

Eiwitten en aminozuren

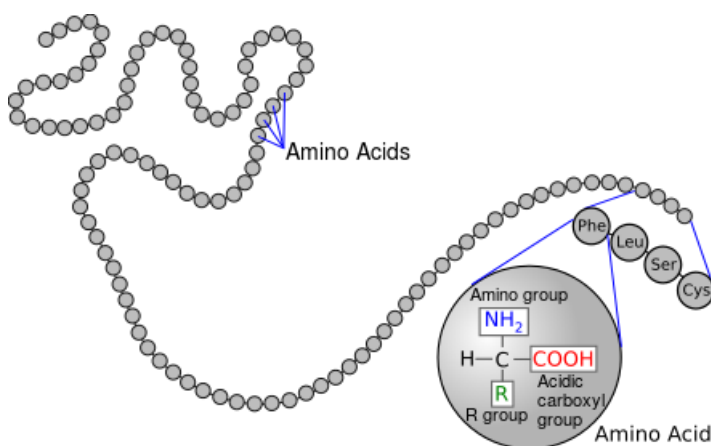
Chris van den Akker

Samenvatting aanbevelingen:

- De gemiddelde eiwitbehoefte (voldoende voor 50% van de populatie) van gezonde a terme neonaten daalt in de eerste 6 maanden van 1,4 g/kg per dag naar 1,0 g/kg per dag.
- De aanbevolen hoeveelheid eiwitten (voldoende voor 97,5% van de populatie) voor gezonde a terme neonaten daalt in de eerste 6 maanden van 1,8 g/kg per dag naar 1,2 g/kg per dag.
- Bij kritiek zieke (septische of postoperatieve) a terme neonaten, kan overwogen worden om in de acuut zieke fase geen of fors lagere hoeveelheden parenterale aminozuren en vetten te geven, met daarnaast een aangepaste dosering intraveneuze glucose en normale hoeveelheden micronutriënten.
- A terme neonaten dienen ná de kritiek zieke fase parenteraal 1,5 (tot maximaal 2,5) g aminozuren/kg per dag te krijgen.
- A terme neonaten dienen na ziekte voor eventuele inhaalgroei enteraal 2,0 tot maximaal 3,0 g eiwitten/kg per dag te krijgen.
- Premature neonaten < 32 weken dienen direct na geboorte parenteraal 1,5 tot 2,5 g aminozuren/kg per dag te krijgen.
- Premature neonaten < 32 weken dienen vanaf dag 2 parenteraal 2,5 tot 3,5 g aminozuren/kg per dag te krijgen.
- Premature neonaten < 32 weken dienen enteraal maximaal 3,5 tot 4,5 g eiwitten/kg per dag te krijgen.
- Voor premature neonaten geboren na 32 weken zijn er nauwelijks studies beschikbaar.
- Bij uitbreiding van enterale voeding wordt de parenterale aminozuurtoediening evenredig verminderd, zodat de totale maximale eiwitintake niet wordt overschreden (som parenteraal en enteraal maximaal bij prematuren 4,5 g/kg/d en bij a termen 3,0 g/kg/d).
- Bij (premature) neonaten met aminozuren in de parenterale voeding dient gestreefd te worden naar een energie intake van 45 tot 55 kcal/kg per dag op dag 1, en ten minste 65 kcal/kg per dag nadien, tezamen met voldoende intake van micronutriënten (met name fosfaat).
- Neonaten dienen parenterale aminozuuroplossingen te krijgen die ontworpen zijn voor jonge kinderen (deze bevatten meer essentiële aminozuren).

Inleiding

Eiwitten zijn een van de belangrijke structurele componenten van het lichaam en vervullen daarnaast talloze afweer-, transport-, enzym-, hormoon- en receptorfuncties. Eiwitten zijn polymeren bestaande uit aminozuren, wat stikstof bevattende moleculen zijn. Er zijn 20 verschillende aminozuren die ingebouwd kunnen worden. De volgorde van aminozuren in een eiwit volgt uit transcriptie en translatie van respectievelijk DNA en RNA. De lengte van een eiwit kan variëren van twee (dipeptide) tot duizenden aminozuren achtereen (figuur 1). De meeste aminozuren hebben echter ook individuele (signaal) functies. Zo is arginine een precursor van stikstofoxide (NO), glutamaat een neurotransmitter, methionine een methyl donor voor DNA-methylatie en is tyrosine een precursor voor bijvoorbeeld dopamine (1). Daarnaast kunnen aminozuren ook bijdragen aan de energie voorziening indien zij geoxideerd worden waarbij zij 4 kcal per gram leveren.



Figuur 1: De primaire eiwitstructuur is een keten van aminozuren. Alle aminozuren bevatten dezelfde amino- en carboxylgroep rond het centrale 'alpha' koolstof atoom en verschillen slechts in de restgroep (R).

Eiwitten

Bijna alle eiwitten in het lichaam ondergaan een continu proces van synthese en afbraak tot losse aminozuren om beschadigde of defecte eiwitten te vervangen. De levensduur (of turnover) van een eiwit varieert van minuten (enzymen) tot weken of maanden (spieren) of praktisch nooit (neuronen en ooglens). De totale hoeveelheid eiwit die per dag wordt afgebroken en weer aangemaakt is enkele malen hoger dan de hoeveelheid eiwit die dagelijks met de voeding binnenkomt (2). De gemiddelde eiwit turnover verloopt bij premature pasgeborenen, net als bij de foetus, sneller dan bij a terme pasgeborenen en veel sneller dan bij volwassenen (3). Het netto verschil tussen eiwitafbraak en -opbouw, maakt of een individu katabool of anabool is, zoals bij respectievelijk cachexie of groei.

Dit proces van eiwitturnover is niet volledig efficiënt, aangezien sommige aminozuren niet herbruikbaar zijn en er voor andere individuele (tijdelijk) overtallige aminozuren geen

opslagplek bestaat, zoals wel voor bijvoorbeeld glucose of vetzuren in de vorm van glycogeen of vet. Deze niet-buikbare aminozuren worden geoxideerd tot CO₂ en ammoniak. Twee moleculen ammoniak worden vervolgens in de lever via de ureumzuurcyclus omgezet in een molecuul ureum, wat vervolgens wordt uitgescheiden via de urine. Ook gaan er eiwitten en aminozuren verloren via de ontlasting (o.a. bacteriën), de huid en een eventueel onrijpe glomerulusfunctie. Het verlies van stikstof bij een eiwitvrij dieet noemt men het *obligate stikstofverlies*. Stikstofverlies moet worden aangevuld via eiwitten/aminozuren in de voeding (onderhoudsbehoefte). Dit verlies bedraagt bij a terme pasgeborenen ongeveer 0,6 g/kg per dag en bij prematuren 1,0 g/kg per dag (4). Daarnaast is bij kinderen extra eiwit noodzakelijk voor groei. De eiwitbehoefte van gezonde kinderen is de som van onderhoudsbehoefte en behoefte voor groei. Bij ziekte neemt de eiwitturnover en inefficiëntie hiervan toe door verhoogde beschadiging en verbruik van bijvoorbeeld cellen, celorganellen, en enzymen. Bij ziekte kunnen daarnaast verhoogde verliezen ontstaan door bijvoorbeeld diarree, renale problemen (verhoogde filtratie en/of verminderde terugresorptie), of via drains en open wonden. Deze extra verliezen moeten via de voeding worden aangevuld.

Zoals beschreven kunnen aminozuren dienen voor eiwitsynthese, synthese van andere componenten (zoals nucleotiden, catecholamines, of neurotransmitters), en als energiebron. Eiwitsynthese kost veel energie. Dat betekent dat er pas stikstofretentie (en dus aangroei van eiwit) optreedt als naast aminozuren ook voldoende energie wordt gesuppleerd in de vorm van vetten en koolhydraten. Is er onvoldoende energie beschikbaar, dan zullen de aminozuur concentraties stijgen en worden de aminozuren geoxideerd voor energie generatie, leidend tot vorming van ammoniak en vervolgens ureum. Om ongewenste oxidatie te voorkomen, wordt derhalve geadviseerd om 30 tot 40 kcal aan energie te suppleren per gram toegediende eiwitten (5).

Aminozuren

De verschillende aminozuren worden onderverdeeld in essentiële, niet-essentiële en semi-essentiële aminozuren (tabel 1). Essentiële aminozuren kunnen niet door het lichaam aangemaakt worden, maar dienen via de voeding opgenomen te worden. Niet-essentiële aminozuren kunnen wel gesynthetiseerd worden uit andere aminozuren of glucose. Semi-essentiële of conditioneel essentiële aminozuren kunnen in theorie gesynthetiseerd worden, maar hun synthese is gelimiteerd in bepaalde omstandigheden. Dit kan komen door het tekortschieten van onrijpe enzymssystemen bij (premature) neonaten of doordat bij ziekte de behoefte dusdanig is gestegen dat de eigen enzymwerking onvoldoende is om in de totale behoefte te voldoen (6).

Als de hoeveelheid van één of meerdere (semi-)essentiële aminozuren in een voedingsdieet relatief laag is, kan er een tekort aan dit aminozuur ontstaan. De overige aminozuren kunnen door het ontbreken van het limiterende aminozuur niet gebruikt worden voor eiwitsynthese en worden vervolgens afgebroken (geoxideerd). Bij een suboptimale balans van essentiële aminozuren spreekt men van een voeding met lage eiwitkwaliteit.

Tabel 1: Essentiële, semi-essentiële en niet-essentiële aminozuren

Essentiële aminozuren	Semi-essentiële aminozuren	Niet-essentiële aminozuren
Histidine	Arginine	Alanine
Isoleucine	Cysteïne	Asparagine
Leucine	Glutamine	Asparaginezuur (aspartaat)
Lysine	Glycine	Glutaminezuur (glutamaat)
Methionine	Proline	Serine
Phenylalanine	Tyrosine	
Threonine		
Tryptofaan		
Valine		

Parenterale voeding

Sinds de jaren '80 van vorige eeuw worden er voor parenterale voeding geen eiwit hydrolysaten maar kristallijne aminozuuroplossingen gebruikt. Hierbij zijn de grootste metabole verstoringen (ernstige acidose en hyperammoniëmie) nauwelijks meer gekend. Sinds de jaren '90 zijn er daarnaast speciale aminozuuroplossingen beschikbaar voor prematuren en jonge kinderen (tot minimaal 2-jarige leeftijd), zoals Primene® (Baxter), TrophAmine® (B.Braun), of Vaminolact® (Fresenius Kabi). Deze aminozuuroplossingen hebben hogere concentraties van de essentiële aminozuren met als doel plasma aminozuurconcentraties te bereiken zoals gevonden in navelstrengbloed of borstgevoede zuigelingen. De samenstelling van de diverse commerciële aminozuuroplossingen verschilt echter significant van elkaar. Het is niet onderzocht welke oplossing of samenstelling een betere groei of uitkomst geeft. In alle oplossingen is de concentratie van tyrosine en cysteïne laag door lage oplosbaarheid en instabiliteit.

Enterale voeding

Na ingestie van voeding worden eiwitten in de dunne darm afgebroken tot oligo-, tri-, en dipeptiden of losse aminozuren en via peptide- of aminozuurtransporters opgenomen in de enterocyt alwaar de peptiden verder gesplitst worden (7). De aminozuren worden deels door de enterocyt zelf gebruikt voor eiwitsynthese, maar het grootste deel wordt uitgescheiden in de portale circulatie. De lever neemt weer een deel van deze aminozuren op voor eigen gebruik en de overgebleven aminozuren komen in de systeemcirculatie en kunnen worden opgenomen en gebruikt door de perifere weefsels.

Eiwitbehoefte bij gezonde a terme neonaten

Algemeen wordt eiwitbehoefte gedefinieerd als de minimale inname van eiwit van hoge kwaliteit, die het obligate stikstofverlies van het lichaam compenseert en waarbij de normale lichaamssamenstelling in stand blijft, uitgaande van een adequate energie inname en normale fysieke activiteit. Bij kinderen, zwangeren, of vrouwen die borstvoeding geven, moet hierbij

de extra eiwitbehoefte opgeteld worden, die nodig is voor normale groei van weefsels of de productie van moedermelk (8).

Voor gezonde zuigelingen jonger dan zes maanden, zou een andere veronderstelling kunnen zijn, om de eiwitbehoefte in principe gelijk te stellen aan de eiwitinname die door borstvoeding wordt verkregen (8, 9). De concentratie eiwit in moedermelk wisselt echter per dag, tijdstip van de dag, en tussen voor- en achtermelk. Daarnaast wisselt het gedronken volume sterk en is deze hoeveelheid lastig nauwkeurig te meten. Dit maakt dat berekeningen vanuit moedermelk een zekere foutmarge kennen (10). Derhalve wordt de behoefte voor jonge zuigelingen ook volgens de hierboven genoemde factoriële manier berekend (8).

De gemiddelde eiwitbehoefte (voldoende voor 50% van de populatie) van gezonde a terme neonaten daalt in de eerste 6 maanden van 1,4 g/kg per dag naar 1,0 g/kg per dag (8, 11, 12). De aanbevolen hoeveelheid eiwitten (voldoende voor 97,5% van de populatie) voor gezonde a terme neonaten daalt in de eerste 6 maanden van 1,8 g/kg per dag naar 1,2 g/kg per dag (8, 11, 12). Praktisch gezien zijn de aanbevolen hoeveelheden de richtlijn die in de kliniek aangehouden dient te worden, aangezien anders bijna 50% van alle kinderen te weinig eiwitten zou krijgen. Alleen voor energie-inname, wordt de gemiddelde behoefte aangehouden in verband met een te groot risico op obesitas. De behoeftes van de individuele aminozuren zijn eveneens bekend; hiervoor wordt verwezen naar het WHO rapport (8).

Wat betreft obesitas is het belangrijk te weten dat kunstvoeding hogere hoeveelheden eiwitten bevat dan moedermelk. Historisch gezien is hiervoor gekozen vanuit de gedachte dat 'meer' beter zou zijn, de eiwitsamenstelling van kunstvoeding mogelijk suboptimaal is, en ter voorkoming van ondervoeding omdat kunstgevoede zuigelingen minder invloed hebben op het volume dat zij drinken (13, 14). De laatste jaren is het eiwitgehalte van standaard zuigelingenvoeding echter deels verlaagd aangezien het duidelijk wordt dat een hoge eiwitinname gedurende de zuigelingen- en peuter-leeftijd de kans op obesitas later fors doet toenemen (15-18). Deze op het eerste oog tegenstrijdige oorzaak wordt veroorzaakt doordat eiwitten eveneens de IGF-1 as stimuleren, insuline secretie doen toenemen, en β -oxidatie van vetzuren remmen (19, 20).

Eiwitbehoefte bij zieke a terme neonaten

Over de eiwitbehoefte tijdens ziekte bij a terme neonaten is slechts weinig onderzoek gedaan. Recent zijn er echter aanwijzingen verschenen dat zowel bij kritiek zieke volwassenen als ook neonaten en kinderen het toedienen van parenterale voeding in de vroege acute fase een toename laat zien op het ontstaan van nosocomiale infecties (21, 22). Met name aminozuren zouden hier debet aan zijn (23, 24). Een verklaring hiervoor is dat een geforceerde toevloed van metabolieten tijdens parenterale voeding, het natuurlijke proces van autofagie tijdens inflammatie verstoort (25, 26). Ondanks dat bovenstaand concept een omslag is ten opzichte van eerdere ideeën en nog niet in een tweede studie is bevestigd bij neonaten, is het moeilijk de gunstige effecten van een veel restrictiever parenterale voedingsbeleid volledig te negeren. Derhalve kan overwogen worden om bij ernstig zieke of postoperatieve a terme

neonaten, in de acuut zieke fase (maximaal 1 week) geen parenterale eiwitten en vetten te geven, maar slechts een lage hoeveelheid glucose (2.5-5.0 mg/kg/min, mede o.g.v. bloed concentraties (27)) en wel vitamines en mineralen te suppleren (in lichtbeschermd infusiespuiten en -lijnen). Voor verdere onderbouwing wanneer en hoeveel aminozuren te suppleren tijdens de kritiek zieke fase wordt verwezen naar het werkboek *Voeding bij kinderen* in het hoofdstuk *Parenterale Voeding en PICU*.

Tijdens de herstelfase na ziekte is vermoedelijk wel een hogere eiwit intake nodig. Parenteraal kan 1,5 tot 2,5 g aminozuren/kg per dag te worden gesuppleerd tijdens de herstelfase (28). Enteraal wordt 2,0 tot 3,0 g eiwitten/kg per dag geadviseerd (29).

Eiwitbehoefte bij premature neonaten

De foetus krijgt via de placenta een continue aanvoer van aminozuren, geschat op ongeveer 3,5 à 4,0 g/kg per dag, waarvan tot de helft wordt geoxideerd. Een van de verschillen tussen foetus en neonat is echter, dat de placenta de hoeveelheid individuele aminozuren die getransporteerd wordt, optimaliseert naar behoefte. Daarnaast neemt de placenta de afbraakproducten zoals ammoniak en ureum op uit de foetale circulatie. Toch tolereren ook de meest premature neonaten doorgaans dergelijke hoeveelheden eiwitten goed.

Als uitgangspunt voor de eiwitbehoefte van premature neonaten wordt de hoeveelheid eiwit genomen die nodig is om een gelijke groei en lichaamssamenstelling te behouden zoals in utero bij gelijke postconceptionele leeftijd. Naast groei dienen ook de neurologische en metabole uitkomsten niet verstoord te worden door een onjuiste hoeveelheid voeding.

Voor premature neonaten <32 weken wordt aanbevolen direct na de geboorte te starten met aminozuren om de continue aanvoer zoals deze ook intra-uterien bestond niet te onderbreken. Er zijn meerdere studies die aantonen dat 1,5 tot 2,5 g/kg per dag aan parenterale aminozuren direct na geboorte diverse positieve effecten hebben. Na één à twee dagen dient de parenterale hoeveelheid gemaximaliseerd te worden op 3,5 g/kg per dag (28). Van hogere parenterale innames zijn onvoldoende studies verricht (30-33) en nimmer voordelen beschreven. Eén van deze studies laat zelfs negatieve uitkomsten zien (30, 34) al was de studie opzet niet optimaal (4). Mogelijk was daarnaast de kwaliteit van de aminozuuroplossing suboptimaal, en werden er te weinig micronutriënten en energie gesuppleerd, waardoor er toxische aminozuurstapeling en hyperammoniëmie kon ontstaan. Enteraal lijken hogere hoeveelheden eiwitten goed getolereerd te worden en veilig te zijn. Enteraal zijn de aanbevelingen tussen de 3,5 en 4,5 g/kg per dag bij premature neonaten <32 weken bij geboorte (35). Hiermee kan doorgaans een groei bereikt worden die gelijk is aan de intra-uteriene groeicurves of deze benadert (36-39). Bij uitbreiding van de enterale voeding kan de parenterale aminozuurtoediening evenredig worden verminderd, zodat de totale eiwitintake (som parenteraal en enteraal) de 4,5 g/kg per dag niet overschrijdt.

Moedermelk bevat echter onvoldoende eiwitten om aan de aanbevelingen te voldoen. Bij preterme moedermelk daalt eveneens de eiwitconcentratie binnen enkele weken naar waarden zoals gezien bij moeders van a terme neonaten (van 1,6 naar 1,1 g/100 mL) (9, 40). Bekend is dat donormelk nog minder eiwit bevat (0,9 g/100 mL) dan preterme moedermelk,

doordat donormelk meestal afkomstig is van moeders enkele maanden na de bevalling. Tevens gaan door het productie- en bereidingsproces diverse voedingsstoffen waaronder eiwitten en vetten verloren (40, 41). Derhalve dient moedermelk voor prematuren (geboren <34 weken) altijd verrijkt te worden met macro- en micronutriënten (zie ook hoofdstuk over moedermelk).

Bij prematuren is gebleken dat indien vanaf geboorte aminozuren worden toegediend bij een energie-inname van slechts 30 kcal/kg per dag, de balans tussen eiwitopbouw en eiwitafbraak positief kan zijn (42). Echter, bij zo'n lage energie-inname lijkt dit over meerdere dagen niet te gelden. Er dient zo snel mogelijk gestreefd te worden naar een energie-intake van minimaal 65 kcal/kg per dag (28, 43). Een ratio van 30 tot 40 kcal per gram toegediende eiwitten lijkt de eiwitsynthese te maximaliseren, waarbij de maximale intake van 135 kcal/kg per dag niet overschreden dient te worden (35).

Daarnaast is er de laatste jaren meer aandacht gekomen voor gelijktijdige toediening van micronutriënten, welke ook nodig zijn voor optimale celopbouw in het kader van anabolisme. Fosfaat, onder andere nodig voor ATP, fosfolipiden en DNA synthese, is hier essentieel in en dient voldoende te worden gesuppleerd opdat geen tekorten ontstaan met negatieve gevolgen (44-47).

Controles:

Controle van ureum concentraties zijn eigenlijk, met name in de parenterale fase, een slechte maat van eiwitintolerantie. Enerzijds omdat ureum concentraties eveneens worden beïnvloed door nierfunctie en vullingstoestand, anderzijds omdat ureum het product is van succesvolle aminozuuroxidatie waarbij de meest toxische eindproducten reeds weggevangen zijn (te hoge aminozuur en ammoniak concentraties). Desalniettemin zijn hoge ureum concentraties wel een teken dat de aminozuren niet volledig optimaal gebruikt worden voor anabolisme. Dit kan meerdere redenen hebben, waaronder sepsis, een suboptimale kwaliteit van de toegediende aminozuren of eiwitten of een te lage energie-inname.

Het is daarnaast ook niet bekend of hoge ureumconcentraties zelf ook toxisch kunnen zijn (4). Pragmatisch kan men in de parenterale fase het ureum een enkele keer controleren. Indien deze hoger dan 10 mmol/L is, kan worden geadviseerd de aminozuur intake niet verder te verhogen en vanaf 15 mmol/L deze te verlagen. Bij prematuren dient echter in principe niet minder dan 0.5-1 g aminozuren/kg per dag gegeven te worden om verdere eiwitafbraak, wat ook leidt tot ammoniak- en ureumvorming, te voorkomen. In de latere enterale voedingsfase, wanneer het ureum het betere correlatie heeft met de eiwit inname (48), kan men bij onvoldoende groei door het ureum te controleren, zien of er ruimte is voor suppletie van extra eiwit *fortifier* (indien ureum < 7,5 mmol/L).

Referenties:

1. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*. 2009;37(1):1-17.

2. Hoffer LJ. Human Protein and Amino Acid Requirements. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2016;40(4):460-74.
3. Goldspink DF, Kelly FJ. Protein turnover and growth in the whole body, liver and kidney of the rat from the foetus to senility. *The Biochemical journal.* 1984;217(2):507-16.
4. Van den Akker CH, Vlaardingerbroek H, Van Goudoever JB. Nutritional support for extremely low-birth weight infants: abandoning catabolism in the neonatal intensive care unit. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010;13(3):327-35.
5. Embleton ND. Optimal protein and energy intakes in preterm infants. *Early Hum Dev.* 2007;83(12):831-7.
6. Furst P, Stehle P. What are the essential elements needed for the determination of amino acid requirements in humans? *J Nutr.* 2004;134(6 Suppl):1558S-65S.
7. Kiela PR, Ghishan FK. Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2016;30(2):145-59.
8. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Protein and amino acid requirements in human nutrition. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 2007;935(935):1-265.
9. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC pediatrics.* 2014;14:216.
10. Stam J, Sauer PJ, Boehm G. Can we define an infant's need from the composition of human milk? *Am J Clin Nutr.* 2013;98(2):521S-8S.
11. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for protein. *EFSA Journal.* 2012;10(2):2557.
12. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on nutrient requirements and dietary intakes of infants and young children in the European Union. *EFSA Journal.* 2013;11(10):3408-510.
13. Lonnerdal B, Hernell O. An Opinion on "Staging" of Infant Formula: A Developmental Perspective on Infant Feeding. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;62(1):9-21.
14. Hester SN, Hustead DS, Mackey AD, Singhal A, Marriage BJ. Is the macronutrient intake of formula-fed infants greater than breast-fed infants in early infancy? *J Nutr Metab.* 2012;2012:891201.
15. Michaelsen KF, Greer FR. Protein needs early in life and long-term health. *Am J Clin Nutr.* 2014;99(3):718S-22S.
16. Weber M, Grote V, Closa-Monasterolo R, Escribano J, Langhendries JP, Dain E, et al. Lower protein content in infant formula reduces BMI and obesity risk at school age: follow-up of a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2014;99(5):1041-51.
17. Lind MV, Larnkjaer A, Molgaard C, Michaelsen KF. Dietary protein intake and quality in early life: impact on growth and obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2017;20(1):71-6.
18. Patro-Golab B, Zalewski BM, Kouwenhoven SM, Karas J, Koletzko B, Bernard van Goudoever J, et al. Protein Concentration in Milk Formula, Growth, and Later Risk of Obesity: A Systematic Review. *J Nutr.* 2016;146(3):551-64.
19. Socha P, Grote V, Gruszfeld D, Janas R, Demmelmair H, Closa-Monasterolo R, et al. Milk protein intake, the metabolic-endocrine response, and growth in infancy: data from a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(6 Suppl):1776S-84S.
20. Kirchberg FF, Harder U, Weber M, Grote V, Demmelmair H, Peissner W, et al. Dietary protein intake affects amino acid and acylcarnitine metabolism in infants aged 6 months. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(1):149-58.

21. Fivez T, Kerklaan D, Mesotten D, Verbruggen S, Wouters PJ, Vanhorebeek I, et al. Early versus Late Parenteral Nutrition in Critically Ill Children. *N Engl J Med*. 2016;374(12):1111-22.
22. Casaer MP, Mesotten D, Hermans G, Wouters PJ, Schetz M, Meyfroidt G, et al. Early versus late parenteral nutrition in critically ill adults. *N Engl J Med*. 2011;365(6):506-17.
23. Vanhorebeek I, Verbruggen S, Casaer MP, Gunst J, Wouters PJ, Hanot J, et al. Effect of early supplemental parenteral nutrition in the paediatric ICU: a preplanned observational study of post-randomisation treatments in the PEPaNIC trial. *Lancet Respir Med*. 2017;5(6):475-83.
24. van Puffelen E, Vanhorebeek I, Joosten KFM, Wouters PJ, Van den Berghe G, Verbruggen SCAT. Early versus late parenteral nutrition in critically ill, term neonates: a preplanned secondary subgroup analysis of the PEPaNIC multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet Child & Adolescent Health*. 2018;2(7):505-15.
25. Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*. 2011;469(7330):323-35.
26. McClave SA, Weijs PJ. Preservation of autophagy should not direct nutritional therapy. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015;18(2):155-61.
27. Mesotten D, Joosten K, van Kempfen A, Verbruggen S, nutrition EEECWgopp. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Carbohydrates. *Clin Nutr*. 2018.
28. van Goudoever JB, Carnielli V, Darmaun D, Sainz de Pipaon M, nutrition EEECWgopp. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Amino acids. *Clin Nutr*. 2018.
29. Mehta NM, Compher C, Directors ASPENBo. A.S.P.E.N. Clinical Guidelines: nutrition support of the critically ill child. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2009;33(3):260-76.
30. Blanco CL, Gong AK, Schoolfield J, Green BK, Daniels W, Liechty EA, et al. Impact of Early and High Amino Acid Supplementation on ELBW Infants at 2 Years. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2012;54(5):601-7.
31. Burattini I, Bellagamba MP, Spagnoli C, D'Ascenzo R, Mazzoni N, Peretti A, et al. Targeting 2.5 versus 4 g/kg/day of amino acids for extremely low birth weight infants: a randomized clinical trial. *J Pediatr*. 2013;163(5):1278-82 e1.
32. Morgan C, McGowan P, Herwitker S, Hart AE, Turner MA. Postnatal head growth in preterm infants: a randomized controlled parenteral nutrition study. *Pediatrics*. 2014;133(1):e120-8.
33. Blanco CL, Gong AK, Green BK, Falck A, Schoolfield J, Liechty EA. Early changes in plasma amino acid concentrations during aggressive nutritional therapy in extremely low birth weight infants. *The Journal of pediatrics*. 2011;158(4):543-8 e1.
34. Blanco CL, Falck A, Green BK, Cornell JE, Gong AK. Metabolic responses to early and high protein supplementation in a randomized trial evaluating the prevention of hyperkalemia in extremely low birth weight infants. *J Pediatr*. 2008;153(4):535-40.
35. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010;50(1):85-91.
36. Ziegler EE, Carlson SJ. Growth Failure Due to Inadequate Protein Intake Is Common Among Small Preterm Infants. *Nutrition Today*. 2016;51(5):228-32.

37. Cormack BE, Bloomfield FH. Increased protein intake decreases postnatal growth faltering in ELBW babies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2013;98(5):F399-404.
38. Lapointe M, Barrington KJ, Savaria M, Janvier A. Preventing postnatal growth restriction in infants with birthweight less than 1300 g. *Acta Paediatr.* 2016;105(2):e54-9.
39. Senterre T, Rigo J. Reduction in postnatal cumulative nutritional deficit and improvement of growth in extremely preterm infants. *Acta Paediatr.* 2012;101(2):e64-70.
40. Radmacher PG, Lewis SL, Adamkin DH. Individualizing fortification of human milk using real time human milk analysis. *J Neonatal Perinatal Med.* 2013;6(4):319-23.
41. O'Connor DL, Ewaschuk JB, Unger S. Human milk pasteurization: benefits and risks. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2015;18(3):269-75.
42. Van den Akker CH, Te Braake FW, Wattimena DJ, Voortman G, Schierbeek H, Vermes A, et al. Effects of early amino acid administration on leucine and glucose kinetics in premature infants. *Pediatr Res.* 2006;59(5):732-5.
43. Joosten K, Embleton N, Yan W, Senterre T, nutrition EEECWgopp. ESPGHAN/ESPEN/ESPR guidelines on pediatric parenteral nutrition: Energy. *Clin Nutr.* 2018.
44. Christmann V, de Grauw AM, Visser R, Matthijsse RP, van Goudoever JB, van Heijst AF. Early postnatal calcium and phosphorus metabolism in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;58(4):398-403.
45. Moltu SJ, Strommen K, Blakstad EW, Almaas AN, Westerberg AC, Braekke K, et al. Enhanced feeding in very-low-birth-weight infants may cause electrolyte disturbances and septicemia--a randomized, controlled trial. *Clin Nutr.* 2013;32(2):207-12.
46. Bonsante F, Iacobelli S, Latorre G, Rigo J, De Felice C, Robillard PY, et al. Initial amino acid intake influences phosphorus and calcium homeostasis in preterm infants--it is time to change the composition of the early parenteral nutrition. *PLoS One.* 2013;8(8):e72880.
47. Christmann V, Gradussen CJ, Kornmann MN, Roeleveld N, van Goudoever JB, van Heijst AF. Changes in Biochemical Parameters of the Calcium-Phosphorus Homeostasis in Relation to Nutritional Intake in Very-Low-Birth-Weight Infants. *Nutrients.* 2016;8(12).
48. Roggero P, Gianni ML, Morlacchi L, Piemontese P, Liotto N, Taroni F, et al. Blood urea nitrogen concentrations in low-birth-weight preterm infants during parenteral and enteral nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.* 2010;51(2):213-5.