients generally exhibit progressive disability that requires a multidisciplinary therapeutic approach. Dysphagia and body weight loss are typical findings in these patients, and may herald the onset of the disease^{1,2}.

Bulbar dysfunction resulting from damage either to corticobulbar pathway or brainstem motor nuclei is one of the most important clinical problems encountered in ALS. It is related to respiratory and swallowing complications, which are major causes of morbidity and mortality in ALS. Decline in respiratory function occurs as disease progresses, and there are multiple causes of respiratory compromise, such as diaphragmatic fatigue and weakness, atelectasis and broncoaspiration^{3,4}.

Malnutrition as a consequence of bulbar muscle weakness may further worsen respiratory function and shorten survival. Abnormalities of the control and strength of the laryngeal and pharyngeal muscles may cause upper airway obstruction increasing resistance to airflow⁴. Although ALS patients with bulbar involvement suffer from more severe swallowing problems, predominantly the “non-bulbar” ALS patients may also have dysphagia³.

There are few data devoted to the combined assessment of nutritional and respiratory status of ALS patients. In this setting, we studied the nutritional, respiratory and functional profile of a cohort of ALS patients. We looked for correlations between these variables in order to identify determinant factors in the severity of the disease.

METHOD

This is a cross-sectional descriptive study in a cohort of 20 ALS patients regularly followed at the Neuromuscular outpatient Clinic of Campinas State University Hospital (UNICAMP). The study was approved by the ethics committee of the School of Medical Sciences - UNICAMP and all patients accepted a written consent.

Patients meeting the El-Escorial criteria for defined ALS, either with bulbar or appendicular predominantly, regularly assisted in the Clinic and without intervening neurological illnesses were included in the study. They were included regardless of gender or duration of disease. Patients with nasogastric tube or gastrostomy, or on assisted mechanical ventilation were excluded.

Nutritional Assessment. We employed the following measures to assess body composition: *Body weight* (kg): measured in a platform scale (Toledo do Brasil). Ideal body weight for each individual was defined according to tables of the Metropolitan Life Insurance Company⁶. *Height* (m): measured in meters and estimated according to Chumlea

at al (1985)⁷ in bedridden or wheel-chair bound patients. *Body mass index*⁸ (BMI) was expressed as kg/m². *Midarm circumference* (MAC) was expressed in cm and measured at the mid-point between the olecranon and the clavicular acromium⁹. *Wrist circumference* (WC) also expressed in cm was measured at the level of radial and ulnar styloid processes around the wrist¹⁰. *Skinfolds* (SF): Tricipital (TSF), bicipital (BSF), supra-iliac (SISF) and subscapular (SESF) skinfolds were measured in mm in order to classify ALS patients according to estimates of relative body fat¹¹. *Midarm muscle circumference* (MAMC), *airm muscle area* (AMA) and *airm fat area* (AFA): Obtained from MAC and TSF¹⁰.

Percentage of Weight Loss (%WL): Determined based upon the usual and the actually measured weight of the patient as follows:

$$\%WL = \frac{\text{Usual Weight} - \text{Measured Weight}}{\text{Usual Weight}} \times 100$$

Individuals with %WL ranging from 5 to 10% were considered to have malnutrition; those with %WL above 10% had severe malnutrition¹².

Classification of Nutritional Status: Anthropometric measures underwent combined analysis. Obtained values were classified in accordance with the Protein-Calorie Malnutrition Score (PCMS)¹³:

$$PCMS = \frac{\%ad IW + \%ad TSF + \%ad MAC + \%ad MAMC + \%ad AMA}{\text{Number of Paramteres}}$$

% ad (per-cent adequacy); *IW* (ideal weight); *TSF* (triceps skinfold); *MAC* (midarm circumference); *MAMC* (midarm muscle circumference)¹³

Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale, revised (ALSFRS-R)¹⁴. Is a questionnaire-based scale for activities of daily living. This scale contains 12 items grouped into three domains that encompass appendicular function (gross and motor tasks), bulbar

and respiratory function. Each item has a 5-point scale (0 for unable, 4 for normal) and scores ranging from 0 to 48. Low scores denote a serious disease status.

Respiratory Assessment. The strength of inspiratory and expiratory muscles was assessed through maximum inspiratory and expiratory pressures (MIP and MEP, respectively), obtained from residual volume and total lung capacity. A Marshall Town[®] device (Black and Hyatt)¹⁵ was used to perform the measurements. While seated and using a nasal clamp, patients were instructed to breath as deep as possible in order to determine MIP e MEP. These procedures were consecutively repeated 3 times each, Thirty seconds apart, and the highest values were recorded for analysis. Individuals underwent spirometry in a seated position to quantify dynamic respiratory function. Forced vital capacity (FVC) expressed either as an absolute value or as percentage of the predicted value for age and sex, was recorded for all patients. Pulse oxymetry was accomplished with a Morvia 1001 device.

The patients were evaluated by an interdisciplinary group. The nutritional assessment was done by a nutritionist and the ALSFRS-R and respiratory assessment by physiotherapeutics.

Statistical Analysis. Pearson and Spearman correlation coefficients were employed to analyze normally and non-normally distributed variables, respectively. Significance level was set at 0.05. Spearman coefficients were considered as follows: 0 to 0.19 – weak correlations; 0.2 to 0.39 – mild correlations; 0.4 to 0.59 – moderate correlations; 0.6 to 0.79 – important correlations; 0.8 to 1 – almost perfect correlations¹⁶. SPSS for Windows version 15.0 was employed in the statistical analysis¹⁷.

RESULTS

Table 1 shows the demographic data of the patients enrolled in the study. In 13 patients, limbs were predominantly involved (Appendicular ALS - GA), whereas in another 7, was predominantly Bulbar (GB). Patients classified as GB were younger, and had lower ALSFRS-R scores and shorter disease duration than the rest.

Table 1. Demographic data (n=20)

	Bulbar Group (n=7)		Appendicular Group (n=13)	
	Mean \pm SE	min - max	Mean \pm SE	min - max
Gender (Male/Female)	4/3		12/1	
Age	50.6 \pm 9.9	36 – 69	45.8 \pm 12.6	32 – 69
Total ALSFRS-R ¹	26.1 \pm 1.5	12 – 45	34.3 \pm 7.6	16 – 43
Bulbar	7.14 \pm 2.3	4 – 10	10.3 \pm 1.6	7 – 12
Appendicular (gross and fine tasks)	8.14 \pm 8.5	1 – 23	12.8 \pm 6.14	1 – 22
Respiratory	10.8 \pm 1.8	7 – 12	11.2 \pm 1.6	6 – 12
Oxymetry	0.94 \pm 0.03	0.86 – 0.97	0.94 \pm 0.03	0.87 – 0.99
MIP ²	- 24.1 \pm 17.7 (n=6)	- 45; - 5	- 61. 6 \pm 33.6	- 135; - 25
MEP ³	35 \pm 25.4 (n=5)	10 – 70	62.3 \pm 31.4	10 – 130
FVC% ⁴	54 (n=1)	---	84 (n=9)	52 – 109

¹ALSFRS-R: Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale; ²MEP: maximal expiratory pressure; ³MIP: maximal inspiratory pressure; ⁴FVC%: percentage of forced vital capacity.

Correlation coefficients of nutritional (%WL, BMI), functional (ALSFRS-R score) and respiratory (MIP, MEP, pulse oxymetry and FVC) parameters in groups GA and GB are displayed on Table 2. We did not find significant association between %FVC and MIP, MEP and oxymetry (p=0.158; 0.83; 0.246, respectively) in the GA group. In the GB group, however, only one patient was able to perform spirometry, thus precluding the analysis of correlations.

Table 2. Correlations of nutritional, functional and respiratory indicators of bulbar and appendicular groups.

Correlations	Bulbar Group (n=7)		Appendicular Group (n=13)	
	r	p-value	r	p-value
Time onset ALS x bulbar score ALSFRS-R ¹	0.9	0.005*	-0.04	0.88
Time onset ALS x total ALSFRS-R	-0.82	0.023*	-0.37	0.206
Time onset ALS x Oximetry	-0.26	0.563	-0.75	0.003*
Time onset ALS x WL ²	0.73	0.063	0.32	0.296
Respiratory score ALSFRS-R x % WL	-0.33	0.436	-0.59	0.042*
Total ALSFRS-R x % WL	-0.39	0.379	-0.59	0.042*
MIP ³ x Respiratory score ALSFRS-R	0.18	0.72	-0.65	0.016*
MIP x MEP ⁴	-0.66	0.219	-0.76	0.002*
MEP x Oximetry	0.63	0.253	0.58	0.034*
MEP x BMI ⁵	0.97	0.005*	0.49	0.09

* = $p < 0.05$. ¹ALSFRS-R: Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-revised; ²%WL: % of weight loss; ³MEP: maximal expiratory pressure; ⁴MIP: maximal inspiratory pressure; ⁵BMI: body mass index.

Anthropometric data are shown in table 3.

Table 3. Anthropometric profile of patients with ALS according to the predominance symptoms.

Indicadores	Bulbar Group (n=7)		Appendicular Group(n=13)		p*
	Mean	SE*	Mean	SE*	
Height (m)	1.684	0.007	1.71	0.004	0.156
Mass (kg)	63.99	1.38	68.51	1.12	0.356
Body mass index (kg/m ²)	21.97	0.35	23.26	0.36	0.097
Weight loss (%)	17.68	1.19	13.61	0.97	0.708
Fat mass (%)	25.66	0.60	23.72	0.40	0.188
Lean mass (%)	83.95	0.50	83.72	0.51	0.350
Initial arm circumference (cm)	25.94	0.41	26.12	0.36	0.273
Arm circumference (cm)	25.74	0.39	27.46	0.36	0.061
Initial wrist circumference (cm)	15.49	0.12	17.13	0.06	0.131
Wrist circumference (cm)	15.36	0.11	17.68	0.08	0.536
Tricipital skin fold (mm)	14.70	0.47	10.73	0.33	0.971
Bicipital skin fold (mm)	9.30	0.44	6.45	0.19	0.405
Supra-iliac skin fold (mm)	16.30	0.66	16.09	0.73	0.599
Subscapular skin fold (mm)	11.10	0.36	13.32	0.32	0.117
Sum of all skinfolds (mm)	51.40	1.46	46.59	1.37	0.935
Muscle circumference of the arm (cm)	22.22	1.77	24.13	0.28	0.438
Muscle area of the arm (cm)	41.36	2.97	59.75	1.65	0.340
Fat area of the arm (cm)	57.68	1.64	57.92	1.49	0.087

SE* = Standard error

p* = Spearman test ($\alpha = 5\%$).

BMI was significantly associated with most nutritional markers both in patients of the GA and GB groups (Table 4).

Table 4. Spearman correlation coefficients of BMI and other nutritional markers according to the predominance symptoms of the disease.

Indicadores	Bulbar Group (n=7)		Appendicular Group (n=13)	
	r	p-value	r	p-value
Height (m)	0.148	0.684	1.38	0.695
Mass (kg)	0.661	0.038*	0.982	0.00*
Weight loss (%)	-0.164	0.651	-0.400	0.233
Fat mass (%)	0.127	0.726	0.834	0.001*
Lean mass (%)	-0.733	0.016	-0.955	0.00*
Arm circumference (cm)	0.912	0.00*	0.815	0.002*
Wrist circumference (cm)	0.215	0.551	0.332	0.319
Tricipital skin fold (mm)	0.209	0.562	0.701	0.016*
Bicipital skin fold (mm)	-0.038	0.918	0.424	0.194
Supra-iliac skin fold (mm)	0.535	0.111	0.748	0.009*
Subscapular skin fold (mm)	0.851	0.002*	0.814	0.002*
Muscle circumference of the arm (cm)	0.845	0.002*	0.811	0.002*
Muscle area of the arm (cm)	0.576	0.082	0.700	0.016*
Fat area of the arm (cm)	0.891	0.001*	0.719	0.004*

* p < 0.05

DISCUSSION

Survival time is a major endpoint employed in clinical trials for ALS. Overall, mean survival ranges from 2 to 4 years, although there is great variability among patients¹⁸. Elderly individuals, women and those with predominance bulbar involvement have shorter survival odds after the onset of the disease¹⁹.

Despite the shorter disease duration and younger age, patients in the GB group had lower ALSFRS-R scores in comparison to patients in the GA group (54 vs 71% of maximum score). In contrast to our data, Castro-Costa et al.²⁰ found that patients with

bulbar predominantly were older than patients with initial limb involvement (60.5 vs 36.2 y, respectively).

Although FVC has been considered the most reliable tool to monitor respiratory function in patients with ALS, it is not as useful to estimate strength of respiratory muscles²¹. FVC is not a sufficiently sensitive test to detect early respiratory involvement in ALS, and there is only a weak correlation between FVC and parameters such as MIP and MEP²². In the GA group, there was a significant correlation between MIP and MEP ($p=0.002$), as well as MEP and pulse oxymetry ($p=0.034$). Similar findings were not identified in the GB group, since results of respiratory function were less reliable in that group due to the severe weakness of oro-pharyngeal muscles.

Although respiratory complaints are frequent in ALS, studies on the relationship of dyspnea and objective measurements of respiratory function in the disease are scanty. Melo et al. (1999)²³ reported that severity of dyspnea was related to respiratory muscle weakness expressed as abnormal MIP and MEP. Similarly, Dugan et al. (2000)²⁴ found reduced values of MIP and MEP in dyspneic ALS patients. Our data are in accordance with those findings since MIP and respiratory scores of ALSFRS-R, which is a reliable marker for dyspnea in ALS, were significantly correlated ($p=0.016$). These findings suggest that clinical evaluation and MIP may be useful to monitor the loss of respiratory quality in ALS.

Cedarbaum et al. (1999)¹⁴ found that FVC and respiratory scores of ALSFRS-R were related in ALS ($r=0.53$ e $p=0.0001$) but this was not replicated in our patients. These authors emphasized that the items dyspnea and orthopnea of ALSFRS-R may be altered in patients with normal FVC. Four patients in the GB group showed respiratory scores below maximum. However, mean FVC was 84% for patients in the GB group. Therefore, dyspnea in some patients with preserved respiratory reserve may be more closely related to factors such as fatigue and bad conditioning.

Malnutrition in ALS is closely associated to dysphagia and thus an early finding in patients with progressive bulbar palsy occurrence²⁵. Due to oro-pharyngeal muscle weakness, measurements such as MIP and MEP are less reliable in those patients. Despite this, MEP and BMI were strongly correlated in patients of the GB group ($p=0.005$).

Both dysphagia and neurogenic muscle atrophy may contribute to the percent weight loss in ALS²⁶, MIP, ALSFRS-R total score and respiratory sub-score correlated independently with %WL ($p<0.05$) in patients of the GA, but not GB group. This may be explained by the more severe muscular atrophy identified in the GA group (FFM%=79.6 and 84.9, respectively).

There were not significant differences between the GA and GB groups regarding nutritional profiles. Our data on body mass. BMI, fat%, TSF, MAMC, AMA and AFA, also were similar to those found by Stanich et al (2004)²⁷, in a cohort of patients with ALS from São Paulo (Brazil), suggesting they accurately characterize the disease.

In this series, patients would be classified as eutrophic according to BMI; however, if we take into account the PCMS score, patients would be classified as moderately malnourished (mean PCMS scores of 76.66 and 79.76 in groups GB and GA, respectively). Overall, PCMS is more appropriate than BMI to characterize nutritional status of patients because it includes separately muscle and adipose mass rather than total body mass. We found high %WL values, indicating significant differences between the usual weight and the actually measured weight of the patient at clinical evaluation. Percent WL is a parameter readily determined and useful to assess nutritional status in ALS. BMI should not be the unique marker to assess nutritional status because of the lack of sensitivity to low weight losses, adipose accumulation, lean mass reduction and dehydration, all of which may make it difficult to interpret the results^{29,30}.

MAC and WC are frequently used in population studies³¹. In our patients, they were tightly related to BMI. Among patients of the GA group, MAC and WC were parameters smaller at the side initially affected by the disease process (mean difference=1.34 and 0.55, $p=0.003$ and 0.037 , respectively). Such an asymmetry may be clinically relevant since it may either overestimate or underestimate the actual nutritional needs of the patients (measurements are usually performed on one side). PCMS also helped to accurately perform nutritional classification of patients with ALS, since parameters employed to calculate this score were correlated with BMI.

There was significant correlation between respiratory parameters, namely MIP and MEP, and ALSFRS-R in both groups, GA and GB. As shown in Table 2, BMI and %WL were also related to the respiratory parameters. In addition, we found significant correlations between BMI and other measures of nutritional status, thus suggesting that this may be a useful clinical tool in the management of patients with ALS.

CONCLUSIONS

Nutritional, functional and respiratory profiles were similar in patients with ALS of either bulbar or appendicular predominantly. There was significant correlation between MIP and MEP; MEP and pulse oxymetry; MIP and percent weight loss; and between MIP, total and subscale respiratory scores (ALSFRS-R) with %WL. With regard to the GB, correlation was found between MEP and BMI. In both GA and GB correlations were noticed between the BMI and the variables mass (kg), fat (%), arm and wrist circumference (cm), and tricipital, subscapular and supra-iliac skinfolds (mm), as well as the arm muscle circumference (cm) and fatty arm muscular area (mm^2). Although preliminary, our data support the use of these simple determinations in the management of patients with ALS.

ACKNOWLEDGEMENT / FINANCIAL SUPPORT

This study was supported by CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico, Brazil (PhD Grant to LBCS).

REFERENCES

1. Nelson LM, Matkin C, Longstreth WT, Mcguire V. Population – based case – control study of amyotrophic lateral sclerosis in Western Washington State. II. Diet. *Am J Epidemiol* 2000; 151:164-173.
2. Kasarskis E, Berryman S, Vanderleest JG, Schneider AR, McClain CJ. Nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis: relation to the proximity of death. *Am J Clin Nutr* 1996; 63:130-137.
3. Fattori B, Grosso M, Bongioanni P, et al. Assessment of Swallowing by Oropharyngo-esophageal Scintigraphy in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Dysphagia* 2006; 280-286.
4. Hadjikitoutis S, Wiles CM. Respiratory complications related to bulbar dysfunction in motor neuron disease. *Acta Neurol Scand* 2001; 103:207–213.
5. El Escorial revisited: Revisited criteria for the diagnosis of ALS.-World Federation of Neurology research group on motor diseases. A consensus conference held at Airlie House. Worrenton. 1998; 2-4.
6. Grant JP, Custer PB, Thurlon J. Current techniques of nutrition assessment. In *Handbook of total parenteral nutrition*. Philadelphia. Saunders. 1980.
7. Chumlea MAC, Roche AF, Steinbaugh ML. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatric Soc* 1985; 33:116-120.
8. Rio A, Cawadías E. Nutritional advice and treatment by dietitians to patients with amyotrophic lateral sclerosis/motor neurone disease: a survey of current practice in England, Wales, Northern Ireland and Canada. *J Hum Nutr Diet* 2007; 20:1-13.
9. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. *Anthropometric standardization reference manual*. Ed. Abridged. 1991.
10. Filho JF. *A prática da avaliação física*. Rio de Janeiro: Ed. Shape. 1999:17-38.

11. Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 540-545.
12. Mahan K, Stump SE. Krause: alimentos. nutrição e dietoterapia. 11^a (ed). São Paulo: Ed. Roca. 2005.
13. Blackburn GL, Harvey KB. Nutritional assessment as a routine in clinical medicine. *Postgrad Med* 1982; 71: 46-63.
14. Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, et al. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. *Journal Neurol Sci* 1999;169:13-21.
15. Black LF, Hyatt RE. Maximal respiratory pressures: normal values and relationship to age and sex. *Am Rev Respir Dis* 1969; 99:696-702.
16. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159-174.
17. Norussis MJ. Statistical Package for Social Science (SPSS) for Windows Advanced Statistics Release 15.0. Chicago: SPSS; 2006.
18. Magnus T, Beck M, Giess R, Puls I, Naumann N, Toyka KV. Disease progression in amyotrophic lateral sclerosis: Predictors of survival. *Muscle Nerve* 2002; 25(5):709-714.
19. Czaplinski A, Yen AA, Appel SH. Amyotrophic lateral sclerosis: early predictors of prolonged survival 2006; 253:1428-1436.
20. Castro-Costa CM, Oriá RB, Machado-Filho JA, et al. Amyotrophic Lateral Sclerosis: Clinical analysis of 78 cases from Fortaleza (Northeastern Brazil) *Arq Neuropsiquiatr* 1999; 57(3-B): 761-774.
21. Kleopas AK, Sherman M, Neal B, Romano GJ, Heiman-Patterson. Bipap improves survival and rate of pulmonary function decline in patients with ALS. *J Neurol Sci* 1999; 164: 82-88.
22. Jackson CE, Rosenfeld J, Moore DH, et al. A preliminary evaluation of a prospective study of pulmonary function studies and symptoms of hypoventilation in ALS/ MND patients. *J Neurol Sci* 2001; 191:75-78.
23. Melo J, Homma A, Iturriaga E, et al. Pulmonary evaluation and prevalence of non-invasive ventilation in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a multicenter survey and proposal of a pulmonary protocol. *J Neurol Sci* 1999; 169: 114-117.

24. Dougan CF, Connell CO, Thornton E, Young CA. Development of a patient-specific dyspnoea questionnaire in motor neurone disease (MND): the dyspnoea rating scale (MRDS). *J Neurol Sci* 2000; 180: 86-93.
25. Desport JC, Preux PM, Truong CT, Courat L, Vallat JM, Couratier P. Nutritional assessment and survival in ALS patients. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron disord* 2000; 1(2): 91-96.
26. Rowland LP, Mitsumoto H, De-Vivo DC. Doenças do Neurônio Motor Hereditárias e Adquiridas. In: Merrit – Tratado de Neurologia. 11ª ed. 2007. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.798-805.
27. Stanich P, Pereira AML, Chiappeta ALML, Nunes M, Oliveira ASB, Gabbai AA. Suplementação nutricional em pacientes com doença do neurônio motor/esclerose lateral amiotrófica. *Rev Bras de Nutri Clin* 2004; 19: 70-78.
28. Santos DM, Sichieri R. Índice de massa corporal e indicadores antropométricos de adiposidade em adultos. *Rev Saúde Pública* 2005; 22: 163-168.
29. Frisancho RA, Flegel PN. Relative merits of old and new indices of body mass with reference to skinfold thickness. *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 697-679.
30. Gallagher D, Visser M, Sepúlveda D, Pierson RN, Harris T, Heymsfield SB. How useful is body mass index for comparison or body fatness across age, sex, and ethnic groups? *Am J Epidemiol* 1996; 146: 228-239.
31. James WPT, Mascie-Taylor GNC, Norgan NG, Bistran BR, Shetty PS, Ferro-Luzzi A. The value of arm circumference measurements in assessing chronic energy deficiency in Third World adults. *Eu J Clin Nutr* 1994; 48: 883-894.

7

Artigo IV

“Oral supplementation with milk whey proteins improve nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis”

**ORAL SUPPLEMENTATION WITH MILK WHEY PROTEINS IMPROVE
NUTRITIONAL STATUS OF PATIENTS WITH AMYOTROPHIC LATERAL
SCLEROSIS**

Luciano Bruno de Carvalho Silva

Lucia Figueiredo Mourão

Ariovaldo Armando Silva

Núbia Maria Freire Vieira Lima

Sara Regina Almeida

Marcondes C. Franca Junior

Anamarli Nucci

Jaime Amaya-Farfán

Artigo a ser submetido à revista Nutritional Neuroscience

**Oral supplementation with milk whey proteins improve nutritional status of patients
with amyotrophic lateral sclerosis**

LUCIANO BRUNO DE CARVALHO SILVA ¹, LUCIA FIGUEIREDO
MOURÃO ², ARIIVALDO ARMANDO SILVA ³, NÚBIA MARIA FREIRE VIEIRA
LIMA ⁴, SARA REGINA ALMEIDA ⁴, MARCONDES C. FRANCA JUNIOR ⁵,
ANAMARLI NUCCI ⁶ & JAIME AMAYA-FARFÁN ⁷

¹Doctoral candidate, Food and Nutrition Department, School of Food Engineering (FEA) and NEPA (Center for Food Security Studies) of the State University of Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil; ²Prof. Doctor PhD Speech Pathologist Medical School (FCM/UNICAMP); ³Prof. Doctor FCM-UNICAMP Otorrinolaringology FCM/UNICAMP; ⁴Physiotherapeutics Dept. of Neurology FCM/UNICAMP; ⁵Neurologist Ambulatory Neuromuscular Diseases HC/UNICAMP; ⁶Associate Prof. FCM/UNICAMP. Ambulatory Neuromuscular Diseases HC/UNICAMP; ⁷Full Prof. FEA/UNICAMP, NEPA/UNICAMP.

* To whom correspondence should be sent: Monteiro Lobato Street 80 – CEP 13083 – 862 Universidade Estadual de Campinas, SP, Brazil. Tel: 55-19-35214059, Fax: 55-19-35214060. E-mail: luciano@unifal-mg.edu.br.

ABSTRACT – Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease characterized by death of upper and lower motor neurons. Nutritional and respiratory failure occurs in most patients with ALS. We evaluated the efficacy of oral supplementation with milk whey proteins and modified starch (70%WPI:30%MS), on nutritional and functional parameters of patients with ALS. Sixteen patients were randomized to two groups, treatment (70%WPI:30%MS) and placebo (maltodextrin). They underwent prospective nutritional, respiratory and functional assessment for 4 months. Patients in the treatment group presented weight gain, increased BMI, increased arm muscle area and circumference, higher albumin, white blood cell and total lymphocyte counts, and reduced markers of skeletal muscle turnover (creatine-kinase, AST and ALT). In the placebo group, biochemical measures did not change, but weight and BMI declined. Our results indicate that the agglomerate 70%WPI:30%MS may be useful in the nutritional therapy of patients with ALS.

KEY WORDS: Amyotrophic lateral sclerosis, nutrition status, anthropometry, respiratory function, palliative care.

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disorder of motor neurons in the cerebral cortex, brainstem, and spinal cord [Desport 2001]. ALS patients show multiple clinical features, since the disease affects bulbar and/or spinal systems according to the site of motor neuron involvement. As the disease progresses, both upper and lower motor neurons may be affected, and various symptoms may overlap [Strand et al., 1996].

During the course of ALS, there is often a decline in nutritional status that is not properly managed in clinical practice, even though it is a significant and independent prognostic survival factor [Desport et al., 1999].

Nutritional status should be routinely monitored to identify poor food intake and malnutrition [Slowie et al., 1983]. Patients may experience rapid weight loss associated with reduced nutritional intake, prolonged meal times, fatigue, dehydration and depression. Un-fortified texture-modified diets for dysphagic patients may hasten weight loss due to their low protein and energy content [Wright et al., 2005]. When these nutrition-depleting co-factors are present the insidious onset malnutrition is inevitable.

Ingredients such as milk whey proteins, when chemically or physically modified, can alter the viscosity of food systems. However, on their own, they are unable to reach the viscosity standardised by the ADA [2002] for fluids, but agglomerated with carbohydrate sources such as modified starch, they could increase the viscosity of food systems to values close to those cited by the ADA.

Based on the high malnutrition index and difficulty in nutritional handling, the main objective of this study was evaluate the effect of supplementation with agglomerate 70% milk whey protein isolate and 30% modified starch (70% WPI:30%MS), on anthropometrics, body composition, biochemists and respiratory parameters in ALS patients.

METHODS

Study design

We performed a prospective randomized double-blind placebo-controlled clinical trial to evaluate oral supplementation of milk whey protein in patients with ALS. We recruited 16 patients with clinically definite ALS from the Neuromuscular outpatient clinic

of Campinas State University (UNICAMP). Patients were randomized to receive either milk whey protein or placebo for 16 weeks, and submitted to bimonthly evaluation. The study was conducted between July 2006 and July 2007. The study was approved by the ethics committee of the School of Medical Sciences - UNICAMP and all patients accepted a written consent.

Inclusion criteria: ALS patients meeting El Escorial criteria (1998) for defined disease, either with bulbar or appendicular onset, regularly assisted in the Clinic and without intervening neurological illnesses were included in the study.

Exclusion criteria: patients with nasogastric tube or gastrostomy, and patients on assisted mechanical ventilation.

Nutritional intervention phase: Patients were randomized to receive either maltodextrin (control group) or oral supplementation with whey protein (treatment group). This is a nutritional supplement developed at UNICAMP containing 70% of milk serum protein and 30% modified starch (70% WPI:30% MS). Patients received maltodextrin or whey protein for 16 weeks. Nutritional assessment, including anthropometric and biochemical measures, was performed at the onset, two months and four months after supplementation. We performed respiratory and functional assessment at the onset and four months after supplementation.

Nutritional supplementation:

Individual daily needs of protein are 1.2 g/kg of body weight. Mean body weight was 55 and 69 kg for female and male patients, respectively. We offered 30 and 45 g of whey protein to men and women, thus representing approximately 30% of daily proteic needs.

Nutritional supplementation was administered twice a day (morning and afternoon) for 16 consecutive weeks. Patients did not receive supplement at the same time of Riluzole.

They were instructed to keep the product on a refrigerator and to solubilize it before administration; on an individual basis, assays to adequate viscosity were performed with orange juice (pH=4.0 and 1.5% of solid components).

Study measures

Dietary evaluation

We applied the 24h record method [Fisberg et al. 2005] in 6 different days for every patient. We inquired about the usual diet of the patient, including amount, commercial brand and the cooking procedure. We estimated energy requirement (ER); proportion of carbohydrates, proteins and lipids; proportion of saturated, polyunsaturated and monounsaturated fat relative to ER; and the intake of fibers, calcium, iron, retinol and ascorbic acid. Estimates were accomplished by the *software* DIET PRO[®] 4.0 [2001]. The amount of fibers, cholesterol, saturated, polyunsaturated and monounsaturated fat was analyzed by DIET PRO[®] 4.0 in accordance with the table of food composition [Philippi et al. 2001], Brazilian table of food composition [2006] and the table of the United States Department of Agriculture (USDA 2003 – Release 16).

We evaluated macronutrient and protein nutritional adequacy in accordance with the Recommended Dietary Allowances (RDA) [1989] and the recommendations of the Brazilian society of food and nutrition [Vannucchi et al. 1990], respectively. We used the guidelines of the Institute of Medicine [IOM 1997, 2000, 2001, 2002] to analyze intake of micronutrients. Harris and Benedict equation modified by Long et al. [1979] was employed to analyze caloric intake.

Nutritional evaluation

Body weight (kg): Measured in a platform scale (Toledo do Brasil). Ideal body weight for each individual was defined according to Grant et al. 1980.

Height (m): Measured in meters. Height was estimated according to Chumlea et al (1985) in bedridden or wheel-chair bound patients:

$$\text{Height men} = [64.19 - (0.04 \times \text{age}(y))] + (2.02 \times \text{distance to the knee}(cm))$$

$$\text{Height women} = [84.88 - (0.24 \times \text{age}(y))] + (1.83 \times \text{distance to the knee}(cm))$$

Body mass index (BMI): the ratio of weight per squared height, expressed as kg/m^2 .

Midarm circumference (MAC): expressed in cm, was measured at the mid-point between olecranon and clavicular acromium [Lohman et al. 1991].

Wrist circumference (WC): expressed in cm, was measured at the level of radial and ulnar styloid processes around the wrist [Filho, 1981].

Skinfolds (SF): Tricipital (TSF), bicipital (BSF), supra-iliac (SISF) and subscapular (SESF) skinfolds were measured in mm in order to classify ALS patients according to estimates of relative body fat [Frisancho 1981].

Midarm muscle circumference (MAMC), arm muscle area (AMA) and arm fat area (AFA): Obtained from MAC and TSF according to Frisancho [1981].

Percentage of weight loss (%WL): Determined based upon the usual and the actually measured weight of the patient as follows:

$$\%WL = \frac{\text{Usual Weight} - \text{Measured Weight}}{\text{Usual Weight}} \times 100$$

%WL is related to the severity of the disease. Individuals with %WL ranging from 5 to 10% were considered to have malnutrition; the ones with %WL above 10% had severe malnutrition [Mahan & Escott-Stump 2005].

Nutritional status classification: Anthropometric measures underwent combined analysis. Obtained values were classified in accordance with the Proteic-caloric Malnutrition Score (PCMS) [Blackburn & Havey 1981].

$$PCMS = \frac{\%ad IW + \%ad TSF + \%ad MAC + \%ad MAMC + \%ad AMA}{Number\ of\ Paramteres}$$

%ad (per-cent adequacy); *IW* (ideal weight); *TSF* (triceps skinfold); *MAC* (midarm circumference); *MAMC* (midarm muscle circumference).

Biochemistry evaluation

We determined serum levels of C-reactive protein, albumin, pre-albumin, creatine-kinase (CK), creatine, urea, glucose, aspartate transferase (AST), alanine transferase (ALT), total lymphocyte count, platelets, sodium and potassium for each patient.

Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale Revised (ALSFRS-R).

ALSFRS-R is a questionnaire-based scale for activities of daily living. This scale contains 12 items grouped into three domains that encompass appendicular function (gross and motor tasks), bulbar and respiratory function. Each item has a 5-point scale (0 for unable. 4 for normal) and scores ranging from 0 to 48. Low scores denote a serious disease status [Cedarbaum 1999].

The patients were evaluated by an interdisciplinary group. The nutritional assessment was done by a nutritionist and the ALSFRS-R assessment by physiotherapeutics.

Statistical analysis

We used the K-S test to determine which variables presented normal distribution of values. Independent variables with normal distribution were expressed as mean \pm standard deviation, and compared with two-sided t test. Prospective data were analyzed with paired t-test. We used the Mann-Whitney rest to compare independent groups without normal

distribution. The α value was set at 5%. SPSS for windows version 15.0 was employed in the statistical analysis.

RESULTS

Food intake

We found increased food intake in both placebo and supplemented groups after nutritional intervention. In both groups, patients followed nutritional advice as shown by the relevant improvement in macro and micronutrient intake.

At the time of enrollment, patients in the placebo group had 77% of nutritional adequacy, but after 4 months this rose to 90.27% ($p=0.032$). Carbohydrate intake (70.8% vs 82%, $p=0.022$) significantly increased in 4 months, as well as lipids (93% vs 101.4%, $p=0.038$). Protein and fiber intake also improved in this period (82.04% vs 93.53%, $p=0.043$, and 50.44% vs 63.6%, $p=0.034$, respectively). Ingestion of calcium ($p=0.002$), ascorbic acid ($p=0.035$), vitamin E ($p=0.012$) and retinol ($p=0.041$) increased (Table 1).

Table I. Values of food intake throughout 4 months in patients with ALS.

Nutrients	CONTROL GROUP* ^{†‡}			TREATMENT GROUP* ^{†§}		
	Months			Months		
	0	2	4	0	2	4
Energy (kcal)	1774,41 ± 35,98 ^b	1998,05 ± 28,71 ^a	2062,3 ± 30,73 ^a	1885,32 ± 31,44 ^b	2332,92 ± 36,43 ^a	2301,66 ± 35,22 ^a
Carbohydrate (g)	242,7 ± 10,12 ^b	281,3 ± 8,93 ^a	289,01 ± 7,62 ^a	261,4 ± 8,34 ^b	327,79 ± 5,13 ^a	321,89 ± 4,82 ^a
Lipid (g)	59,01 ± 2,37 ^b	64,37 ± 2,01 ^a	63,76 ± 1,89 ^a	63,11 ± 2,65 ^b	71,45 ± 2,18 ^a	70,38 ± 2,41 ^a
Protein (g)	70,28 ± 2,17 ^b	80,13 ± 1,04 ^a	80,28 ± 1,41 ^a	71,32 ± 3,51 ^b	95,03 ± 3,18 ^a	96,52 ± 3,02 ^a
Fiber (g)	12,61 ± 0,44 ^b	14,62 ± 0,64 ^a	15,9 ± 0,49 ^a	12,49 ± 0,31 ^b	18,11 ± 0,12 ^a	18,62 ± 0,17 ^a
Iron (mg)	6,39 ± 0,17	7,01 ± 0,13	7,71 ± 0,18	8,3 ± 0,11	8,21 ± 0,41	8,36 ± 0,13
Calcium (mg)	459,8 ± 20,14 ^b	818,15 ± 21,13 ^a	953,68 ± 23,64 ^a	441,6 ± 19,25 ^b	903,12 ± 22,4 ^a	911,62 ± 14,81 ^a
Ascorbic acid (mg)	90,01 ± 4,98 ^b	96,44 ± 4,61 ^a	97,06 ± 5,46 ^a	100,32 ± 4,12 ^b	102,63 ± 3,92 ^b	118,35 ± 4,55 ^a
Retinol (mEq)	520,12 ± 16,52 ^b	606,17 ± 14,59 ^a	626,70 ± 15,11 ^a	510,14 ± 17,12	512,63 ± 14,41	563,35 ± 16,84
Vitamin E (mg)	3,94 ± 0,19 ^b	5,18 ± 0,14 ^a	6,84 ± 0,17 ^a	4,43 ± 0,18 ^b	7,34 ± 0,11 ^a	7,37 ± 0,11 ^a
Zinc (mg)	8,12 ± 0,41	8,91 ± 0,33	8,72 ± 0,35	8,9 ± 0,9	8,7 ± 0,31	9,94 ± 0,28
Selenium (µg)	50,10 ± 2,1	53,64 ± 1,38	53,55 ± 1,53	50,33 ± 1,34	58,82 ± 1,71	58,72 ± 1,86

* Values correspond to means ± standard error of three determinations. [†] Minimum and maximum value.

[‡] Values not sharing similar letter in the same line referent to control group are different ($p < 0.05$) in Tukey test. [§] Values not sharing similar letter in the same line referent to treatment group are different ($p < 0.05$) in Tukey test.

We found similar changes in the supplemented group. Energetic adequacy rose from 78.55% to 92.2% (p=0.034) in two months. Intake of carbohydrates (72.61% vs 91.1%, p=0.021), lipids (94.66% vs 107.2%, p=0.001), proteins (79.24% vs 105.6%, p=0.001) and fibers (49.96% vs 74.48%, p=0,002) improved in this group after two months. Calcium and vitamin E ingestion also increased (p=0.002 and 0.014, respectively).

Anthropometry

Table 2 shows body weight, BMI, fat and lean body mass in placebo and supplemented groups. There was significant reduction of body weight and BMI in the placebo group (p=0.029 and 0.003, respectively), whereas in the supplemented group we found increased BMI (p=0.041). Differences between groups did not reach statistical significance.

Table II. Influence of the nutritional supplementation with agglomerate milk whey protein on body weight (kg), body mass index (IMC-kg/m²), fat mass (%) e fat free mass (%).

Body Composition	CONTROL GROUP* ^{†‡}			TREATMENT GROUP* ^{†§}		
	Months					
	0	2	4	0	2	4
Body weight (kg)	65,82 ± 1,25 ^a [49,8 - 81,0]	64,75 ± 1,29 ^b [48,0 - 80,0]	64,32 ± 1,31 ^b [48,0 - 80,0]	62,35 ± 1,52 [45,4 - 81,5]	63,28 ± 1,55 [46,1 - 81,6]	63,36 ± 1,53 [45,9 - 81,7]
IMC (kg/m²)	22,95 ± 0,38 ^a [17,2 - 26,9]	22,47 ± 0,40 ^b [17,0 - 27,7]	22,24 ± 0,40 ^b [17,0 - 27,7]	21,77 ± 0,42 ^b [18,12 - 27,03]	22,15 ± 0,43 ^a [18,20 - 27,17]	22,24 ± 0,50 ^a [18,43- 27,51]
Fat mass (%)	26,14 ± 0,67 [15,6 - 40,4]	28,02 ± 0,34 [15,6 - 39,9]	27,27 ± 0,35 [15,6 - 40,0]	20,86 ± 0,65 [10,38 - 26,5]	20,52 ± 0,64 [10,2 - 25,5]	20,41 ± 0,61 [10,01 - 25,9]
Fat free mass (%)	73,86 ± 0,3 [59,6 - 84,4]	71,97 ± 1,2 [60,1 - 84,4]	72,72 ± 1,2 [60,0 - 84,4]	79,14 ± 0,65 [73,5 - 89,62]	79,47 ± 0,64 [74,5 - 89,8]	79,58 ± 0,61 [74,1 89,99]

* Values correspond to means ± standard error of three determinations. [†] Minimum and maximum value.

[‡] Values not sharing similar letter in the same line referent to control group are different (p < 0.05) in Tukey test.

[§] Values not sharing similar letter in the same line referent to treatment group are different (p < 0.05) in Tukey test.

Table 3 shows Tricipital (TSF), bicipital (BSF), supra-iliac (SISF) and subscapular (SESF) skinfolds in both groups.

Table III. Influence of the nutritional supplementation with agglomerate of 70%WPI:30%MS on body composition: tricipital skinfolds (TSF), bicipital skinfolds (BSF), supra-iliac skinfolds (SISF), subscapular skinfolds (SESF) and sum of four skinfolds (mm).

Body Composition	CONTROL GROUP* ^{†‡}			TREATMENT GROUP* ^{†§}		
	Months			Months		
	0	2	4	0	2	4
TSF (mm)	14,87 ± 0,55 [7 - 23]	14,37 ± 0,49 [7 - 23]	15,81 ± 0,54 [6,5 - 24]	9,62 ± 0,19 ^b [6 - 12]	10,75 ± 0,20 ^a [7 - 13]	11,1 ± 1,18 ^a [8 - 13]
BSF (mm)	7,37 ± 0,26 ^b [3 - 12]	7,37 ± 0,23 ^{ab} [4 - 12]	8,57 ± 0,28 ^a [3,5 - 12,6]	6,25 ± 0,12 ^a [4 - 8]	5,65 ± 0,09 ^b [4 - 7]	5,51 ± 0,08 ^b [4 - 7,1]
SISF (mm)	15,5 ± 0,69 [5 - 25]	16,13 ± 0,70 [5 - 25]	16,18 ± 0,73 [5 - 26]	12,43 ± 0,34 [6 - 18]	11,81 ± 0,31 [6 - 17]	11,76 ± 0,32 [6 - 17]
SESF (mm)	12,87 ± 0,45 ^b [8 - 22]	13,55 ± 0,46 ^a [8 - 22,3]	13,58 ± 0,48 ^a [8 - 22,4]	11,5 ± 0,18 ^a [8 - 14]	10,78 ± 1,19 ^b [8 - 13,8]	10,18 ± 0,19 ^c [8 - 13,5]
Σ SF (mm)	50,62 ± 1,54 [24 - 71]	51,43 ± 1,49 [25 - 71]	66,64 ± 1,65 [23,1 - 73,8]	39,81 ± 0,41 [35 - 46]	39,01 ± 0,31 [34,8 - 44]	38,46 ± 0,32 [34,5 - 43]

* Values correspond to means ± standard error of three determinations. [†] Minimum and maximum value.

[‡] Values not sharing similar letter in the same line referent to control group are different (p < 0.05) in Tukey test. [§] Values not sharing similar letter in the same line referent to treatment group are different (p < 0.05) in Tukey test.

In the control group, we found decreased MAMC and AMA in the follow-up (p=0.003 e p=0.019), whereas AFA increased (p=0.042). MAC and WC did not change in the supplemented patients (p=0.062 e p=0.090, respectively) (Table 4).

Table IV. Influence of nutritional supplementation with agglomerate of 70%WPI:30%MS on body composition: midarm circumference (MAC), wrist circumference (WC), midarm muscle circumference (MAMC), arm muscle area (AMA) and arm fat area (AFA) (cm²).

Body Composition	CONTROL GROUP* ^{†‡}			TREATMENT GROUP* ^{†§}		
	Months			Months		
	0	2	4	0	2	4
MAC (cm)	27,25 ± 0,35 [20,5 - 31]	27,27 ± 0,12 [20 - 31]	27,25 ± 0,11 [20 - 31]	25,3 ± 0,52 [19,5 - 30,8]	25,51 ± 0,46 [19,5 - 30]	25,82 ± 0,43 [21 - 30]
WC (cm)	16,71 ± 0,12 [14,4 - 18]	17,1 ± 0,11 [15 - 18]	16,72 ± 0,11 [14,5 - 18,2]	17,1 ± 0,16 [14,8 - 19]	17,1 ± 1,29 [14,8 - 19]	17,1 ± 1,29 [14,8 - 19]
MAMC (cm)	23,31 ^a ± 0,29 [18,3 - 26,5]	22,79 ± 0,31 [17,8 - 26,9]	22,62 ± 0,33 ^b [17,9 - 27,1]	22,51 ± 0,51 [15,4 - 27,3]	22,81 ± 0,54 [15,7 - 28,3]	23,89 ± 0,51 [16,9 - 28,4]
AMA (cm²)	42,15 ± 2,05 ^a [15,9 - 67,8]	42,15 ± 2,11 ^a [15,9 - 67,2]	39,88 ± 2,08 ^b [14,4 - 67]	47,81 ± 2,5 [23,1 - 69,9]	48,59 ± 2,30 [30,1 - 71,9]	48,43 ± 2,25 [31,0 - 71,6]
AFA (cm²)	61,26 ± 1,38 ^a [33,4 - 75,4]	61,45 ± 1,39 ^a [33,9 - 76,4]	64,2 ± 1,44 ^b [34 - 78, 2]	20,98 ± 0,64 ^a [10,3 - 26,5]	20,07 ± 0,64 ^b [10,2 - 25,5]	19,76 ± 0,62 ^b [10,1 - 25,2]

* Values correspond to means ± standard error of three determinations. [†] Minimum and maximum value.

[‡] Values not sharing similar letter in the same line referent to control group are different (p < 0.05) in Tukey test. [§] Values not sharing similar letter in the same line referent to treatment group are different (p < 0.05) in Tukey test.

Proteic-caloric malnutrition score (PCMS) decreased in the placebo group, and increased in the supplemented group. Despite this, on individual analysis all patients were classified as moderate malnutrition, as show in Figure 1.

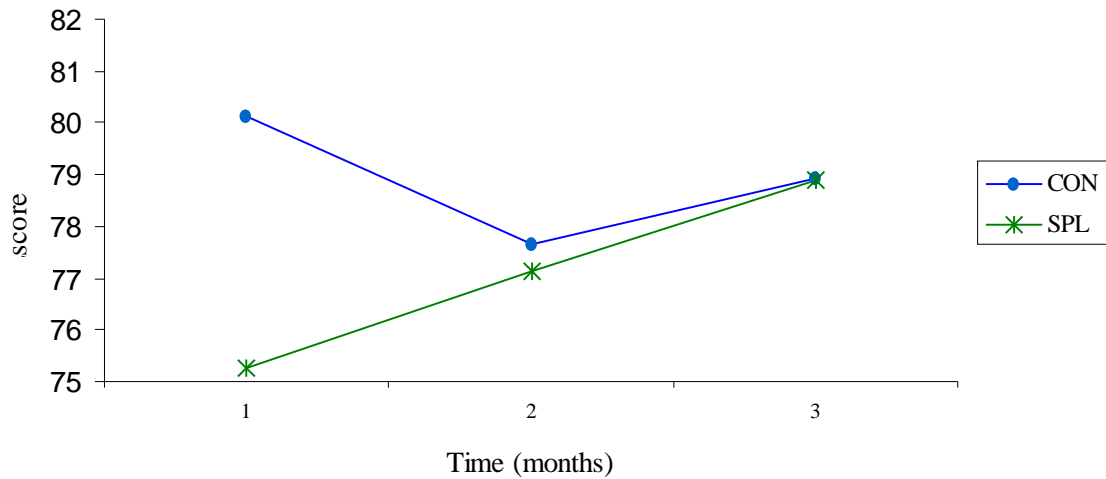


Figure 1 Proteic-caloric malnutrition score (PCMS) throughout 4 months in patients with ALS. Control Group (CON) and Treatment Group (SPL).

Biochemistry

There was significant improvement in serum albumin levels ($p=0.001$), total lymphocyte count ($p=0.004$) and white blood cell count (0.002) among supplemented patients. In this group, CK, AST and ALT levels significantly decreased ($p=0.028$, 0.004 and 0.003 , respectively), as depicted on Table 5.

Table V. Influence of nutritional supplementation with agglomerate of milk whey protein on biochemical parameters.

Biochemical parameters	CONTROL GROUP* ^{†‡}			TREATMENT GROUP* ^{†§}		
	Months			Months		
	0	2	4	0	2	4
C-reactive protein (mg/dL)	0,21 ± 0,02 [0,04 - 0,7]	0,21 ± 0,03 [0,05 - 0,74]	0,18 ± 0,02 [0,05 - 0,5]	0,10 ± 0,01 ^b [0,02 - 0,23]	0,13 ± 0,01 ^a [0,02 - 0,28]	0,12 ± 0,03 [0,02 - 0,27]
Albumin (g/dL)	4,51 ± 0,03 [4,15 - 4,9]	4,47 ± 0,04 [4,0 - 5,1]	4,48 ± 0,05 [3,9 - 5,3]	4,30 ± 0,05 ^c [3,6 - 4,8]	4,51 ± 0,03 ^b [4,2 - 4,9]	4,76 ± 0,01 ^a [4,4 - 4,9]
Pre-albumin (mg/dL)	28,28 ± 0,74 [19,5 - 39,1]	29 ± 0,85 [17,2 - 34,3]	29,25 ± 0,97 [19,5 - 36,7]	26,32 ± 0,57 [17,7 - 32,3]	30,6 ± 0,54 [35,4 - 23,6]	30,64 ± 0,66 [24,5 - 39,2]
CK (U/L)	338,75 ± 31,13 [100 - 774]	310 ± 27,32 [87 - 645]	335,5 ± 29,39 [84 - 626]	449,62 ± 30,30 ^a [117 - 795]	375 ± 31,57 ^{ab} [87 - 888]	307 ± 12,24 ^b [143 - 403]
Urea (mg/dL)	29,5 ± 0,85 [22 - 43]	29,25 ± 0,97 [20 - 45]	29,5 ± 1,16 [17 - 40]	27,49 ± 1,01 ^a [19,9 - 46]	26,12 ± 0,86 ^b [22 - 43]	26,75 ± 0,84 [19 - 42]
Creatine (mg/dL)	0,56 ± 0,02 [0,39 - 1,02]	0,63 ± 0,03 [0,4 - 1,06]	0,57 ± 0,03 [0,35 - 1,13]	0,74 ± 0,02 [0,35 - 1,02]	0,63 ± 0,03 [0,25 - 1,0]	0,61 ± 0,03 [0,25 - 1,1]
Glucose (mg/dL)	85 ± 1,67 [55 - 99]	86 ± 1,48 [72 - 103]	89 ± 1,45 [76 - 111]	81,62 ± 0,74 [74 - 90]	80 ± 0,68 [73 - 88]	80 ± 0,76 [69 - 87]
AST (U/L)	27,12 ± 1,09 [13 - 41]	25,62 ± 0,79 [14 - 34]	25,25 ± 0,9 [14 - 37]	28,62 ± 1,2 ^a [19 - 45]	27,125 ± 1,1 ^b [15 - 40]	26,25 ± 1,35 ^c [16 - 42]
ALT (U/L)	28,12 ± 1,29 [10 - 41]	26,62 ± 1,43 [10 - 41]	27,125 ± 1,58 [9 - 47]	32,87 ± 1,95 ^a [8 - 55]	31,5 ± 1,85 ^b [8 - 53]	27,25 ± 1,76 ^c [8 - 47]
Lymphocytes (cels x 10³/mm³)	2,36 ± 0,08 [1,61 - 3,46]	2,36 ± 0,11 [1,44 - 4,13]	2,45 ± 0,11 [1,64 - 4,02]	2,04 ± 0,8 [0,9 - 3,1]	2,28 ± 0,05 ^b [1,29 - 2,67]	2,55 ± 0,06 ^a [1,58 - 3,12]
Leukocytes (cels x 10³/mm³)	7,67 ± 0,25 [4,13 - 9,72]	7,80 ± 0,22 [5,06 - 10,8]	7,64 ± 0,22 [4,47 - 9,87]	6,75 ± 0,18 ^c [4,07 - 9,3]	7,37 ± 0,19 ^b [4,37 - 9,8]	8,77 ± 0,24 ^a [5,8 - 12,55]
Platelets (cels x 10³/mm³)	243,75 ± 9,84 [132 - 376]	237,87 ± 8,34 [131 - 359]	238,75 ± 8,04 [121 - 335]	233,62 ± 4,56 [186 - 291]	235,37 ± 4,9 [192 - 297]	237,62 ± 4,8 [181 - 275]
Potassium (mEq/L)	4,35 ± 0,02 [4,1 - 4,6]	4,32 ± 0,02 [3,9 - 4,5]	4,37 ± 0,03 [4,0 - 4,7]	4,1 ± 0,02 [3,8 - 4,3]	4,07 ± 0,02 [3,8 - 4,4]	4,1 ± 0,02 [3,8 - 4,3]
Sodium (mEq/L)	139,87 ± 0,36 [137 - 146]	140,12 ± 0,40 [136 - 145]	140,25 ± 0,28 [137 - 144]	139,87 ± 0,19 [136 - 142]	140,75 ± 0,2 [138 - 143]	141,62 ± 0,41 [138 - 149]

* Values correspond to means ± standard error of three determinations. [†] Minimum and maximum value.

[‡] Values not sharing similar letter in the same line referent to control group are different (p < 0.05) in Tukey test. [§] Values not sharing similar letter in the same line referent to treatment group are different (p < 0.05) in Tukey test.

Functional evaluation

ALSFRS-R scores in both groups are depicted on table 6.

Table VI. ALSFRS-R: Level of significance among the first and second time of control and supplemented groups.

Body composition	CONTROL GROUP*‡			TREATMENT GROUP*‡		
	0	4	p-value	0	4	p-value
ALSFRS-R	27.0 ± 3.79 ^a	23.6 ± 4.4 ^b	0.03	29.1 ± 2.45	27.0 ± 3.54	0.17

ALSFRS-R 1,2: score of Amyotrophic Lateral Sclerosis Revised in first (0) and second time (4 months), respectively.

* Values correspond to means ± standard error of three determinations.

‡ Values not sharing similar letter in the same line are different ($p < 0.05$) in Tukey test.

DISCUSSION

Patients with ALS included in this study share the characteristic epidemiologic features of the disease [Dietrich et al, 2000]. There was appendicular onset in most cases and slight women predominance overall. We did not find relevant differences between patients with bulbar and appendicular predominance.

Most patients had low income (88% received $< \$1,000.00$) and education (80% studied up to the 4th grade). Ten patients (62%) had 5 or 6 daily meals, four (25%) had 4, and two (13%) had 3 daily meals.

Rio & Cawadiaz [2007] reviewed nutritional guidelines for patients with ALS in the United Kingdom; they found that caloric and proteic supplementation was the cornerstone of nutritional therapy. Heffernan et al [2004] also emphasized the relevance of education and nutritional intervention in these individuals. In a previous study with 20 patients, authors were able to modify nutritional status classification in 70% of individuals after oral supplementation. They have shown that oral supplementation avoided worsening of nutritional status, but could not normalize overall nutritional adequacy [Stanich et al, 2004]. In accordance with Karsarskis et al. [1996] and Desport et al. [2001], we have found progressive decline of body weight and BMI in non-supplemented patients.

However, BMI improved in patients that received oral supplementation. In this group, fatty and lean body mass did not decline in the follow-up, leading to higher PCMS.

Skinfolds are a useful clinical method to evaluate body composition, namely the proportion of fat mass [Waitzberg & Ferrari, 1995]. We found in the placebo group that BSF and SESF increased in the follow-up, thus suggesting higher proportions of body fat mass. Increased TSF in supplemented patients may have been caused by higher food intake during the study. Slowie [1983] identified a relationship between reduced food intake and smaller TSF. Modifications in TSF may have contributed to improved PCMS scores in this group.

MAMC and AMA are markers of striated muscle proteic mass [Waitzberg & Ferrari, 1995]. MAC and WC did not change in the follow-up in neither group (Table 4). MAMC and AMA declined in the placebo group, whereas AFA increased; this may indicate fatty change in the skeletal muscle due to chronic denervation. MAMC and AMA remained stable in the supplemented group, but AFA declined, suggesting preserved lean body mass and reduced fat body mass. Similar findings were reported by Stanich et al. [2004] among patients with ALS receiving hypercaloric supplementation. Karsarsis et al. [1996] identified progressive AMA decline over disease course.

Patients in both groups were classified as eutrophic according to BMI. However, PCMS take into account body composition measures and is therefore a more reliable tool to evaluate nutritional status. In the placebo group, PCMS were 80.13, 77.67 and 79.93 at the onset, after 2 months and after 4 months of follow-up, respectively. PCMS progressively increased among supplemented patients (75.26, 77.13 and 78.89). Despite the different courses, patients in both groups were classified as moderate malnutrition (70-80%).

Biochemistry analyses showed normal values for albumin, pre-albumin and C-reactive protein (CRP) in patients with ALS. Kasarskis et al. [1996] previously found that pre-

albumin and retinol-binding protein serum levels did not change over disease course. These results are much similar to the ones observed in our supplemented group. Desport et al [2001] also found normal values for CRP, white blood cell and total lymphocyte counts in ALS. We found increased serum albumin, white blood cell and total lymphocyte counts in supplemented patients; this may be related to immunomodulatory properties of milk proteins [Mercier et al. 2004, Sgarbieri 2004]. Muscle turnover, expressed by CK, AST and ALT levels, also decreased in this group.

ALSFRS-R is a reliable tool useful to predict survival in ALS [Gordon et al. 2007], survival after mechanical non-invasive ventilation, and to estimate overall functioning of patients with ALS [Lo-Coco 2007]. ALSFRS-R scores did not change among supplemented patients ($p=0.173$), but significantly declined in the placebo group ($p=0.003$).

CONCLUSIONS

During the study follow-up, intake of carbohydrates, lipids, proteins, fibers, calcium and vitamin E significantly increased in both placebo and supplemented groups.

BMI, MAMC and AMA declined over time in the placebo group, which received maltodextrin. In the supplemented group, serum albumin, white blood cell and total lymphocyte counts increased. Lean body mass seem to be preserved in this group, and skeletal muscle turnover markers (CK, AST and ALT) declined. The ALSFRS-R scores did not change in the supplemented group, while patients in the placebo group presented progressive decline.

Our results indicate that 70%WPI:30%MS improved nutritional status of patients with ALS, and may be useful in the clinical management of the disease.

ACKNOWLEDGEMENT

Authors acknowledge CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico for financial support (PhD fellowship for LBCS).

REFERENCES

- ADA. 2002. National Dysphagia Diet: Standardization for Optimal Care. National Dysphagia Diet Task Force. Chicago, IL: The American Dietetics Association. p 47.
- Black LF, Hyatt RE. 1969. Maximal respiratory pressures: normal values and relationship to age and sex. *Am Rev Respir Dis* 99:696–702.
- Blackburn GL, Havey KB. 1982. Nutritional assessment as a routine in clinical medicine. *Postgrad Med* 71:46-63.
- Bounous G, Baruchel S, Falutz J, Gold P. 1993. Whey protein as a food supplement in HIV-seropositive individuals. *Clin Invest Med* 16:204-9.
- Bounous G, Batist G, Gold P. 1989. Immunoenhancing property of dietary whey protein in mice: role of glutathione. *Clin Invest Med* 12:154-61.
- Bounous G, Gold P. 1991. The biological activity of undenatured dietary whey proteins: role of glutathione. *Clin Invest Med* 14:296-309.
- Bounous G. 1998. Immuno-enhancing properties of undenatured milk serum protein isolate in HIV patients. *Proc Int Dairy Fed, Brussels, Belgium*. P.293-305.
- Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, Fuller C, Hilt D, Thurmond B. 1999. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. *Journal Neurol Sci* 169:13-21.
- Chmiel JF. 1998. Anti-tumor effects of dietary whey protein and its value for head and neck cancer patients. In *International Dairy Federation: Proceedings of the 3rd International Whey Conference; 1997*. Chicago. Brussels, Belgium: International Dairy Federation. p.310-4.
- Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML. 1985. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatric Soc* 33:116-120.
- DeHoog S. 2005. Avaliação do Estado Nutricional. In: Mahan K, Stump SE. editors. *Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia*. 11th ed São Paulo:Roca. p 372-391

- Desport JC, Preux PM, Magy L, Boirie Y, Vallat JM, Beaufrère B, Couratier P. 2001. Factor correlated with hypermetabolism in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Clin Nutr* 74:328-34.
- Desport JC, Preux PM, Truong TC, Vallat JM, Sautereau D, Couratier P. 1999. Nutritional status is a prognostic factor for survival in ALS patients. *Neurology* 53:1059-63.
- Diet Pro versão 4.0. 2001. Sistema de suporte à avaliação nutricional e prescrição de dietas. Monteiro JBR, Esteves EA. Agromídia Software. CD-ROM.
- Dietrich-Neto F, Callegaro D, Dias-Tosta E, Silva HA, Ferraz ME, Lima JMB, Oliveira ASB. 2000. Amyotrophic Lateral Sclerosis in Brazil: 1998 National Survey. *Arq Neuropsiquiatr* 58(3-A):607-515.
- El Escorial revisited. 1998. Revisited criteria for the diagnosis of ALS.-World Federation of Neurology research group on motor diseases. A consensus conference held at Airlie House, Worrenton, Virginia on april 2-4.
- Filho JF. 1981. A prática da avaliação física. Rio de Janeiro: Shape. p17-38.
- Fisberg RM, Martini LA, Slater B. 2005. Métodos de Inquéritos Alimentares. In: Fisberg RM, Slater B, Marchioni DML, Martini LA, editors. *Inquéritos Alimentares: Métodos e bases científicos*. São Paulo: Manole. p 2-7.
- Frisancho AR. 1981. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 34:540-5.
- Gordon PH, Cheng B, Montes J, Doorish C, Albert SM, Mitsumoto H. 2007. Outcome measures for early phase clinical trials. *Amyotroph Lateral Scler Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 27:1-4.
- Grant JP, Custer PB, Thurlon J. 1980. Current techniques of nutrition assessment. In *Handbook of total parenteral nutrition*. Philadelphia, Saunders. p.12-23.
- Hakkak R, Korounian S, Ronis M, Irby D, Kechclana S, Rowland et al. 1999. Dietary prevention of mammary cancer in multiparous female rats by whey protein, but no soy protein isolate. *Proc Am Assoc Cancer* 40:2010.
- Heffernan C, Jenkinson C, Holmes T, Feder G, Kupfer R, Leigh R, McGowan PN, Rio A, Sidhu PS. 2004. Nutritional management in MND/ALS patients: an evidence based review. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 5:72-83.
- Institute of Medicine (IOM) [Internet]. In: *Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids*. Washington,

- DC: The National Academy Press; 2002 - [cited 2007 July 14]; Available from: <http://www.nap.edu>.
- Institute of Medicine [Internet]. In: Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorous, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington, DC: The National Academy Press; 1997 - [cited 2007 July 14]; Available from: <http://www.nap.edu>.
- Institute of Medicine [Internet]. In: Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Washington, DC: The National Academy Press; 2000 - [cited 2007 July 14]; Available from: <http://www.nap.edu>.
- Institute of Medicine [Internet]. In: Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: The National Academy Press; 2001 - [cited 2007 July 14]; Available from: <http://www.nap.edu>.
- Kasarskis E, Berryman S, Vanderleest JG, Schneider AR, McClain CJ. 1996. Nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis: relation to the proximity of death. *Am J Clin Nutr* 63:130-7.
- Lo Coco D, Marchese S, La Bella V, Piccoli T, Lo Coco A. 2007. The amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale predicts survival time in amyotrophic lateral sclerosis patients on invasive mechanical ventilation. *Chest* 132 (1):64-9.
- Lohman TG, Roche AF, Martorell R. 1991. Anthropometric standardization reference manual. Ed. Abridged. p.31.
- Long CL, Schaffel N, Geiger JW, 1979. Metabolic response to injury and illness: Estimation of energy and protein needs from indirect calorimetry and nitrogen balance. *JPEN* 3:452-456.
- Mahan, K.; Escott-Stump, S. 2005. Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia. 11^a ed. São Paulo: Ed. Roca. p 407.
- McIntosh GH, Le Leu RK. 2001. The influence of dietary proteins on colon cancer risk. *Nutr Res* 21:1053-66.
- Mercier A, Gauthier SF, Fliss I. 2004. Immunomodulating effects of whey proteins and their enzymatic digests 14:175-183.
- National Academic of Sciences. National Research Council. 1989. Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington: National Academic Press.
- Norussis MJ. 2006. Statistical Package for Social Science (SPSS) for Windows Advanced Statistics Release 15.0. Chicago: SPSS.

- Philippi ST. 2001. Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional. Brasília. p.133.
- Rio A, Cawadías E. 2007. Nutritional advice and treatment by dietitians to patients with amyotrophic lateral sclerosis/motor neurone disease: a survey of current practice in England, Wales, Northern Ireland and Canada. *J Hum Nutr Diet* 20:1-13.
- Sgarbieri VC. 2004. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. *Rev Nutr* 17(4):397-409.
- Slowie LA, Paige MS, Antel JP. 1983. Nutritional considerations in the management of patients with ALS amyotrophic lateral sclerosis. *J Am Diet Assoc* 83:44-7.
- Stanich P, Pereira AML, Chiappeta ALML, Nunes M, Oliveira ASB, Gabbai AA. 2004. Suplementação nutricional em pacientes com doença do neurônio motor/esclerose lateral amiotrófica. *Rev Bras de Nutri Clin* 19:70-8.
- Strand EA, Miller RM, Yorkston KM, Hillel AD. 1996. Management of oral-pharyngeal dysphagia symptoms in amyotrophic lateral sclerosis. *Dysphagia* 11:129-39.
- Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 2006. NEPA-UNICAMP-Versão II-2th ed. Campinas:NEPA-UNICAMP. p113.
- U.S.Department of Agriculture [Internet]. Composition of Foods. Raw, Processed, Prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Release 16. Nutrient Data Laboratory homepage; 2003 - [cited 2007 July 14]; Available from:<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR18/SR18doc.pdf>.
- Vannucchi H, Menezes EW, Campana AO, Lajolo FM. 1990. Aplicações das recomendações adaptadas à população brasileira. Ribeirão Preto: Legis Suma.
- Waitzberg DL, Ferrini MT. 1995. Avaliação nutricional. In: Waitzberg DL, editor. Nutrição enteral e parenteral na prática clínica. 2th ed. São Paulo: Atheneu. p127-152.
- Wright L, Cotter D, Hickson M, Frost. 2005. Comparison of energy and protein intakes of older people consuming a texture modified diet with normal hospital diets. *J Human Nutr Diet* 18:213-219.

8

Conclusões Gerais

8 CONCLUSÕES GERAIS

Quanto aos resultados a respeito do diagnóstico nutricional, levando em consideração a ingestão alimentar e a aplicação dos parâmetros de avaliação do estado nutricional, bem como o efeito da suplementação com aglomerados a base de isolado protéico do soro de leite para pacientes com esclerose lateral amiotrófica, pôde-se chegar as seguintes conclusões:

- Na população do estudo, os alimentos mais consumidos diariamente foram óleo, arroz, feijão, pão francês e leite. Constatou-se inadequação alimentar para energia, fibras, cálcio e vitamina E. Observou-se diferença significativa entre pacientes com ELA de predomínio bulbar e apendicular, sendo que em pacientes com predominância apendicular, houve maior ingestão energética, de gordura saturada, monoinsaturada, além de colesterol e fibras, quando comparados com os de predominância bulbar. O maior comprometimento na deglutição verificada nos pacientes com predominância bulbar pode ter influenciado na ingestão qualitativa e quantitativa. Além das peculiaridades da doença repercutir na alimentação, a renda *per capita* dos pacientes parece ter influenciado no baixo consumo qualitativo de alimentos;
- Com relação à aglomeração de diferentes fontes protéicas com amido modificado, o aglomerado contendo 70% de isolado protéico do soro de leite e 30% de amido modificado (70% WPI:30% AM), apresentou boas características físico-químicas como perfil aminoacídico, rendimento, densidade e porosidade, além de elevados valores de viscosidade

quando em solução e, dentre os aglomerados estudados, as maiores notas nos testes sensoriais realizados com pacientes com ELA. Baseando-se nestes resultados, sugere-se a utilização do aglomerado 70% WPI:30% AM para terapia nutricional de pacientes com ELA;

- Na verificação da adequação e sensibilidade dos instrumentos de medidas em pacientes com ELA, pôde-se notar que entre os indicadores do estado nutricional e da função respiratória, foram demonstradas correlações significantes entre IMC, %PP, escala ALSFRS-R, $P_{i_{max}}$ e $P_{e_{max}}$. Dentre os indicadores nutricionais, pôde-se notar correlação do IMC com as variáveis: massa, G%, CB, CP, PCT, PCSE, PCSI, CMB, AMB e AGB. Com isso, pode ser viabilizada a utilização deste conjunto de medidas no acompanhamento da evolução clínica de indivíduos com ELA;
- Quanto a suplementação com o produto elaborado, o 70% WPI:30% AM, no grupo suplementado verificou-se melhora do estado nutricional geral, aumento do peso e Índice de Massa Corporal (IMC), circunferência e área muscular do braço (CMB e AMB), albumina, linfócitos e leucócitos, diminuindo os marcadores do catabolismo muscular, creatina quinase, aspartato-amino-transferase e alanina-amino-transferase. No grupo controle, observou-se diminuição do peso, IMC, CMB e AMB e aumento da área gordurosa do braço, sem alterações significativas nos parâmetros bioquímicos;

- Com base no exposto, o suplemento 70%WPI:30%AM melhorou o estado nutricional de indivíduos com ELA, podendo ser utilizado na prática clínica.

9

Apêndices

Apêndice I

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa FCM/UNICAMP Protocolo nº 428/2006



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 26/09/06.
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 428/2006 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0335.0.146.000-06

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA): DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL E EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Luciano Bruno de Carvalho Silva

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas / UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 10/08/2006

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 26/09/07 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Diagnosticar o estado nutricional e a influência da suplementação dietética com proteínas do soro de leite no estado nutricional e consequentemente na qualidade de vida e deglutição de pacientes com ELA

III - SUMÁRIO

Serão avaliados 70 pacientes adultos, com idades entre 30 e 60 anos, com diagnóstico de ELA, acometidos por desordens da deglutição, em acompanhamento no Ambulatório de Neuromuscular e no Ambulatório de Disfagia do HC-UNICAMP. Estes pacientes passarão por uma avaliação para observar o desempenho da fase laringea da deglutição. Serão também treinados para realizar um recordatório da sua alimentação. O preparado de estudo - concentrado de soro de leite bovino - será testado em 50 voluntários sadios, para avaliação de atributos como aparência, aroma, sabor e aceitação global. A seguir será realizado um estudo prospectivo, duplo-cego, com duração de 4 meses, em que 30 pacientes com ELA serão divididos em dois grupos: um receberá o concentrado de soro e outro receberá placebo. Em todos serão analisados o Estado Nutricional e o perfil de deglutição. Além disso, será colhida uma amostra de sangue para dosagens bioquímicas e para contagem de linfócitos.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto tem baixo risco para os participantes. Tem grande relevância social na medida em que busca caminhos para melhorar a nutrição de um grupo altamente vulnerável da população - os portadores de ELA. Não encontrei no projeto o TCLE destinado aos participantes da primeira fase do trabalho. Os outros dois TCLEs estão claros e completos. Recomendação: Deverá ser incluído um TCLE para os participantes da primeira fase, que não necessariamente serão os mesmos da terceira, pelo meu entendimento.

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13084-971 Campinas - SP

FONE (019) 3788-8936
FAX (019) 3788-7187
cep@fcm.unicamp.br

- 1 -



V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na IX Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 26 de setembro de 2006.


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Apêndice II

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

(HC - Grupo CLS e PLA)

Declaro por livre e espontânea vontade, que permito a participação de, _____, com idade de _____ anos de HC n _____ com C.I.R.G. de n _____, residente á Rua _____, na pesquisa intitulada “*Esclerose Lateral Amiotrófica: Perfil Nutricional e efeito da suplementação com proteínas do soro de leite*”, projeto de tese de doutorado do aluno Luciano Bruno de Carvalho Silva, promovido pela Faculdade de Engenharia de Alimentos e Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Sob orientação do Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán.

Que tem por objetivo, oferecer suplemento alimentar visando melhorar o estado nutricional e estimular o sistema imune.

Desconfortos e riscos potenciais: o procedimento que você fará não apresenta risco de qualquer natureza ou desconforto. A proteína do soro de leite já é um ingrediente largamente utilizado pela indústria de alimentos. Neste estudo você receberá a quantidade de suplemento dentro da faixa utilizada pela grande maioria das pesquisas em humanos e dos valores de referência para suplementos protéicos.

Sendo assim, comprometo-me a utilizar o suplemento alimentar que for oferecido, bem como, seguir às orientações recebidas quanto ao seu uso. Afirmo ainda que fui informado a respeito dos procedimentos que serão realizados durante o estudo.

- a) entrevista com profissional das áreas de nutrição, fonoaudiologia e medicina;
- b) exames de sangue;
- c) exames antropométricos (peso, altura, pregas cutâneas, bioimpedância elétrica);
- d) ingestão do suplemento alimentar que for proposto;
- e) fornecimento de informações referentes à ingestão alimentar.

Tendo a garantia de receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento e qualquer dúvida acerca dos assuntos relacionados com a pesquisa e suplementação alimentar

Estou ciente que não receberei remuneração em troca da participação, que os dados serão mantidos em sigilo e que posso desistir no momento em que desejar. E que as desistência não acarretará em alteração nos cuidados médicos e orientações que venho recebendo.

De acordo,

Participante: _____
Luciano Bruno de Carvalho Silva (19 91943748): _____
Prof. Dr. Jaime Amaya Farfan (19 3521159): _____

Campinas, ____ de _____ de 2006.
Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas–UNICAMP: 19-35218936

Apêndice III

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

(Análise Sensorial)

Declaro por livre e espontânea vontade, que permito a participação de, _____, com idade de _____ anos, com C.I.R.G. de _____, residente à Rua _____, na pesquisa intitulada: “*Esclerose Lateral Amiotrófica: Perfil Nutricional e efeito da suplementação com proteínas do soro de leite*”, projeto de tese de doutorado do aluno Luciano Bruno de Carvalho Silva, promovido pela Faculdade de Engenharia de Alimentos e Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Sob orientação do Prof. Dr. Jaime Amaya Farfan.

Que tem por objetivo, oferecer suplemento alimentar visando melhorar o estado nutricional e estimular o sistema imune. Nesta etapa será realizada a análise sensorial para indicação prévia do sistema alimentar a ser utilizado na terapia nutricional.

Desconfortos e riscos potenciais: o procedimento que você fará não apresenta risco de qualquer natureza ou desconforto. A proteína do soro de leite já é um ingrediente largamente utilizado pela indústria de alimentos. Neste estudo você receberá a quantidade de suplemento dentro da faixa utilizada pela grande maioria das pesquisas em humanos e dos valores de referência para suplementos protéicos.

Sendo assim, comprometo-me fazer uma análise da aparência, aroma, sabor, aceitação global. Afirmo ainda que fui informado a respeito dos procedimentos que serão realizados durante o estudo.

Análise de pequenas quantidades de amostra de suco de laranja e leite adicionado do suplemento protéico; dizer o quanto gostou ou desgostou, utilizando uma ficha que lhe será fornecida no momento do teste.

Tendo a garantia de receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento e qualquer dúvida acerca dos assuntos relacionados com a pesquisa e suplementação alimentar.

Estou ciente que não receberei remuneração em troca da participação, que os dados serão mantidos em sigilo e que posso desistir no momento em que desejar. E que a desistência não acarretará em alteração nos cuidados médicos e orientações que venho recebendo.

De acordo,

Participante: _____
Luciano Bruno de Carvalho Silva (19 91943748): _____
Prof. Dr. Jaime Amaya Farfan (19 35214059): _____

Campinas, ____ de _____ de 2006.

Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas–UNICAMP: 19-35218936

Apêndice IV

1. IDENTIFICAÇÃO E CONTROLE

Id		Nome		Sexo () M () F	
Data da entrev. ___/___/___			Data nasc. ___/___/___		Idade
Endereço				n°	
Complemento			Bairro		CEP
Tel. (res)		Tel. (cel)		Tel. (com)	
Email:			Termo de consentimento () Sim () Não		

2. INDICADORES DE SAÚDE

Diagnóstico:		
Pressão arterial	x	mmHg
Toma algum tipo de medicação contínua? () SIM () NÃO		Qual?
Faz uso de algum tipo de suplemento nutricional? (especialmente para perda de peso ou ganho de massa muscular) () SIM () NÃO		
Qual?	Quantidade	Frequência
Possui algum tipo de doença cardiovascular? () SIM () NÃO		Qual?
Possui resistência à insulina e/ou diabetes? () SIM () NÃO		
Tem ou teve algum tipo de neoplasia? () SIM () NÃO		
Qual?	Quando?	
Possui algum tipo de desconforto gastrointestinal ao ingerir leite e/ou derivados? () SIM		Qual? () NÃO
Possui intolerância à lactose? () SIM () NÃO		
Possui alergia à alguma proteína do leite? (caseína, lactoglobulina e/ou lactoalbumina) () SIM Qual? () NÃO		
Emagreceu nos últimos 3 meses? () SIM () NÃO		
%PP:		
Infecção () SIM () NÃO () NS		Qual? Quando?

3. OUTRAS OBSERVAÇÕES

4. MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

Peso	P1 =	kg	P2 =	kg	P3 =	kg
Altura	A1 =	cm	A2 =	cm	A3 =	cm
Circunferência de braço	CB1 =	cm	CB2 =	cm	CB3 =	cm
Circunferência de quadril	CQ1 =	cm	CQ2 =	cm	CQ3 =	cm
Circunferência de abdome	CA1 =	cm	CA2 =	cm	CA3 =	cm
Prega Tricipital	PT1 =	mm	PT2 =	mm	PT3 =	mm
Prega Bicipital	PB1 =	mm	PB2 =	mm	PB3 =	mm
Prega Subescapular	PSE1 =	mm	PSE2 =	mm	PSE3 =	mm
Prega Suprailíaca	PSI1 =	mm	PSI2 =	mm	PSI3 =	mm

5. IMPEDÂNCIA BIOELÉTRICA (BIA)

Reactância	1.	mV	2.	mV
Resistência	1.	mV	2.	mV

Apêndice V

ESCALA HEDÔNICA VERBAL

NOME: _____ DATA: __/__/__

Por favor, avalie as amostras utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.

CÓDIGO DA AMOSTRA: _____ CÓDIGO DA AMOSTRA: _____ CÓDIGO DA AMOSTRA: _____

- | | | |
|--|--|--|
| <input type="checkbox"/> Gostei extremamente | <input type="checkbox"/> Gostei extremamente | <input type="checkbox"/> Gostei extremamente |
| <input type="checkbox"/> Gostei muito | <input type="checkbox"/> Gostei muito | <input type="checkbox"/> Gostei muito |
| <input type="checkbox"/> Gostei moderadamente | <input type="checkbox"/> Gostei moderadamente | <input type="checkbox"/> Gostei moderadamente |
| <input type="checkbox"/> Gostei ligeiramente | <input type="checkbox"/> Gostei ligeiramente | <input type="checkbox"/> Gostei ligeiramente |
| <input type="checkbox"/> Indiferente | <input type="checkbox"/> Indiferente | <input type="checkbox"/> Indiferente |
| <input type="checkbox"/> Desgostei ligeiramente | <input type="checkbox"/> Desgostei ligeiramente | <input type="checkbox"/> Desgostei ligeiramente |
| <input type="checkbox"/> Desgostei moderadamente | <input type="checkbox"/> Desgostei moderadamente | <input type="checkbox"/> Desgostei moderadamente |
| <input type="checkbox"/> Desgostei muito | <input type="checkbox"/> Desgostei muito | <input type="checkbox"/> Desgostei muito |
| <input type="checkbox"/> Desgostei extremamente | <input type="checkbox"/> Desgostei extremamente | <input type="checkbox"/> Desgostei extremamente |

Comentários: _____

Apêndice VI

Amyotrophic lateral Sclerosis Functional Rating Scale / ALSFRS-R
Cedarbaum et al, 1999

Paciente: _____ Data: ____/____/____

1. Fala

- 4 Fala normal
- 3 Distúrbio de fala perceptível
- 2 Inteligível com repetição
- 1 Fala combinada com comunicação não-verbal
- 0 Perda da fala

2. Salivação

- 4 Normal
- 3 Leve excesso de saliva na boca, sialorréia noturna.
- 2 Excesso moderado de saliva; pode haver uma mínima sialorréia
- 1 Marcante excesso de saliva com sialorréia
- 0 Sialorréia marcante, requer constante limpeza com guardanapo/tecido.

3. Deglutição

- 4 Normal
- 3 Distúrbios na alimentação precoces, eventual engasgo
- 2 Mudanças na consistência da comida
- 1 Necessidade de tubo de alimentação suplementar
- 0 Ausência de alimentação oral (exclusivamente alimentação parenteral ou enteral)

4. Escrita

- 4 Normal
- 3 Lenta ou sinuosa; todas as palavras são legíveis
- 2 Nem todas as palavras são legíveis
- 1 Capaz de prender a caneta, mas incapaz de escrever
- 0 Incapaz de prender a caneta

5a. Cortando o alimento e manuseando utensílios (pacientes sem gastrostomia)

- 4 Normal
- 3 Algo lento e desajeitado, mas não necessita ajuda.
- 2 Pode cortar muita comida, apesar de lento e desajeitado, precisam de ajuda às vezes
- 1 A comida é cortada por alguém, mas pode comer vagarosamente.
- 0 Necessita ser alimentado

5b. Cortando o alimento e manuseando utensílios (escala alternativa para pacientes com gastrostomia)

- 4 Normal
- 3 Desajeitado, mas é capaz de realizar manipulação independentemente.
- 2 Necessita alguma ajuda com botões
- 1 Ajuda mínima do cuidador
- 0 Incapaz de realizar qualquer tarefa

6. Vestir e higiene

- 4 Normal
- 3 Independente e auto-cuidado completo com esforço ou redução da eficiência
- 2 Assistência intermitente ou métodos substitutos
- 1 Necessita assistência no auto-cuidado
- 0 Total dependência

7. Transferência na cama e ajuste dos lençóis

- 4 Normal
- 3 Algo lento e desajeitado, mas não necessita ajuda.
- 2 Pode ser transferir sozinho ou ajustar o lençol, porém com grande dificuldade.
- 1 Consegue iniciar, porém não se transfere ou ajusta o lençol.
- 0 Necessita ajuda

8. Andar

- 4 Normal
- 3 Dificuldade de deambulação precoce
- 2 Anda com assistência
- 1 Ausência de movimento ambulatorio
- 0 Sem movimento intencional de membro inferior

9. Subindo escadas

- 4 Normal
- 3 Lento
- 2 Leve instabilidade ou fadiga
- 1 Necessita assistência
- 0 Não pode realizar

10. Dispnéia

- 4 Nenhuma
- 3 Ocorre durante o andar
- 2 Ocorre em uma ou mais da seqüência: comendo, tomando banho, vestindo-se (AVD)
- 1 Ocorre no repouso, dispnéia tanto sentado quanto deitado
- 0 Dificuldade importante, em uso de suporte ventilatório mecânico

11. Ortopnéia

- 4 Nenhuma
- 3 Alguma dificuldade durante o sono a noite devido a incursões curtas, rotineiramente não se utiliza mais que dois períodos de descanso
- 2 Necessita descansos extras para dormir (mais de dois)
- 1 Somente dorme sentado
- 0 Incapaz de dormir

12. Insuficiência respiratória

- 4 Nenhuma
- 3 Uso intermitente do BiPAP
- 2 Uso contínuo do BiPAP durante a noite
- 1 Uso contínuo do BiPAP durante a noite e dia
- 0 Ventilação mecânica invasiva por intubação ou traqueostomia

Apêndice VII

Análise Sensorial dos Produtos Aglomerados em **Suco de Laranja Comercial** – Referente a figura 1 do artigo II - *Milk whey proteins for use in oral nutritional therapy for amyotrophic lateral sclerosis patients*

Notas dadas pelos pacientes nos testes de aceitação

Provadores	Amostras				
	493	365	829	147	271
1	7	1	1	6	1
2	6	1	1	5	1
3	9	5	3	6	1
4	8	6	2	7	2
5	8	5	1	7	1
6	8	6	1	7	1
7	8	5	1	8	1
8	6	4	2	8	1
9	9	6	3	8	1
10	6	3	1	7	2
11	6	4	1	8	1
12	7	3	1	8	2
13	8	5	2	8	1
14	7	4	2	7	2
15	8	4	2	6	2
16	7	4	1	7	2
17	7	3	1	8	1
18	6	3	1	8	2
19	7	4	2	7	1
20	7	2	1	8	1
21	7	4	2	7	1
22	6	2	1	8	1
23	7	4	1	7	1
24	6	3	1	7	1
25	6	3	1	6	1
26	6	3	1	6	2
27	6	4	1	7	1
28	6	3	1	6	1
29	7	4	2	6	1
30	7	3	1	6	1
31	7	4	2	6	1
32	7	2	1	8	1
33	7	2	1	6	1
34	7	4	1	6	1
35	7	3	1	6	1
Média	6,97	3,60	1,37	6,91	1,23
Dp	0,86	1,26	0,60	0,89	0,43

Códigos

	WPI	WPC	CasCa	WPH	Espes
Suco	493	365	829	271	147

ANOVA

VAR00001

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1152,034	4	288,009	402,644	,000
Within Groups	121,600	170	,715		
Total	1273,634	174			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAR00001

	(I) VAR00002	(J) VAR00002	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
TukeyHSD	1,00	2,00	3,37143*	,20217	,000	2,8140	3,9289
		3,00	5,60000*	,20217	,000	5,0426	6,1574
		4,00	-,08571	,20217	,993	-,6432	,4717
		5,00	5,74286*	,20217	,000	5,1854	6,3003
	2,00	1,00	-3,37143*	,20217	,000	-3,9289	-2,8140
		3,00	2,22857*	,20217	,000	1,6711	2,7860
		4,00	-3,45714*	,20217	,000	-4,0146	-2,8997
		5,00	2,37143*	,20217	,000	1,8140	2,9289
	3,00	1,00	-5,60000*	,20217	,000	-6,1574	-5,0426
		2,00	-2,22857*	,20217	,000	-2,7860	-1,6711
		4,00	-5,68571*	,20217	,000	-6,2432	-5,1283
		5,00	,14286	,20217	,955	-,4146	,7003
	4,00	1,00	,08571	,20217	,993	-,4717	,6432
		2,00	3,45714*	,20217	,000	2,8997	4,0146
		3,00	5,68571*	,20217	,000	5,1283	6,2432
		5,00	5,82857*	,20217	,000	5,2711	6,3860
	5,00	1,00	-5,74286*	,20217	,000	-6,3003	-5,1854
		2,00	-2,37143*	,20217	,000	-2,9289	-1,8140
		3,00	-,14286	,20217	,955	-,7003	,4146
		4,00	-5,82857*	,20217	,000	-6,3860	-5,2711

*. The mean difference is significant at the .05 level.

VAR00001

VAR00002	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
TukeyHSD ^a	5,00	35	1,2286	
	3,00	35	1,3714	
	2,00	35		3,6000
	1,00	35		6,9714
	4,00	35		7,0571
	Sig.		,955	1,000
Duncan ^a	5,00	35	1,2286	
	3,00	35	1,3714	
	2,00	35		3,6000
	1,00	35		6,9714
	4,00	35		7,0571
	Sig.		,481	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 35,000.

Análise Sensorial dos Produtos Aglomerados em **Leite** – Referente a figura 1 do artigo II - *Milk whey proteins for use in oral nutritional therapy for amyotrophic lateral sclerosis patients*

Notas dadas pelos pacientes nos testes de aceitação

Provadores	Amostras				
	739	546	297	177	374
1	6	5	2	5	1
2	5	2	1	5	2
3	5	3	1	5	2
4	6	4	2	5	1
5	6	4	2	5	1
6	6	2	1	5	1
7	6	4	2	6	1
8	6	4	2	6	1
9	6	5	2	6	2
10	8	2	1	6	2
11	5	3	1	5	2
12	6	4	2	6	1
13	7	5	2	5	2
14	6	4	2	6	1
15	5	3	1	5	1
16	6	4	3	6	1
17	5	3	1	5	1
18	6	4	2	4	2
19	3	1	1	4	1
20	6	2	1	5	1
21	3	1	1	6	1
22	5	3	1	5	2
23	5	1	1	6	1
24	4	2	1	5	1
25	5	1	1	6	1
26	6	5	3	5	2
27	6	3	2	5	2
28	5	3	1	5	2
29	7	5	4	5	1
30	6	5	3	5	1
31	5	2	1	5	1
32	6	3	1	5	2
33	6	4	2	6	1
34	6	4	2	5	1
35	6	4	1	6	2
Média	5,60	3,26	1,63	5,29	1,37
Dp	0,98	1,27	0,77	0,57	0,49

Códigos

	WPI	WPC	CasCa	WPH	Espes
Leite	739	546	297	374	177

ANOVA

VAR00001

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	548,286	4	137,071	184,103	,000
Within Groups	126,571	170	,745		
Total	674,857	174			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAR00001

	(I) VAR00002	(J) VAR00002	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
TukeyHSD	1,00	2,00	2,34286*	,20626	,000	1,7741	2,9116
		3,00	3,97143*	,20626	,000	3,4027	4,5402
		4,00	,31429	,20626	,549	-,2544	,8830
		5,00	4,22857*	,20626	,000	3,6598	4,7973
	2,00	1,00	-2,34286*	,20626	,000	-2,9116	-1,7741
		3,00	1,62857*	,20626	,000	1,0598	2,1973
		4,00	-2,02857*	,20626	,000	-2,5973	-1,4598
		5,00	1,88571*	,20626	,000	1,3170	2,4544
	3,00	1,00	-3,97143*	,20626	,000	-4,5402	-3,4027
		2,00	-1,62857*	,20626	,000	-2,1973	-1,0598
		4,00	-3,65714*	,20626	,000	-4,2259	-3,0884
		5,00	,25714	,20626	,724	-,3116	,8259
	4,00	1,00	-,31429	,20626	,549	-,8830	,2544
		2,00	2,02857*	,20626	,000	1,4598	2,5973
		3,00	3,65714*	,20626	,000	3,0884	4,2259
		5,00	3,91429*	,20626	,000	3,3456	4,4830
	5,00	1,00	-4,22857*	,20626	,000	-4,7973	-3,6598
		2,00	-1,88571*	,20626	,000	-2,4544	-1,3170
		3,00	-,25714	,20626	,724	-,8259	,3116
		4,00	-3,91429*	,20626	,000	-4,4830	-3,3456

*. The mean difference is significant at the .05 level.

VAR00001

	VAR00002	N	Subset for alpha = .05		
			1	2	3
TukeyHSD ^a	5,00	35	1,3714		
	3,00	35	1,6286		
	2,00	35		3,2571	
	4,00	35			5,2857
	1,00	35			5,6000
	Sig.			,724	1,000
Duncan ^a	5,00	35	1,3714		
	3,00	35	1,6286		
	2,00	35		3,2571	
	4,00	35			5,2857
	1,00	35			5,6000
	Sig.			,214	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 35,000.

Análise estatística dos dados referentes a Tabela 1 do Artigo III – *Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional assessment*

Estatística descritiva

Grupo Apendicular

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Idade	13	36,00	69,00	50,6923	9,90273
Tempo_sintomas	13	1,00	9,00	3,9231	2,81252
Escore_bulbar	13	7,00	12,00	10,3077	1,60128
Escore_apendicular	13	1,00	22,00	12,8462	6,14880
Escore_respiratorio	13	6,00	12,00	11,2308	1,69085
Escore_total_escala	13	16,00	43,00	34,3846	7,68699
Pi_max	13	-135,00	-25,00	-61,6923	33,62386
Pe_max	13	10,00	130,00	62,3077	31,46528
Oximetria	13	,87	,99	,9485	,03051
%MM (massa magra)	12	38,10	92,37	79,6000	14,16775
IMC	12	17,32	29,00	23,7533	4,01553
%PP	12	1,00	29,56	13,2167	10,41573
%Gordura	12	15,60	38,10	24,2750	5,86796
%CVF	9	,52	1,09	,8489	,19114

Grupo Bulbar

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Idade	7	32,00	69,00	45,8571	12,64158
Tempo_sintomas	7	1,00	5,00	2,2857	1,60357
Escore_bulbar	7	4,00	10,00	7,1429	2,34013
Escore_apendicular	7	1,00	23,00	8,1429	8,53285
Escore_respiratorio	7	7,00	12,00	10,8571	1,86445
Escore_total_escala	7	12,00	45,00	26,1429	11,56761
Pi_max	6	-45,00	-5,00	-24,1667	17,72475
Pe_max	5	10,00	70,00	35,0000	25,49510
CVF%	1	0,54	0,54	0,54	0
Oximetria	7	,86	,97	,9400	,03916
%MM (massa magra)	7	76,57	89,18	84,9500	5,22422
IMC	7	18,18	25,72	20,9943	2,65351
%PP	7	7,40	45,26	16,8100	13,45211
% Gordura	7	19,20	40,00	26,0429	7,06325

Análise estatística dos dados referentes a Tabela 2 do Artigo III – *Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional assessment*

Correlations

			Idade	Tempo_sintomas	Escore_bulbar	Escore_apedicular	Escore_respiratorio	Escore_total_escala	Pi_max	Pe_max	Oximetria	MM	IMC	PP	Gordura
Spearman's rho	Idade	Correlation Coefficient	1,000	,617	-,396	-,324	-,394	-,396	-,203	,462	,000	-,321	,500	,464	,321
		Sig. (2-tailed)	.	,140	,379	,478	,382	,379	,700	,434	1,000	,482	,253	,294	,482
		N	7	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7
	Tempo_sintomas	Correlation Coefficient	,617	1,000	-,906**	-,699	-,681	-,821*	,391	-,516	-,267	,168	-,206	,730	,168
		Sig. (2-tailed)	,140	.	,005	,081	,092	,023	,443	,373	,563	,718	,658	,063	,718
		N	7	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7
	Escore_bulbar	Correlation Coefficient	-,396	-,906**	1,000	,709	,815*	,873*	-,500	,789	,486	-,144	,396	-,559	-,360
		Sig. (2-tailed)	,379	,005	.	,074	,025	,010	,312	,112	,269	,758	,379	,192	,427
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	
	Escore_apedicular	Correlation Coefficient	-,324	-,699	,709	1,000	,398	,918**	-,515	,895*	,743	,144	,162	-,252	-,577
		Sig. (2-tailed)	,478	,081	,074	.	,377	,004	,296	,040	,056	,758	,728	,585	,175
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	
	Escore_respiratorio	Correlation Coefficient	-,394	-,681	,815*	,398	1,000	,507	,189	,000	,181	,158	,059	-,335	-,433
		Sig. (2-tailed)	,382	,092	,025	,377	.	,246	,720	1,000	,698	,736	,900	,463	,331
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	
	Escore_total_escala	Correlation Coefficient	-,396	-,821*	,873*	,918**	,507	1,000	-,765	,872	,761*	-,018	,324	-,396	-,505
		Sig. (2-tailed)	,379	,023	,010	,004	,246	.	,077	,054	,047	,969	,478	,379	,248
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	
	Pi_max	Correlation Coefficient	-,203	,391	-,500	-,515	,189	-,765	1,000	-,667	-,761	,522	-,725	,116	-,029
		Sig. (2-tailed)	,700	,443	,312	,296	,720	,077	.	,219	,079	,288	,103	,827	,957
		N	6	6	6	6	6	6	6	5	6	6	6	6	
	Pe_max	Correlation Coefficient	,462	-,516	,789	,895*	,000	,872	-,667	1,000	,632	-,564	,975**	-,103	-,154
		Sig. (2-tailed)	,434	,373	,112	,040	1,000	,054	,219	.	,253	,322	,005	,870	,805
		N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	Oximetria	Correlation Coefficient	,000	-,267	,486	,743	,181	,761*	-,761	,632	1,000	,255	,255	,218	-,727
		Sig. (2-tailed)	1,000	,563	,269	,056	,898	,047	,079	,253	.	,582	,582	,638	,064
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	
	MM	Correlation Coefficient	-,321	,168	-,144	,144	,158	-,018	,522	-,564	,255	1,000	-,821*	,643	-,714
		Sig. (2-tailed)	,482	,718	,758	,758	,736	,969	,288	,322	,582	.	,023	,119	,071
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	
	IMC	Correlation Coefficient	,500	-,206	,396	,162	,059	,324	-,725	,975**	,255	-,821*	1,000	-,393	,286
		Sig. (2-tailed)	,253	,658	,379	,728	,900	,478	,103	,005	,582	,023	.	,383	,535
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	
	PP	Correlation Coefficient	,464	,730	-,559	-,252	-,335	-,396	,116	-,103	,218	,643	-,393	1,000	-,321
		Sig. (2-tailed)	,294	,063	,192	,585	,463	,379	,827	,870	,638	,119	,383	.	,482
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	
	Gordura	Correlation Coefficient	,321	-,168	-,360	-,577	-,433	-,505	-,029	-,154	-,727	-,714	,286	-,321	1,000
		Sig. (2-tailed)	,482	,718	,427	,175	,331	,248	,957	,805	,064	,071	,535	,482	.
		N	7	7	7	7	7	6	5	7	7	7	7	7	

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Análise estatística dos dados referentes a Tabela 3 do Artigo III – *Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional assessment*

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Estat1 & Estat2	10	,484	,156
Pair 2	Peso1 & Peso2	10	,327	,356
Pair 3	IMC1 & IMC2	10	,553	,097
Pair 4	PP1 & PP2	10	,136	,708
Pair 5	Gpcent & Gpcent2	10	-,453	,188
Pair 6	Gkg1 & Gkg2	10	,331	,351
Pair 7	Fatfree1 & Fatfree2	10	,331	,350
Pair 8	Fatkg & Fatkg2	10	,130	,720
Pair 9	CBI1 & CBI2	10	,385	,273
Pair 10	CBn1 & CBn2	10	,610	,061
Pair 11	Punhoi1 & Punhoi2	10	,511	,131
Pair 12	Punhon1 & Punhon2	10	,223	,536
Pair 13	PCT1 & PCT2	10	,013	,971
Pair 14	PCB1 & PCB2	10	-,297	,405
Pair 15	PCSI1 & PCSI2	10	-,190	,599
Pair 16	PCSE1 & PCSE2	10	,528	,117
Pair 17	Soma1 & Soma2	10	,030	,935
Pair 18	CMB1 & CMB2	10	,278	,438
Pair 19	AMB1 & AMB2	10	,338	,340
Pair 20	AGB1 & AGB2	10	,568	,087

Análise estatística dos dados referentes a Tabela 4 do Artigo III – *Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional assessment*
Grupo Bulbar

Correlations

			IMC	fat	fatfree	CBn	Punhon	PCT	PCB	PCSI	PCSE	CMB	AMB	AGB	Estatura	Massa	PP
Spearman's rho	IMC	Correlation Coefficient	1,000	,127	-,733*	,912**	,215	,209	-,038	,535	,851**	,845**	,576	,891**	,148	,661*	-,164
		Sig. (2-tailed)	.	,726	,016	,000	,551	,562	,918	,111	,002	,002	,082	,001	,684	,038	,651
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
fat	fat	Correlation Coefficient	,127	1,000	-,709*	,176	-,460	,763*	,395	,541	-,155	-,158	-,442	,115	,148	-,176	-,236
		Sig. (2-tailed)	,726	.	,022	,626	,181	,010	,258	,106	,668	,663	,200	,751	,684	,627	,511
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
fatfree	fatfree	Correlation Coefficient	-,733*	-,709*	1,000	-,760*	,043	-,634*	-,389	-,833**	-,478	-,498	-,079	-,733*	-,222	-,418	,333
		Sig. (2-tailed)	,016	,022	.	,011	,906	,049	,267	,003	,162	,143	,829	,016	,538	,229	,347
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
CBn	CBn	Correlation Coefficient	,912**	,176	-,760*	1,000	,375	,117	-,019	,567	,717*	,881**	,663*	,967**	,420	,571	-,413
		Sig. (2-tailed)	,000	,626	,011	.	,285	,747	,959	,087	,020	,001	,037	,000	,227	,084	,235
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Punhon	Punhon	Correlation Coefficient	,215	-,460	,043	,375	1,000	-,611	-,260	,142	,132	,578	,411	,399	,374	,350	,141
		Sig. (2-tailed)	,551	,181	,906	,285	.	,061	,467	,697	,716	,080	,238	,254	,287	,322	,697
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
PCT	PCT	Correlation Coefficient	,209	,763*	-,634*	,117	-,611	1,000	,745*	,407	,000	-,265	-,375	,191	-,216	,025	-,142
		Sig. (2-tailed)	,562	,010	,049	,747	,061	.	,013	,243	1,000	,459	,285	,598	,550	,946	,696
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
PCB	PCB	Correlation Coefficient	-,038	,395	-,389	-,019	-,260	,745*	1,000	,315	-,167	-,274	-,370	,144	-,239	,075	-,238
		Sig. (2-tailed)	,918	,258	,267	,959	,467	,013	.	,376	,644	,444	,292	,691	,506	,836	,507
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
PCSI	PCSI	Correlation Coefficient	,535	,541	-,833**	,567	,142	,407	1,000	,480	,427	-,122	,541	,173	,462	-,079	
		Sig. (2-tailed)	,111	,106	,003	,087	,697	,243	,376	.	,160	,219	,738	,106	,633	,179	,828
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
PCSE	PCSE	Correlation Coefficient	,851**	-,155	-,478	,717*	,132	,000	-,167	,480	1,000	,754*	,578	,690*	,032	,739*	-,068
		Sig. (2-tailed)	,002	,668	,162	,020	,716	1,000	,644	,160	.	,012	,080	,027	,931	,015	,851
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
CMB	CMB	Correlation Coefficient	,845**	-,158	-,498	,881**	,578	-,265	-,274	,427	,754*	1,000	,699*	,827**	,340	,571	-,261
		Sig. (2-tailed)	,002	,663	,143	,001	,080	,459	,444	,219	,012	.	,024	,003	,337	,084	,466
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
AMB	AMB	Correlation Coefficient	,576	-,442	-,079	,663*	,411	-,375	-,370	-,122	,578	,699*	1,000	,673*	,511	,406	-,321
		Sig. (2-tailed)	,082	,200	,829	,037	,238	,285	,292	,738	,080	,024	.	,033	,131	,244	,365
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
AGB	AGB	Correlation Coefficient	,891**	,115	-,733*	,967**	,399	,191	,144	,541	,690*	,827**	,673*	1,000	,400	,600	-,370
		Sig. (2-tailed)	,001	,751	,016	,000	,254	,598	,691	,106	,027	,003	,033	.	,252	,067	,293
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Estatura	Estatura	Correlation Coefficient	,148	,148	-,222	,420	,374	-,216	-,239	,173	,032	,340	,511	,400	1,000	,235	-,283
		Sig. (2-tailed)	,684	,684	,538	,227	,287	,550	,506	,633	,931	,337	,131	,252	.	,487	,428
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Massa	Massa	Correlation Coefficient	,661*	-,176	-,418	,571	,350	,025	,075	,462	,739*	,571	,406	,600	,235	1,000	,188
		Sig. (2-tailed)	,038	,627	,229	,084	,322	,946	,836	,179	,015	,084	,244	,067	,487	.	,603
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
PP	PP	Correlation Coefficient	-,164	-,236	,333	-,413	,141	-,142	-,238	-,079	-,068	-,261	-,321	-,370	-,283	,188	1,000
		Sig. (2-tailed)	,651	,511	,347	,235	,697	,696	,507	,828	,851	,466	,365	,293	,428	,603	.
		N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Análise estatística dos dados referentes a Tabela 4 do Artigo III – *Amyotrophic Lateral Sclerosis: combined nutritional, respiratory and functional assessment*
Grupo Apendicular

Correlations

			IMC	fat	fatfree	CBn	Punhon	PCT	PCB	PCSI	PCSE	CMB	AMB	AGB	Estatura	Massa	PP	
Spearman's rho	IMC	Correlation Coefficient	1,000	,834**	-,955**	,815**	,332	,701*	,424	,740**	,814**	,811**	,700*	,791**	,138	,982**	-,400	
		Sig. (2-tailed)	.	,001	,000	,002	,319	,016	,194	,009	,002	,002	,002	,016	,004	,685	,000	,223
		N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	fat	Correlation Coefficient	,834**	1,000	-,870**	,695*	,272	,577	,700*	,842**	,555	,660*	,601	,688*	,109	,834**	-,369	
		Sig. (2-tailed)	,001	.	,000	,018	,419	,063	,017	,001	,076	,027	,050	,019	,751	,001	,264	
		N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
	fatfree	Correlation Coefficient	-,955**	-,870**	1,000	-,870**	-,192	-,817**	-,530	-,822**	-,772**	-,788**	-,573	-,873**	-,332	-,973**	,382	
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	.	,001	,572	,002	,094	,002	,005	,004	,066	,000	,319	,000	,247	
		N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
	CBn	Correlation Coefficient	,815**	,695*	-,870**	1,000	,348	,921**	,455	,634*	,914**	,936**	,590	,993**	,399	,888**	-,449	
		Sig. (2-tailed)	,002	,018	,001	.	,294	,000	,160	,036	,000	,000	,056	,000	,224	,000	,166	
		N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
	Punhon	Correlation Coefficient	,332	,272	-,192	,348	1,000	,134	,419	-,031	,506	,419	,659*	,309	-,194	,271	-,402	
		Sig. (2-tailed)	,319	,419	,572	,294	.	,695	,199	,929	,112	,199	,027	,356	,567	,420	,220	
		N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
	PCT	Correlation Coefficient	,701*	,577	-,817**	,921**	,134	1,000	,393	,543	,751**	,763**	,274	,951**	,525	,808**	-,204	
		Sig. (2-tailed)	,016	,063	,002	,000	,695	.	,232	,084	,008	,006	,415	,000	,097	,003	,547	
		N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
PCB	Correlation Coefficient	,424	,700*	-,530	,455	,419	,393	1,000	,630*	,242	,393	,489	,484	,332	,429	-,277		
	Sig. (2-tailed)	,194	,017	,094	,160	,199	,232	.	,038	,473	,232	,127	,132	,319	,188	,410		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
PCSI	Correlation Coefficient	,740**	,842**	-,822**	,634*	-,031	,543	,630*	1,000	,464	,627*	,534	,639*	,345	,763**	-,219		
	Sig. (2-tailed)	,009	,001	,002	,036	,929	,084	,038	.	,150	,039	,090	,034	,299	,006	,517		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
PCSE	Correlation Coefficient	,814**	,555	-,772**	,914**	,506	,751**	,242	,464	1,000	,912**	,694*	,878**	,242	,837**	-,547		
	Sig. (2-tailed)	,002	,076	,005	,000	,112	,008	,473	,150	.	,000	,018	,000	,473	,001	,082		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
CMB	Correlation Coefficient	,811**	,660*	-,788**	,936**	,419	,763**	,393	,627*	,912**	1,000	,770**	,893**	,247	,861**	-,478		
	Sig. (2-tailed)	,002	,027	,004	,000	,199	,006	,232	,039	,000	.	,006	,000	,464	,001	,137		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
AMB	Correlation Coefficient	,700*	,601	-,573	,590	,659*	,274	,489	,534	,694*	,770**	1,000	,518	-,101	,636*	-,645*		
	Sig. (2-tailed)	,016	,050	,066	,056	,027	,415	,127	,090	,018	,006	.	,102	,767	,035	,032		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
AGB	Correlation Coefficient	,791**	,688*	-,873**	,993**	,309	,951**	,484	,639*	,878**	,893**	,518	1,000	,456	,873**	-,400		
	Sig. (2-tailed)	,004	,019	,000	,000	,356	,000	,132	,034	,000	,000	,102	.	,158	,000	,223		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
Estatura	Correlation Coefficient	,138	,109	-,332	,399	-,194	,525	,332	,345	,242	,247	-,101	,456	1,000	,235	,147		
	Sig. (2-tailed)	,685	,751	,319	,224	,567	,097	,319	,299	,473	,464	,767	,158	.	,487	,665		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
Massa	Correlation Coefficient	,982**	,834**	-,973**	,888**	,271	,808**	,429	,763**	,837**	,861**	,636*	,873**	,235	1,000	-,345		
	Sig. (2-tailed)	,000	,001	,000	,000	,420	,003	,188	,006	,001	,001	,035	,000	,487	.	,298		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
PP	Correlation Coefficient	-,400	-,369	,382	-,449	-,402	-,204	-,277	-,219	-,547	-,478	-,645*	-,400	,147	-,345	1,000		
	Sig. (2-tailed)	,223	,264	,247	,166	,220	,547	,410	,517	,082	,137	,032	,223	,665	,298	.		
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Análise estatística referente a Tabela V do artigo IV - *Oral supplementation with milk whey proteins improve nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis*

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	PCRS1	,0938	8	,07029	,02485
	PCRS2	,1125	8	,11829	,04182
Pair 2	PCRS1	,0938	8	,07029	,02485
	PCRS3	,2266	8	,28147	,09951
Pair 3	PCRS2	,1125	8	,11829	,04182
	PCRS3	,2266	8	,28147	,09951
Pair 4	ALBS1	4,3025	8	,41272	,14592
	ALBS2	4,5125	8	,27484	,09717
Pair 5	ALBS1	4,3025	8	,41272	,14592
	ALBS3	4,7625	8	,15980	,05650
Pair 6	ALBS2	4,5125	8	,27484	,09717
	ALBS3	4,7625	8	,15980	,05650
Pair 7	PREALBS1	26,3250	8	4,59526	1,62467
	PREALBS2	30,6000	8	4,38797	1,55138
Pair 8	PREALBS1	26,3250	8	4,59526	1,62467
	PREALBS3	30,6375	8	5,33665	1,88679
Pair 9	PREALBS2	30,6000	8	4,38797	1,55138
	PREALBS3	30,6375	8	5,33665	1,88679
Pair 10	CKS1	449,6250	8	242,46587	85,72463
	CKS2	375,0000	8	252,62281	89,31565
Pair 11	CKS1	449,6250	8	242,46587	85,72463
	CKS3	307,0000	8	97,92125	34,62039
Pair 12	CKS2	375,0000	8	252,62281	89,31565
	CKS3	307,0000	8	97,92125	34,62039
Pair 13	US1	27,4875	8	8,08445	2,85829
	US2	29,1250	8	6,87516	2,43074
Pair 14	US1	27,4875	8	8,08445	2,85829
	US3	26,7500	8	6,75595	2,38859
Pair 15	US2	29,1250	8	6,87516	2,43074
	US3	26,7500	8	6,75595	2,38859
Pair 16	CRS1	,7375	8	,23903	,08451
	CRS2	,6337	8	,25768	,09110
Pair 17	CRS1	,7375	8	,23903	,08451
	CRS3	,6150	8	,26699	,09440
Pair 18	CRS2	,6337	8	,25768	,09110
	CRS3	,6150	8	,26699	,09440
Pair 19	GLIS1	81,6250	8	5,99851	2,12079
	GLIS2	80,0000	8	5,50325	1,94569
Pair 20	GLIS1	81,6250	8	5,99851	2,12079
	GLIS3	80,0000	8	6,09449	2,15473
Pair 21	GLIS2	80,0000	8	5,50325	1,94569
	GLIS3	80,0000	8	6,09449	2,15473
Pair 22	ASTS1	28,6250	8	9,66492	3,41707
	ASTS2	27,1250	8	8,87110	3,13641
Pair 23	ASTS1	28,6250	8	9,66492	3,41707
	ASTS3	26,2500	8	10,83315	3,83010
Pair 24	ASTS2	27,1250	8	8,87110	3,13641
	ASTS3	26,2500	8	10,83315	3,83010
Pair 25	ALTS1	32,8750	8	15,67926	5,54346
	ALTS2	31,5000	8	14,81312	5,23723
Pair 26	ALTS1	32,8750	8	15,67926	5,54346
	ALTS3	27,2500	8	14,10927	4,98838
Pair 27	ALTS2	31,5000	8	14,81312	5,23723
	ALTS3	27,2500	8	14,10927	4,98838
Pair 28	LINFS1	2,0462	8	,71370	,25233
	LINFS2	2,2788	8	,43630	,15425
Pair 29	LINFS1	2,0462	8	,71370	,25233
	LINFS3	2,5525	8	,51325	,18146
Pair 30	LINFS2	2,2788	8	,43630	,15425
	LINFS3	2,5525	8	,51325	,18146
Pair 31	LEUCS1	6,7475	8	1,51454	,53547
	LEUCS2	7,3713	8	1,52470	,53906
Pair 32	LEUCS1	6,7475	8	1,51454	,53547
	LEUCS3	8,7738	8	1,93307	,68344
Pair 33	LEUCS2	7,3713	8	1,52470	,53906
	LEUCS3	8,7738	8	1,93307	,68344
Pair 34	PLAQS1	233,6250	8	36,48850	12,90063
	PLAQS2	235,3750	8	39,95332	14,12563
Pair 35	PLAQS1	233,6250	8	36,48850	12,90063
	PLAQS3	237,6250	8	38,45568	13,59614
Pair 36	PLAQS2	235,3750	8	39,95332	14,12563
	PLAQS3	237,6250	8	38,45568	13,59614
Pair 37	KS1	4,1000	8	,16903	,05976
	KS2	4,0750	8	,21213	,07500
Pair 38	KS1	4,1000	8	,16903	,05976
	KS3	4,1000	8	,17728	,06268
Pair 39	KS2	4,0750	8	,21213	,07500
	KS3	4,1000	8	,17728	,06268
Pair 40	NAS1	139,8750	8	1,55265	,54894
	NAS2	140,7500	8	1,66905	,59010
Pair 41	NAS1	139,8750	8	1,55265	,54894
	NAS3	141,6250	8	3,29231	1,16401
Pair 42	NAS2	140,7500	8	1,66905	,59010
	NAS3	141,6250	8	3,29231	1,16401

Grupo Suplementado

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	PCRS1 & PCRS2	8	,631	,093
Pair 2	PCRS1 & PCRS3	8	,791	,020
Pair 3	PCRS2 & PCRS3	8	,413	,309
Pair 4	ALBS1 & ALBS2	8	,927	,001
Pair 5	ALBS1 & ALBS3	8	,244	,560
Pair 6	ALBS2 & ALBS3	8	,305	,463
Pair 7	PREALBS1 & PREALBS2	8	,175	,679
Pair 8	PREALBS1 & PREALBS3	8	,214	,610
Pair 9	PREALBS2 & PREALBS3	8	,879	,004
Pair 10	CKS1 & CKS2	8	,660	,075
Pair 11	CKS1 & CKS3	8	,761	,028
Pair 12	CKS2 & CKS3	8	,445	,269
Pair 13	US1 & US2	8	,864	,006
Pair 14	US1 & US3	8	,758	,029
Pair 15	US2 & US3	8	,677	,065
Pair 16	CRS1 & CRS2	8	,912	,002
Pair 17	CRS1 & CRS3	8	,432	,285
Pair 18	CRS2 & CRS3	8	,577	,134
Pair 19	GLIS1 & GLIS2	8	,701	,053
Pair 20	GLIS1 & GLIS3	8	,782	,022
Pair 21	GLIS2 & GLIS3	8	,912	,002
Pair 22	ASTS1 & ASTS2	8	,884	,004
Pair 23	ASTS1 & ASTS3	8	,962	,000
Pair 24	ASTS2 & ASTS3	8	,863	,006
Pair 25	ALTS1 & ALTS2	8	,897	,003
Pair 26	ALTS1 & ALTS3	8	,953	,000
Pair 27	ALTS2 & ALTS3	8	,848	,008
Pair 28	LINFS1 & LINFS2	8	,625	,098
Pair 29	LINFS1 & LINFS3	8	,541	,166
Pair 30	LINFS2 & LINFS3	8	,879	,004
Pair 31	LEUCS1 & LEUCS2	8	,943	,000
Pair 32	LEUCS1 & LEUCS3	8	,901	,002
Pair 33	LEUCS2 & LEUCS3	8	,948	,000
Pair 34	PLAQS1 & PLAQS2	8	,923	,001
Pair 35	PLAQS1 & PLAQS3	8	,365	,374
Pair 36	PLAQS2 & PLAQS3	8	,409	,314
Pair 37	KS1 & KS2	8	,478	,231
Pair 38	KS1 & KS3	8	,715	,046
Pair 39	KS2 & KS3	8	,684	,061
Pair 40	NAS1 & NAS2	8	,593	,122
Pair 41	NAS1 & NAS3	8	,465	,246
Pair 42	NAS2 & NAS3	8	,604	,112

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	PCRS1 - PCRS2	-,01875	,09188	,03248	-,09556	,05806	-,577	7	,582
Pair 2	PCRS1 - PCRS3	-,13287	,22996	,08130	-,32513	,05938	-1,634	7	,146
Pair 3	PCRS2 - PCRS3	-,11412	,25631	,09062	-,32840	,10015	-1,259	7	,248
Pair 4	ALBS1 - ALBS2	-,21000	,18883	,06676	-,36787	-,05213	-3,146	7	,016
Pair 5	ALBS1 - ALBS3	-,46000	,40455	,14303	-,79821	-,12179	-3,216	7	,015
Pair 6	ALBS2 - ALBS3	-,25000	,27255	,09636	-,47786	-,02214	-2,594	7	,036
Pair 7	PREALBS1 - PREALBS2	-4,27500	5,77253	2,04090	-9,10096	,55096	-2,095	7	,074
Pair 8	PREALBS1 - PREALBS3	-4,31250	6,25150	2,21024	-9,53888	,91388	-1,951	7	,092
Pair 9	PREALBS2 - PREALBS3	-,03750	2,56010	,90513	-2,17780	2,10280	-,041	7	,968
Pair 10	CKS1 - CKS2	74,62500	204,43087	72,27723	-96,28349	245,53349	1,032	7	,336
Pair 11	CKS1 - CKS3	142,62500	179,54223	63,47776	-7,47606	292,72606	2,247	7	,059
Pair 12	CKS2 - CKS3	68,00000	226,68039	80,14362	-121,510	257,50955	,848	7	,424
Pair 13	US1 - US2	-1,63750	4,07008	1,43899	-5,04017	1,76517	-1,138	7	,293
Pair 14	US1 - US3	,73750	5,30847	1,87683	-3,70049	5,17549	,393	7	,706
Pair 15	US2 - US3	2,37500	5,47560	1,93592	-2,20271	6,95271	1,227	7	,260
Pair 16	CRS1 - CRS2	,10375	,10555	,03732	,01551	,19199	2,780	7	,027
Pair 17	CRS1 - CRS3	,12250	,27065	,09569	-,10377	,34877	1,280	7	,241
Pair 18	CRS2 - CRS3	,01875	,24151	,08539	-,18316	,22066	,220	7	,832
Pair 19	GLIS1 - GLIS2	1,62500	4,47014	1,58043	-2,11213	5,36213	1,028	7	,338
Pair 20	GLIS1 - GLIS3	1,62500	3,99777	1,41342	-1,71722	4,96722	1,150	7	,288
Pair 21	GLIS2 - GLIS3	,00000	2,50713	,88641	-2,09602	2,09602	,000	7	1,000
Pair 22	ASTS1 - ASTS2	1,50000	4,53557	1,60357	-2,29183	5,29183	,935	7	,381
Pair 23	ASTS1 - ASTS3	2,37500	3,06769	1,08459	-,18965	4,93965	2,190	7	,065
Pair 24	ASTS2 - ASTS3	,87500	5,48862	1,94052	-3,71360	5,46360	,451	7	,666
Pair 25	ALTS1 - ALTS2	1,37500	6,96804	2,46357	-4,45043	7,20043	,558	7	,594
Pair 26	ALTS1 - ALTS3	5,62500	4,80885	1,70018	1,60470	9,64530	3,308	7	,013
Pair 27	ALTS2 - ALTS3	4,25000	8,01338	2,83316	-2,44935	10,94935	1,500	7	,177
Pair 28	LINFS1 - LINFS2	-,23250	,55726	,19702	-,69838	,23338	-1,180	7	,277
Pair 29	LINFS1 - LINFS3	-,50625	,61356	,21693	-1,01920	,00670	-2,334	7	,052
Pair 30	LINFS2 - LINFS3	-,27375	,24512	,08666	-,47868	-,06882	-3,159	7	,016
Pair 31	LEUCS1 - LEUCS2	-,62375	,51428	,18183	-1,05370	-,19380	-3,430	7	,011
Pair 32	LEUCS1 - LEUCS3	-2,02625	,86951	,30742	-2,75318	-1,29932	-6,591	7	,000
Pair 33	LEUCS2 - LEUCS3	-1,40250	,68600	,24254	-1,97601	-,82899	-5,783	7	,001
Pair 34	PLAQS1 - PLAQS2	-1,75000	15,35066	5,42728	-14,58348	11,08348	-,322	7	,757
Pair 35	PLAQS1 - PLAQS3	-4,00000	42,27123	14,94514	-39,33964	31,33964	-,268	7	,797
Pair 36	PLAQS2 - PLAQS3	-2,25000	42,63717	15,07452	-37,89557	33,39557	-,149	7	,886
Pair 37	KS1 - KS2	,02500	,19821	,07008	-,14070	,19070	,357	7	,732
Pair 38	KS1 - KS3	,00000	,13093	,04629	-,10946	,10946	,000	7	1,000
Pair 39	KS2 - KS3	-,02500	,15811	,05590	-,15719	,10719	-,447	7	,668
Pair 40	NAS1 - NAS2	-,87500	1,45774	,51539	-2,09370	,34370	-1,698	7	,133
Pair 41	NAS1 - NAS3	-1,75000	2,91548	1,03078	-4,18740	,68740	-1,698	7	,133
Pair 42	NAS2 - NAS3	-,87500	2,64237	,93422	-3,08408	1,33408	-,937	7	,380