



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO



PREDITORES DA COMPOSIÇÃO CORPORAL MATERNA NO PÓS-PARTO E SUA
ASSOCIAÇÃO COM O VOLUME DE LEITE MATERNO

ADRIANA DIVINA DE SOUZA CAMPOS

RIO DE JANEIRO
2024

Adriana Divina de Souza Campos

PREDITORES DA COMPOSIÇÃO CORPORAL MATERNA NO PÓS-PARTO E SUA
ASSOCIAÇÃO COM O VOLUME DE LEITE MATERNO

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Ciências Nutricionais.

Orientador: Professor Dr. Gilberto Kac
Coorientadora: Professora Dr^a. Daniela de Barros Mucci

RIO DE JANEIRO
2024

CIP - Catalogação na Publicação

C198p Campos, Adriana Divina de Souza
PREDITORES DA COMPOSIÇÃO CORPORAL MATERNA NO PÓS
PARTO E SUA ASSOCIAÇÃO COM O VOLUME DE LEITE
MATERNO / Adriana Divina de Souza Campos. -- Rio de
Janeiro, 2024.
182 f.

Orientadora: Gilberto Kac.
Coorientadora: Daniela de Barros Mucci.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio
de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro,
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2024.

1. Composição corporal materna. 2. Pós-parto. 3.
Aleitamento materno. 4. Volume de leite materno. 5.
Deutério. I. Kac, Gilberto, orient. II. Mucci,
Daniela de Barros, coorient. III. Título.

Adriana Divina de Souza Campos

PREDITORES DA COMPOSIÇÃO CORPORAL MATERNA NO PÓS-PARTO E SUA ASSOCIAÇÃO COM O VOLUME DE LEITE MATERNO

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Ciências Nutricionais.

Examinador por:

Prof. Dr. Gilberto Kac

Instituto de Nutrição Josué de Castro / Universidade Federal do Rio de Janeiro
Orientador

Prof. Dr^a. Denise Petrucci Gigante

Faculdade de Nutrição / Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr^a. Fernanda Rebelo dos Santos

Instituto Fernandes Figueira / Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr^a. Luana Caroline dos Santos

Departamento de Nutrição / Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr^a. Aline Alves Ferreira

Instituto de Nutrição Josué de Castro / Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr^a. Patrícia de Carvalho Padilha

Instituto de Nutrição Josué de Castro / Universidade Federal do Rio de Janeiro

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os meus ancestrais. Sem a resiliência deles para enfrentar as adversidades impostas a quem nasce fora das esferas de privilégio, eu não existiria. Em especial, à minha mãe, Ozáilda, e à minha tia, Divina, duas mulheres que, por meio da educação, começaram a transformar a realidade de toda a família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Inteligência Suprema, à causa primária de todas as coisas, Deus! E a todos os trabalhadores amigos que me cercam numa dedicação paciente e amorosa, meus olhos físicos não os veem, mas suas presenças são sentidas. Agradeço aos meus pais, Ozailda e José, por sempre apoiarem as minhas escolhas, mesmo que isso lhes custe a ausência “da mais nova”. Estendo à minha tia/mãe, Divina, os agradecimentos pelo apoio e carinho que sempre me oferece. À minha irmã, Márcia, ao meu sobrinho, Tiago, cunhado, Gustavo, primo, Vilmar Filho, e meu tio, Vilmar. Meu núcleo familiar que fica genuinamente feliz com minhas conquistas. É um privilégio ser criada por pessoas trabalhadoras e de carácter inquestionável.

Agradeço àqueles que estiveram ao meu lado durante todo o processo do doutorado. Gabriela, minha “dupla sertaneja”, acho que o universo fez questão de trazer alguém que realmente entendesse que não é simples mudar de área de pesquisa. Obrigada por todo apoio! Amanda, Ana Lorena, Bruna e Aline, todas são referências de empatia e acolhimento. Sou profundamente grata à ajuda de cada uma! Vocês seguraram minha mão e não me deixaram abater diante das situações contrárias, obrigada! Agradeço a todos os demais amigos, que de perto ou longe, estiveram sempre na torcida: Pedro, Cristina, Morgana, Sarah, Felipe, Annielly, Vanessa, Arthur, Tathiany e Patrícia. Agradeço a Alessandra, que foi outra pessoa providenciada pelo universo para me ajudar nessa caminhada. Hoje “Alê” é minha família. Agradeço ao Gabriel e à Margareth que foram, junto com Alê, minha rede de apoio na cidade do Rio de Janeiro.

Agradeço ao Professor Gilberto Kac pela oportunidade dada, por todos os comentários feitos na construção do material e pelos direcionamentos dados, e a Professora Daniela de Barros Mucci, que foi apoio ao longo do processo. Sou grata à Professora Aline Ferreira por se disponibilizar em revisar a tese e às Professoras Denise Gigante, Patrícia Padilha, Fernanda Rebelo e Luana Santos por terem aceitado participar da banca de defesa.

Agradeço especialmente aos Professores Kim F. Michaelsen e Christian Molgaard, dois “Lords” que gentilmente me receberam e acolheram durante meu intercâmbio, oferecendo orientação e suporte. Junto com Sophie Hilario e Jack Lewis, minha eterna e sincera gratidão ao “Danish team”. Agradeço também a Beatriz Philippi e Maiara, meu “sol brasileiro” durante o inverno do norte, e a Kleanny, que também foi minha rede de apoio.

Agradeço a toda a equipe de campo, que trabalhou com dedicação durante o período de coleta. A qualidade do produto final é fruto do esforço coletivo de uma equipe inteira. Minha gratidão à todas as mulheres que participaram do projeto MILQ, especialmente as que seguiram até o fim. Conviver diretamente com estas mães me fez enxergar de perto as nuances culturais e sociais que, até então, eram tão “televisivas”. Para o projeto, elas foram unidades amostrais, para mim centenas de universos únicos, complexos e cheios de histórias para contar.

Por fim, agradeço à Adriana de 2009, de 2010, 2013, 2016, 2018, 2021, 2022, 2023 e 2024. Mesmo sem quase nada a seu favor, mesmo sendo desencorajada a seguir em frente... ela insistiu! Ela foi da alfabetização ao doutorado pela rede pública de ensino, e só ela sabe todas as dificuldades que precisou superar. Obrigada a ela por não ter ouvido a fala de quem nunca calçou suas sandálias, quem nunca sonhou seus sonhos. Se ela não fosse assim, eu não alcançaria este degrau.

Adriana Divina de Souza Campos

RESUMO

CAMPOS, Adriana Divina de Souza. **Preditores da composição corporal materna no pós-parto e sua associação com o volume de leite materno.** Rio de Janeiro, 2024. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Introdução: A compreensão dos determinantes das mudanças na composição corporal materna (CCM) no pós-parto é limitada, bem como se a adiposidade materna afeta o volume de leite materno (VLM). **Objetivos:** (1) identificar preditores das trajetórias da composição corporal e do índice de massa corporal (IMC) maternos e (2) estimar a associação entre a adiposidade materna e o VLM. **Métodos:** Coorte prospectiva multicêntrica com linha de base na gestação (28 – 35 semanas) (AN) e quatro visitas pós-parto: 24 – 72 horas (C), 1 – 3,49 meses (M1), 3,5 – 5,99 meses (M2) e 6 – 8,5 meses (M3). Foram analisadas 234 díades mãe-filho brasileiras e 188 dinamarquesas. A CCM (massa gorda - MG em kg e %, e massa-livre de gordura – MLG em kg) foi mensurada por bioimpedância elétrica (BIA) e pelo método de transferência de deutério (DTM) entre as visitas M1-M3. O VLM (mL/dia) de 24 horas foi estimado pelo método de pesagem (Dinamarca) e por DTM (Brasil) entre as visitas M1-M3. Análises estatísticas incluíram: (1) modelos lineares longitudinais de efeitos mistos (apenas Brasil) e (2) modelos de curvas de crescimento latente e de regressão logística (RL), separados por país. **Resultados:** (1) A MLG diminuiu significativamente no tempo ($\beta = -0,02$; IC95% -0,03, -0,01). Mulheres com sobrepeso pré-gestacional tiveram ganhos nas médias de todos os componentes corporais (%MG: $\beta = 4,91$; IC95% 3,79, 6,04; MG: $\beta = 6,46$; IC95% 5,26, 7,67; MLG: $\beta = 3,72$; IC95% 2,80, 4,65) e no IMC (kg/m^2) ($\beta = 4,51$; IC95% 3,91, 5,12). Múltiparas aumentaram significativamente o IMC ($\beta = 0,76$; IC95% 0,11, 1,41), e mulheres que tiveram parto cesáreo aumentaram significativamente a MLG ($\beta = 1,87$; IC95% 0,67, 3,07) e o IMC ($\beta = 1,39$; IC95% 0,61, 2,18). Entre mães de meninas, as médias da MG ($\beta = -1,24$; IC95% -2,41, -0,07) e MLG ($\beta = -0,93$; IC95% -1,84, -0,01) diminuíram ao longo do tempo. Os modelos ajustados para interação indicaram que mulheres com sobrepeso pré-gestacional, idade ≥ 30 anos, múltiparas, em aleitamento materno não exclusivo e mães de meninas tiveram ganhos médios semanais diferentes de MG, MLG e %MG. (2) As participantes foram agrupadas em duas categorias segundo suas trajetórias de VLM: “maior” e “média” produção. No Brasil, 41,7% pertenciam à classe de “maior” produção e 58,3% à de “média” produção, enquanto na Dinamarca a maioria (65,4%) estava na classe de “maior” produção. Os modelos de RL indicaram que, no Brasil,

cada aumento de 1 kg de MG (DTM) aumentou em 5% (OR = 1,05, 95%CI 1,00, 1,11) as chances de a mulher ter maior produção de leite. Em contraste, na Dinamarca, esse mesmo aumento na MG (BIA) reduziu em 8% (OR = 0,92; 95%CI 0,88, 0,96) as chances de maior produção. **Conclusões:** Idade materna, IMC pré-gestacional, paridade, renda familiar, padrão do aleitamento materno, tipo de parto e sexo da criança são preditores das trajetórias da CCM e do IMC materno das participantes brasileiras. A adiposidade materna influencia o VLM de forma distinta entre brasileiras e dinamarquesas, sugerindo que outros fatores contextuais devem ser considerados na investigação da produção de leite materno.

Palavras-chave: composição corporal materna; pós-parto; aleitamento materno; volume de leite materno; deutério.

ABSTRACT

CAMPOS, Adriana Divina de Souza. **Preditores da composição corporal materna no pós-parto e sua associação com o volume de leite materno.** Rio de Janeiro, 2024. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Introduction: The understanding of the determinants of postpartum maternal body composition (MBC) changes is limited, as well as whether maternal adiposity affects breast milk volume (BMV). **Objectives:** (1) to identify predictors of maternal body composition and body mass index (BMI) trajectories; and (2) to estimate the association between maternal adiposity and BMV. **Methods:** Prospective multicentre cohort study with a baseline during pregnancy (28–35 gestational weeks) (AN) and four postpartum visits: 24–72 hours (C), 1–3.49 months (M1), 3.5–5.99 months (M2), and 6–8.5 months (M3). Analyses included 234 Brazilian and 188 Danish mother-infant dyads. MBC (fat mass - FM in kg, body fat % - %BF, and fat-free mass – FFM in kg) was measured by bioelectrical impedance (BIA) and deuterium oxide dose-to-mother technique (DTM) between visits M1–M3. The 24 hours BMV (mL/day) was estimated by the test-weighing method (Denmark) and DTM (Brazil) across visits M1–M3. Statistical analyses included: (1) linear mixed-effects models (only Brazil) and (2) latent growth mixture models and logistic regression models (LR), analysed separately by country. **Results:** (1) FFM significantly decreased over time ($\beta = -0.02$; 95%CI -0.03, -0.01). Women with pre-pregnancy overweight had increases in mean values of all body components (%BF: $\beta = 4.91$; 95%CI 3.79, 6.04; FM: $\beta = 6.46$; 95%CI 5.26, 7.67; FFM: $\beta = 3.72$; 95%CI 2.80, 4.65) and BMI (kg/m^2) ($\beta = 4.51$; 95%CI 3.91, 5.12). Multiparous women showed a significant BMI increase ($\beta = 0.76$; 95%CI 0.11, 1.41), and women who delivered via cesarean section had significant increases in FFM ($\beta = 1.87$; 95%CI 0.67, 3.07) and BMI ($\beta = 1.39$; 95%CI 0.61, 2.18). Among mothers of girls, FM ($\beta = -1.24$; 95%CI -2.41, -0.07) and FFM ($\beta = -0.93$; 95%CI -1.84, -0.01) significantly decreased over time. Interaction-adjusted models indicated that women with pre-pregnancy overweight, age ≥ 30 years, multiparity, non-exclusive breastfeeding, and mothers who gave births to girls experienced different weekly average gains in FM, FFM, and %BF. (2) Participants were categorized into two groups based on their BMV trajectories: “higher” and “medium” production. In Brazil, 41.7% were classified as “higher” producers and 58.3% as “medium” producers, while in Denmark, most participants (65.4%) were in the “higher” production group. LR models indicated that in Brazil, each 1 kg increase

in FM (DTM) increased the odds of belonging to the higher milk production category by 5% (OR = 1.05, 95%CI 1.00, 1.11). In contrast, in Denmark, the same increase in FM (BIA) decreased the odds of higher production by 8% (OR = 0.92; 95%CI 0.88, 0.96). **Conclusions:** Maternal age, pre-pregnancy BMI, parity, family income, breastfeeding pattern, delivery type, and infant sex are predictors of MBC and BMI trajectories among Brazilian mothers. Maternal adiposity influences BMV differently between Brazilian and Danish women, suggesting that other contextual factors should also be considered when investigating breast milk production.

Key-words: maternal body composition; postpartum period; breastfeeding; breast milk volume; deuterium oxide dose-to-mother technique.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Técnica de transferência mãe-filho de água duplamente marcada para estimar ingestão de leite materno pela criança.....	28
Figura 2 – Modelo de dois compartimentos de água proposto pela técnica de transferência de isótopos.....	29
Figura 3 – Fluxograma do estudo incluindo as variáveis selecionadas para o desenvolvimento desta tese.....	44
Figura 4 – Enriquecimento de deutério na água corporal materna e infantil.	57

Artigo 1

Figura 1 - Fluxograma da amostra final para a análise da composição corporal materna durante a lactação de mulheres acompanhadas na coorte MILQ brasileira (n = 234)

Flow chart of the final sample for the analysis of maternal body composition during lactation of women followed in Brazilian MILQ cohort (n = 234). 101

Figura 2 - Predições longitudinais da composição corporal materna e do Índice de Massa Corporal (IMC) entre 1 – 8,5 meses pós-parto, Brasil (n = 234)

Longitudinal predictions of maternal body composition and Body Mass Index (BMI) between 1 - 8.5 months postpartum, Brazil (n = 234). 102

Figura 3 - Predições longitudinais do percentual de massa gorda (%MG) e massa gorda (kg) maternos entre 1 – 8,5 meses pós-parto de acordo com a idade materna, Brasil (n = 234)

Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to maternal ages, Brazil (n = 234). 103

Figura 4 - Predições longitudinais do percentual de massa gorda (%MG) e massa livre de gordura (MLG) maternos entre 1 – 8,5 meses pós-parto de acordo com os quartis de renda familiar total, Brasil (n = 234)

Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat-free mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to quartiles of total family income, Brazil (n = 234). 104

Figura 5 - Predições longitudinais do percentual de massa gorda (%MG) e massa gorda (kg) entre 1 – 8,5 meses pós-parto de acordo com a paridade, Brasil (n = 234)

Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to parity, Brazil (n = 234). 105

Figura 6 - Predições longitudinais do percentual de massa gorda (%MG) entre 1 – 8,5 meses pós-parto de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC) pré-gestacional, Brasil (n = 234)

Longitudinal predictions of maternal body fat (%) between 1 - 8.5 months postpartum according to pre-pregnancy Body Mass Index (BMI), Brazil (n = 234). 106

Figura 7 - Predições longitudinais da massa gorda (kg) e Índice de Massa Corporal (IMC) maternos entre 1 – 8,5 meses pós-parto de acordo com o sexo da criança, Brasil (n=234)

Longitudinal predictions of maternal fat-free mass (kg) and Body Mass Index (BMI) between 1 - 8.5 months postpartum according to infant sex, Brazil (n = 234). 107

Artigo 2

Figura 1 - Fluxograma das participantes incluídas no estudo de ambas as coortes <i>Flow diagram of participants included in the study from both cohorts.</i>	138
Figura 2 - Grupos de trajetórias latentes de volume de leite materno do Brasil (n = 139) e da Dinamarca (n = 188) <i>Breast milk volume latent-class trajectory group in Brazil (n = 139) and Denmark (n = 188).</i>	139

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 - Características das participantes, Brasil (n = 234)
Characteristics of the participants, Brazil (n = 234). 95

Tabela 2 - Fatores maternos e infantis associados à composição corporal e ao Índice de Massa Corporal (IMC) maternos entre 1 – 8,5 meses pós-parto, Brasil (n = 234)
The maternal and infant factors associated with maternal body composition and Body Mass Index (BMI) between 1 - 8.5 months postpartum, Brazil (n = 234). 98

Tabela suplementar 1 - Características das participantes que completaram todo o acompanhamento e das participantes que abandonaram o estudo em alguma onda
Characteristics of participants who completed all follow-ups and participants who loss the following at some study waves. 108

Tabela suplementar 2 – Modelos de predição longitudinal do percentual de massa gorda (%), massa gorda total (kg), massa livre de gordura (kg) e Índice de Massa Corporal (kg/m²) entre 1 e 8,5 meses pós-parto de acordo com a idade materna, Brasil (n = 234)
Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to maternal ages, Brazil (n = 234). 110

Tabela suplementar 3 – Modelos de predição longitudinal do percentual de massa gorda (%), massa gorda total (kg), massa livre de gordura (kg) e Índice de Massa Corporal (kg/m²) entre 1 e 8,5 meses pós-parto de acordo com os quartis de renda familiar total, Brasil (n = 234)
Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to quartiles of total family income, Brazil (n = 234). 111

Tabela suplementar 4 – Modelos de predição longitudinal do percentual de massa gorda (%), massa gorda total (kg), massa livre de gordura (kg) e Índice de Massa Corporal (kg/m²) entre 1 e 8,5 meses pós-parto de acordo com os quartis de renda familiar total, Brasil (n = 234)
Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to parity, Brazil (n = 234). 112

Tabela suplementar 5 – Modelos de predição longitudinal do percentual de massa gorda (%), massa gorda total (kg), massa livre de gordura (kg) e Índice de Massa Corporal (kg/m²) entre 1 e 8,5 meses pós-parto de acordo com o IMC pré-gestacional, Brasil (n = 234)
Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to pre-pregnancy Body Mass Index (BMI), Brazil (n = 234). 113

Tabela suplementar 6 – Modelos de predição longitudinal do percentual de massa gorda (%), massa gorda total (kg), massa livre de gordura (kg) e Índice de Massa Corporal (kg/m²) entre 1 e 8,5 meses pós-parto de acordo com o sexo da criança, Brasil (n = 234)
Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to infant sex, Brazil (n = 234). 114

Tabela suplementar 7 – Modelos de predição longitudinal do percentual de massa gorda (%), massa gorda total (kg), massa livre de gordura (kg) e Índice de Massa Corporal (kg/m²) entre 1 e 8,5 meses pós-parto de acordo com o tipo de parto, Brasil (n = 234)

Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to delivery mode, Brazil (n = 234). 115

Tabela suplementar 8 – Modelos de predição longitudinal do percentual de massa gorda (%), massa gorda total (kg), massa livre de gordura (kg) e Índice de Massa Corporal (kg/m²) entre 1 e 8,5 meses pós-parto de acordo com o aleitamento materno, Brasil (n = 234)

Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to breastfeeding status, Brazil (n = 234).

..... 116

Artigo 2

Tabela 1 - Características das mulheres lactantes em cada grupo de trajetórias latentes do volume de leite materno do Brasil (n = 139) e da Dinamarca (n = 188)

Characteristics of lactating women within each breast milk volume latent-class trajectory group in Brazil (n = 139) and Denmark (n = 188). 134

Tabela 2 - Modelos de regressão logística explorando a associação entre a adiposidade materna e as trajetórias de classes latentes do volume de leite

Logistic regression models exploring the association of maternal adiposity and milk volume latent-classes trajectories. 136

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Critérios de inclusão e exclusão da amostra da coorte MILQ.....	50
---	----

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	152
Anexo B – Protocolo de antropometria materna e infantil.....	158
Dados técnicos.....	163
Anexo C – Protocolo para administração de isótopo e coleta de saliva materna e infantil ...	176
Anexo D – Parecer Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola – Universidade Federal do Rio de Janeiro	180
Anexo E – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro.....	181
Anexo F – Parecer Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).....	182

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

%MG	Percentual de massa gorda
ACT	Água corporal total
AIC	<i>Akayke Information Criteria</i>
AM	Aleitamento materno
AME	Aleitamento materno exclusivo
BIA	Bioimpedância elétrica
CAP	Coordenadoria de saúde de área programática
CCM	Composição corporal materna
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
D ₂ O	Dióxido de deutério
DP	Desvio padrão
DTM	<i>Deuterium oxide dose-to-mother technique</i>
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DMG	Diabetes mellitus gestacional
DXA	<i>Dual-energy X-ray Absorptiometry</i>
ENANI-2019	Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil
EPDS	<i>Edinburgh Postnatal Depression Scale</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectrometry</i>
GIG	Grande para a idade gestacional
GM	Glândula mamária
GPG	Ganho de peso gestacional
HMHP	Hospital Maternidade Herculano Pinheiro
IMC	Índice de massa corporal
LPL	Lipoproteína lipase
LME	<i>Longitudinal mixed-effects models</i>
LGMM	<i>Latent growth mixture model</i>
MG	Massa gorda
MLG	Massa livre de gordura
NEXS	<i>Department of Nutrition, Exercise and Sports</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
PDA	Pletismografia de deslocamento de ar
ppm	Parte por milhão
QCT	<i>Quantitative Computed Tomography</i>
R-24h	Recordatório alimentar de 24 horas
REDCap	<i>Research Electronic Data Capture</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância
VIF	<i>Variance Inflation Factor</i>
VLM	Volume de leite materno
WHNRC	<i>Western Human Nutrition Research Center</i>

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	9
APRESENTAÇÃO	20
1 INTRODUÇÃO	22
2 REFERENCIAL TEÓRICO	23
2.1 LEITE MATERNO	23
2.1.1 Amamentação	23
2.1.2 Produção do leite materno.....	24
2.1.2.1 Fisiologia da lactação	24
2.1.2.2 Métodos para estimar volume de leite materno	26
2.1.2.3 Obesidade materna e produção de leite materno	30
2.2 ESTADO NUTRICIONAL ANTROPOMÉTRICO MATERNO	32
2.2.1 Obesidade materna	32
2.2.2 Composição corporal materna no pós-parto	33
2.2.3 Métodos de avaliação da composição corporal	36
3 JUSTIFICATIVA	40
4 HIPÓTESES	41
5 OBJETIVOS	42
5.1 OBJETIVO GERAL	42
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
6 MÉTODOS	43
6.1 DESENHO DO ESTUDO	43
6.2 LOCAL DO ESTUDO.....	45
6.2.1 Brasil	45
6.2.2 Dinamarca.....	46
6.3 AMOSTRA E RECRUTAMENTO.....	46
6.3.1 Tamanho da amostra	46
6.3.2 Recrutamento no Brasil.....	48
6.3.3 Recrutamento na Dinamarca	48
6.4 PARTICIPANTES DO ESTUDO	50
6.5 COLETA E CONTROLE DE QUALIDADE DE DADOS	51
6.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO	52
6.6.1 Antropometria e composição corporal materna	52
6.6.1.1 Antropometria materna.....	52
6.6.1.2 Composição corporal materna por bioimpedância elétrica	52
6.6.1.3 Composição corporal materna por diluição de dióxido de deutério	53
6.6.2 Análise de volume de leite de 24 horas – método de diluição de dióxido de deutério	54
6.6.2.1 Antropometria materna e infantil para estimativa do volume de leite materno.....	55
6.6.2.2 Administração da dose de deutério e coleta de saliva	55
6.6.2.3 Análise laboratorial e planilha de cálculo.....	56
6.6.2.4 Cálculo de estimativa de volume de leite materno	57
6.6.3 Análise de volume de leite de 24 horas – método de pesagem.....	58
6.6.4 Covariáveis	59
6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	61
6.7.1 Artigo 1.....	61
6.7.2 Artigo 2.....	63
6.8 ASPECTOS ÉTICOS	64

7 RESULTADOS	65
7.1 ARTIGO 1	66
7.2 ARTIGO 2	117
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	140
9 REFERÊNCIAS.....	142
ANEXOS	152

APRESENTAÇÃO

Esta tese de doutorado utiliza dados das coortes brasileira e dinamarquesa pertencentes ao estudo “*The Mothers, Infants and Lactation Quality (MILQ) Project: A Multi-Center Collaborative Study*”. O MILQ é uma coorte prospectiva com objetivo de estabelecer valores de referência para concentrações de micronutrientes, aminoácidos e outros constituintes do leite materno, com base no acompanhamento de mulheres bem nutridas e seus filhos. A coorte foi realizada em quatro países: Brasil, Dinamarca, Gâmbia e Bangladesh, sob a coordenação geral da Professora Lindsay Allen, do *Western Human Nutrition Research Center (WHNRC) (United States Development Agency, USDA)*, em Davis, Califórnia, EUA.

As cidades selecionadas para o desenvolvimento do projeto foram: Rio de Janeiro no Brasil, Bakau em Gâmbia, Dhaka em Bangladesh e Copenhague na Dinamarca. No Brasil, o estudo foi coordenado pelo Professor Gilberto Kac do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro (INJC-UFRJ). A coordenação na Dinamarca ficou sob a supervisão do Professor Kim F. Michaelsen, do Departamento de Esportes e Nutrição, na Universidade de Copenhague (NEXS-KU).

O MILQ acompanhou pares de mães-filhos desde o terceiro trimestre gestacional até os 8,5 meses de vida da criança. No Brasil, as participantes eram mulheres atendidas no Hospital Maternidade Herculano Pinheiro (HMHP), localizado no bairro de Madureira, zona norte da cidade do Rio de Janeiro, sendo a coleta de dados realizada entre janeiro de 2018 e março de 2022. Vale destacar que devido a pandemia de COVID-19, as atividades de campo foram suspensas entre os meses de março e agosto de 2020, não havendo, portanto, entrada de novas participantes durante este período. Na Dinamarca, a captação das participantes foi realizada em três hospitais públicos da região central de Copenhague sendo eles *Rigshospitalet Hospital, Hvidovre Hospital e Herlev Hospital*. Neste país, a coleta aconteceu entre outubro de 2017 e dezembro de 2019.

O projeto foi financiado pela fundação *Bill & Melinda Gates*. A doutoranda recebeu bolsa de estudo financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e participou da execução do projeto entre 2020 e 2022. Durante este período a mesma supervisionou a coleta de dados, realizou treinamento das equipes de coleta, recrutamento e acompanhamento individual de participantes, além da revisão diária dos questionários aplicados em campo. Adicionalmente, participou ativamente do desenvolvimento do projeto “*The Early Mothers, Infants and Lactation Quality (E-MILQ)*”, o qual é um estudo

complementar do projeto matriz MILQ e foi pensado para responder os mesmos objetivos, porém cobrindo o primeiro mês de lactação. Nesta oportunidade a doutoranda participou da escrita do projeto, bem como da elaboração de seus protocolos, supervisão de todas as atividades de campo e revisão de todos os questionários aplicados nas visitas.

Destaca-se que a aluna realizou período sanduíche no Departamento de Esportes e Nutrição, na Universidade de Copenhagen, sob a supervisão do professor emérito Kim F. Michaelsen e do professor Christian Mølgaard. Esta oportunidade foi financiada pela CAPES, por meio do Programa Institucional de Internacionalização (PrInt).

O objetivo desta tese de doutorado foi descrever a trajetória da composição corporal materna no pós-parto e explorar seus preditores, bem como investigar a associação entre a adiposidade corporal materna e o volume de leite materno produzido ao longo dos primeiros 8,5 meses pós-parto. O documento está estruturado nas seguintes seções: resumo, *abstract*, introdução, referencial teórico, justificativa, objetivos, hipóteses, métodos, resultados, conclusões, referências e anexos. A seção de resultados foi construída sob o formato de artigos científicos com os títulos “*Predictors of longitudinal changes in body composition and BMI of Brazilian lactating women during the first 8.5 months postpartum*” e “*Maternal adiposity and breast milk volume in Brazilian and Danish lactating women: The Mothers, Infants, and Lactation Quality Study (MILQ)*”. Os anexos deste trabalho incluem o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), protocolos de coleta de dados e os pareceres consubstanciados dos comitês de ética. O documento segue as normas técnicas de produção de texto propostas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

1 INTRODUÇÃO

O aleitamento materno exclusivo (AME) é recomendado durante os primeiros seis meses de vida em face dos seus inúmeros benefícios para a saúde da mãe e da criança (WHO, 2013; NGUYEN; JIN; DING, 2017). No entanto, a adesão à esta orientação é comprometida em função de diversas situações, como o atraso no estabelecimento da lactação (BROWNELL *et al.*, 2012) e a produção insuficiente ou percepção de baixa produção de leite materno (GIANNI *et al.*, 2019; PEREZ *et al.*, 2021; HUANG *et al.*, 2022), esta última sendo citada por 44,8% das lactantes em todo o mundo (PÉREZ-ESCAMILLA *et al.*, 2023). Além disso, o sobrepeso e a obesidade materna têm sido identificados como fatores de risco para o sucesso do início e da manutenção do aleitamento materno (AM) (AMIR; DONATH, 2007; BABENDURE *et al.*, 2015).

A produção do leite materno (LM) é afetada por diferentes fatores hormonais, metabólicos e socioeconômicos. Em estudos pré-clínicos, é sugerido que a obesidade materna exerça impacto negativo na produção de leite ao reduzir a atividade da prolactina e aumentar os níveis de leptina e inflamação (LUZARDO-OCAMPO *et al.*, 2023; WALKER *et al.*, 2022b). Mulheres com obesidade pré-gestacional podem apresentar resposta menor da prolactina à sucção, o que pode comprometer o AM (RASMUSSEN; KJOLHEDE, 2004). Além disso, há evidências que o excesso de adiposidade está associado à redução na produção de leite (DIANA *et al.*, 2019; YOUNG *et al.*, 2023). Contudo, em geral os estudos disponíveis sobre esse tema não exploram a composição corporal materna (CCM), focando majoritariamente no índice de massa corporal (IMC) como parâmetro de adiposidade, o qual é limitado na discriminação dos componentes corporais (ROTHMAN, 2008).

Adicionalmente, vale destacar que o pós-parto é um momento importante para o manejo do peso ganho durante a gestação (ENDRES *et al.*, 2015). Sabe-se que o corpo materno sofre inúmeras e expressivas transformações em sua composição ao longo do ciclo reprodutivo (RÖSSNER; ÖHLIN, 1995; SOLTANI; FRASER, 2000; GUNDERSON *et al.*, 2008), e que estas mudanças na composição corporal podem refletir em desfechos de saúde desfavoráveis à longo prazo como hipertensão e doenças cardiovasculares (DCV) (SORIA-CONTRERAS *et al.*, 2020; KIRKEGAARD *et al.*, 2021). Porém, ainda é limitado o entendimento sobre as mudanças dos componentes corporais maternos neste período, especialmente no primeiro ano pós-parto, bem como os fatores que podem estar associados com essas mudanças.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 LEITE MATERNO

2.1.1 Amamentação

O AM refere-se à oferta de LM à criança (direto da mama ou ordenhado), independente de receber ou não outros alimentos (BRASIL, 2015). Sua prática é classificada, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), como: 1) exclusivo: apenas LM é ofertado, sem adição de outros líquidos ou sólidos, com exceção de vitaminas e medicamentos; 2) predominante: além do LM, é ofertado água ou bebidas à base de água (chás, infusões, etc), sucos de frutas e fluidos rituais; 3) complementado: alimentos sólidos ou semissólidos são ofertados de forma complementar ao LM; e 4) misto ou parcial: o lactente recebe LM e outros tipos de leite (WHO, 2008; BRASIL, 2015).

O LM é considerado a melhor opção para a nutrição infantil nos primeiros anos de vida (WHO, 2013; CHOWDHURY *et al.*, 2015). A OMS e o Ministério da Saúde (MS) brasileiro recomendam a prática do aleitamento materno exclusivo (AME) nos primeiros seis meses e o AM complementado até pelo menos os dois anos de vida (WHO, 2013; BRASIL, 2015).

Os benefícios do AM sobre a saúde materna e infantil são inúmeros, a curto e longo prazo (NGUYEN; JIN; DING, 2017). Para o lactente, o AM é associado à melhoria no desenvolvimento cognitivo e prevenção de infecções intestinais e pneumonia, à longo prazo reduz o risco de sobrepeso, obesidade, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e DCV (VICTORA *et al.*, 2016; VERDUCI *et al.*, 2021). Para a mãe os benefícios incluem a prevenção do câncer de mama e ovariano, redução do risco para DM2, hemorragia pós-parto e DCV (VICTORA *et al.*, 2016; BABIC *et al.*, 2020). Além disso, existem evidências que sua duração é um preditor importante da redução do peso durante o período pós-parto (KAC *et al.*, 2004b), bem como seu efeito protetor contra a obesidade (RABI *et al.*, 2021).

No Brasil, desde a década de 1980, as recomendações da OMS são endossadas e incentivadas por meio de leis, normas e programas que promovem o AM. Essas ações têm resultado em aumento da sua duração ao longo do tempo (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Boccolini *et al.* (2023) avaliaram as tendências dos indicadores de AM (início precoce da amamentação, AME <6 meses, AM continuado até um e dois anos de idade) entre os anos de 1996 e 2019. Os resultados deste estudo revelaram que houve avanços em todos os indicadores avaliados e

destaca-se o progresso nas prevalências de AME em crianças menores de seis meses, que foi de 26,9% em 1996 para 45,8% em 2019. Vale mencionar que, embora tenha sido observado este avanço, o Brasil ainda está distante do objetivo global estabelecido pela OMS e pelo Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), que é alcançar 70% de AME até os seis meses até o ano de 2030 (WHO/UNICEF, 2019).

Os motivos que levam lactantes à interrupção do AME antes dos seis meses são diversos. Dentre os principais motivos são citados: baixa escolaridade materna, baixa renda familiar, idade da mãe (mães adolescente ou mães com >35 anos de idade), uso de chupeta (BOCCOLINI; DE CARVALHO; COUTO DE OLIVEIRA, 2015), dificuldade da pega e sucção pelo bebê, dor e/ou lesão mamilar, ingurgitamento mamário, cansaço materno, retorno ao trabalho; a percepção de produção insuficiente de leite pela mãe e a obesidade materna (GIANNI *et al.*, 2019; PÉREZ-ESCAMILLA *et al.*, 2019; KENT *et al.*, 2021; HUANG *et al.*, 2022; HUANG; OUYANG; REDDING, 2019; MARSHALL *et al.*, 2019).

2.1.2 Produção do leite materno

2.1.2.1 Fisiologia da lactação

Morfologicamente, a mama é composta por diferentes tipos celulares e pode ser dividida em dois componentes: estroma mamário, responsável pela sustentação e proteção da mama (tecido conjuntivo denso e tecido adiposo), e parênquima, porção funcional da mama que produz e secreta leite (GEDDES, 2007; HASSIOTOU; GEDDES, 2013; BISWAS *et al.*, 2022).

As glândulas mamárias (GM), responsáveis por produzir e secretar o leite, são consideradas um apêndice epidermal desenvolvido há mais de 300 milhões de anos a partir da diferenciação de glândulas sudoríparas apócrinas (MACIAS; HINCK, 2012). Cada GM é composta por 15 a 20 lobos piramidais formados por ductos ramificados e por lóbulos. Os lóbulos são agrupamentos de 10 a 100 alvéolos e ductos circundados pelo estroma interlobular (GEDDES, 2007). No estroma mamário, além do tecido adiposo e conjuntivo, é possível encontrar também células da imunidade inata, como macrófagos e mastócitos (WATSON; KHALED, 2008).

Os alvéolos ou ácinos mamários, têm a função de secretar o leite e são compostos por dois tipos celulares: epiteliais (camada interna) e mioepiteliais (camada externa). Estas são responsáveis por contraírem-se e expulsarem o leite secretado, em resposta à ocitocina.

Adicionalmente, existem de 10 a 15 ductos mamários, que têm como função principal a drenagem dos lóbulos mamários, conectando os alvéolos ao mamilo (NEVILLE, 2001).

O desenvolvimento das GM ocorre em diferentes fases: a) embriogênese; b) puberdade; c) gestação; d) lactação e e) involução (NEVILLE, 2001). Durante a gestação a mama se prepara para a lactação aumentando a extensão e a ramificação dos ductos mamários, além da intensificação do desenvolvimento lóbulo-alveolar (mamogênese) (GEDDES, 2007). A partir da segunda metade da gestação há o início da função secretora, com a presença de colostro nos alvéolos e nos ductos alveolares. No último trimestre gestacional, ocorre um aumento expressivo do tamanho lobular (GEDDES, 2007). Estas alterações na fase final da gestação são referidas como fase I da lactogênese (KAM *et al.*, 2021).

Na fase I da lactogênese a GM está diferenciada o suficiente para iniciar a secreção de colostro, mas ainda não o produz em grandes volumes em função da presença plasmática de hormônios como a progesterona e o estrogênio (NEVILLE; MORTON, 2001; KAM *et al.*, 2021). Após um período entre 48 e 72h de pós-parto é iniciada a fase II da lactogênese, na qual existe o aumento significativo na produção e modificação da composição do leite materno, que se estabiliza cerca de 96h após o parto. O leite produzido nesta fase é conhecido como leite de transição e esta fase perdura por duas ou três semanas após o parto. Ao final deste período há início da galactopoiese, fase em que o leite materno passa a ser considerado leite maduro e há a manutenção da sua produção (NEVILLE; MORTON; UMEMURA, 2001).

Adicionalmente, após o período de lactação, há a regressão do crescimento mamário a partir do desmame, sendo finalizada quando a mama retorna ao seu tamanho inicial (pré-gestação). Este ciclo pode ser vivenciado repetidas vezes durante a fase reprodutiva da mulher. Existe ainda a fase final do ciclo da GM que se dá pela involução pós-menopausa, a qual é associada com a diminuição da função ovariana (NEVILLE, 2001; HASSIOTOU; GEDDES, 2013).

O tempo de estabelecimento da fase II da lactogênese é essencial para o início da lactação. Seu atraso, quando acontece com mais de 72 horas após o parto, é correlacionado com queda nas taxas de amamentação e redução da extensão do AM (BROWNELL *et al.*, 2012). Este não é um fenômeno raro e os fatores de risco associados à esta condição são: parto cesáreo (SCOTT; BINNS; ODDY, 2007), prematuridade (YU *et al.*, 2019), idade materna > 30 anos de idade, primiparidade e obesidade materna (NOMMSEN-RIVERS *et al.*, 2010). O tecido adiposo é uma fonte extra placentária de progesterona, assim, o excesso de adiposidade materna

retarda a queda da concentração deste hormônio que acontece no pós-parto imediato, o que contribui para o atraso da fase II da lactogênese (LUZARDO-OCAMPO *et al.*, 2023).

2.1.2.2 Métodos para estimar volume de leite materno

São escassos os estudos em humanos que exploram a relação do estado nutricional materno e o VLM, sendo um dos principais desafios enfrentados nestes estudos a estimativa do volume de leite produzido. Existem alguns métodos disponíveis para alcançar este objetivo, sendo os mais empregados os métodos de pesagem e o de diluição de isótopos (COWARD, 1984). Ambos apresentando vantagens e desvantagens (GEDDES *et al.*, 2021).

Estimativa por teste de pesagem

O teste de pesagem é um dos mais tradicionais e amplamente utilizados para estimar o VLM. Esta técnica se destaca por ser minimamente invasiva, simples e de relativa acessibilidade. Sua aplicação teve início em Paris, França, na década de 30 do século 19, (WEAVER, 2010) e tem como princípio pesar do bebê antes e imediatamente após cada mamada ao longo de um período de 24h, sem trocar a fralda ou alterar a roupa da criança. Assim, a diferença entre o peso pré- e pós amamentação reflete o VLM consumido ao longo do dia (COWARD, 1984), o qual é convertido em mL/dia a partir da densidade do leite humano, que é de aproximadamente 1,03 g/mL (NAS, 1991).

Embora amplamente utilizado, este método apresenta algumas limitações. Variações na precisão das balanças, nos protocolos de pesagem, no manuseio de equipamentos clínicos e na interpretação dos resultados podem adicionar fragilidades aos dados (KINOSHITA; WHITE; DOOLAN, 2024). Outro fator que é discutido se refere à perda insensível de água pelo bebê que acontece entre as medidas e deve ser contabilizado para estimar o volume total. Durante a amamentação, a criança perde água por meio da pele (evaporação), dos pulmões (respiração) e por atividades metabólicas diversas (WOODWARD; CUMMING, 1990). É estimado que no primeiro ano de vida, crianças percam entre 0,03 mL/kg/min (HENDRIKSON; SEACAT; NEVILLE, 1985) e 0,048 g/kg/min (DEWEY *et al.*, 1991). No entanto, fatores ambientais como temperatura e umidade (WOODWARD; CUMMING, 1990) podem interferir nessas perdas totais. Desta forma, é necessário que seja aplicado um fator de correção aos valores obtidos pela pesagem, a fim de neutralizar essas perdas (RIOS-LEYVRAZ; YAO, 2023) e se aproximar o máximo possível do volume real produzido.

Não há um consenso sobre qual o melhor fator de correção a ser considerado, visto que as condições ambientais são fatores determinantes nesta questão. Woodward e Cumming (1990) investigaram a influência da umidade e da temperatura ambiente sobre a ingestão de leite (leite materno ou fórmula) em 35 bebês saudáveis australianos, com idade entre seis e 12 semanas. Os pesquisadores aplicaram o teste de pesagem em participantes residentes de uma cidade de clima sub-tropical (Brisbane) e outra de clima frio (Hobart). Os resultados mostraram que não houve uma diferença significativa na ingestão das crianças nos dois ambientes, mas a taxa de perda de água por evaporação aumentou cerca de 0,008 g/min a cada 1°C aumentado na temperatura ambiente. Os autores concluíram que sem a correção pela perda insensível de água, o método subestimava em 5,5% a ingestão de leite pela criança, sugerindo então um acréscimo de 46g/24h para correção.

Butte *et al.* (1991), por sua vez, comparou as estimativas da ingestão de LM obtidas por meio do teste de pesagem com aquelas obtidas pela técnica de transferência de deutério. O estudo, realizado no Texas, EUA, incluiu 38 crianças (20 em AME e 18 amamentadas com fórmula) entre 1 e 4 meses de vida. Os autores relataram que os volumes obtidos por deutério foram consistentemente superiores aos obtidos pelo teste de pesagem, mas essas diferenças eram reduzidas para 5% após a aplicação de um acréscimo de 2% como fator de correção para as perdas insensíveis de água. Em 2001, a *Food and Agriculture Organization* (FAO), sugeriu um acréscimo de 5% para correção dos volumes de leite obtidos pelo teste de pesagem para crianças saudáveis e em AME (FAO; CONSULTATION, 2001).

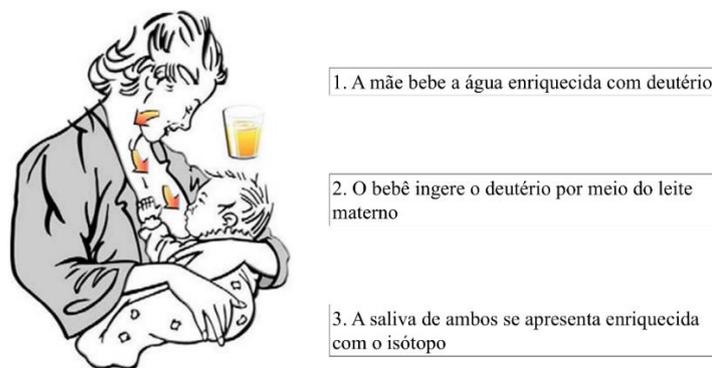
Os resultados obtidos pelo teste de pesagem são frequentemente comparados com os obtidos pela técnica de transferência de isótopo (IAEA, 2010a), sendo a principal diferença entre eles a subestimação dos volume pelo teste de pesagem. Alguns fatores podem explicar esta diferença, como a omissão de algum episódio de aleitamento (MOORE *et al.*, 2007) e a não correção pela perda insensível de água pela criança. Uma revisão sistemática e meta-análise recente mostrou que a diferença entre os dois métodos se torna insignificante após a aplicação desta correção (RIOS-LEYVRAZ; YAO, 2023). No entanto, poucos estudos deixam claro se fizeram esta correção e por qual valor foi corrigido.

Técnica de transferência mãe-filho de água duplamente marcada com deutério

A aplicação da técnica de transferências de isótopos estáveis tem sido feita há décadas em estudos animais e passou a ser inserida em estudo em humanos a partir da década de 1980, por A. Coward (COWARD, 1984). A técnica de transferência mãe-filho de dióxido de deutério

(*Deuterium oxide dose-to-mother technique, DTM*) é considerada padrão-ouro para estimar o VLM (IAEA, 2010a). Sua aplicação agrega uma série de vantagens sobre outras metodologias, como a não interferência na rotina e no comportamento das lactantes, podendo ser realizado sem necessitar da vigilância constante de um pesquisador (MOORE *et al.*, 2007). Sua aplicação baseia-se no seguinte princípio: ofertar à mãe uma dose de água duplamente marcada com deutério (D_2O) e seguir ao longo de 14 dias o isótopo desaparecer da mãe e aparecer na criança (**Figura 1**).

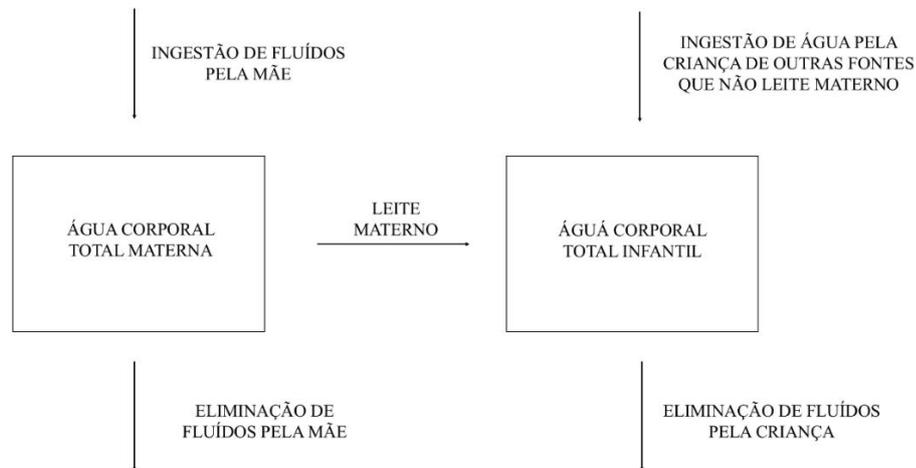
Figura 1 – Técnica de transferência mãe-filho de água duplamente marcada para estimar ingestão de leite materno pela criança.



Fonte: IAEA (2010a) (tradução da autora).

O deutério é um isótopo de hidrogênio estável presente naturalmente no corpo humano e que, portanto, não oferece risco à saúde dos indivíduos (DAVIES, 2020). Quando ofertado oralmente, ele é incorporado à água corporal e posteriormente eliminado por meio de fluidos corporais, como suor, urina, saliva e LM. O modelo teórico que sustenta este método sugere dois compartimentos, sendo o primeiro a água corporal total (ACT) da mãe e o segundo a ACT do bebê (**Figura 2**). Ambos os compartimentos são então conectados pelo fluxo de leite que é transferido da mãe para o filho durante a amamentação (IAEA, 2010a). Desta forma, o VLM produzido durante 24 horas pode ser estimado por meio da ingestão infantil (IM, 1991). Adicionalmente, é possível mensurar outras fontes de líquidos ingeridos pela criança para além do LM (*Non-milk oral intake, NMOI*), o qual vem sendo explorado mais recentemente como uma nova forma de se estabelecer em qual padrão de AM se encontra a criança avaliada (LIU *et al.*, 2019).

Figura 2 – Modelo de dois compartimentos de água proposto pela técnica de transferência de isótopos.



Fonte: IAEA, (2010b) (tradução da autora).

Sua aplicação também pode ser estendida para estudos de composição corporal da mãe. Neste caso, os componentes corporais são determinados por meio da retro-extrapolação de parte dos dados obtidos pela transferência do isótopo. Neste cenário, o peso corporal materno é visualizado como um modelo de dois compartimentos, calculando-se a massa livre de gordura (MLG) total a partir da ACT estimada, seguida da subtração da MLG no peso corporal total para se obter a massa gorda (MG) total e o percentual de massa gorda (%MG) (IAEA, 2010b).

Embora ofereça vantagens, como objetividade e aferição simultânea da produção de LM e da CCM, sua aplicação também apresenta algumas limitações. Moore *et al.* (2007) utilizaram a DTM em 98 díades de mães-filhos, da área rural de Bangladesh, para validar o relato da prática de amamentação a partir dos resultados do deutério. Os autores reportaram boa precisão na validação de práticas de alimentação em nível de grupo, mas destacaram limitações para diferenciar padrões de AM individuais (AME e predominante). Apesar disso, a técnica permanece valiosa para avaliar objetivamente o VLM e estimar a ingestão de nutrientes e outros componentes do leite humano (SLATER; KAESTEL; HOUGHTON, 2019).

No Brasil, há o registro de apenas três estudos que aplicaram a técnica de DTM para estimar o VLM, dois publicados no ano de 2003 e utilizando dados de amostras da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul (ALBERNAZ *et al.*, 2003; HAISMA *et al.*, 2003), e um publicado em 2015, com dados de uma amostra da cidade de Ribeirão Preto, São Paulo (BRAGA *et al.*, 2015). Nenhum dos três se tratava de estudos longitudinais e com amostras variando entre 24

(BRAGA *et al.*, 2015) e 70 (HAISMA *et al.*, 2003) indivíduos. Até o momento não há resultados publicados de estudos longitudinais brasileiros que utilizem esta técnica.

2.1.2.3 Obesidade materna e produção de leite materno

A produção de LM é complexa e envolve ação de hormônios como a prolactina e a ocitocina (NEVILLE; MCFADDEN; FORSYTH, 2002). É descrito na literatura que mulheres com sobrepeso ou obesidade podem desenvolver alterações na GM que as impedem de amamentar exclusivamente (KAM *et al.*, 2021). Este efeito negativo da obesidade sobre o AM vem sendo associado a distúrbios hormonais em nível glandular, como por exemplo a diminuição da atividade da prolactina (LUZARDO-OCAMPO *et al.*, 2023).

Um estudo *in vivo* investigou a sensibilidade à prolactina no tecido mamário e hipotálamo e a responsividade à leptina na GM de camundongas (C57BL/6) obesas. Os animais foram separados em grupo controle e grupo induzido à obesidade por meio de dieta hiperlipídica. Os resultados mostraram que o grupo obeso produziu 33% menos leite e que o tecido mamário e os núcleos do hipotálamo que expressam receptores de prolactina destes animais não responderam ao estímulo deste hormônio, quando comparados ao grupo controle. Adicionalmente, fêmeas obesas com deficiência de leptina programada geneticamente apresentaram resposta normal à prolactina, o que sugere que a presença da leptina é um fator que pode contribuir para a resistência central e periférica à prolactina (BUONFIGLIO *et al.*, 2016).

Em humanos, um estudo realizado em Nova Iorque, EUA, incluindo 40 lactantes (23 eutróficas e 17 sobrepeso/obesidade), investigou a associação do IMC pré-gestacional materno com a redução da resposta da prolactina ao estímulo da sucção. Após o sétimo dia pós-parto, os filhos de lactantes obesas sugavam por mais tempo e a resposta da prolactina à sucção foi significativamente inferior neste grupo, em comparação com grupo eutrófico. A concentração de leptina sérica foi maior no grupo obeso e demonstrou associação negativa com a resposta da prolactina à sucção aos setes dias pós-parto (RASMUSSEN; KJOLHEDE, 2004).

O papel da obesidade na produção do LM é pouco explorado em humanos. Em estudos animais, sugere-se que o ambiente obesogênico afete o desenvolvimento e a atividade da GM. Nesta condição, a GM apresenta um perfil de involução prematura, caracterizado por alterações morfológicas (alvéolos menores e em menor número), aumento do tecido adiposo e perfil endócrino desregulado (redução da prolactina e aumento da atividade da serotonina)

(LUZARDO-OCAMPO *et al.*, 2023). É descrito também que há a hipertrofia de adipócitos e redução da desdiferenciação de pré-adipócitos, e aumento dos níveis de leptina. A soma destas alterações provoca a redução do VLM produzido, diminuição na expressão de genes relacionados com a produção do leite e redução da lipogênese nos alvéolos. Adicionalmente, a atividade do tradutor de sinal e ativador de transcrição-3 (*Signal Transducer and Activator of the Transcription-3*, STAT3), promotor da involução da GM, também se encontra aumentada e as células mamárias exibem aumento da apoptose e autofagia (LUZARDO-OCAMPO *et al.*, 2023).

Outra característica observada é o aumento da infiltração de macrófagos ativados (HENNIGAR; VELASQUEZ; KELLEHER, 2015) e níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor alpha*, TNF- α) (WALKER, 2022). O TNF- α é inibidor da expressão gênica da lipoproteína lipase (LPL), que é fundamental para a captação de ácidos graxos pela GM. Dessa forma, a inflamação pode resultar em uma menor captação de ácidos graxos pela GM para serem usados como energia e como substrato para a síntese dos glóbulos de gordura do leite, o que pode reduzir seu volume de produção (WALKER *et al.*, 2022). Além disso, há também aumento da captação de glicose por células imunes, redirecionando a disponibilidade de energia pela GM para ser usada pelo sistema imunológico (WALKER, 2022).

Estudo mostrou que alguns parâmetros de saúde metabólica (circunferência da cintura, pressão arterial sistólica, peptídeo c, HOMA-IR e triglicerídeos), diabetes mellitus gestacional (DMG) e a obesidade são fatores de risco importantes para a baixa produção de leite (NOMMSEN-RIVERS *et al.*, 2022). Outro estudo transversal, contando com 121 pares de mães-filhos de uma população rural da Indonésia, investigou a associação da MG e o IMC maternos com o volume de leite ingerido por crianças em AME. Foi observado uma associação negativa entre a MG materna ($\beta = -4,9$ mL; IC95% -9,6, -0,2) e a ingestão de leite materno nos modelos ajustados pelo *status* socioeconômico da mãe, idade materna (anos), idade (meses) e sexo da criança (DIANA *et al.*, 2019).

Mais recentemente, estudo observacional incluindo 232 pares de mães-filhos indianos saudáveis, testou a associação entre o estado nutricional antropométrico materno (incluindo IMC e o %MG) e a performance de lactação (considerada, neste caso, como o VLM produzido, conteúdo de macronutrientes e densidade energética do leite). Foi observada associação negativa do IMC ($\beta = -7,0$ mL; IC95% -12,4, -1,6) e o %MG ($\beta = -3,5$ mL; IC95% -6, -1,1) com o VLM, permanecendo significativa mesmo no modelo totalmente ajustado (idade

materna, idade da criança, sexo, escore z de peso-para-idade, morbidade infantil e AME no dia prévio a pesquisa). Esses resultados foram observados apenas entre as crianças em AME (YOUNG *et al.*, 2023).

No Quênia, um estudo transversal, incluindo dados de 10 lactantes com IMC <18,5 kg/m², testou a associação entre o VLM ingerido pelos lactentes e a composição corporal e antropometria maternas. Os principais resultados mostraram que a circunferência média do braço ($r = 0,725$) e a dobra cutânea tricípital ($r = 0,679$) do terceiro trimestre gestacional apresentaram uma correlação positiva com o VLM ingerido pelas crianças com idade entre dois e quatro meses de vida (ETTYANG *et al.*, 2005).

Estes estudos apresentam inúmeras questões que impedem a extrapolação dos seus resultados. Dentre as limitações estão a heterogeneidade do estado nutricional das amostras avaliadas, o desenho de estudo em maioria ser transversal (o que impede de se explorar qualquer associação considerando as variações ao longo do tempo) e tamanho amostral reduzido. Outro aspecto que vale ser mencionado é a dificuldade de se mensurar o VLM por meio da técnica de transferência de isótopo, a qual é onerosa e depende do engajamento da participante em seguir o protocolo de coleta de amostra. Desta forma, mais estudos longitudinais são necessários para elucidar os caminhos que potencialmente respondem estas associações.

2.2 ESTADO NUTRICIONAL ANTROPOMÉTRICO MATERNO

2.2.1 Obesidade materna

O estado nutricional é definido como a condição de saúde resultante da relação entre o consumo alimentar e as necessidades nutricionais de um indivíduo; podendo ser investigado por meio de mudanças bioquímicas, clínicas (funções de órgãos) e físicas (composição corporal). Neste cenário, quando há consumo insuficiente de nutrientes é observado o surgimento de doenças carenciais (anemia ferropriva, hipovitaminose A, bócio, entre outras); o consumo excessivo, por outro lado, pode promover dislipidemias, hipervitaminoses, hipertensão, obesidade, entre outras complicações (JEEJEEBHOY; MEGUID, 1986).

O diagnóstico da obesidade em adultos é feito tradicionalmente utilizando-se o IMC, calculado a partir da massa corporal, em quilogramas, dividida pelo quadrado da altura, em metros. De acordo com a OMS, indivíduos com sobrepeso são aqueles que apresentam IMC entre 25 e 29,9 kg/m², enquanto os obesos são aqueles com IMC ≥ 30 kg/m² (WHO, 2000).

Outro parâmetro que pode ser considerado para a classificação do estado nutricional do adulto, é o %MG, mulheres adultas com percentual de gordura >30% podem ser consideradas obesas e em risco de desenvolver doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (ADA, 1993).

No Brasil, o sobrepeso em mulheres adultas de ≥ 20 anos passou de 43,2% para 63,3% e a obesidade de 14,5% para 30,2%, entre os anos de 2003 e 2019 (IBGE, 2020). Já o sobrepeso pré-gestacional variou de 22,6% para 28,8%, e a obesidade pré-gestacional aumentou de 9,8% para 19,8% entre 2008 e 2018. Dados do mesmo estudo revelaram que a prevalência de ganho de peso gestacional (GPG) acima das recomendações passou de 34,2% para 38,7% (CARRILHO *et al.*, 2022).

O excesso de peso pré-gestacional e o GPG excessivo são associados a desfechos adversos na saúde materna e infantil. Mulheres que iniciam a gestação com sobrepeso ou obesidade têm maior chance de desenvolver DMG, hipertensão gestacional, depressão pós-parto, pré-eclâmpsia e ter parto cesáreo (MARCHI *et al.*, 2015; VOERMAN *et al.*, 2019). Essa condição é refletida também na saúde dos filhos, os quais apresentam maior risco de nascerem grandes para a idade gestacional (GIG), de prematuridade, defeitos congênitos (MARCHI *et al.*, 2015), DCV (HARINK *et al.*, 2022), DM2 e obesidade infantil (HESLEHURST *et al.*, 2019). Além disso, o efeito da obesidade materna sobre a saúde infantil continua presente no pós-parto por meio do comprometimento do início e da manutenção do AM (HUANG; OUYANG; REDDING, 2019).

2.2.2 Composição corporal materna no pós-parto

O organismo materno passa por intensas transformações em sua massa e composição durante a gestação e o pós-parto (RÖSSNER; ÖHLIN, 1995; SOLTANI; FRASER, 2000; GUNDERSON *et al.*, 2008). Durante a gestação é esperado que haja aumento dos estoques corporais de tecido adiposo, enquanto durante o pós-parto estes sejam mobilizados diante da demanda energética imposta pela lactação. No entanto, esses padrões variam entre populações, sendo registrado que há a redução de MG corporal entre gestações em populações submetidas à estresse nutricional, enquanto que populações saudáveis sedentárias podem acumular gordura ao longo dos ciclos reprodutivos (BUTTE; HOPKINSON, 1998; WELLS; GRIFFIN; TRELEAVEN, 2010).

O GPG dentro das recomendações auxilia no crescimento e desenvolvimento fetal. Sua composição conta com componentes placentários (incluindo o peso placentário e o crescimento,

desenvolvimento e composição placentários), fetais (líquido amniótico e crescimento fetal) e corporais maternos (MG, MLG e ACT) (IOM; NRC, 2009). A média do GPG varia ao longo da gestação, sendo estimado que gestantes brasileiras de feto único e eutróficas ganhem até 0,70 kg até a 13^a semana gestacional, alcancem de 3,1 a 6,3 kg até a 27^a semana e que complete o ganho do peso total de oito a 12 quilos ao final da 40^a semana gestacional (CARRILHO *et al.*, 2023). No entanto o GPG é variável entre populações e o seu padrão reflete na CCM durante o pós-parto (BUTTE; HOPKINSON, 1998; BUTTE *et al.*, 2003; KAC *et al.*, 2004b; MCCLURE *et al.*, 2013; WIDEN *et al.*, 2015).

Gunderson *et al.* (2008), investigaram o impacto da gestação nas mudanças do tecido adiposo visceral em 122 mulheres acompanhadas pela coorte americana “*The Coronary Artery Risk Development in Young Adults*” (CARDIA). Os pesquisadores estimaram a composição corporal das mulheres no tempo zero (recrutamento) e posteriormente aos cinco, 10 e 15 anos de acompanhamento. Os resultados revelaram que mulheres que tiveram pelo menos uma gestação completa ganharam, em cinco anos, 13 cm² de tecido adiposo abdominal a mais do que mulheres nulíparas. Essas mulheres tiveram também um aumento de 40% de gordura visceral acima do nível médio da linha de base. Não houve mudança significativa no tecido adiposo visceral aos 10 e 15 anos de acompanhamento. Todos os modelos foram ajustados pelas medidas antropométricas e de adiposidade do recrutamento, idade da participante e raça.

Este acréscimo de gordura visceral, por sua vez, vem sendo associado ao desenvolvimento de DCV (LEE *et al.*, 2016; KIRKEGAARD *et al.*, 2021), resistência à insulina (MUTSERT *et al.*, 2018) e síndrome metabólica (BIJARI *et al.*, 2021). Neste cenário, tem crescido o interesse na CCM durante o pós-parto devido às limitações que o IMC sozinho tem na predição de desfechos em saúde (ROTHMAN, 2008; MARAN *et al.*, 2022). Dessa forma, o período pós-parto, o qual é o período pré concepção para a próxima gestação, pode ser um momento chave para intervir na otimização do manejo do peso materno e na saúde em geral.

Os estudos abordando as mudanças longitudinais da CCM no pós-parto são escassos e conflitantes. Em geral, o que se observa são estudos descrevendo a redução do peso sem discriminação dos componentes corporais. Uma coorte com 405 mulheres brasileiras saudáveis explorou os determinantes da retenção de peso pós-parto e a mudança do %MG de lactantes ao longo dos primeiros nove meses pós-parto. Foi observada uma redução <1% do %MG durante o período de acompanhamento. Ademais, a duração do AM não teve associação com estes parâmetros entre mulheres que eram obesas na visita de base da coorte, sendo significativo

apenas entre mulheres com %MG <30%. Os demais componentes corporais, como MG e MLG, não foram apresentados como resultados neste trabalho (KAC *et al.*, 2004c).

Dois estudos exploraram a CCM no pós-parto em amostras de mulheres marroquinas, utilizando a técnica de transferência de isótopo. No primeiro estudo foram incluídos 32 pares de mães-filhos e foram investigadas as prevalências de AM e as mudanças da CCM durante os primeiros seis meses de lactação. Os autores não observaram mudança significativa no IMC materno, porém houve aumento de 13,4% da MLG acompanhada da diminuição de 33,4% da MG ao longo do período de acompanhamento (CHOUA *et al.*, 2013). Por outro lado, Rabi *et al.* (2021) acompanharam 70 pares de mães-filhos durante o primeiro ano pós-parto com o objetivo de quantificar o VLM ingerido pelos lactentes e avaliar a associação entre o tipo de AM e as mudanças da CCM. Neste estudo houve uma redução significativa na média do IMC, especialmente nos primeiros seis meses, e do %MG entre o primeiro e o 12º mês. Ainda, os três primeiros meses foram marcados por uma redução significativa também do índice de MLG, seguido de manutenção do seu valor e posterior queda entre o nono e 12º mês. Para os marcadores de adiposidade (IMC e %MG) as mulheres que praticaram o AME até seis meses retomaram a normalidade para estes indicadores nos primeiros três meses pós-parto, enquanto as que não praticaram retornaram apenas ao final do 12º mês. Para o índice de MLG não houve diferença entre os grupos.

Cho *et al.* (2011), em um estudo longitudinal, avaliou as mudanças na CCM, utilizando a técnica de bioimpedância elétrica (BIA), em 41 mulheres Coreanas saudáveis aos dois dias, na segunda e na sexta semana pós-parto. Nesta amostra foi observado um acréscimo de 9% na MG total, sendo a região visceral a que sofreu maior modificação com um acréscimo de 45%. Houve, ainda, redução da MLG entre o primeiro e o último ponto de acompanhamento. A mudança total no peso pós-parto foi explicada por uma redução de 12,8% da MLG. Estes resultados divergentes reforçam a discussão da variabilidade entre populações da CCM no pós-parto.

O AM é reconhecido como um fator determinante para a retomada do peso pré-gestacional (JIANG *et al.*, 2018). No entanto, uma variedade de outros fatores biológicos e sociais parecem também estar associados com este processo de retenção ou perda de peso neste período (ENDRES *et al.*, 2015). Um estudo com 104 mulheres chinesas (55 primíparas e 49 múltíparas), comparou mudanças no peso e no %MG estimado por BIA entre o terceiro trimestre gestacional e o 6º - 8º mês pós-parto. Os autores observaram que o GPG médio (12 kg) e %MG (7,7%) durante a gestação foi maior entre primíparas, quando comparadas à

múltiparas. Outro resultado mostrou que mulheres primíparas retiveram uma média de 1,92% da MG nos primeiros seis meses pós-parto, enquanto as múltiparas reduziram 0,44% da MG, em comparação ao início da gestação (TO; WONG, 2009).

Outro estudo conduzido com 49 mulheres negras e 85 brancas norte-americanas avaliou as mudanças no peso e no conteúdo de MG materna, avaliado por meio da absorptometria de raio-X de dupla energia (*Dual-energy X-ray Absorptiometry, DXA*) entre 6-8 semanas, 6 meses e 12 meses pós-parto. Foi investigado se a retenção de gordura era independente da mudança do peso corporal e se existia área anatômica preferencial para esta retenção. Foi observado que peso, MG, %MG e gordura nas regiões do tronco, androide, ginoide e membros diminuíram nas mulheres brancas, mas não nas negras. A gordura visceral não teve diferença nas mulheres brancas, porém houve acréscimo entre as negras. Foi observado também que a gordura visceral foi maior no último ponto do acompanhamento do que nos demais pontos, independente da mudança da MG (WANG *et al.*, 2023).

A divergência entre os resultados observados pode estar relacionada a algumas questões que merecem ser mencionadas, como o tamanho da amostra que varia de 32 (CHOUA *et al.*, 2013) a 405 (KAC *et al.*, 2004c) indivíduos acompanhados. Além disso, o período de tempo considerado pelos pesquisadores varia de dois dias a 12 meses pós-parto para avaliação da CCM. É importante notar que a hidratação nas primeiras semanas pós-parto varia consideravelmente, o que pode não refletir uma redução real da MLG, conforme relatado por Cho *et al.* (2011). Outro ponto relevante é o equipamento utilizado para estimar os componentes corporais, o qual tem impacto direto na acurácia dos resultados (LEE; GALLAGHER, 2008). Mesmo entre os estudos que adotam o mesmo método, é possível que equipamentos mais antigos (KAC *et al.*, 2004c; TO; WONG, 2009; CHOUA *et al.*, 2013) possam apresentar limitações na qualidade dos dados gerados, o que tem sido superado com a modernização dos equipamentos (OBUCHOWSKA *et al.*, 2021).

2.2.3 Métodos de avaliação da composição corporal

O modelo teórico mais utilizado de avaliação da composição corporal engloba cinco níveis. São eles: atômico, molecular, celular, sistema de tecidos e o corpo inteiro (WANG; PIERSON; HEYMSFIELD, 1992). Os modelos de dois compartimentos (2C) dividem o corpo em MG e MLG, e são os mais aplicados para estimar a composição corporal de humanos. Há ainda o modelo de quatro compartimentos (4C), que é considerado o modelo mais preciso e é

frequentemente utilizado como método referência em relação aos novos métodos de composição corporal. Neste modelo, são realizadas as medidas de MG, volume corporal total, ACT e massa mineral óssea (LEE; GALLAGHER, 2008).

Diversos métodos com níveis diferentes de precisão de leitura estão disponíveis para estimar a composição corporal. São eles: DXA, tomografia computadorizada quantitativa (*Quantitative computed tomography*, QCT), pletismografia de deslocamento de ar (PDA), técnica de diluição de isótopos (IAEA, 2010b), dobras cutâneas e BIA (LEE; GALLAGHER, 2008). No entanto, muitos destes métodos se tornam impraticáveis para aplicação em estudos epidemiológicos devido ao seu alto custo, inconveniência para o participante e necessidade de equipe treinada para execução de protocolos. Neste contexto, a BIA tem sido amplamente empregada por ser um método rápido, prático e de relativo baixo custo (BÖHM; HEITMANN, 2013).

A BIA mede a condutividade dos tecidos corporais. Neste método, uma corrente elétrica alternada de baixa tensão é aplicada ao corpo, por meio de eletrodos posicionados nas mãos e nos pés, e a impedância (queda da voltagem) é detectada. A impedância, portanto, é a oposição que o tecido faz ao fluxo da corrente elétrica. Tecidos ricos em eletrólitos e a ACT oferecem baixa impedância à corrente elétrica, enquanto lipídios e os minerais ósseos têm maior impedância. A partir destes princípios toda a água e os fluidos corporais fazem parte da MLG e torna-se possível estimar a MG a partir da diferença entre a massa corporal e a MLG (HEYMSFIELD *et al.*, 1996, 1997).

Adicionalmente, existem três sistemas de BIA, o de frequência única, o de multifrequência e a de espectroscopia. Todos consideram o modelo 2C, porém na BIA de multifrequência é permitida a diferenciação da ACT em compartimentos distintos de água intra e extracelular, o que é útil para descrever mudanças dos fluidos corporais, bem como avaliar o músculo esquelético das pernas. Nesta abordagem multisegmentar o modelo assumido é que o corpo é composto por um grupo de cinco cilindros (duas pernas, dois braços, e o tronco) (KYLE *et al.*, 2004; LEE; GALLAGHER, 2008).

Embora o método de BIA forneça vantagens para a investigação da composição corporal, existem algumas limitações como a necessidade de equações preditivas específicas para as populações em estudo e o nível de hidratação. Indivíduos com o estado de hidratação alterado, como no caso do período gestacional e pós-parto, podem ter seus resultados comprometidos com a aplicação deste método (BIDDULPH *et al.*, 2022). No entanto, a melhoria da qualidade dos equipamentos tem demonstrado aumento no desempenho e

qualidade dos dados gerados pela BIA neste grupo em específico (OBUCHOWSKA *et al.*, 2021).

2.2.3.3 Bioimpedância elétrica e sua utilização no pós-parto

Os resultados disponíveis na literatura a respeito da análise da CCM no período pós-parto utilizando a BIA são controversos. Estudo transversal conduzido com 44 lactantes camaronesas, entre 19 e 42 anos de idade, comparou os resultados de composição corporal estimados por BIA de multifrequência com aqueles obtidos com a técnica de diluição de isótopos (deutério) aos dois meses pós-parto. Os componentes avaliados foram a MG, MLG e ACT e os principais resultados apontaram que a BIA superestimou MG, enquanto subestimou MLG e ACT, em comparação com a técnica de diluição de isótopos. Os autores testaram a aplicação de 11 equações preditivas para os dados obtidos pela BIA e seus resultados reforçam a necessidade de uma equação mais específica para a população camaronesa (MEDOUA *et al.*, 2011).

Por outro lado, estudo longitudinal canadense utilizando dados de 132 mulheres acompanhadas ao longo da gestação e dos primeiros seis meses pós-parto, teve como um dos seus objetivos testar a concordância das medidas de %MG obtidos por BIA e dobras-cutâneas com aqueles obtidos por DXA aos seis meses pós-parto. Os autores avaliaram a concordância entre os métodos aplicando os gráficos de Bland-Altman e o coeficiente de correlação de Lin. Foi observada uma boa concordância entre os resultados de BIA e os do DXA ($r = 0,84$) aos seis meses pós-parto, sendo estes resultados comparáveis com os obtidos nas primeiras semanas de gestação (MARAN *et al.*, 2022). Esses resultados sustentam o uso de BIA como instrumento promissor para análise da CCM neste período.

Outro estudo longitudinal conduzido nos EUA, com 21 lactantes em AME e 21 não puérperas, comparou dados de CCM estimados por BIA com aqueles estimados por DXA no primeiro e no quarto mês pós-parto. Os principais resultados revelaram que a MLG estimada por BIA foi significativamente maior em ambos os pontos de acompanhamento, não havendo diferença entre lactantes e não lactantes. Para os resultados de MG, a BIA subestimou em ambos os pontos de acompanhamento, comparada ao DXA. Os autores destacam que embora a BIA tenha limitações, especialmente com relação ao conteúdo de MG, sua aplicação é válida em estudos que buscam compreender a trajetória da mudança da CCM no pós-parto para além da massa corporal (BARRY *et al.*, 2022).

O somatório dos resultados destes trabalhos fornece apoio para a utilização dos dados de CCM obtidos por BIA de multifrequência. No entanto, vale ressaltar a importância e a urgência de mais estudos que validem a replicabilidade e acurácia da BIA diante da comparação de seus resultados com métodos de referência padrão-ouro, como o de transferência de isótopos.

Diante dessas considerações, o período pós-parto deve ser compreendido como uma fase crítica para a saúde da mulher, com impactos indiretos na saúde infantil. No entanto, ainda são escassos os estudos que exploram em profundidade as alterações da composição corporal neste período, especialmente no primeiro ano pós-parto, bem como quais são os fatores associados com tais mudanças. Adicionalmente, permanece incerta a relação entre o estado nutricional materno e a produção de LM, sendo escassos os estudos longitudinais que exploram essa questão empregando técnicas robustas para investigar esse vínculo.

3 JUSTIFICATIVA

O AM é reconhecido como a melhor fonte de nutrição para a criança nos primeiros anos de vida, sendo incentivado e endossado por leis e programas de saúde. Seus benefícios se estendem da mãe à criança, com impactos positivos a curto e longo prazo, como a redução do risco de se desenvolver DM2, DCV e obesidade. No entanto, muitos fatores se apresentam como barreiras para o seu início e manutenção. Dentes eles, a percepção de baixa produção de leite é um dos principais motivos que levam à interrupção do AME antes dos seis meses, sendo citada por 44,8% das lactantes em todo o mundo. Além disso, fatores relacionados à saúde da mãe, como o sobrepeso e a obesidade, têm sido apontados como fatores de risco para o sucesso do início e/ou manutenção do AM, seja por questões anatômicas ou por caminhos moleculares.

O sobrepeso e a obesidade materna parecem oferecer um contexto metabólico propício que impacta negativamente no balanço hormonal necessário para o estabelecimento e manutenção da lactação. O que compromete o efeito benéfico do AM sobre a saúde materna e infantil. Contudo, esta relação tem sido negligenciada e estudos em humanos que investigam a associação da adiposidade materna com o VLM são escassos e limitados. Até o momento, são ausentes estudos longitudinais e, especialmente, estudos que agregando dados de populações distintas para explorar esta relação de forma mais abrangente.

Outro ponto que merece destaque são as mudanças na CCM durante o período pós-parto. O IMC é amplamente utilizado como parâmetro para avaliação do estado nutricional materno, mas sua aplicação isolada apresenta limitações na predição de desfechos adversos em saúde. Em contrapartida, a composição corporal, especialmente medidas de adiposidade, oferece uma avaliação mais precisa e robusta. Existem evidências de que o pós-parto é um período sensível, juntamente com o período gestacional, para o acréscimo de gordura corporal da mulher, a qual é fator de risco para doenças futuras. Porém, há uma lacuna no entendimento sobre as mudanças nos componentes corporais durante este período, especialmente no primeiro ano pós-parto, bem como quais os fatores que as influenciam.

Desta forma, os resultados desta tese somam dados inéditos descrevendo as mudanças dos componentes corporais maternos durante os primeiros 8,5 meses pós-parto e identifica quais os fatores determinantes destas mudanças em uma amostra brasileira. Ademais, apresenta os primeiros resultados longitudinais em humanos acerca da associação entre a adiposidade materna e o VLM, utilizando estimativas de volume obtidos por meio técnicas robustas e a partir de amostras de dois países com contextos socioeconômicos diferentes.

4 HIPÓTESES

- ✓ Os preditores das trajetórias de IMC e composição corporal materna entre 1 e 8,5 meses de lactação são IMC pré-gestacional, paridade, renda, idade da mãe, tipo de parto e sexo da criança.
- ✓ A maior adiposidade corporal materna está associada à menor produção de leite materno.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os preditores da composição corporal materna no pós-parto e avaliar sua associação com o volume de leite materno produzido ao longo dos primeiros 8,5 meses pós-parto.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.2.1 Artigo 1

- i. Avaliar quais são os preditores maternos e infantis da trajetória da composição corporal e do índice de massa corporal maternos ao longo dos 8,5 meses pós-parto.

5.2.2 Artigo 2

- ii. Investigar a associação entre a adiposidade corporal materna, entre 1 e 3,5 meses, e o volume de leite materno com 1 - 3,49 meses, 3,5 - 5,99 meses e 6 - 8,5 meses de lactação.

6 MÉTODOS

O *Maternal and Infant Lactation Quality Project* (MILQ) é uma coorte prospectiva que acompanhou díades de mães-filhos, da gestação até 8,5 meses pós-parto, em quatro países distintos: Brasil, Bangladesh, Dinamarca e Gâmbia. O mesmo seguiu protocolos de pesquisa e critérios de inclusão rigorosamente definidos e uniformizados para assegurar a comparabilidade entre os dados obtidos em cada local. Entretanto, algumas adaptações nos métodos, estratégias de coleta e execução dos protocolos foram necessárias para acomodar especificidades locais. Para o desenvolvimento desta tese, utilizou-se exclusivamente os dados das coortes brasileira e dinamarquesa pertencentes ao projeto matriz, as quais terão as especificações descritas nesta seção.

6.1 DESENHO DO ESTUDO

O estudo MILQ incluiu uma linha de base e quatro ondas de acompanhamento: a linha de base pré-natal, realizada entre 28 e 35 semanas gestacionais (AN), seguida de encontros entre 24 e 72 horas após o parto (C); de 1 a 3,49 meses pós-parto (M1); de 3,5 a 5,99 meses pós-parto (M2); e de 6 a 8,5 meses pós-parto (M3). Todos os atendimentos eram agendados de acordo com a preferência da participante e a disponibilidade do projeto.

O desenvolvimento desta tese contemplou as informações referentes ao parto (visita C), análises de volume de leite materno por teste de pesagem e por água duplamente marcada com deutério, saliva materna e infantil (visitas M1, M2 e M3), e os dados antropométricos e de composição corporal materna (BIA e DTM) (visita M1) (**Figura 3**).

A linha de base compreendeu o recrutamento, o qual aconteceu durante a gestação ou no período de internação pós-parto. As mães incluídas no estudo ainda na gestação tinham as informações gerais e sociodemográficas coletadas no dia do seu recrutamento (Brasil) ou durante a visita M1 (Dinamarca). Para incentivar a adesão ao projeto, material impresso era entregue contendo informações sobre a importância da amamentação e os cuidados maternos necessários durante este período e, na Dinamarca, eram realizadas ligações telefônicas por um consultor em amamentação certificado e fornecido livro informativo sobre a alimentação infantil, “*Mad til små – fra mælk til familiens mad*” (<https://kfsbutik.dk/born/170-mad-til-sma.html>).

Figura 3 – Fluxograma do estudo incluindo as variáveis selecionadas para o desenvolvimento desta tese.



Nota: TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido); AN, visita de base; C, visita com coleta de colostro entre 24 e 72 horas; M1, visita entre 1 – 3,49 meses; M2, visita entre 3,5 – 5,99 meses e M3, visita entre 6 – 8,49 meses pós-parto. *Informações coletadas apenas no Brasil. **Método aplicado apenas pela Dinamarca.

No Brasil, entre a linha de base e a visita C, as participantes eram acompanhadas por meio de contato telefônico até o dia do parto, quando eram abordadas para o procedimento da visita C. Aquelas participantes incluídas no projeto já no pós-parto tinham suas informações gerais e sociodemográficas coletadas durante a primeira abordagem e seguiam imediatamente para a realização da visita C (24h – 72h pós-parto). Na Dinamarca, as participantes eram informadas da necessidade de entrarem em contato diretamente com a equipe do projeto assim que elas tivessem o parto. Caso a participante não entrasse em contato espontaneamente, a equipe de pesquisa procedia uma ligação com duas ou três semanas após a data provável do parto.

No Brasil, na visita C foram coletadas informações sobre o parto e a amamentação, realizada a avaliação antropométrica do recém-nascido (perímetro cefálico e do braço), e coletada uma amostra de colostro. Na Dinamarca, as amostras de colostro foram coletadas pelas próprias mães, no hospital ou em casa, não havendo, portanto, coleta de dados antropométricos infantis e nem visita presencial da equipe.

Nas etapas seguintes, visitas M1, M2 e M3, foram coletadas amostras de leite materno, urina, fezes e sangue da mãe e da criança. No caso da criança a coleta de sangue aconteceu em

apenas dois pontos de acompanhamento, sendo 100% das crianças na visita M1 e, de forma aleatória, 50% na visita 3 e 50% na visita 4. Foram realizadas também medidas antropométricas maternas e infantis; aplicados questionários para avaliação do desenvolvimento infantil (coletado apenas na M3 pela Dinamarca), presença de morbidades na mãe e na criança, a Escala de Depressão Pós Parto de Edimburgo (*Edinburgh Postnatal Depression Scale*, EPDS) (apenas Brasil); coletados dados do consumo alimentar materno (R-24h) e infantil; e administrada uma dose de água com deutério para a mãe (apenas Brasil), juntamente com a coleta de amostras de saliva materna e infantil, e realizado a metodologia de pesagem para estimar o volume de leite ingerido pela criança (apenas Dinamarca). Na visita M1, ainda, era aplicado o questionário sobre o consumo usual de sal.

6.2 LOCAL DO ESTUDO

6.2.1 Brasil

O estudo foi conduzido no Hospital Maternidade Herculano Pinheiro (HMHP), localizado no bairro de Madureira, na zona norte do município do Rio de Janeiro. Esta unidade é integrada à rede Programa Cegonha Carioca e faz parte da Coordenadoria de saúde da área programática (CAP) 3.3. Funciona atendendo às gestantes, puérperas e recém-nascidos de baixo risco de onze Unidades de Saúde da Família.

O projeto contou com a utilização de três salas exclusivas para o seu desenvolvimento, localizadas no segundo andar da maternidade, duas das quais eram direcionadas para a realização das visitas presenciais. Estas salas eram equipadas com armários de parede e bancadas, poltronas de amamentação com balanço, extrator elétrico de leite (Medela®, McHenry, Illinois, EUA), colchonete para trocador de bebê, mesa e cadeira de escritório, *notebooks* e *tablets*, e bioimpedância elétrica Bodystat 500 (Bodystat, Southampton, Reino Unido).

Adicionalmente, uma destas era complementada com infantômetro 416 (Seca, Hamburgo, Alemanha), balança pediátrica digital SECA 376 (Seca, Hamburgo, Alemanha), enquanto a outra com o equipamento de bioimpedância Tanita MC-780U (Tanita Corporation, Arlington Heights, EUA), estadiômetro SECA 264 (Seca, Hamburgo, Alemanha); além de uma centrífuga MIKRO 220R (Hettich, Tuttlingen, Alemanha), uma balança analítica de precisão (Marte AD3300, São Paulo, Brasil) e pipetas automáticas de diferentes volumetrias para o processamento das amostras biológicas, como o sangue, por exemplo. Por vezes, durante a

visita, era necessário realizar a troca de fralda da criança, a qual era disponibilizada pelo projeto, bem como pomada infantil contra assadura.

A terceira sala era equipada com o *freezer* -80°, computador de mesa, mesa e cadeiras de escritório, impressora multifuncional e prateleiras. Essa sala era reservada para a administração do projeto e a acomodação das amostras biológicas até seu envio para os centros de análises.

6.2.2 Dinamarca

O estudo contou com a colaboração de três hospitais públicos localizados na área central de Copenhague, sendo eles: *Rigshospitalet Hospital*, *Hvidovre Hospital* e *Herlev Hospital*. Nestes hospitais era feita a captação das participantes que seguiam para as visitas agendadas. Estas eram conduzidas na estrutura da Universidade de Copenhague, sendo em uma sala individual localizada no Departamento de Nutrição e Esporte (*Department of Nutrition, Exercise and Sports - NEXS, University of Copenhagen*).

A sala reservada para o desenvolvimento do projeto era localizada no segundo andar da seção de nutrição infantil e a qual era equipada com os seguintes itens: armários de parede e bancadas, extrator elétrico de leite (Medela®, Baar, Suíça), bioimpedância elétrica Bodystat 500 (Bodystat, Douglas, Ilha de Man, Reino Unido), infantômetro 416 (Seca, Hamburgo, Alemanha), balança pediátrica digital Tanita-BD815MA (Tanita Corporation, Tóquio, Japão), bioimpedância Tanita MC-780MA (Tanita Corporation, Tóquio, Japão), estadiômetro SECA 264 (Seca, Hamburgo, Alemanha); além de pipetas automáticas e outros descartáveis necessários para proceder a visita.

6.3 AMOSTRA E RECRUTAMENTO

6.3.1 Tamanho da amostra

O objetivo do projeto MILQ foi estimar percentis selecionados das distribuições de nutrientes do leite materno. Como os percentis são invariantes a transformações monotônicas, o cálculo do tamanho amostral para a construção de valores de referência foi baseado em dois critérios principais: 1) estimar os percentis 5 e 50 de cada nutriente do leite materno de acordo com as faixas etárias em cada centro participante; 2) garantir a possibilidade de estabelecer equivalência entre os centros antes de agrupar os dados.

Estimando os percentis

Pretendeu-se transformar monotonicamente cada variável para obter uma distribuição normal (gaussiana), a partir da qual estimativas paramétricas dos percentis seriam construídas. Modelos de regressão foram aplicados para estimar os parâmetros da distribuição em cada faixa etária. No entanto, como esses modelos não seriam determinados até que os dados estivessem disponíveis, o tamanho da amostra foi baseado em uma estimativa genérica para o percentil 'p':

$$X + Z_p * s * CF_s$$

onde

X = média amostral (ou valor predito estimado a partir do modelo de regressão)

Z_p = percentil 'p' da distribuição normal padrão (negativo para $p < 0,50$)

s = desvio-padrão da amostra (ou desvio-padrão estimado a partir do modelo de regressão)

CF_s = fator de correção para o viés de 's' como um estimador do desvio-padrão da população (insignificante para $n > 50$).

O erro padrão para esta estimativa, se 'n' é maior do que 50 é aproximadamente:

$$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \sqrt{1 + 0,5 * Z_{\alpha}^2}$$

A amplitude desejada do intervalo de confiança foi baseada na distância dos percentis 5 e 50 até os percentis vizinhos. Essa abordagem resultaria em um tamanho de amostra invariável à localização, escala ou forma da distribuição subjacente, desde que a variável fosse normalizável. Com base nesse critério, era necessário um tamanho de amostra global de 255 em cada ponto para evitar a sobreposição dos intervalos de confiança de 95% em torno dos percentis 5 e 10, a fim de estimar a mediana da amostra dentro de 5 percentis com 95% de confiança.

Estabelecendo equivalência entre os locais de estudo

Um tamanho de amostra de 200 por local de estudo em cada faixa etária foi considerado suficiente para detectar diferenças de 0,25 DP com poder de 80% ou diferenças de 0,30 DP com poder de 90%. Portanto, com o tamanho da amostra planejado foi de 250 por país.

No Brasil, 494 pares de mães-filhos foram inicialmente recrutados, enquanto na Dinamarca foram 375. Para o desenvolvimento do Artigo 1 desta tese, a amostra selecionada contou com 234 pares brasileiros, que foram aqueles que tiveram pelo menos uma avaliação da composição corporal ao longo do acompanhamento pós-parto. Para o Artigo 2, foram incluídos 139 pares brasileiros (mulheres acompanhadas antes do início da pandemia de COVID-19) e 188 dinamarqueses que tiveram o VLM estimado em pelo menos uma das visitas de acompanhamento no pós-parto.

6.3.2 Recrutamento no Brasil

O recrutamento aconteceu no terceiro trimestre gestacional (28 – 35 semanas gestacionais) e durante a internação pós-parto. Na primeira ocasião, as gestantes eram abordadas durante o período de espera que antecedia a “visita cegonha”. Um membro da equipe do projeto se aproximava do potencial participante e realizava uma breve explicação da pesquisa, seguida da aplicação do questionário para avaliação dos critérios de elegibilidade. As gestantes que atendiam a todos os critérios eram convidadas a participar do projeto e, após apresentação detalhada e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**Anexo A**), eram incluídas na amostra.

Para o recrutamento durante a internação pós-parto, a equipe de pesquisa verificava o mapa de fluxo de internação do HMHP e abordava as puérperas para aplicação completa dos questionários de triagem, após breve explicação do projeto. Ressalta-se que o puerpério imediato por vezes era um período delicado para algumas mulheres, portanto eram observados os sinais de receptividade e disponibilidade das mães, com o intuito de abordá-las em momento oportuno. As puérperas que contemplavam todos os critérios da gestação e do pós-parto eram convidadas a participar do projeto e, mediante apresentação detalhada e assinatura do TCLE (**Anexo A**), eram incluídas na amostra.

6.3.3 Recrutamento na Dinamarca

O recrutamento contou com uma abordagem em três etapas principais, descritas a seguir.

Etapa 1: Convite e Divulgação

As gestantes registradas nos hospitais parceiros recebiam uma Carta Convite entre a 10^a e 12^a semana gestacional (consulta pré-natal recomendada pelo governo dinamarquês para detecção de malformações congênitas), enviada diretamente para seus *e-boks* pessoais (plataforma digital utilizada na Dinamarca para comunicação entre cidadãos, empresas e instituições do setor público), contendo um resumo do estudo e instruções de participação. O convite incluía *links* para dois formulários: Formulário de Informações (o qual descrevia os objetivos e os procedimentos envolvidos no estudo, incluindo a aprovação pelo Comitê de Ética local – *Danish Committee on Biomedical Research Ethics*) e o Formulário de Interesse (no qual as interessadas manifestavam o desejo de participarem do projeto). Além disso, um texto informativo derivado da segunda página da carta convite era usado em anúncios e *flyers* em redes sociais e nas áreas de espera dos hospitais.

Etapa 2: Pré-Triagem e Reunião Informativa

Após receber o Formulário de Interesse preenchido, um membro da equipe do projeto entrava em contato com as interessadas para uma triagem preliminar por telefone, verificando os critérios de inclusão e exclusão (por volta de 20^a semana gestacional). As gestantes que atendiam aos critérios eram convidadas para uma reunião informativa, com a possibilidade de levarem acompanhantes e que acontecia na NEXS, com duração média de uma hora. Nessa reunião, um membro da equipe explicava o propósito do estudo, os direitos das participantes e os requisitos para participação. O material informativo era enviado previamente por *e-mail*, incentivando a leitura e discussão com familiares ou amigos.

Ainda durante a reunião informativa, cada participante recebia dois TCLE impressos para assinatura, um para mãe e outro para a criança incluída no estudo (ainda não nascida). Caso o pai ou responsável não estivesse presente, a participante deveria obter uma procuração com a assinatura do pai, autorizando a participação do bebê. As participantes tinham o direito de considerar sua decisão por até 24 horas após assinar os formulários. Após o consentimento, era entregue um *Checklist Visual* para auxiliar na compreensão dos requisitos e obrigações durante o estudo. Ainda nesta ocasião, as mães recebiam orientações e materiais para a coleta de amostras de colostro, que poderia ser feita no hospital ou em casa.

Etapa 3: Triagem pós-parto

Após o nascimento, os recém-nascidos foram avaliados por meio de ligação telefônica, dentro de período inferior a duas semanas de pós-parto, de acordo com critérios de inclusão e exclusão específicos para os bebês. Neste mesmo momento, era agendada a primeira visita de acompanhamento (M1).

6.4 PARTICIPANTES DO ESTUDO

Foram incluídas e excluídas da amostra pares de mães-filhos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão apresentados no **Quadro 1**.

Quadro 1 – Critérios de inclusão e exclusão da amostra da coorte MILQ.

	AN	C	M1	M2	M3
<i>Critérios de inclusão</i>					
Mães					
Idade ≥ 18 e ≤ 40 anos	X				
Gestação de feto único	X				
Ausência de problemas de saúde (p.e., HIV, sífilis, entre outras)	X				
Não utilizar medicamentos que afetavam o AME ou VLM	X	X	X	X	X
Não suplementar vitaminas ou minerais, com exceção de ferro, ácido fólico (BR), vitamina D e cálcio (DK)	X	X	X	X	X
Intenção de AME até 3,5 meses e complementada até 8,5 meses	X				
IMC pré-gestacional $\geq 18,5$ e < 30 kg/m ²	X				
Estatura ≥ 145 cm (BR) e ≥ 150 cm (DK)	X				
Consumir alimentos fortificados < 2 (BR) ou 3 vezes por semana (DK)	X				
Hemoglobina ≥ 10 g/dL no último trimestre gestacional (BR) ou sem anemia relata (DK)	X				
Consumo de álcool < 30 g (BR) ou < 50 mL/semana (DK)	X	X	X	X	X
Não tabagista	X				
Consumo de dieta variada de acordo com os padrões locais	X				
Crianças					
Idade gestacional ao nascer ≥ 37 e ≤ 42 semanas		X			
Peso ao nascer ≥ 2.500 e ≤ 4.200 g		X			
Ausência de má formação congênita		X			

<i>Critério de exclusão</i>					
Mães					
Problemas de saúde materna graves (DMG e/ou pré-eclâmpsia)	X				
Interrupção do AME antes de M1		X	X		
Desmame antes de 8,5 meses pós-parto		X	X	X	X
Consumo regular de álcool > 30g (BR) ou >50 mL/dia (DK)	X	X	X	X	X
Crianças					
Idade gestacional ao nascer < 37 ou > 42 semanas		X			
Peso ao nascer < 2.500 ou > 4.200 g		X			
Má formação congênita		X			
C/I, P/I ou P/C < -2 escore-Z			X	X	X

AN, visita de base da coorte (28 e 35 semanas gestacionais); C, encontro com 24 e 72 horas após o parto; M1, encontro entre 1 a 3,49 meses pós-parto; M2, encontro entre 3,5 a 5,99 meses pós-parto; M3, encontro entre 6 a 8,5 meses pós-parto; VLM, volume de leite materno; DMG, diabetes mellitus gestacional; BR, Brasil; DK, Dinamarca; AME, aleitamento materno exclusivo; C/I, comprimento para idade; P/I, peso para idade; P/C, peso para o comprimento.

6.5 COLETA E CONTROLE DE QUALIDADE DE DADOS

Ambos os países aplicaram os protocolos e questionários elaborados pelos pesquisadores do *Western Human Nutrition Research Center* (WHNRC), com a colaboração de cada centro participante. Estes protocolos foram testados e ajustados durante o estudo piloto, que aconteceu entre setembro e dezembro de 2017, no Brasil, e entre março e setembro de 2017, na Dinamarca. O WHNRC foi o responsável por enviar todos os materiais necessários para as coletas de amostras biológicas, como: etiquetas, tubos e recipientes, bem como receber e proceder as análises bioquímicas propostas.

O registro dos dados coletados foi feito por meio de computadores portáteis (*tablets*) ou *notebooks*, sendo o *Research Electronic Data Capture* (REDCap) a ferramenta utilizada durante a coleta. O REDCap é uma plataforma *online* considerada segura e robusta para a construção e o gerenciamento de dados de estudos com as mais diversas finalidades (<https://projectredcap.org/about/>). Para o uso desta ferramenta, o entrevistador acessava o sistema do REDCap usando sua conta individual previamente cadastrada no sistema e procedia a visita entrando os dados simultaneamente.

Diariamente, após cada entrevista, era feita a revisão, por outro entrevistador, de todos os formulários aplicados e dados coletados, visando, assim, minimizar erros de preenchimento. Realizava-se, ainda, treinamentos periódicos com a equipe de coleta.

6.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO

6.6.1 Antropometria e composição corporal materna

6.6.1.1 Antropometria materna

Os dados antropométricos maternos, peso (kg) e altura (cm), foram coletados em triplicata, sendo utilizado nas análises o valor médio entre as três medidas. Com base nesses dados o IMC materno, peso, em quilograma, dividido pelo quadrado da altura, em metro [kg/m²] (WHO, 1995), foi calculado para todas as visitas de acompanhamento pós-parto, M1-M3. A coleta de todos os dados foi realizada pela equipe contratada e previamente treinada com métodos padrões para garantir a qualidade das medidas (LOHMAN; ROCHE; MARTORELL, 1988).

As participantes tiveram seu peso mensurado usando o mínimo de roupas possível e descalças, sendo o instrumento utilizado a balança Tanita MC-780U (Tanita Corporation, Arlington Heights, EUA), no Brasil, que possui uma precisão de 100 g e uma capacidade de 270 kg. Na Dinamarca, o procedimento seguiu o mesmo padrão, sendo o instrumento utilizado a balança Tanita MC-780MA (Tanita Corporation, Tóquio, Japão).

A altura da participante foi aferida durante a M1 utilizando-se estadiômetro digital fixo SECA 264 (Seca, Hamburgo, Alemanha), com precisão de 1 mm e campo de uso de 30 até 220 cm. A coleta era feita sem os sapatos e adornos do cabelo/cabeça. A mulher era posicionada de costas para a coluna de aferição do equipamento, com os braços estendidos ao longo do corpo e o tronco equilibrado na cintura. Os ossos internos dos calcanhares e dos joelhos eram posicionados de forma que se tocassem e os pés unidos, formando um ângulo reto com as pernas. Ambos os países utilizaram instrumento de coleta idênticos e seguiram o mesmo protocolo. Mais detalhes podem ser encontrados no **Anexo B**.

O IMC pré-gestacional foi calculado, utilizando os dados de peso pré-gestacional e estatura registrados no cartão da gestante, e classificado, segundo os pontos de corte sugeridos pela OMS (2000), em eutrofia (IMC 18,5 – 24,9 kg/m²) ou sobrepeso (IMC 25,0 – 29,9 kg/m²).

6.6.1.2 Composição corporal materna por bioimpedância elétrica

A estimativa da composição corporal materna por BIA foi realizada em todos os pontos de acompanhamento (M1-M3), utilizando-se os instrumentos Tanita MC-780U (Tanita Corporation, Arlington Heights, EUA), no Brasil, e Tanita MC-780MA (Tanita Corporation, Tóquio, Japão), na Dinamarca. Ambos os instrumentos são analisadores de composição corporal multifrequência, certificados pelo *Food and Drug Administration* (FDA), que se calibram automaticamente antes de cada análise, garantindo uma reprodutibilidade ótima das medidas.

Os dois países seguiram o mesmo protocolo de coleta estabelecido pelo centro coordenador do projeto. Para a aplicação da BIA, era certificado que a participante estivesse em jejum de no mínimo três horas, sem ter realizado grandes refeições ou praticado atividade física intensa nas últimas 12 horas, conforme orientações do fabricante, e era solicitado que a participante esvaziasse a bexiga antes da realização do exame.

Após inserir dados como sexo, idade e altura, a participante se posicionava sobre os quatro eletrodos da plataforma da balança, com roupas leves, pés descalços e sem o uso de adornos metálicos (brincos, anéis, colares, pulseiras). Em seguida, segurava em ambas as mãos alças com eletrodos integrados, mantendo os braços em posição relaxada até a finalização do exame. Detalhes do protocolo da avaliação da composição corporal encontram-se no **Anexo B**.

Os resultados foram estimados diretamente pelo equipamento utilizando algoritmo interno próprio para o equipamento. Os valores eram anotados em formulário impresso e posteriormente lançados no REDCap *online*, sendo eles: gordura corporal total (kg e %) e por segmento (braços, pernas e tronco), massa livre de gordura total (kg e %) e por segmento (braços, pernas e tronco), água corporal (%), gordura visceral (número absoluto) e taxa metabólica basal (kcal).

Para o desenvolvimento do artigo 1 desta tese foram utilizados os dados de MG total (kg e %) e MLG total (kg) de todas as visitas (M1-M3), incluindo dados apenas do Brasil. Para o artigo 2, foram utilizados dados de MG total (kg) da visita M1 de ambos os países, o qual foi utilizado para cálculo o índice de massa gorda (IMG) (obtido pela divisão da MG – kg – pela altura ao quadrado – m²).

6.6.1.3 Composição corporal materna por diluição de dióxido de deutério

A estimativa da CCM por DTM foi realizada a partir da retro extrapolação dos dados obtidos por meio desta técnica (seguindo metodologia descrita no item 6.6.2), nas visitas M1-M3.

A partir da análise de transferência mãe-filho de água duplamente marcada por deutério, foi calculado o volume de ACT, assumindo-se que o espaço de diluição do deutério (V_D) é 4,1% maior que o ACT, devido à troca de hidrogênio com componentes não aquosos do corpo. A fórmula utilizada é (IAEA, 2010b):

$$ACT (kg) = \frac{V_D}{1,041}$$

onde:

$$V_D (kg) = \text{Dose de D}_2\text{O (mg)} / \text{enriquecimento de } ^2\text{H na saliva (mg/kg)}$$

A partir da ACT, calcula-se a MLG, assumindo-se uma hidratação de 73,2% para adultos:

$$MLG (kg) = \frac{ACT (kg)}{0,732}$$

A MG, por sua vez, é obtida subtraindo-se a MLG do peso corporal total (com metodologia descrita no item 6.6.1.1):

$$MG (kg) = \text{peso corporal (kg)} - MGL (kg)$$

A qual também pode ser expressa como % MG:

$$\%MG = \frac{MG (kg)}{\text{peso corporal (kg)}} \times 100$$

6.6.2 Análise de volume de leite de 24 horas – método de diluição de dióxido de deutério

No Brasil, o método padrão-ouro de transferência mãe-filho de água duplamente marcada com deutério foi utilizado para estimar o volume de leite de 24 horas ao longo das três ondas de acompanhamento pós-parto (M1-M3). Vale destacar que esta técnica foi aplicada apenas na amostra brasileira acompanhada antes do início da pandemia de COVID-19 (aquelas mulheres que fizeram visitas pós-parto entre Janeiro de 2018 e Março de 2020). A seguir, a descrição das etapas para cumprir o protocolo (IAEA, 2010a).

6.6.2.1 Antropometria materna e infantil para estimativa do volume de leite materno

No dia agendado para a administração da dose de deutério (Dia 0), bem como no último dia de coleta de saliva (Dia 14), o par mãe-filho teve seus dados antropométricos mensurados. A mãe teve peso e altura coletados de acordo com o método descrito na seção 6.6.1.1, enquanto a criança teve peso e comprimento aferidos de acordo com o método descrito a seguir.

As medidas de peso e comprimento infantis foram obtidas a partir da média de três medidas realizadas em cada um dos pontos de acompanhamento no pós-parto (M1-M3). O peso da criança foi mensurado em gramas (g), com ela despida e em decúbito dorsal, utilizando-se balança pediátrica digital SECA 376 (Seca, Hamburgo, Alemanha) com precisão de 10 g e capacidade de 15 kg.

O comprimento foi aferido em centímetros (cm), utilizando-se infantômetro SECA 416 (Seca, Hamburgo, Alemanha) com precisão de 1 mm e campo de uso de 10 até 100 cm. A medida foi realizada com a criança usando apenas fralda e em posição de decúbito dorsal encostando todo o corpo na superfície do equipamento. A cabeça da criança era posicionada de forma que a parte mais alta do crânio estivesse encostada na parte fixa do infantômetro (seguindo o plano de Frankfurt), joelhos estendidos e com os calcanhares em um ângulo de 90° (LOHMAN; ROCHE; MARTORELL, 1988).

A definição dos escores-z das crianças acompanhadas foi realizada com auxílio do *software WHO Anthro* (<http://www.who.int/childgrowth/software/en/>) e classificadas de acordo com as definições propostas pela OMS.

6.6.2.2 Administração da dose de deutério e coleta de saliva

Após a realização da antropometria materna e infantil, foi administrado às participantes, por via oral, uma dose de 30g de água deuterada (99,8% de pureza; Sigma-Aldrich, Canadá), pesada utilizando uma balança analítica calibrada (Marte AD3300, São Paulo, Brasil). A água deuterada era adicionada a um frasco plástico limpo e seco com uma tampa vedadora para evitar que houvesse vazamento de líquido ao se agitar o frasco. A dose era ingerida pela mãe utilizando-se um canudo. Após a administração da água deuterada, 25 mL de água potável eram adicionados ao frasco dosador e este era vertido repetidas vezes, para remoção completa de

qualquer resíduo do isótopo, e ofertado novamente à mãe. Este procedimento era realizado por três vezes para garantir a ingestão completa da dose. Em seguida a mãe era orientada a manter a amamentação como de costume para que a criança recebesse o deutério por meio da ingestão do leite materno.

As amostras de saliva materna e infantil eram coletadas nos dias 0, anteriormente à administração da dose de deutério, e posteriormente nos dias 1, 2, 3, 4, 13 e 14. Para proceder a coleta de saliva era certificado que as participantes não tivessem ingerido nenhum alimento sólido ou líquido nos 30 minutos anteriores à coleta. Eram coletados pelo menos 0,5 mL de saliva, utilizando-se pequenos pedaços de algodão que eram comprimidos em seringas de 10 mL para liberação da saliva em criotubos estéreis. Estas amostras eram armazenadas imediatamente à -80° e mantidas nesta temperatura até seu envio para análise. Mais detalhes do protocolo de coleta podem ser encontrados no **Anexo C**.

6.6.2.3 Análise laboratorial e planilha de cálculo

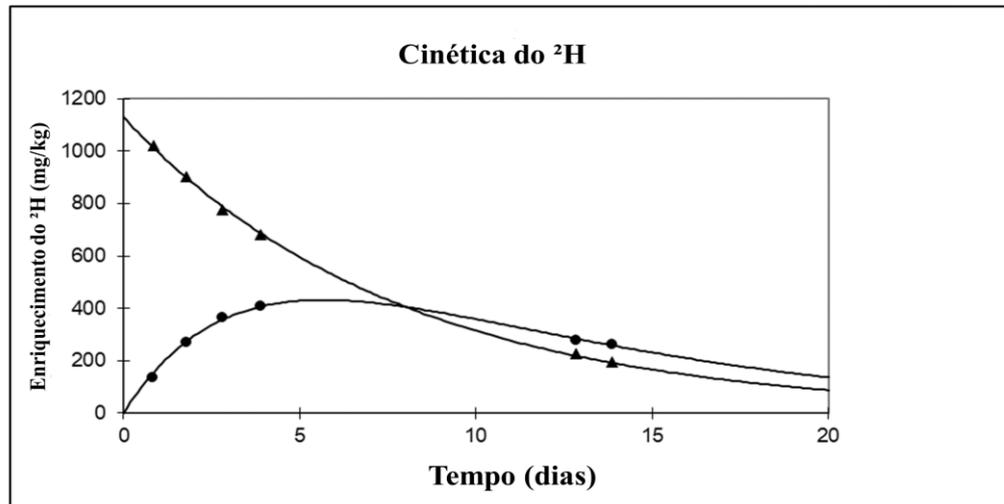
O enriquecimento de isótopos nas amostras de saliva foi determinado por meio de Espectroscopia de Infravermelho com Transformação de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectrometry*, FTIR) (4500t FTIR, Agilent Technologies, Santa Clara, EUA), pelo *St. Jhon's Research Institute*, Índia. Anteriormente à medição, procedia-se a calibração do equipamento utilizando-se solução padrão de 1000 mg/kg (ppm) preparada gravimetricamente por meio da diluição do D₂O com água potável local. A faixa de enriquecimento utilizada variou de zero (abundância natural de deutério na água potável) a 2000 ppm (concentração superior àquela que pode ser encontrada na saliva humana mesmo após administração de doses convencionais). O controle de qualidade das análises foi feito por meio da calibração diária do FTIR ao início e ao final de cada dia de análise.

Os espectros infravermelhos foram medidos na faixa de 2300 a 2900/cm. A magnitude da resposta obtida pelo FTIR foi deduzida da curva de absorção de deutério por um algoritmo (*software Isotope*) desenvolvido pelo *Medical Research Council (Human Nutrition Research*, Cambridge, Reino Unido) e transformado em partes por milhão (ppm). Para a leitura das amostras de saliva pós-dose, a saliva coletada no Dia 0 foi considerada como o valor de referência para descontar o deutério naturalmente presente no indivíduo analisado.

As curvas de enriquecimento foram geradas a partir dos dados de deutério obtidos nas amostras de saliva e do tempo decorrido após a administração do isótopo às mães. As curvas

foram ajustadas usando a função “*Solver*” do *Microsoft Excel* (**Figura 4**) e a partir de equações específicas foi estimado a ingestão média de leite materno.

Figura 4 – Enriquecimento de deutério na água corporal materna e infantil.



Nota: Os símbolos (● criança e ▲ mãe) representam as medidas de enriquecimento de deutério.

Fonte: IAEA (2010a) (tradução da autora).

6.6.2.4 Cálculo de estimativa de volume de leite materno

A ingestão do leite materno pela criança pode ser calculada ajustando-se os dados de enriquecimento de deutério ao modelo de transferência de água mãe-filho. Em estado de equilíbrio a transferência da água materna é dada pela seguinte equação:

$$E_{m(t)} = E_{m(0)} e^{-(K_{mm})t}$$

Em que:

$E_{m(t)}$ é o enriquecimento do isótopo na água corporal materna no tempo t , em mg/kg ou ppm;

t é o tempo decorrido desde a administração do isótopo, expresso em dias;

$E_{m(0)}$ é o enriquecimento de isótopo na amostra no tempo 0, expresso como mg/kg⁻¹;

K_{mm} é a fração da água corporal materna eliminada, expressa em kg/d (gradiente de eliminação do isótopo).

Para a criança, o cálculo segue a seguinte equação:

$$E_{b(t)} = E_{m(0)} \left(\frac{F_{bm}}{V_b} \right) \left(\frac{e^{-(K_{mm})t} - e^{\left(\frac{F_{bb}}{V_b}\right)t}}{\left(\frac{F_{bb}}{V_b}\right) - K_{mm}} \right)$$

Em que:

$E_{b(t)}$ é o enriquecimento do isótopo na água corporal da criança no tempo t , expresso em mg/kg;

t é o tempo decorrido desde a dose ingerida pela mãe, expresso em dias;

$E_{m(0)}$ enriquecimento do isótopo na água corporal materna no tempo 0, expresso em mg/kg ou ppm;

F_{bm} fluxo de transferência da água da mãe para a criança por meio do leite materno, expresso em kg/d;

V_b é o espaço total de distribuição de isótopo na criança, expresso em kg

$V_b = 0,84 \times \text{peso infantil em kg}^{0,82}$ (o método se baseia na suposição de que V_b é modificado de forma linear com o peso da criança ao longo do período de estudo).

K_{mm} é a fração da água corporal materna renovada, expressa em kg/d (gradiente de eliminação do isótopo).

F_{bb} perda total de água pela criança, expressa kg/d.

Para estimar o VLM ingerido pela criança foi utilizada a seguinte equação, assumindo que o leite é composto por 87,1% de água:

$$M = \frac{F_{bm}}{0,871 \text{ kg/d}}$$

As medidas foram expressas em kg/d e posteriormente convertida em g/dia, pela multiplicação do resultado por 1000. A medida de gramatura do leite por dia (g/d) foi considerada como equivalente à mL/dia, baseando-se na densidade do leite humano de 1,03 g/mL (KENT; PERRELLA; GEDDES, 2021).

6.6.3 Análise de volume de leite de 24 horas – método de pesagem

Na Dinamarca, a estimativa do VLM ao longo das 24 horas foi conduzida por meio do método de pesagem ao longo de todo o acompanhamento pós-parto (M1-M3). Para proceder-se este método, foram disponibilizadas pelo projeto balanças pediátricas (ADE M101000-01; ADE GmbH & Co., Hamburg, Alemanha), com precisão de 5g para pesos <10 kg e de 10g para pesos >10kg, para que as participantes registrassem, em casa, informações referentes a 24 horas da rotina de amamentação. As mães eram orientadas a pesar o bebê (gramas) imediatamente antes e logo após o término de cada sessão de amamentação, registrando esses pesos no diário impresso entregue pela equipe de pesquisa. A diferença entre o peso pré- e pós-amamentação fornecia a estimativa do VLM consumido naquele episódio específico. Além disso, era necessário anotar a duração exata de cada episódio em minutos e indicar qual a mama ofertada (esquerdo ou direito). Esse registro detalhado servia para capturar com precisão os dados de ingestão de leite ao longo do dia.

Caso ocorresse de o bebê regurgitar próximo ao horário da sessão de amamentação, esse evento deveria ser registrado, especificando se a regurgitação havia ocorrido antes ou depois das pesagens. Esta informação era utilizada para correção de possíveis variações que afetariam a estimativa do volume de leite.

Para garantir a precisão do método, o bebê deveria estar com a mesma roupa e fralda nas duas pesagens, para assegurar que mudanças de vestimenta ou fraldas não influenciassem o peso registrado. Se a mãe adormecesse durante a amamentação, ao despertar, deveria pesar o bebê imediatamente e anotar o horário e o peso. Adicionalmente, caso de o bebê consumisse outros alimentos durante o período de observação, essa informação deve ser registrada separadamente, no sistema eletrônico *MyFood24* (<https://www.myfood24.org/>). Ao final, a estimativa diária do volume total de leite foi obtida pela soma das diferenças entre os pesos de cada sessão de amamentação.

Medições de ingestão superiores a 400 g ou com valores negativos foram consideradas *outliers* e excluídas da análise. Registros com mais de três sessões de amamentação ausentes foram desconsiderados, enquanto registros com até três sessões ausentes foram ajustados utilizando o método de imputação *hot deck*, no qual pesos de sessões vizinhas do mesmo bebê foram utilizados para preencher as lacunas. Além disso, foi aplicado uma adição de 5% sobre o volume final, para considerar a perda de água que ocorre durante a amamentação (FAO; CONSULTATION, 2001).

6.6.4 Covariáveis

Artigo 1

a) Fatores sociodemográficos

Um questionário estruturado foi aplicado na linha de base da coorte (AN) para coletar dados sociodemográficos e reprodutivos, incluindo: idade materna (anos), estado civil (solteira ou casada/mora com companheiro), grau de escolaridade materna (em anos), paridade (primípara ou múltipara), renda familiar total (R\$), ocupação materna (empregada ou desempregada), raça/cor da pele autodeclarada (branca, preta, parda ou outra, branca, preta, parda ou outra, sendo esta última categoria abrangente para participantes que se identificaram como amarelos ou indígenas).

b) Informações sobre o nascimento e sobre o aleitamento materno

Um questionário estruturado foi aplicado na visita C para coletar informações acerca do nascimento como tipo de parto (cesáreo ou vaginal) e sexo da criança (masculino ou feminino). O tipo de aleitamento materno foi classificado de acordo com as definições recomendadas pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2015; WHO, 2008) ao longo de todos os pontos de acompanhamento (aleitamento materno exclusivo e aleitamento materno predominante ou complementado).

Artigo 2

a) Fatores sociodemográficos

Um questionário estruturado aplicado durante a AN coletou os seguintes dados: idade materna (anos), estado civil (solteira ou casada/mora com companheiro), paridade (primípara ou múltipara), ocupação materna (empregada ou desempregada).

b) Informações sobre o nascimento

Um questionário estruturado foi aplicado na visita C, em visita presencial ou por meio de ligação telefônica, para coletar informações acerca do tipo de parto (cesáreo ou vaginal) e sexo da criança (masculino ou feminino).

c) Estado nutricional antropométrico infantil

Durante a visita M1, o cálculo do escores-z de peso-para-idade (P/I) das crianças foi realizado a partir do peso (kg) e do comprimento (cm) aferidos durante a visita, e classificado de acordo com as definições da OMS.

6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística contou primeiramente com a avaliação da distribuição dos dados por meio de histogramas, gráficos de dispersão e a normalidade utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. As análises descritivas incluíram medidas de tendência central e dispersão (média e desvio-padrão para variáveis com distribuição normal e mediana e intervalo interquartil para as não-paramétricas). Os dados categóricos foram apresentados como frequências.

6.7.1 Artigo 1

A distribuição das variáveis contínuas foi testada com base na inspeção visual de histogramas, gráficos de dispersão e medidas de assimetria e curtose. As características básicas da amostra foram apresentadas como média e desvio padrão (DP) para variáveis normalmente distribuídas; mediana para variáveis assimétricas; frequências absolutas (n), frequências relativas (%) ou intervalos interquartis para variáveis categóricas. Para a avaliação da plausibilidade da suposição de que os dados eram faltantes completamente ao acaso, foram utilizados os testes de Mann-Whitney, Qui-quadrado e o Teste t. A análise contou com a comparação das características das participantes que tiveram análise de composição corporal em todos os pontos com aquelas que tiveram perda de seguimento em algum ponto do estudo.

As variáveis antropométricas maternas (desfechos) foram expressas em percentual (%MG), quilograma (MG e MLG) e kg/m² (IMC). Para avaliar as medidas de %MG, MG e MLG implausíveis, foi realizada uma inspeção visual de gráficos *Box-Plot* e histogramas em cada onda de acompanhamento. Foram consideradas medidas extremas aquelas que excediam os pontos de corte de escore-z (a 3 DP da média). Adicionalmente, foi aplicada uma abordagem longitudinal para avaliar mudanças implausíveis ao longo do tempo, seguindo a metodologia descrita por Boone-Heinonen et al. (2019). Essa abordagem permite remover apenas a observação considerada atípica para o indivíduo. Todos os valores implausíveis identificados foram corrigidos com base nos registros nos prontuários da participante.

As médias dos valores de composição corporal e do IMC materno foram descritos ao longo do tempo considerando as semanas do período pós-parto (1 a 8,5 meses). Mudanças na média dos componentes corporais maternos e IMC entre os fatores maternos (idade materna, paridade, renda familiar, IMC pré-gestacional) e infantil (sexo da criança) em cada visita do estudo (M1-M3) foram investigadas usando ANOVA de medidas repetidas. Adicionalmente, modelos lineares longitudinais de efeitos mistos (*Longitudinal mixed-effect models*, LME) foram ajustados para descrever as variações temporais de cada desfecho. Estes modelos incluíram o tempo (semanas pós-parto) como termo de interação. Os mesmos estimaram os coeficientes β e forneceram uma estimativa combinada das associações entre os participantes e dentro dos participantes ao longo do tempo. A linearidade foi avaliada por meio de polinômios fracionários de regressão descritos por Royston e Altman (1994), e não foram necessárias transformações para as variáveis desfechos. Os efeitos principais foram considerados estatisticamente significativos quando os valores de p eram $<0,05$. Gráficos de resíduos de Pearson foram construídos para avaliar a linearidade e a homoscedasticidade dos modelos, e gráficos quantil-quantil para a verificação da normalidade dos resíduos.

Modelos LME também foram utilizados para investigar qual fator de exposição seria preditor das mudanças em cada um dos desfechos. A primeira etapa desta análise contou com a construção de modelos bivariados de efeitos mistos, empregados para testar a associação entre os fatores materno-infantil e as mudanças nos parâmetros de composição corporal e IMC ao longo do tempo. A seleção destas variáveis se deu com base no modelo teórico construído e na plausibilidade biológica da hipótese da associação entre os fatores de exposição (IMC pré-gestacional, renda, paridade, tipo de parto e sexo da criança) e os desfechos selecionados (composição corporal e IMC maternos), sendo incorporadas aos modelos LME finais apenas aquelas que apresentaram associação significativa ($p < 0,20$) (HOSMER; LEMESHOW; STURDIVANT, 2013) nos modelos bivariados.

As interações entre os fatores maternos e infantis e o tempo (semanas pós-parto) foram testadas para avaliar se a inclinação na composição corporal materna e no IMC ao longo do tempo diferiram com base nos fatores materno-infantis (IMC pré-gestacional, renda familiar, paridade, idade materna, tipo de parto e sexo do bebê). Os modelos foram ajustados individualmente por fatores de confusão específicos (por exemplo, paridade, renda familiar, idade materna e IMC pré-gestacional). A significância estatística para os termos de interação foi considerada para $p < 0,10$, conforme recomendado anteriormente (ALTMAN; BLAND; ALTMAN, 2003). Foram construídos gráficos de interação contendo previsões longitudinais e

intervalos de confiança de 95% para representar as trajetórias de composição corporal e IMC de acordo com os fatores materno-infantis.

Apenas resultados estatisticamente significativos foram apresentados usando gráficos de interação e tabelas suplementares. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* estatístico *Stata* (StataCorp), versão 15.0, e o *software R* (pacote *lme4*), versão 4.3.2 (The R Foundation).

6.7.2 Artigo 2

Todas as variáveis contínuas foram avaliadas quanto à normalidade por inspeção visual de histogramas, assimetria, curtose e o teste de Shapiro-Wilk. As estatísticas descritivas foram apresentadas como média \pm DP para variáveis com distribuição normal e mediana (intervalo interquartil, IQR) para variáveis assimétricas. As frequências absolutas (n) e relativas (%) foram calculadas para variáveis categóricas.

Valores implausíveis de VLM foram avaliados por meio de inspeção visual de *box plots* e histogramas para cada visita, além de uma análise longitudinal das mudanças ao longo do tempo, seguindo a metodologia de Boone-Heinonen et al. (2019). Quatro observações foram removidas: duas do Brasil e duas da Dinamarca. Para verificar a viabilidade de combinar dados de ambos os locais, uma análise de covariância (ANCOVA) foi realizada em cada visita, ajustando para a idade da criança em dias. Os resultados indicaram uma diferença estatisticamente significativa entre o Brasil e a Dinamarca no último ponto de acompanhamento (M3) (dados não apresentados). Devido à incerteza sobre se essa diferença resulta de características populacionais ou disparidades nos métodos de estimativa de VLM, foram construídos modelos separados, para assegurar análises robustas e resultados válidos.

A abordagem de modelos de curvas de crescimento latentes (*Latent growth mixture model*, LGMM) foi utilizada para identificar padrões distintos de VLM ao longo do tempo, capturando a heterogeneidade dentro das subpopulações. Este método revela subpopulações não observadas, permitindo a representação de mudanças longitudinais e a exploração de diferenças entre esses subgrupos latentes (WANG; HANGES, 2011). As trajetórias de VLM foram modeladas com uma variável latente contínua, enquanto variáveis latentes categóricas (classes) representaram subpopulações distintas. As trajetórias de classes latentes foram ajustadas separadamente para cada país, considerando potenciais diferenças nos padrões e métodos de estimativa de VLM entre as populações.

A análise dos dados foi conduzida em quatro etapas para identificar as classes latentes e investigar os perfis de composição corporal materna associados a essas trajetórias. Primeiro, as trajetórias de volume de leite foram modeladas, e formas lineares e polinomiais foram testadas para determinar o modelo mais apropriado. Segundo passo contou com a definição do número ideal de classes, comparando modelos com 2 a 9 categorias, selecionando-se o LGMM de melhor ajuste com base no menor Critério de Informação de Akaike (*Akaike Information Criterion*, AIC), valores altos de entropia (RAM; GRIMM, 2009) e proporção em que cada classe de pelo menos 5% da coorte (NYLUND; ASPAROUHOV; MUTHÉN, 2007). Trajetórias distintas foram nomeadas de acordo com suas características visuais (“Maior” e “Média” produção).

Na terceira etapa, modelos de regressão logística foram aplicados para estimar as associações entre a adiposidade materna em M1 (MG e IMG) como exposição e as classes de VLM como desfecho. Os modelos foram testando sem ajuste, bem como ajustados para um conjunto de covariáveis (idade materna, sexo do bebê, idade do bebê, IMC pré-gestacional, paridade e score-z de P/I), escolhidas *a priori* com base em evidências teóricas de potenciais associações entre adiposidade materna e VLM. Os modelos estimaram razões de chances (OR) com intervalos de confiança de 95% (IC95%). Na etapa final, a multicolinearidade foi verificada usando um limite de fator de inflação da variância (VIF) de 10 (KIM, 2019), e os resíduos dos modelos foram avaliados pelo teste do qui-quadrado de Pearson. A significância estatística foi definida como $p < 0,05$.

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software Stata (StataCorp, versão 15.0) e o software R (pacote *lcmm*, versão 4.3.2, The R Foundation).

6.8 ASPECTOS ÉTICOS

No Brasil, o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Maternidade Escola da UFRJ (1.948.992, 2.769.611, 4.449.007), pelo CEP da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (2.100.255) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE 64767717.4.3001.5279). Na Dinamarca, todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê Dinamarquês de Ética em Pesquisa Biomédica (H-17015174). Todas as atividades da pesquisa seguiram as orientações da Declaração de Helsinki e da Resolução 466/2012 da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (BRASIL, 2012).

7 RESULTADOS

A seção de resultados apresentada os dois produtos da tese. O primeiro, é intitulado “*Predictors of longitudinal changes in body composition and BMI in Brazilian lactating women during the first 8.5 months postpartum*”, o qual explorou os preditores das trajetórias da composição corporal e IMC maternos durante os primeiros 8,5 meses pós-parto na amostra brasileira. O mesmo segue a formatação segundo as orientações da revista ao qual foi submetido para apreciação, *British Journal of Nutrition* (fator de impacto 2023: 3.0 e Qualis Periódicos A1 para área de Nutrição), e aguarda o escore dos revisores.

O segundo produto tem como título “*Maternal adiposity and breast milk volume in Brazilian and Danish lactating women: The Mothers, Infants, and Lactation Quality Study (MILQ)*”, e teve como objetivo investigar a associação da adiposidade corporal materna com as trajetórias de volume de leite materno, considerando dados das coortes brasileira e dinamarquesa pertencentes ao projeto MILQ. O mesmo está em processo de refinamento de escrita e pretende-se submetê-lo à *American Journal of Clinical Nutrition* (fator de impacto 2023: 6,5 e Qualis Periódicos A1 para área de Nutrição).

7.1 ARTIGO 1

Predictors of longitudinal changes in body composition and BMI in Brazilian lactating women during the first 8.5 months postpartum

Campos, Adriana Divina de Souza Campos

Short title: Predictors of body composition in lactation

Keywords: maternal body composition; lactation; prospective study; postpartum period; maternal BMI.

Abbreviations

BC - body composition; BF – body fat; FM – fat mass; FFM – fat-free mass; BMI – body mass index; LME - Longitudinal mixed-effect model; BIA – bioelectric impedance; MILQ – “The Mothers, Infants, and Lactation Quality” study; HM – human milk; EBF – exclusive breastfeeding; non-EBF – non-exclusive breastfeeding; ppBMI – pre-pregnancy BMI; SD – standard deviation; CI – confidence interval; ANOVA – analysis of variance; IQR - interquartile ranges.

ABSTRACT

Pregnancy and lactation change women's body composition (BC), but few longitudinal studies have investigated postpartum BC trajectories. We aimed to investigate maternal and infant predictors of maternal body fat (BF), fat mass (FM), fat-free mass (FFM), and body mass index (BMI) trajectories during lactation. Longitudinal study with 234 of Brazilian mother-infant dyads followed at 1.0–3.49, 3.5–5.99, and 6.0–8.5 months postpartum. Maternal BC was estimated using bioelectrical impedance at all follow-up points. Longitudinal mixed-effects models with interaction terms with time (weeks postpartum) were employed. FFM declined significantly over weeks postpartum ($\beta = -0.02$ kg; 95% CI -0.03, -0.01). Pre-pregnancy overweight women experienced an increase in all body components (BF: $\beta = 4.91$ %, 95% CI 3.79, 6.04; FM: $\beta = 6.46$ kg, 95% CI 5.26, 7.67; FFM: $\beta = 3.72$ kg, 95% CI 2.80, 4.65) and BMI ($\beta = 4.51$ kg/m², 95% CI 3.91, 5.12). Multiparous women showed BMI increases ($\beta = 0.76$ kg/m², 95% CI 0.11, 1.41); and those who delivered by caesarean had FFM ($\beta = 1.87$ kg, 95% CI 0.67, 3.07) and BMI ($\beta = 1.39$ kg/m², 95% CI 0.61, 2.18) increases. Women who birthed girls had reductions in FM ($\beta = -1.24$ kg, 95% CI -2.41, -0.07) and FFM ($\beta = -0.93$ kg, 95% CI -1.84, -0.01). Interactions occurred between maternal age ≥ 30 years, higher family income, multiparity, and infant sex for BC and BMI trajectories. Maternal age, pre-pregnancy BMI, parity, family income, mode of delivery, and infant sex predict maternal BC and BMI trajectories.

Introduction

Globally overweight affects over 2.5 billion adults aged 18 years and older, including 890 million adults living with obesity in 2022 ⁽¹⁾. The increasing number of women of reproductive age with overweight or obesity is of particular concern, with an estimated 39 million pregnant women affected in 2014 ⁽²⁾. In 2019, 63.3% of adult Brazilian women were classified as overweight, and 30.2% as obese ⁽³⁾. Additionally, pre-pregnancy overweight increased from 22.6% to 28.8% and obesity from 9.8% to 19.8% between 2008 and 2018 ⁽⁴⁾.

Pregnancy and the postnatal period represent vulnerable phases in women's lives, characterized by changes in body weight and body composition (BC) ⁽⁵⁻⁷⁾. Typically, pregnancy leads to increased body fat (BF), followed by a decrease during the third trimester and lactation ⁽⁸⁾. However, these changes vary among populations, with fat depletion observed across pregnancies in nutritionally stressed populations and steady accumulation in well-nourished sedentary populations ^(9,10).

The body mass index (BMI) is the most widely used indicator for assessing nutritional status in surveys and healthcare systems, despite its limitation in distinguishing between fat mass (FM) and fat-free mass (FFM) ⁽¹¹⁾. BC can be determined using bioelectrical impedance analysis (BIA), a non-invasive, fast, and low-cost method ⁽¹²⁾. In addition, BC assessment during lactation seems to be an essential indicator of maternal nutritional status, which is central to the overall health of the mother and child ⁽¹³⁾.

Evidence suggests that parity ⁽¹⁴⁾, delivery mode ⁽¹⁵⁾, maternal age ⁽¹⁶⁾, and socioeconomic conditions ⁽¹⁷⁾ are associated with changes in maternal BC. However, longitudinal studies exploring factors associated with postpartum changes in maternal BC and maternal BMI among lactating women are limited. To our knowledge, this is the first study to investigate the role of maternal and infant factors associated with trajectories of maternal BC and BMI within the first 8.5 months postpartum within the Brazilian population.

Methods

Study design and participants

The present study is a secondary study based on a subsample from the “The Mothers, Infants, and Lactation Quality (MILQ)” study (Clinical trial registration: NCT03254329, <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03254329>), an international multi-center cohort study conducted in Bangladesh, Brazil, Denmark, and The Gambia. The MILQ study was designed to establish reference values for micro- and macronutrient concentrations in human milk (HM) across the first 8.5 months postpartum. The sample size of 250 women per country and time period was designed to detect differences of 0.25/0.3 SD with 80%/90% power. Detailed information about the MILQ study protocol can be found elsewhere ⁽¹⁸⁾. The current analyses included data only from Brazil.

The participants were recruited from a public hospital in Rio de Janeiro and were enrolled during the third trimester of pregnancy (>28th week of gestation) or immediately after delivery (AN). Participants underwent four visits throughout the study period: one at 24–72 hours postpartum (C), followed by three scheduled visits at specific time intervals: 1.0–3.49 months (M1), 3.5–5.99 months (M2), and 6.0–8.5 months postpartum (M3). The data collection in Brazil occurred from January 2018 to March 2022 and included an interruption of six months in recruitment due to the COVID-19 pandemic.

The data collected during the three scheduled visits (M1-M3) included height, weight, and maternal BC measurements. Additionally, questionnaires were used to collect birth details, sociodemographic characteristics, maternal and infant health conditions, and breastfeeding practices at visit C and M1-M3.

This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures were approved by the National Commission for Research Ethics

(2.086.708, 2.875.218, 4.865.685, approved on 29 May 2017), the Research Ethics Committees of the Maternity School of Rio de Janeiro Federal University (1.948.992, 2.769.611, 4.449.007, approved on 06 March 2017); and the Municipal Secretary of Health and Civil Defence of the State of Rio de Janeiro (2.100.255, approved on 05 June 2017), Brazil; Project number: 64767717.4.0000.5275. Written informed consent was obtained from all participants.

Eligibility criteria and subjects

Maternal inclusion criteria comprised being free of chronic or infectious diseases, age 18–40 years, with a pre-pregnancy BMI (ppBMI) between 18.5 and 29.9 kg/m²; a height \geq 145 cm, and hemoglobin \geq 100 g/L during the third trimester of pregnancy. Mothers should be non-smokers and should not have used vitamin or mineral supplementation during the third trimester of pregnancy and postpartum follow-up, except for iron and folic acid, as recommended by the Brazilian governmental guidelines ⁽¹⁹⁾. Additionally, they were expected to have a low consumption of fortified foods, not have a regular alcohol intake $>$ 30 g per week, and not follow a vegan or macrobiotic diet. Women were excluded if they had any chronic diseases or developed medical conditions relevant to the study (e.g., gestational diabetes or pre-eclampsia) and if they discontinued exclusive breastfeeding (EBF) before M1. The infant's inclusion criteria comprised being singleton and born at term (\geq 37 and \leq 42 gestational weeks) with a birth weight between 2500 and 4200 g, and without congenital malformations that interfere with feeding, growth, or development. Infants were excluded if they had a z-scores $<$ -2 for length-for-age, weight-for-age, or weight-for-length according to the *World Health Organization Child Growth Standard* ⁽²⁰⁾; no EBF at M1 or if breastfeeding was discontinued entirely at any of the follow-up timepoints.

A sample of 494 mother-infant dyads was initially recruited at the study's baseline (AN). Subsequently, a total of 34 dyads were excluded: 10 due to pre-term (\leq 37 gestational weeks) or

post-term (≥ 42 gestational weeks) births, 17 due to birth weight ≤ 2500 or ≥ 4200 g, two due to congenital malformations, and 10 due to maternal medical issues. Additionally, 32 dyads dropped out of the study due to COVID-19, moved away, failed to attend the visit, and the end of the study. As a result, 428 dyads were assessed at C. At M1, 106 dyads were further excluded: 90 due to non-EBF, five due to maternal alcohol consumption above the pre-specified limit, 11 due to z-scores < -2 , six due to maternal supplement intake, and two due to serious infant illness. Another 87 dyads dropped out due to COVID-19, moved away, failure to attend the visit, project end, infant died or other reason. It is important to note that some women were excluded based on multiple criteria. For the present analyses, only women who had BC evaluated at least once during the follow-up visits were included ($n = 234$) (**Figure 1**).

Maternal anthropometry and body composition

The ppBMI was calculated as weight divided by the square of height (kg/m^2) based on the pre-pregnancy weight and height data recorded in the pregnancy booklet. Maternal height was measured in triplicate during M1 using a fixed digital stadiometer SECA 264 (Seca, Hamburg, Germany) with a precision of 1 mm. The data used was based on the mean of the three measurements. The postpartum weight retention was calculated as the difference between weight at each follow-up visit and pre-pregnancy body weight.

Mothers had their body weight and BC measured during all follow-up visits using the Tanita MC-780U instrument (Tanita Corporation, Arlington Heights, USA). The instrument has a precision of 100 g and a capacity of 270 kg. The BC was assessed after ensuring participants had fasted for at least three hours and had not consumed large meals or engaged in intense physical activity in the past 12 hours. Women were also asked to empty their bladder before performing the exam. The first step comprised entering the sex, age, and height data into the device. Subsequently, the participant stood barefoot on the four electrodes of the scale

platform, wearing minimal clothes and without metal objects (earrings, rings, necklaces, bracelets). Straps with integrated electrodes were held in both hands, and the participants' arms remained relaxed by their sides until the results appeared on the equipment's display. The internal Tanita algorithm estimated measurements of BF percentage, FM, and FFM in kg.

Sociodemographic, anthropometric, and health data collection

A structured questionnaire was administered at AN to collect sociodemographic and reproductive data, including maternal age in years (categorized in ≤ 19 , 20 to 29, and ≥ 30 years), marital status (single or married/cohabiting), maternal education (schooling years), parity (primiparous or multiparous), total family income per month (US\$, categorized in quartiles), maternal occupation (employed or unemployed), and self-reported skin color (white, black, mixed, and other). Pre-pregnancy BMI was classified as normal weight (18.5-24.9 kg/m²) or overweight (25.0-29.9 kg/m²). At C, another structured questionnaire was administered to collect details about the birth, such as the mode of delivery (caesarean section or vaginal) and the infant's sex (male or female). The type of breastfeeding was classified according to WHO guidelines ⁽²¹⁾ at all follow-up points as EBF or partial breastfeeding.

Statistical analysis

The distribution of all continuous variables was assessed based on the visual inspection of histograms, skewness, and kurtosis measurements. Summary statistics were calculated as mean and standard deviation (SD) for normally distributed variables, median and interquartile ranges (IQR) for skewed variables, and absolute (n) and relative frequencies (%) for categorical variables. To assess whether data were missing completely at random, we compared the characteristics of women who completed all follow-up visits with those who missed any visit using the Mann-Whitney *U* test, chi-square test, and t-test, as appropriate.

BF, FM and FFM, and BMI were the outcomes. BF, FM, and FFM implausible values were evaluated using a visual inspection of box plots and histograms for each visit. Extreme measures were considered when they exceeded the z-score cut-off points (at 3 SDs from the mean). Moreover, a longitudinal approach was applied to assess implausible changes over time, following the methodology described by Boone-Heinonen *et al.* (2019) ⁽²²⁾. This approach allowed us to identify only the specific data points considered outliers and not the entire record. All identified outlier values were data entry errors and were corrected based on the project's follow-up records.

The mean values of BF, FM, and FFM were initially described over time considering the visits (1.0-3.49, 3.5-5.99, and 6.0-8.5 months postpartum). Repeated-measures ANOVA was used to compare the means of these outcomes across visits. Also, maternal factors (maternal age, parity, family income, ppBMI) and infant sex were analyzed by ANOVA. Additionally, longitudinal linear mixed-effects models (LME) were fitted to describe temporal variations for each outcome. They included time (weeks postpartum) as the interaction term. These models estimated β coefficients to provide a combined estimate of the associations between participants and within participants over time. Linearity was assessed using regression fractional polynomials described by Royston & Altman (1994) ⁽²³⁾. No transformations were needed for outcomes (BF, FM, FFM, and BMI). The main effects were considered statistically significant when p-values were <0.05 . Pearson residual plots were used to assess the linearity and homoscedasticity, and quantile-quantile plots were used to check the normality of the residuals.

LME models were also used to investigate what exposure factors would predict changes in each outcome. The first step in constructing these models was to apply bivariate mixed-effects models assessing possible correlations between maternal and infant factors and the changes in BC and BMI over time. Possible covariates were selected based on theoretical

evidence of potential associations, and the final models included covariates with significance at $p < 0.20$ in the bivariate modeling ⁽²⁴⁾.

Interactions between maternal and infant factors and time (postpartum weeks) were tested to evaluate if the slope in maternal BC and BMI over time differed based on maternal-infant factors (ppBMI, family income, parity, maternal age, delivery mode, and infant sex). The models were individually adjusted by specific confounders (e.g., parity, family income, maternal age, ppBMI). Statistical significance for interaction terms was considered when $p < 0.10$ ⁽²⁵⁾. Interaction plots containing longitudinal prediction and 95% confidence intervals (95% CI) were constructed to depict BC and BMI trajectories according to the maternal-infant factors.

Only statistically significant results are presented using interaction plots and supplemental tables. Statistical analyses were performed using Stata statistical software (StataCorp), version 15.0, and the R software (*lme4* package), version 4.3.2 (The R Foundation).

Results

Study design and participants

A total of 494 mother-infant dyads were recruited. However, only 234 mothers had BC and anthropometry assessed in at least one follow-up visit: M1 (n = 217), M2 (n = 167), and M3 (n = 131) (**Figure 1**).

Sixty-two percent of the women were between 20 and 29 years, 75% had eight to 12 years of education, and 40.6% were classified as pre-pregnancy overweight (**Table 1**). The women who completed all follow-ups (n = 110) and those who were classified as a loss of

follow-up at any visit (n = 124) did not differ in their maternal and sociodemographic characteristics (**Supplementary Table 1**).

Maternal body composition and BMI postpartum trajectories

The mean BMI fell 0.2 kg/m² (~0.8%) between 1 and 8.5 months (V2 to V4). BF decreased by 0.1%, whereas FFM decreased by 0.3 kg (V2 to V4). Repeated-measures ANOVA showed significant differences over time (V2 to V4). BF, FM, and FFM means differed across maternal age categories and between those who had pre-pregnancy overweight and normal weight. Additionally, multiparous women exhibited a higher mean BF compared to primiparous women (V2 to V4) (data not shown in Table).

FFM reduced significantly throughout the study period, with a mean loss of 0.024 kg per week (95% CI -0.03, -0.01; p<0.001). BMI also showed a borderline reduction of 0.009 kg/m² (95% CI -0.01, 1.57; p = 0.05) per week. BF (95% CI -0.02, 0.02; p = 0.98) and FM (95% CI -0.22, 0.02; p = 0.83) remained stable over time (**Figure 2**).

Factors associated with maternal body composition and postpartum BMI trajectories

Pre-pregnancy overweight women experienced a significant increase in the mean of all assessed body components (BF: $\beta = 4.91$ %, 95% CI 3.79, 6.04; FM: $\beta = 6.46$ kg, 95% CI 5.26, 7.67; FFM: $\beta = 3.72$ kg, 95% CI 2.79, 4.65) and BMI ($\beta = 4.51$ kg/m², 95% CI 3.91, 5.12) throughout the study period compared to normal weight women. Multiparous women had a greater BMI ($\beta = 0.76$ kg/m², 95% CI 0.11, 1.41) than primiparous women, while those who delivered by caesarean section, compared to vaginal delivery had greater FFM ($\beta = 1.90$ kg, 95% CI 0.71, 3.10) and BMI ($\beta = 1.39$ kg/m², 95% CI 0.61, 2.18). Women who gave birth to girls experienced a reduction in the mean FM ($\beta = -1.24$ kg; 95% CI -2.41, -0.07) and FFM ($\beta = -0.89$ kg; 95% CI -1.84, -0.01) compared with mothers who had delivered boys. Women in

non-EBF had lower FFM (-0.26 kg; 95% CI -0.49, -0.03) over time than those in EBF (**Table 2**).

Women aged ≥ 30 years had a greater increase in BF ($\beta_{\text{interaction}} = 0.10\%$; 95% CI 0.02, 0.19; $p = 0.01$) and FM ($\beta_{\text{interaction}} = 0.09$ kg; 95% CI 0.00, 0.18; $p = 0.03$) per week throughout the study period compared to those in the ≤ 19 years group (**Figure 3, Supplementary Table 2**). Women from the highest income quartile at baseline exhibited a reduction in BF ($\beta_{\text{interaction}} = -0.06\%$; 95% CI -0.13, -0.00; $p = 0.03$) and an increase in FFM ($\beta_{\text{interaction}} = 0.03$ kg; 95% CI 0.00, 0.07; $p = 0.02$) per week compared to those in the lowest quartile (**Figure 4, Supplementary Table 3**). Multiparous women showed an increase in BF ($\beta_{\text{interaction}} = 0.06\%$; 95% CI 0.01, 0.10; $p < 0.01$) and FM ($\beta_{\text{interaction}} = 0.05$ kg; 95% CI 0.00, 0.10; $p = 0.04$) per week compared to primiparous women (**Figure 5, Supplementary Table 4**). Additionally, women who were overweight pre-pregnancy experienced a significant increase in BF ($\beta_{\text{interaction}} = 0.04\%$; 95% CI -0.00, 0.08; $p = 0.08$) per week compared to pre-pregnancy normal-weight women (**Figure 6, Supplementary Table 5**). The mothers who delivered a girl had a more pronounced increase in FFM ($\beta_{\text{interaction}} = 0.03$ kg; 95% CI 0.01, 0.05; $p < 0.01$) and BMI ($\beta_{\text{interaction}} = 0.01$ kg/m²; 95% CI -0.00, 0.03; $p = 0.09$) per week compared to those who gave birth to boys (**Figure 7, Supplementary Table 6**). Delivery mode and EBF status did not reveal any significant interactions with changes in body composition and BMI over time (**Supplementary Tables 7 and 8**).

Discussion

Our findings revealed that FFM and BMI had a significant reduction over the first 8.5 months of lactation. Moreover, pre-pregnancy overweight, multiparity, delivery by caesarean section, infant sex, and no exclusive breastfeeding were associated with maternal BC and BMI

changes. We also identified that maternal age ≥ 30 years, higher family income, multiparity, pre-pregnancy overweight, and infant sex are factors that can modify the effect of time on maternal BMI and BF, FM, and FFM.

The observed decrease in maternal BMI seems modest ($\sim 0.8\%$), but it holds clinical significance, as even small reductions can have long-term health benefits. It is estimated that a 1% reduction in BMI could reduce the risk of obesity-related complications over 20 years ⁽²⁶⁾. Additionally, this reduction was expected since our cohort exclusively breastfed for at least 3.5 months and continued some breastfeeding until their final study visit (6-8.5mo). Similar results have been observed in other studies with samples from Morocco ⁽²⁷⁾ and Turkey ⁽²⁸⁾. Previous findings from the literature have described that breastfeeding is a predictor of postpartum weight loss ^(29,30), which contributes to the reduction in maternal BMI.

We observed a reduction in FFM in the study sample (0.720 kg on average from 4 to 34 weeks postpartum); however, we found no significant modification in BF and FM. Our findings contrast with those reported in the literature, including data from Moroccan ⁽³¹⁾ and Swedish samples ⁽³²⁾, which observed a reduction in FM and an increase in FFM during the first six months postpartum in lactating women. On the other hand, Rabi *et al.* (2021) ⁽²⁷⁾, in another Moroccan study which tracked breastfeeding women for a similar duration to our study, found a significant reduction in Fat Mass Index (FMI) between the first and 12th months and in Fat-Free Mass Index (FFMI) between the first and third months. These results confirm that the metabolic demands imposed by lactation exhibit high variability ⁽¹⁰⁾.

The women who were overweight before pregnancy showed an increase in the mean of all BC components and BMI over time. These findings agree with those observed in other studies, where ppBMI has been linked to the pattern of maternal BF accumulation, distribution, and retention ^(7,33). Previous literature has also demonstrated that women with pre-pregnancy overweight experience slower and less weight loss compared to those with pre-pregnancy

normal weight, while those with pre-pregnancy obesity gain weight. At one year postpartum, regardless of lactation status, mothers with pre-pregnancy normal weight experience BMI reduction, whereas those with pre-pregnancy obesity undergo BMI gain ⁽³⁴⁾.

The mechanisms behind these variations in fat accretion among women starting pregnancy with different BMIs remain unclear. However, it could be explained by differences in insulin sensitivity and lipid metabolism during pregnancy ⁽³⁵⁾. In early pregnancy, women undergo a decline in insulin sensitivity, leading to increased lipogenesis and fat storage to meet energy requirements for maternal and fetal needs. As pregnancy progresses, insulin sensitivity decreases, and women with less adipose tissue display a smaller overall reduction. In addition, obese women show a negative correlation between reduced insulin sensitivity and increased FM ⁽³⁶⁾.

There are no studies describing that women who delivered through caesarean section had an increase in postpartum BMI and FFM means over time compared to women who had a vaginal delivery. However, the delivery mode has been associated with postpartum weight retention, and its role in BMI trajectory can't be ruled out ⁽³⁷⁾. In a study that followed primiparous women from delivery to three years after birth, it was observed that women who gave birth through caesarean section were more likely to retain > 4.5 kg at the end of 12 months postpartum compared to those who had a vaginal delivery ⁽¹⁵⁾. In addition, the delivery mode is also associated with a reduction in EBF duration ^(38,39), which is recognized as a contributor to postpartum weight loss ⁽⁴⁰⁾. The sum of the greater risk of retaining weight with the early EBF interruption may be the reason behind the positive association between caesarean delivery and BMI trajectory.

The multiparous women experienced an increase in mean BF over time. They also gained, on average, more FM per week than primiparous women. The available literature on its association with maternal BC trajectory remains limited. A cross-sectional study including

women from the United States revealed that well-nourished women tend to accumulate more BF per reproductive cycle. Also, multiparous women had higher weights and increased body mass and fat with age ⁽⁴¹⁾. In contrast, a study comparing the BF trajectories between primiparous and multiparous mothers, from pregnancy to 6-8 months postpartum, found that primiparous had higher BF gains during pregnancy and were more likely to retain it after six months of delivery ⁽¹⁴⁾. Additionally, current literature describes a positive association between parity and ppBMI ⁽⁴²⁾, its potential role as a risk factor for long-term obesity ⁽⁴³⁾, and postpartum weight retention ^(44,45). These results highlight the complexity of this variable being directly associated with our outcomes, as it is also associated with other inter-conception factors that influence changes in maternal BC in the postpartum period.

Interestingly, our study revealed that giving birth to girls predicts lower mean values of FM and FFM over time. However, in terms of FFM, although these women had lower average FFM, they gained slightly more FFM per week compared to mothers of boys. One possible explanation for that result could be the different nutritional demands between sexes, which may alter the composition of breast milk ^(46,47). Given that the mother's nutritional status influences breast milk composition ⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾, the infant's nutritional demands may influence changes in maternal BC.

Interruption of EBF showed a negative association with FFM over time. This finding aligns with those highlighting EBF as a predictor of overall postpartum weight reduction ^(29,51,52), which may reflect in decreased FFM. On the other hand, this result may also be partly explained by the BIA analysis. Despite its widespread use, BIA is sensitive to hydration changes during postpartum ⁽¹³⁾. Evidence shows that early introduction of complementary feeding or non-nutritious liquids decreases breast milk production ⁽⁵³⁾, which BIA may estimate as a reduction in FFM.

Another finding is that women aged ≥ 30 years had a more pronounced increase in the BF and FM means per week than women aged ≤ 19 years. This finding agrees with previous studies conducted in different countries, even for shorter follow-up periods ^(16,54,55). This result likely reflects the biological aging of maternal adipose tissue, which may increase its efficiency for energy storage as fat ⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾.

The women in the highest income quartile experienced a greater decrease in BF per week and an increase in the mean FFM per week compared to women in the lowest quartile. Unexplored factors in this study such as food insecurity and poor maternal diet quality may explain these results. It has been reported that postpartum food insecurity is associated with ~ 1 BMI unit increase at 12 months postpartum among overweight women ⁽⁵⁹⁾ and negatively affects FM, FFM, and abdominal skinfold thickness ⁽⁶⁰⁾. Additionally, lower socioeconomic status and educational attainment are associated with poorer dietary patterns, including more ultra-processed food consumption during pregnancy and postpartum ⁽⁶¹⁾. In conjunction with food insecurity, this poor diet quality elevates obesity risk ⁽⁶²⁾. These disparities in health determinants underscore the complexity of weight management during and after pregnancy.

This study's main strength lies in its longitudinal design, which allows for assessing maternal BC at three different time points. However, our work has some limitations. Firstly, the BC data was obtained directly from the BIA equipment. The specific equations used by the manufacturer were not disclosed, and these may not be validated for the early postpartum period. It is well-documented that the hydration status of lactating women may take up to three months to normalize ⁽¹³⁾. Additionally, the amount of breast milk produced can potentially affect the BIA accuracy. Furthermore, BIA methods may overestimate FM during lactation compared to more precise techniques ⁽⁶³⁾. It is important to note that there are no longitudinal studies comparing the use of BIA with another reference method that covers the time range of our study. Another limiting factor is the lack of information on the participants' physical activity

levels, which is known to play a role in weight reduction.

In summary, we found that FFM and BMI decreased significantly over time. Furthermore, multiparity, caesarean delivery, pre-pregnancy overweight BMI, giving birth to girls, and no EBF appeared to be predictors of these changes. Maternal age, family income, parity, and infant sex could also change the effect of time on BF, FM, FFM, and BMI trajectories. While these results are intriguing, it is premature to infer causality or make exaggerated claims based on our findings. Nevertheless, these results offer valuable insights into the factors influencing postpartum body changes beyond breastfeeding. They also emphasize the importance of considering multiple factors for managing maternal nutritional status postpartum.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the Brazilians dyads enrolled in The MILQ study, as well as members of the research team for their dedication and perseverance. We also extend our gratitude to the hospital and its staff for their invaluable support.

This work was funded by the Bill & Melinda Gates Foundation (grant numbers: OPP1148405 and INV-002300), intramural USDA-Agricultural Research Service project 5306-51000-004-00D, and the Federal University of Rio de Janeiro.

A.D.S.C.: Conceptualization, methodology, data curation, formal analysis, writing – original draft and had primary responsibility for the final content. L.H.A., K.F.M., C.M., G.K, and D.B.M.: funding acquisition, conceptualization, project administration, writing – review and editing. G.T.S., A.L.L.F., A.C.C.F., B.C.S., A.Y.K., J.I.L., and S.H.C.: writing - review and editing. G.K.: supervision. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

All authors declare no conflict of interest.

Supplemental material

Supplementary Table 1 – Characteristics of participants who completed all follow-ups and participants who loss the following at some study waves.

Supplementary Table 2 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to maternal ages (n = 234).

Supplementary Table 3 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to quartiles of total family income, Brazil (n = 234).

Supplementary Table 4 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to parity, Brazil (n = 234).

Supplementary Table 5 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to pre-pregnancy Body Mass Index (BMI), Brazil (n = 234).

Supplementary Table 6 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to infant sex, Brazil (n = 234).

Supplementary Table 7 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to delivery mode, Brazil (n = 234).

Supplementary Table 8 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to breastfeeding status, Brazil (n = 234).

References

1. World Health Organization (2024) Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. (Accessed June 2024).
2. Chen C, Xu X & Yan Y (2018) Estimated global overweight and obesity burden in pregnant women based on panel data model. *PLoS One* **13**. Public Library of Science.
3. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020) *Pesquisa Nacional de Saúde 2019: Atenção primária à saúde e informações antropométricas (National Health Survey 2019: Primary Health Care and anthropometric data)*. [IBGE C de T e R, editor]. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento.
4. Carrilho TRB, Rasmussen KM, Hutcheon JA, et al. (2022) Prevalence and temporal trends in prepregnancy nutritional status and gestational weight gain of adult women followed in the Brazilian Food and Nutrition Surveillance System from 2008 to 2018. *Matern. Child Nutr.* **18**. John Wiley and Sons Inc.
5. Gunderson EP, Sternfeld B, Wellons MF, et al. (2008) Childbearing may increase visceral adipose tissue independent of overall increase in body fat. *Obesity* **16**, 1078–1084.
6. Rössner S & Öhlin A (1995) Pregnancy as a Risk Factor for Obesity: Lessons from the Stockholm Pregnancy and Weight Development Study. *Obes. Res.* **3**, 267s-275s.
7. Soltani H & Fraser RB (2000) A longitudinal study of maternal anthropometric changes in normal weight, overweight and obese women during pregnancy and postpartum. *Br. J. Nutr.* **84**, 95–101. CAB International.
8. Huda SS, Forrest R, Paterson N, et al. (2014) In preeclampsia, maternal third trimester subcutaneous adipocyte lipolysis is more resistant to suppression by insulin than in healthy pregnancy. *Hypertension* **63**, 1094–1101.

9. Wells JCK, Griffin L & Treleaven P (2010) Independent changes in female body shape with parity and age: Life-history approach to female adiposity. *Am. J. Hum. Biol.* **22**, 456–462.
10. Butte NF & Hopkinson JM (1998) Body Composition Changes during Lactation Are Highly Variable among Women. *J. Nutr.* **128**, 381S-385S.
11. Rothman KJ (2008) BMI-related errors in the measurement of obesity. *Int. J. Obes.* **32**, S56–S59.
12. Bosaeus M, Andersson-Hall U, Andersson L, et al. (2020) Body Composition During Pregnancy: Longitudinal Changes and Method Comparisons. *Reprod. Sci.* **27**, 1477–1489.
13. Biddulph C, Holmes M, Kuballa A, et al. (2022) Beyond the BMI: Validity and Practicality of Postpartum Body Composition Assessment Methods during Lactation: A Scoping Review. *Nutrients* **14**. MDPI.
14. To WWK & Wong MWN (2009) Body fat composition and weight changes during pregnancy and 6-8 months post-partum in primiparous and multiparous women. *Aust. New Zeal. J. Obstet. Gynaecol.* **49**, 34–38.
15. Legro NR, Lehman EB & Kjerulff KH (2020) Mode of first delivery and postpartum weight retention at 1 year. *Obes. Res. Clin. Pract.* **14**, 241–248. Elsevier Ltd.
16. Caire-Juvera G, Casanueva E, Bolaños-Villar AV, et al. (2012) No changes in weight and body fat in lactating adolescent and adult women from Mexico. *Am. J. Hum. Biol.* **24**, 425–431.
17. Bazzazian S, Ozgoli G, Riazi H, et al. (2023) The relationship between social determinants of health and postpartum weight retention based on the World Health Organization model: path analysis. *BMC Public Health* **23**. BioMed Central Ltd.
18. Allen LH, Hampel D, Shahab-Ferdows S, et al. (2021) The Mothers, Infants, and

- Lactation Quality (MILQ) Study: A Multi-Center Collaboration. *Curr Dev Nutr.* **5**.
19. BRASIL. (2013) *Programa Nacional de Suplementação de Ferro - Manual de Condutas Gerais (National Iron supplementation Program – General Guidelines)*. Ministério da Saúde. Secr. Atenção à Saúde. Dep. Atenção Básica. Brasília: Ministério de Saúde.
 20. WHO (2006) WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age Methods and development. Geneva, Switzerland: WHO Press.
 21. WHO (2008) *Indicators for assessing infant and young child feeding practices*. Geneva, Switzerland: WHO.
 22. Boone-Heinonen J, Tillotson CJ, O’Malley JP, et al. (2019) Not so implausible: impact of longitudinal assessment of implausible anthropometric measures on obesity prevalence and weight change in children and adolescents. *Ann. Epidemiol.* **31**, 69-74.e5. Elsevier Inc.
 23. Royston P & Altman DG (1994) Regression Using Fractional Polynomials of Continuous Covariates: Parsimonious Parametric Modelling. *Source J. R. Stat. Soc. Ser. C (Applied Stat.)* **43**, 429–467.
 24. David W. Hosmer J, Lemeshow S & Sturdivant RX (2013) Applied Logistic Regression Analysis. In *Technometrics*, vol. 38, 3rd ed, p. 192. Hoboken: John Wiley & Sons.
 25. Altman DG, Bland M & Altman DG (2003) Statistics Notes Interaction revisited: the difference between two estimates. *BMJ* **326**, 25.
 26. Wang YC, McPherson K, Marsh T, et al. (2011) Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *Lancet* **378**, 815–825. Elsevier B.V.
 27. Rabi B, Benjeddou K, Idrissi M, et al. (2021) Effects of breastfeeding on maternal

- body composition in moroccan lactating women during twelve months after birth using stable isotopic dilution technique. *Nutrients* **13**, 1–14. MDPI AG.
28. Aydin B & Yalçın SS (2022) Changes in maternal anthropometric measurements in the first postpartum month and associated factors. *Am. J. Hum. Biol.* **34**. John Wiley and Sons Inc.
 29. Kac G, Benício MHDA, Velásquez-Meléndez G, et al. (2004) Breastfeeding and postpartum weight retention in a cohort of Brazilian women. *Am J Clin Nutr* **79**, 487–93.
 30. da Silva M da CM, Oliveira Assis AM, Pinheiro SMC, et al. (2015) Breastfeeding and maternal weight changes during 24 months post-partum: A cohort study. *Matern. Child Nutr.* **11**, 780–791. Blackwell Publishing Ltd.
 31. Choua G, Kari K El, Haloui N El, et al. (2013) Quantitative Assessment of Breastfeeding Practices and Maternal Body Composition in Moroccan Lactating Women during Six Months after Birth Using Stable Isotopic Dilution Technique. *Int. J. Matern. Child Heal.* **1**, 45–50. Sciknow Publications.
 32. Sohlström A & Forsum E (1995) Changes in adipose tissue volume and distribution during reproduction in Swedish women as assessed by magnetic resonance imaging. *Am J Clin Nutr* **61**, 287–295.
 33. Subhan FB, Shulman L, Yuan Y, et al. (2019) Association of pre-pregnancy BMI and gestational weight gain with fat mass distribution and accretion during pregnancy and early postpartum: A prospective study of Albertan women. *BMJ Open* **9**. BMJ Publishing Group.
 34. Smethers AD, Trabulsi JC, Stallings VA, et al. (2023) Factors Affecting BMI Changes in Mothers during the First Year Postpartum. *Nutrients* **15**. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).

35. Lain KY & Catalano PM (2007) Metabolic Changes in Pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* **50**, 938–948.
36. Iva SK (2013) Metabolic Adaptations in Pregnancy in Lean and Obese Women-A Literature Review. *Res. Obstet. Gynecol.* **2013**, 37–47.
37. Kapinos KA, Yakusheva O & Weiss M (2017) Cesarean deliveries and maternal weight retention. *BMC Pregnancy Childbirth* **17**. BioMed Central Ltd.
38. Hobbs AJ, Mannion CA, McDonald SW, et al. (2016) The impact of caesarean section on breastfeeding initiation, duration and difficulties in the first four months postpartum. *BMC Pregnancy Childbirth* **16**. BioMed Central Ltd.
39. Wu Y, Wang Y, Huang J, et al. (2018) The association between caesarean delivery and the initiation and duration of breastfeeding: a prospective cohort study in China. *Eur. J. Clin. Nutr.* **72**, 1644–1654. Nature Publishing Group.
40. Tahir MJ, Haapala JL, Foster LP, et al. (2019) Association of full breastfeeding duration with postpartum weight retention in a cohort of predominantly breastfeeding women. *Nutrients* **11**. MDPI AG.
41. Lassek WD & Gaulin SJC (2006) Changes in body fat distribution in relation to parity in American women: A covert form of maternal depletion. *Am. J. Phys. Anthropol.* **131**, 295–302.
42. Hill B, Bergmeier H, McPhie S, et al. (2017) Is parity a risk factor for excessive weight gain during pregnancy and postpartum weight retention? A systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev.* **18**, 755–764. Blackwell Publishing Ltd.
43. Pacyga DC, Henning M, Chiang C, et al. (2019) Associations of Pregnancy History with BMI and Weight Gain in 45-54-Year-Old Women. *Curr. Dev. Nutr.* **4**.
44. Hill B, McPhie S & Skouteris H (2016) The Role of Parity in Gestational Weight Gain and Postpartum Weight Retention. *Women's Heal. Issues* **26**, 123–129. Elsevier USA.

45. Sha T, Cheng G, Li C, et al. (2019) Patterns of women's postpartum weight retention and its associations with maternal obesity-related factors and parity. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **16**. MDPI AG.
46. Galante L, Milan AM, Reynolds CM, et al. (2018) Sex-specific human milk composition: The role of infant sex in determining early life nutrition. *Nutrients* **10**. MDPI AG.
47. Hosseini M, Valizadeh E, Hosseini N, et al. (2020) The Role of Infant Sex on Human Milk Composition. *Breastfeed. Med.* **15**, 341–346. Mary Ann Liebert Inc.
48. Fields DA, George B, Williams M, et al. (2017) Associations between human breast milk hormones and adipocytokines and infant growth and body composition in the first 6 months of life. *Pediatr. Obes.* **12**, 78–85. John Wiley and Sons Ltd.
49. Saben JL, Sims CR, Piccolo BD, et al. (2020) Maternal adiposity alters the human milk metabolome: Associations between nonglucose monosaccharides and infant adiposity. *Am. J. Clin. Nutr.* **112**, 1228–1239. Oxford University Press.
50. Young MF, Faerber EC, Mehta R V., et al. (2023) Maternal nutritional status and milk volume and composition in India: an observational study. *Am. J. Clin. Nutr.* **117**, 830–837. Elsevier B.V.
51. Jiang M, Gao H, Vinyes-Pares G, et al. (2018) Association between breastfeeding duration and postpartum weight retention of lactating mothers: A meta-analysis of cohort studies. *Clin. Nutr.* **37**, 1224–1231. Elsevier Ltd.
52. Baker JL, Gamborg M, Heitmann BL, et al. (2008) Breastfeeding reduces postpartum weight retention. *Am. J. Clin. Nutr.* **88**, 1543–1551. American Society for Nutrition.
53. Haisma H, Coward WA, Albernaz E, et al. (2003) Breast milk and energy intake in exclusively, predominantly, and partially breast-fed infants. *Eur. J. Clin. Nutr.* **57**, 1633–1642.

54. Kyle UG, Schutz Y, Dupertuis YM, et al. (2003) Body composition interpretation: Contributions of the fat-free mass index and the body fat mass index. *Nutrition* **19**, 597–604. Elsevier Inc.
55. Marques-Vidal P, Pécoud A, Hayoz D, et al. (2008) Prevalence of normal weight obesity in Switzerland: Effect of various definitions. *Eur. J. Nutr.* **47**, 251–257.
56. Going S, Williams D & Lohman T (1995) Aging and body composition: biological changes and methodological issues. *Exerc Sport Sci Rev* **23**, 411–58.
57. Tzanetakou IP, Katsilambros NL, Benetos A, et al. (2012) ‘ Is obesity linked to aging?’. Adipose tissue and the role of telomeres. *Ageing Res. Rev.* **11**, 220–229.
58. Wehrli NE, Bural G, Houseni M, et al. (2007) Determination of Age-Related Changes in Structure and Function of Skin, Adipose Tissue, and Skeletal Muscle With Computed Tomography, Magnetic Resonance Imaging, and Positron Emission Tomography. *Semin. Nucl. Med.* **37**, 195–205.
59. Laraia B, Vinikoor-Imler LC & Siega-Riz AM (2015) Food insecurity during pregnancy leads to stress, disordered eating, and greater postpartum weight among overweight women. *Obesity* **23**, 1303–1311. Blackwell Publishing Inc.
60. Rosen F, Settel L, Irvine F, et al. (2024) Associations between food insecurity and child and parental physical, nutritional, psychosocial and economic well-being globally during the first 1000 days: A scoping review. *Matern. Child Nutr.* **20**. John Wiley and Sons Inc.
61. Pervin S, Emmett P, Northstone K, et al. (2023) Trajectories of dietary patterns from pregnancy to 12 years post-pregnancy and associated maternal characteristics: evidence from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *Eur. J. Nutr.* **62**, 2763–2777. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.
62. Nettle D, Andrews C & Bateson M (2017) Food insecurity as a driver of obesity in

- humans: The insurance hypothesis. *Behav. Brain Sci.* **40**. Cambridge University Press.
63. Medoua GN, Nana ES, Essa'a VJ, et al. (2011) Body composition of Cameroonian lactating women determined by anthropometry, bioelectrical impedance, and deuterium dilution. *Nutrition* **27**, 414–419.

FIGURE LEGENDS

Figure 1 – Flow chart of the final sample for the analysis of maternal body composition during lactation of women followed in Brazilian MILQ cohort (n = 234).

Note: The circles intersections represent the women with BIA in one or more follow-up visits.

Only 110 dyads completed all visits. Exclusions between recruitment and C: pre- or post-term (gestational age ≤ 37 or ≥ 42 weeks) (n = 10); LBW: low birth weight (≤ 2.500 g birth weight) (n = 11); macrosomia: ≥ 4.200 g birth weight (n = 6); congenital malformation (n = 2); maternal medical issues: pre-eclampsia (n = 8) and gestational diabetes (n = 2). Exclusions between C and M1: no exclusive breastfeeding (EBF) (n = 90); maternal alcohol intake >30 mL per week (n = 5); z-scores < -2 for length-for-age, weight-for-age, or weight-for-length (n = 11); maternal nutrient supplementation (n = 6); infant illness (n = 2). Exclusions at M2: discontinued breastfeeding (n = 9); maternal alcohol intake >30 mL per week (n = 3); z-scores < -2 for length-for-age, weight-for-age, or weight-for-length (n = 2). Exclusions at M3: discontinued breastfeeding (n = 4); maternal alcohol intake >30 mL per week (n = 2); z-scores < -2 for length-for-age, weight-for-age, or weight-for-length (n = 2); maternal nutrient supplementation (n = 2); abnormal development according to ASQ-3 (n = 3). At M1: mothers who did not attend the M1 for any reason (n = 17) but followed to next visits (15 of them returned to M2 and M3, and 2 returned only at M3). At M2, 10 mothers missed the visit for any reason, but returned to cohort at M3. The reasons for dropout are: COVID-19, moved away, failure to attend the visit, infant died, project end or other reason. *Some women were excluded based on multiple criteria. †Only women with at least one BIA measurement during the follow-up were included.

Figure 2 – Longitudinal predictions of maternal body composition and Body Mass Index (BMI) between 1 - 8.5 months postpartum, Brazil (n = 234).

Notes: Longitudinal linear mixed-effect models for each maternal body component and BMI were performed. The beta coefficients (β) and 95% confidence intervals (95% CI) represents body constituents (body fat, fat mass, and fat free mass) trajectories according to postpartum weeks. (A) Body fat (%): $\beta = -0.000$ (-0.02, 0.02); p-value = 0.98. (B) Fat mass (kg): $\beta = 0.002$ (-0.22, 0.02); p-value = 0.83. (C) Fat-free mass (kg): $\beta = -0.024$ (-0.03, -0.01); p-value <0.001. (D) BMI (kg/m²): $\beta = -0.009$ (-0.01, 1.57); p-value = 0.05. Number of observations: from 4 to 14 weeks (M1): n = 217; from 15 to 24 weeks (M2): n = 167; from 16 to 34 weeks (M3): n = 131.

Figure 3 – Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to maternal ages, Brazil (n = 234).

Notes: Longitudinal linear mixed-effect models for maternal body components were performed. Beta coefficients interactions ($\beta_{\text{interaction}}$) and 95% confidence intervals (95% CI) were estimated. These parameters were utilized to assess the effect of maternal age on the trajectory of each body component. (A) Body fat (%): $\beta_{\text{interaction}} = 0.10$ (0.02, 0.19); p-value = 0.01. (B) Fat-free mass (kg): $\beta_{\text{interaction}} = 0.09$ (0.00, 0.18); p-value = 0.03. Number of observations of body composition and BMI: from 4 to 14 weeks (M1): n = 217; from 15 to 24 weeks (M2): n = 167; from 16 to 34 weeks (M3): n = 131. Number of participants under 20 years old: n = 25. Number of participants between 20 and 29 years old: n = 145. Number of participants aged 30 years old or older: n = 64.

Figure 4 – Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat-free mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to quartiles of total family income, Brazil (n = 234).

Notes: Longitudinal linear mixed-effect models for maternal body components were performed. Beta coefficients interactions ($\beta_{\text{interaction}}$) and 95% confidence intervals (95% CI) were

estimated. These parameters were utilized to assess the effect of family income (United States dollar, USD) on the trajectory of each body component. (A) Body fat (%): $\beta_{\text{interaction}} = -0.06$ (-0.13, -0.00); p-value = 0.03. (B) Fat-free mass (kg): $\beta_{\text{interaction}} = 0.03$ (0.00, 0.10); p-value = 0.02. Number of participants: from 4 to 14 weeks (M1): n = 217; from 15 to 24 weeks (M2): n = 167; from 16 to 34 weeks (M3): n = 131. Number of participants in 1st quartile (39 – 235 USD): n = 62. Number of participants in 2nd quartile (245 – 372 USD): n = 48. Number of participants in 3rd quartile (374 – 490 USD): n = 57. Number of participants in 4th quartile (509 – 2156 USD): n = 52.

Figure 5 – Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to parity, Brazil (n = 234).

Notes: Longitudinal linear mixed-effect models for maternal body components were performed. The models were adjusted for family income and maternal age. Beta coefficients interactions ($\beta_{\text{interaction}}$) and 95% confidence intervals (95% CI) were estimated comparing changes in maternal body composition of multiparous to primiparous. These parameters were utilized to assess the effect of parity on the trajectory of each body component. (A) Body fat (%): $\beta_{\text{interaction}} = 0.06$ (0.01, 0.10); p-value < 0.01. (B) Fat mass (kg): $\beta_{\text{interaction}} = 0.05$ (0.01, 0.10), p-value = 0.04. Number of participants: from 4 to 14 weeks (M1): n = 217; from 15 to 24 weeks (M2): n = 167; from 16 to 34 weeks (M3): n = 131. Number of multiparous: n = 136. Number of primiparous: n = 97.

Figure 6 – Longitudinal predictions of maternal body fat (%) between 1 - 8.5 months postpartum according to pre-pregnancy Body Mass Index (BMI), Brazil (n = 234).

Notes: Longitudinal linear mixed-effect model for body fat (%) was performed. The model was adjusted for parity and family income. Beta coefficients interactions ($\beta_{\text{interaction}}$) and 95%

confidence intervals (95% CI) were estimated. These parameters were estimated to assess the effect of pre-pregnancy BMI on maternal body fat (%) trajectory, comparing women who began pregnancy overweight (BMI ≥ 25 kg/m²) with those who began with normal weight (BMI ≥ 18.5 kg/m² and ≤ 24.9 kg/m²). (A) Body fat (%): $\beta_{\text{interaction}} = 0.04$ (-0.00, 0.08); p-value = 0.08. Number of observations of body fat (%): from 4 to 14 weeks (M1): n = 217; from 15 to 24 weeks (M2): n = 167; from 16 to 34 weeks (M3): n = 131. Number of participants with pre-pregnancy overweight: n = 95. Number of participants with pre-pregnancy normal weight: n = 139.

Figure 7 – Longitudinal predictions of maternal fat-free mass (kg) and Body Mass Index (BMI) between 1 - 8.5 months postpartum according to infant sex, Brazil (n = 234).

Notes: Longitudinal linear mixed-effect model for fat-free mass and BMI were performed. Beta coefficients interactions ($\beta_{\text{interaction}}$) and 95% confidence intervals (95% CI) were estimated. These parameters were estimated to assess the effect of infant sex on maternal fat-free mass and BMI trajectories, comparing women who gave birth to female with those who gave to male. (A) Fat-free mass (kg): $\beta_{\text{interaction}} = 0.03$ (0.01, 0.05); p-value < 0.01. (D) BMI (kg/m²): $\beta_{\text{interaction}} = 0.01$ (-0.00, 0.03); p-value = 0.09. Number of observations of fat-free mass and BMI: from 4 to 14 weeks (M1): n = 217; from 15 to 24 weeks (M2): n = 167; from 16 to 34 weeks (M3): n = 131. Number of males: n = 117. Number of females: n = 117.

TABLES

Table 1 – Characteristics of the participants, Brazil (n = 234).

Characteristics	N	(%)
Maternal age (y)		
18 - 19	25	10.7
20 - 29	145	62.0
≥30	64	27.3
Marital status ^a		
Married/with partner	193	82.9
Single	40	17.1
Family income in quartiles (USD) ^{1 a}		
Q1 (39 – 235)	62	28.3
Q2 (245 - 372)	48	21.9
Q3 (374 - 490)	57	26.0
Q4 (509 - 2156)	52	23.7
Maternal education (y) ^b		
<8	34	14.6
8 – 12	175	75.1
>12	24	10.3
Maternal occupation		

No	147	62.7
Yes	87	37.3
Skin color ^b		
White	39	16.7
Black	72	30.9
Mixed	115	49.3
Other	7	3.0
Parity ^b		
Primiparous	97	41.6
Multiparous	136	58.4
Delivery mode		
Caesarean	40	17.1
Vaginal	194	82.9
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)		
Normal weight (18.5 – 24.9)	139	59.4
Overweight (25.0 – 29.9)	95	40.6
Infant sex		
Male	117	50.0
Female	117	50.0

USD, United States dollar.

¹Exchange rate from Real to USD (R\$ 4.94 = USD 1) March 2020.

^an = 219 because of missing data.

^bn = 233 because of missing data.

Table 2 – The maternal and infant factors associated with maternal body composition and Body Mass Index (BMI) between 1 - 8.5 months postpartum, Brazil (n = 234).

	Body fat		Fat mass		Fat free mass		BMI	
	% (95% CI)	p**	kg (95% CI)	p**	kg (95% CI)	p**	kg/m ² (95% CI)	p**
Maternal age (y)								
18 – 19*	-		-		-		-	
20 - 29	0.74 (-1.06; 2.54)	0.42	0.02 (-1.91; 1.96)	0.97	-0.48 (-1.97; 1.00)	0.52	-0.28 (-1.29; 0.72)	0.57
≥ 30	1.20 (-0.77; 3.17)	0.23	1.06 (-1.06; 3.19)	0.32	0.32 (-1.33; 1.99)	0.69	0.19 (-0.96; 1.36)	0.73
Family income (quartile)								
Q1 (39 - 235)*	-		-		-		-	
Q2 (245 - 372)	-		-		0.12 (-1.06; 1.31)	0.83	-	
Q3 (374 - 490)	-		-		-0.65 (-1.83; 0.52)	0.27	-	

Q4 (509 - 2156)	-	-	-	-	-0.68 (-1.97; 0.60)	0.29	-	
Parity ¹	-	-	-	-	-	-	0.76 (0.11; 1.41)	0.02
Cesarean delivery ²	0.93 (-0.51; 2.39)	0.20	1.44 (-0.11; 3.01)	0.07	1.90 (0.71; 3.10)	0.00	1.39 (0.61; 2.18)	<0.001
Pre-pregnancy overweight (≥ 25 kg/m ²) ³	4.91 (3.79; 6.04)	<0.001	6.46 (5.26; 7.67)	<0.001	3.71 (2.79; 4.654)	<0.001	4.51 (3.91; 5.12)	<0.001
Infant sex ⁴ non-EBF ⁵	-	-	-1.24 (-2.41; -0.07)	0.03	-0.89 (-1.840; -0.01)	0.05	-	-
	-	-	-	-	-0.26 (-0.49; -0.03)	0.02	-	-

95% CI, 95% confidence interval, *non-EBF* non-exclusive breastfeeding.

¹Multiparous compared to primiparous.

²Compared to vaginal.

³Compared to normal weight (≥ 18.5 and ≤ 24.9 kg/m²).

⁴Women who gave birth to females compared to males.

⁵Compared to exclusive breastfeeding.

*Reference category; **Refers to maximum likelihood estimator. Statistical significance for p values is ≤ 0.05

Note: longitudinal linear mixed-effects (LME) models were used to assess predictors of changes in body composition and BMI. Bivariate mixed-effects models identified correlations between maternal and infant factors and these outcomes. Covariates were selected based on theoretical evidence and included in the final LME models if significant at $p < 0.20$ in bivariate analysis.

FIGURES

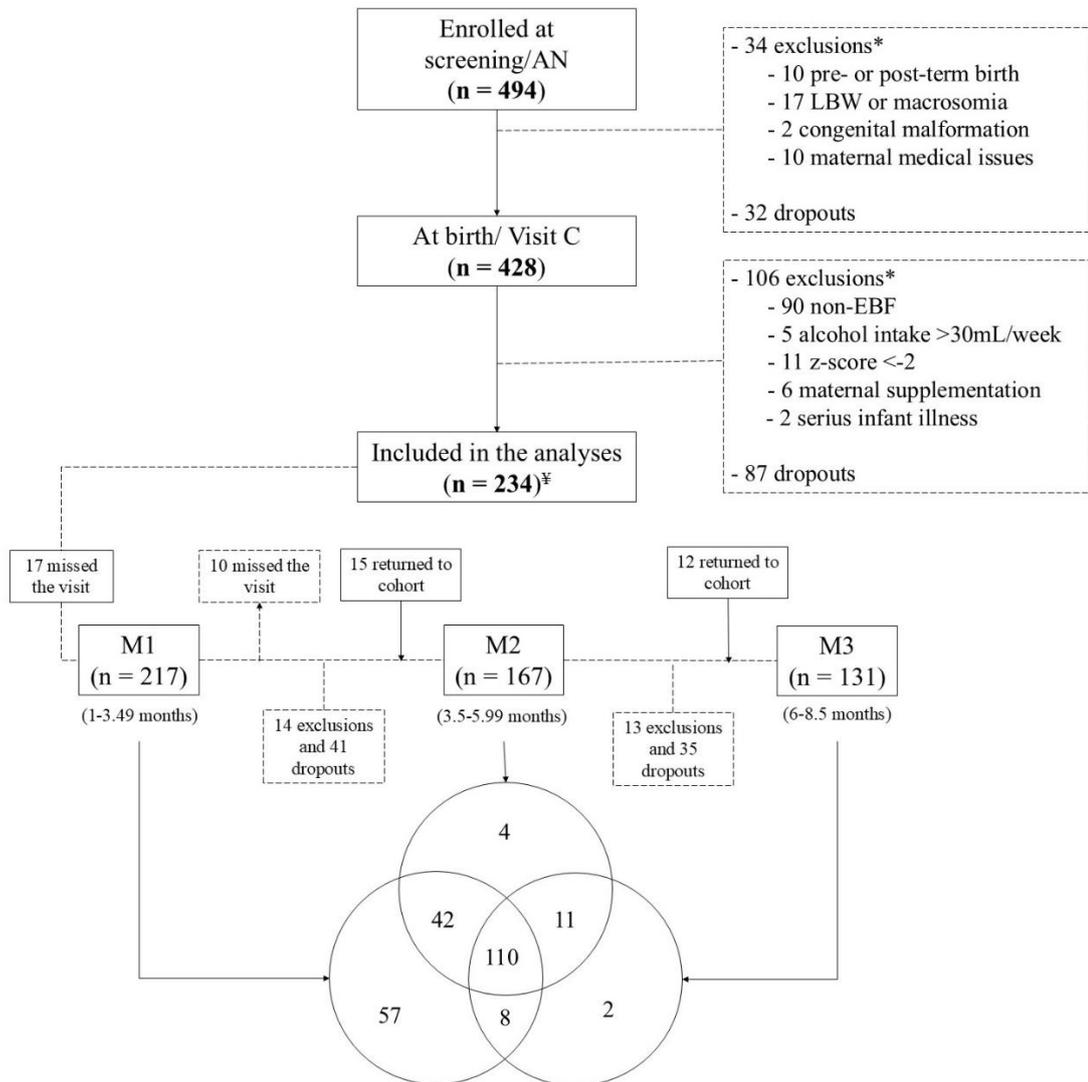


Figure 1 – Flow chart of the final sample for the analysis of maternal body composition during lactation of women followed in Brazilian MILQ cohort (n = 234).

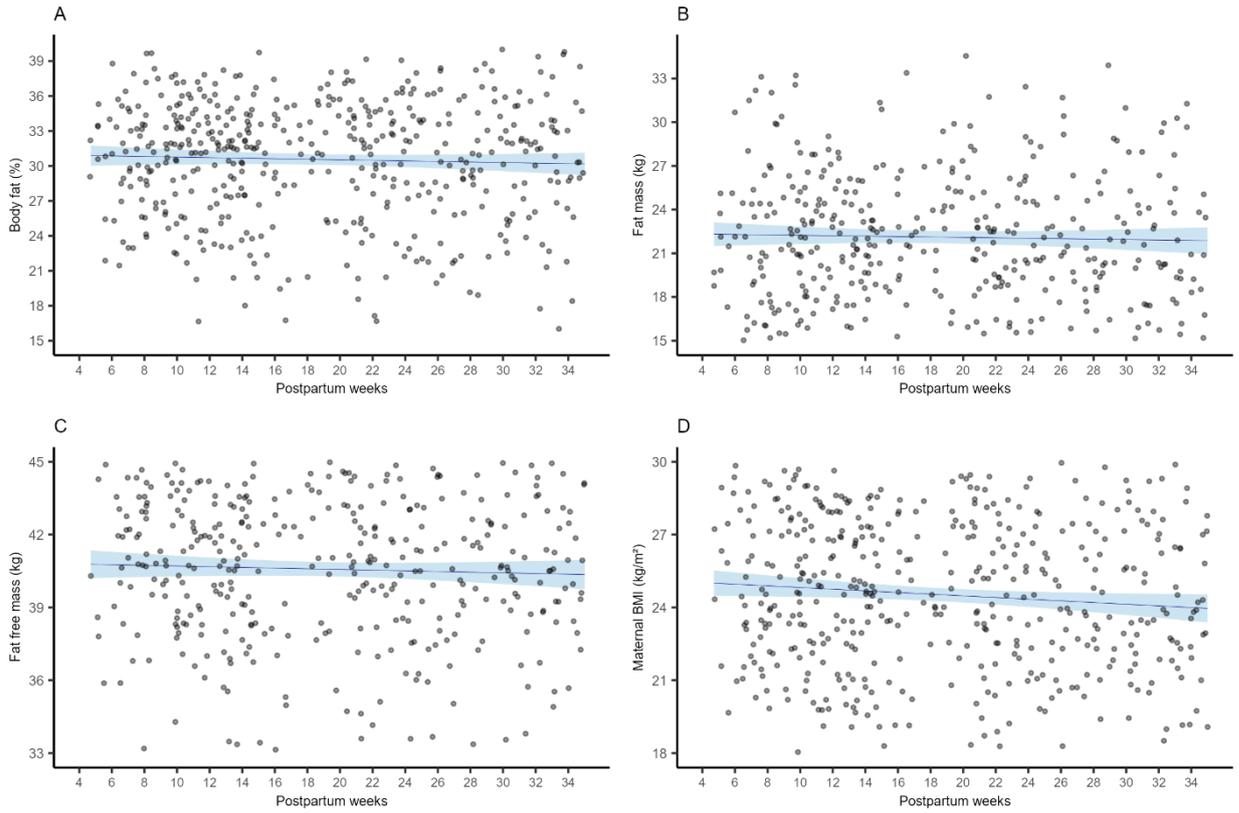


Figure 2 – Longitudinal predictions of maternal body composition and Body Mass Index (BMI) between 1 - 8.5 months postpartum, Brazil (n = 234).

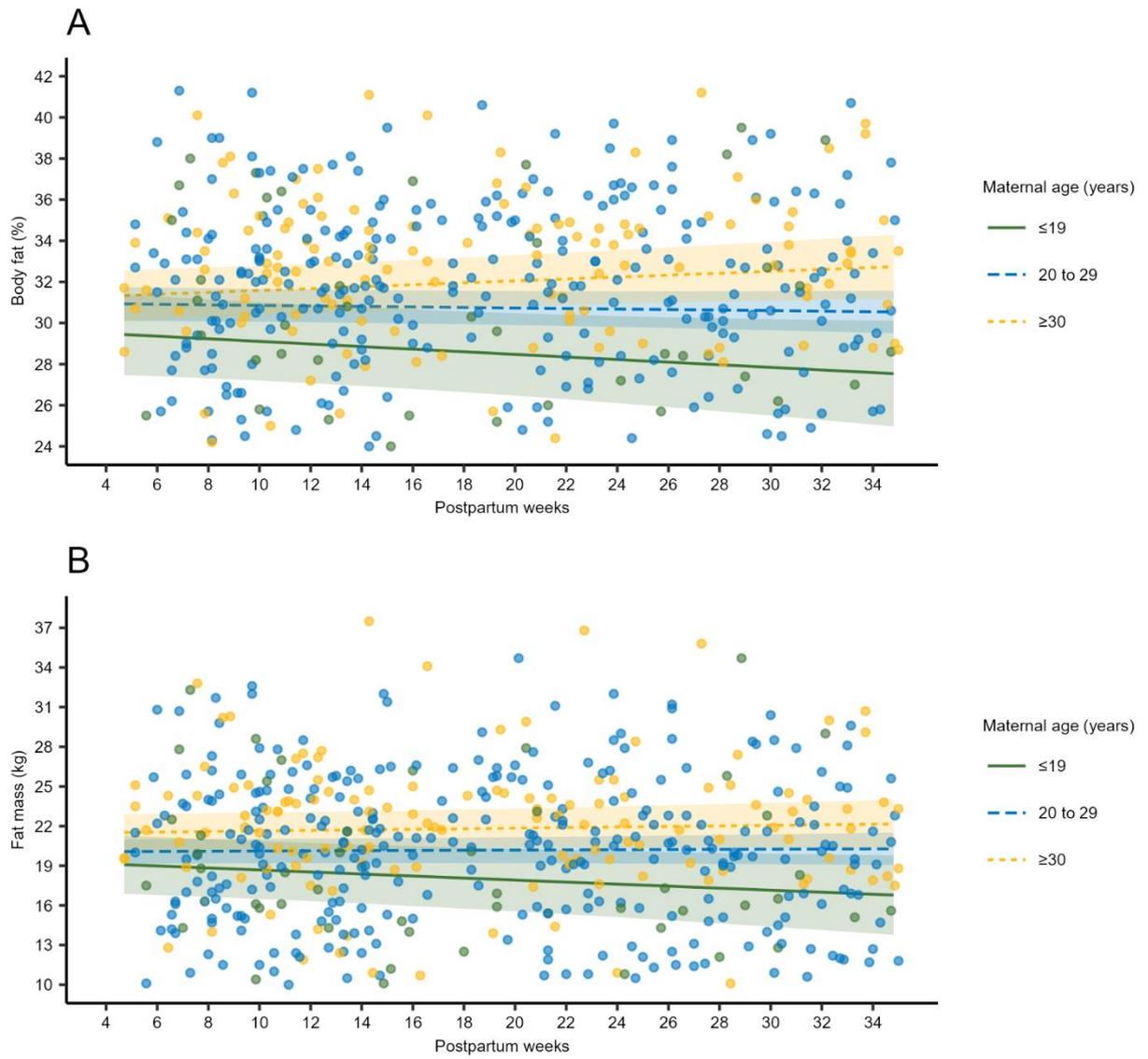


Figure 3 – Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to maternal ages, Brazil (n = 234).

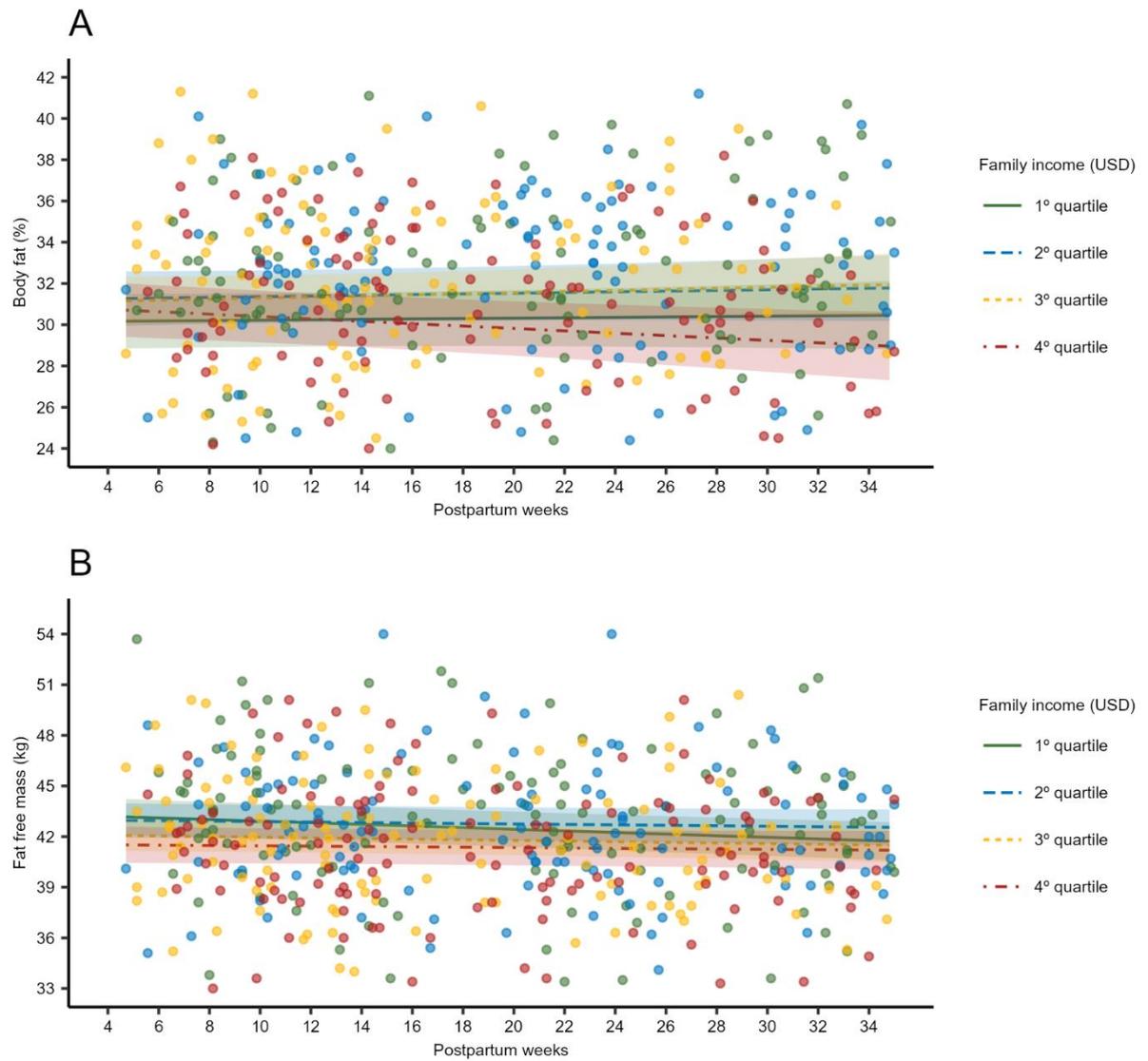


Figure 4 – Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat-free mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to quartiles of total family income, Brazil (n = 234).

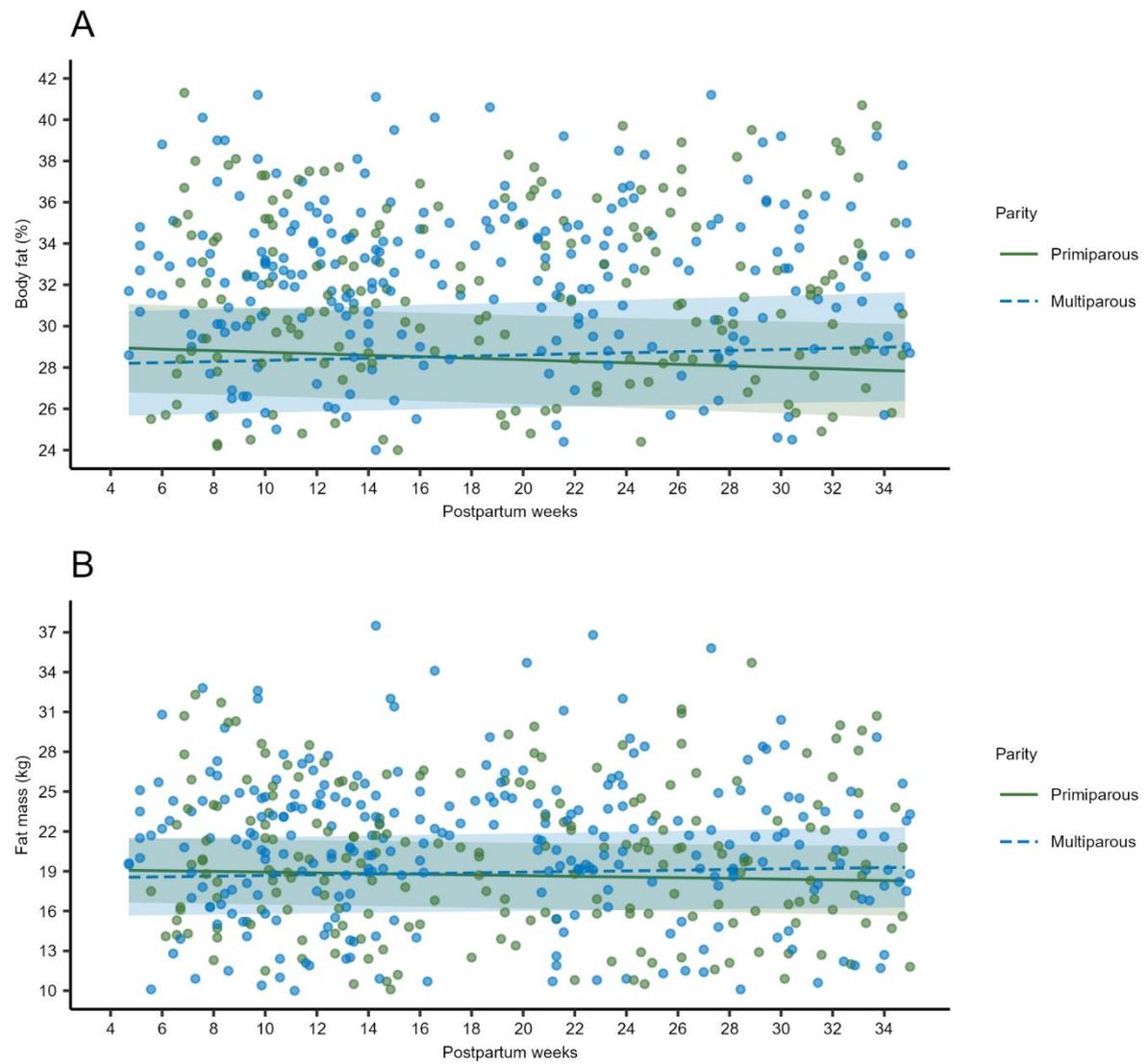


Figure 5 – Longitudinal predictions of maternal body fat (%) and fat mass (kg) between 1 - 8.5 months postpartum according to parity, Brazil (n = 234).

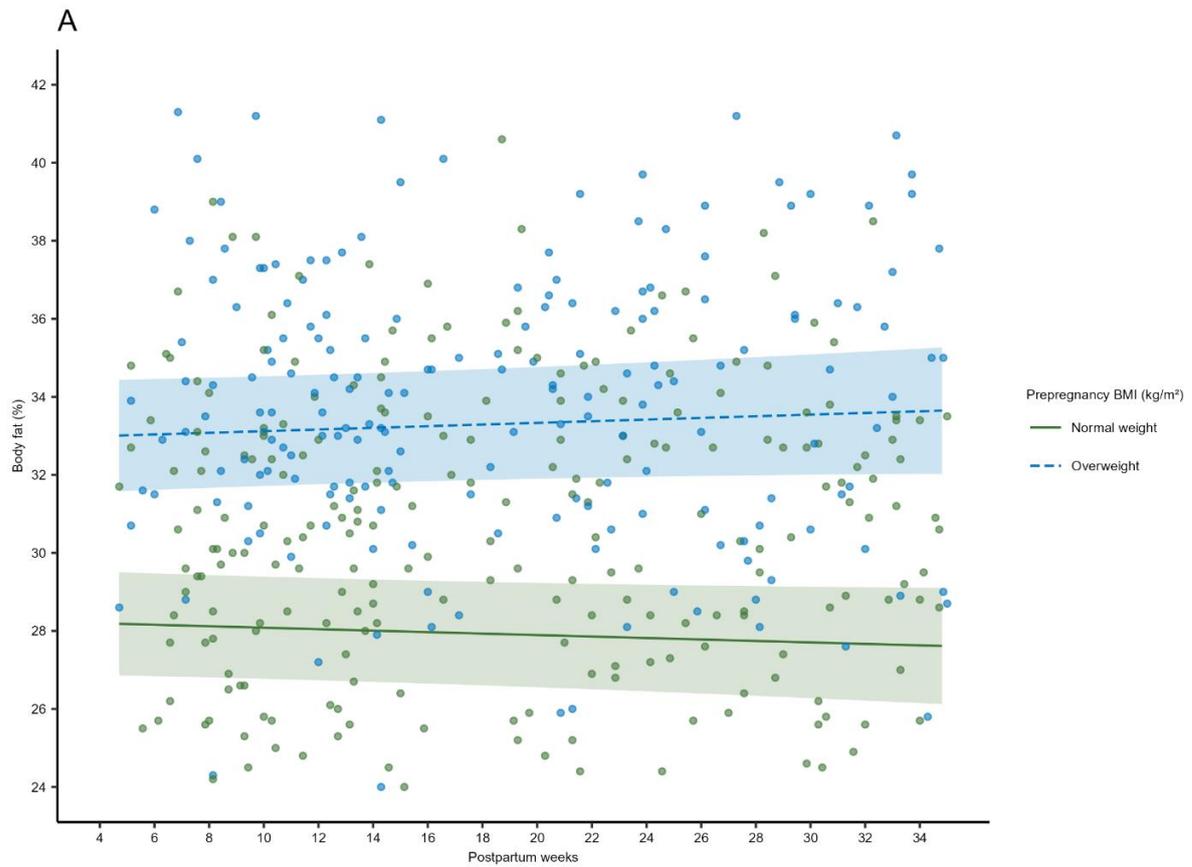


Figure 6 – Longitudinal predictions of maternal body fat (%) between 1 - 8.5 months postpartum according to pre-pregnancy Body Mass Index (BMI), Brazil (n = 234).

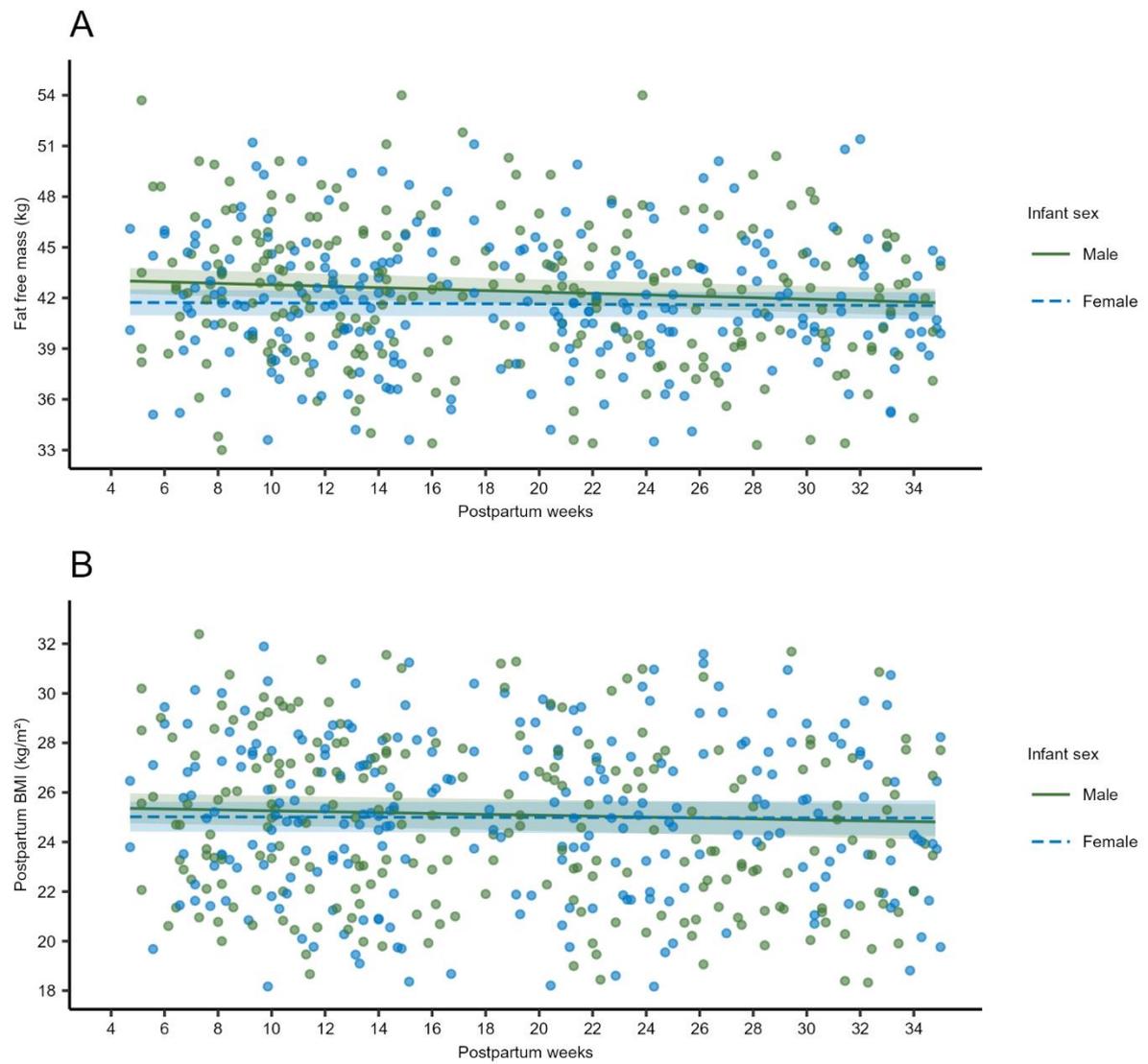


Figure 7 – Longitudinal predictions of maternal fat-free mass (kg) and Body Mass Index (BMI) between 1 - 8.5 months postpartum according to infant sex, Brazil (n = 234).

Supplementary Table 1 – Characteristics of participants who completed all follow-ups and participants who loss the following at some study waves.

	Losses (n 124)		Full follow-up (n 110)		
	n	Median (IQR)	n	Median (IQR)	p ²
Maternal age (y)	124	25 (21-29)	110	26 (21-31)	0.57
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)	124	24 (21.56-26.84)	110	23.9 (21.88-27.05)	0.56
Family income (USD) ¹	116	372 (235 – 490)	104	2000 (1350-2500)	0.47
	n	%	n	%	p ³
Marital status	a				
Married/with partner	102	82.9	91	82.7	
Single	21	17.1	19	17.3	0.96
Family income in quartiles (USD) ¹	b		c		
Q1 (39 – 235)	37	32.2	25	24	
Q2 (245 - 372)	23	20.0	25	24	
Q3 (374 - 490)	28	24.3	29	27.8	
Q4 (509 - 2156)	27	23.5	25	24	0.53
Maternal education (y) ^a	a				
<8	18	14.6	16	14.5	
8 – 12	96	78.1	79	71.8	
>12	9	7.3	15	13.6	0.27
Maternal occupation ^a	a				
No	77	62.6	69	62.7	
Yes	46	37.4	41	37.3	0.98
Skin color ^a	a				
White	21	17.1	18	16.4	
Black	38	30.9	34	30.9	
Mixed	58	47.1	57	51.8	
Other	6	4.9	1	0.9	0.99

Parity	a				
Primiparous	46	37.4	51	46.3	
Multiparous	77	62.6	59	53.6	0.16
Delivery mode					
Cesarean	16	12.9	24	21.8	
Vaginal	108	87.1	86	78.2	0.07
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)					
Normal weight (18.5 – 24.9)	75	60.5	64	58.2	
Overweight (25.0 – 29.9)	49	39.5	46	41.8	0.73

IQR, interquartile range; *USD*, United States dollar.

¹Exchange rate from Real to USD (R\$ 4.94 = USD 1) March 2020.

²Mann-Whitney U test or *t* Test

³Chi-square test

^an = 123 because of missing data

^bn = 115 because of missing data

^cn = 104 because of missing data

Supplementary Table 2 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to maternal ages, Brazil (n = 234).

Maternal age (years)	Body fat (%)		Fat mass (kg)		Fat free mass (kg)		BMI (kg/m ²)	
	β (SE)	p*	β (SE)	p*	β (SE)	p*	β (SE)	p*
<i>Main effects</i>								
20-29 vs ≤ 19	1.24 (1.15)	0.27	0.60 (1.26)	0.63	-0.20 (0.92)	0.82	0.87 (0.70)	0.21
≥ 30 vs ≤ 19	1.38 (1.24)	0.26	1.97 (1.37)	0.15	1.66 (1.00)	0.09	1.99 (0.77)	0.01
Postpartum week	-0.06 (0.03)	0.09	-0.07 (0.04)	0.05	-0.04 (0.01)	0.02	-0.03 (0.01)	0.01
<i>Interaction term</i>								
Postpartum week # 20-29 vs ≤ 19	0.05 (0.04)	0.21	0.08 (0.04)	0.05	0.03 (0.02)	0.08	0.03 (0.01)	0.04
Postpartum week # ≥ 30 vs ≤ 19	0.10 (0.04)	0.01	0.09 (0.04)	0.03	-0.00 (0.02)	0.83	0.02 (0.01)	0.12

SE, standard error.

*Refers to maximum likelihood estimator.

β , longitudinal mixed-effect model with beta coefficients.

Statistical significance for interaction terms was considered when the p values were <0.10.

Supplementary Table 3 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to quartiles of total family income, Brazil (n = 234).

Family income (quartile)*	Body fat		Fat mass		Fat free mass		BMI	
	(%)		(kg)		(kg)		(kg/m ²)	
	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**
<i>Main effects</i>								
2 nd vs 1 st	1.06 (0.96)	0.27	0.33 (1.01)	0.74	-0.37 (0.71)	0.60	-0.12 (0.48)	0.78
3 rd vs 1 st	0.90 (0.95)	0.34	-0.46 (1.03)	0.65	-1.23 (0.73)	0.09	0.10 (0.53)	0.84
4 th vs 1 st	0.85 (0.98)	0.38	-0.83 (1.08)	0.44	-1.83 (0.78)	0.02	-0.16 (0.59)	0.77
Postpartum week	0.00 (0.02)	0.66	-0.02 (0.02)	0.34	-0.04 (0.01)	<0.001	-0.02 (0.00)	0.01
<i>Interaction term</i>								
Postpartum week # 2 nd vs 1 st	0.00 (0.03)	0.81	0.04 (0.03)	0.21	0.03 (0.01)	0.03	0.02 (0.01)	0.05
Postpartum week # 3 rd vs 1 st	0.01 (0.03)	0.62	0.07 (0.03)	0.04	0.02 (0.01)	0.11	0.02 (0.01)	0.09
Postpartum week # 4 th vs 1 st	-0.06 (0.03)	0.03	-0.00 (0.03)	0.84	0.03 (0.01)	0.02	0.00 (0.01)	0.82

SE, standard error; USD, United States dollar.

* Exchange rate from Real to USD (R\$ 4.94 = USD 1) March 2020.

**Refers to maximum likelihood estimator. β , longitudinal mixed-effect model with beta coefficients. Statistical significance for interaction terms was considered when the p values were <0.10.

Supplementary Table 4 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to parity, Brazil (n = 234).

Parity*	Body fat (%)		Fat mass (kg)		Fat free mass (kg)		BMI (kg/m ²)	
	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**
<i>Main effects</i>								
Multiparous vs primiparous	-1.03 (0.77)	0.18	-0.76 (0.85)	0.36	0.39 (0.62)	0.52	0.55 (0.48)	0.25
Postpartum week	-0.03 (0.01)	0.03	-0.02 (0.01)	0.16	-0.01 (0.00)	0.07	-0.01 (0.00)	0.04
<i>Interaction term</i>								
Postpartum week # Multiparous vs primiparous	0.06 (0.02)	<0.01	0.05 (0.02)	0.04	-0.01 (0.01)	0.30	0.01 (0.01)	0.32

SE, standard error.

*The models were adjusted for family income and maternal age.

**Refers to maximum likelihood estimator.

β , longitudinal mixed-effect model with beta coefficients.

Statistical significance for interaction terms was considered when the p values were <0.10.

Supplementary Table 5 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to pre-pregnancy Body Mass Index (BMI), Brazil (n = 234).

ppBMI*	Body fat		Fat mass		Fat free mass		BMI	
	(%)		(kg)		(kg)		(kg/m ²)	
	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**
<i>Main effects</i>								
Overweight ¹ vs normal weight	4.63 (0.63)	<0.001	6.33 (0.65)	<0.001	4.00 (0.51)	<0.001	4.59 (0.31)	<0.001
Postpartum week	-0.01 (0.01)	0.21	-0.01 (0.01)	0.37	-0.02 (0.00)	0.00	-0.01 (0.00)	0.02
<i>Interaction term</i>								
Postpartum week # Overweight vs normal weight	0.04 (0.02)	0.08	0.03 (0.02)	0.12	-0.00 (0.01)	0.67	0.01 (0.01)	0.28

ppBMI, pre-pregnancy BMI (kg/m²); SE, standard error.

¹Overweight included participants with pre-pregnancy BMI ≥ 25 kg/m² and ≤ 30 kg/m², and normal weight those with pre-pregnancy BMI ≥ 18.5 kg/m² and ≤ 24.9 kg/m².

*The model was adjusted for parity and family income.

**Refers to maximum likelihood estimator. β , longitudinal mixed-effect model with beta coefficients.

Statistical significance for interaction terms was considered when the p values were < 0.10 .

Supplementary Table 6 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to infant sex, Brazil (n = 234).

Infant sex	Body fat (%)		Fat mass (kg)		Fat free mass (kg)		BMI (kg/m ²)	
	β (SE)	p*	β (SE)	p*	β (SE)	p*	β (SE)	p*
<i>Main effects</i>								
Female vs male	-0.73 (0.69)	0.29	-1.46 (0.76)	0.05	-1.43 (0.56)	0.01	-0.41 (0.43)	0.34
Postpartum week	0.00 (0.01)	0.86	-0.01 (0.01)	0.56	-0.04 (0.00)	<0.001	-0.01 (0.00)	0.01
<i>Interaction term</i>								
Postpartum week # Female vs male	-0.00 (0.02)	0.79	0.02 (0.02)	0.31	0.03 (0.01)	<0.01	0.01 (0.00)	0.09

SE, standard error.

*Refers to maximum likelihood estimator.

β , longitudinal mixed-effect model with beta coefficients.

Statistical significance for interaction terms was considered when the p values were <0.10.

Supplementary Table 7 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to delivery mode, Brazil (n = 234).

Delivery mode*	Body fat		Fat mass		Fat free mass		BMI	
	(%)		(kg)		(kg)		(kg/m ²)	
	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**
<i>Main effects</i>								
Cesarean vs vaginal	1.09 (0.82)	0.18	1.18 (0.85)	0.16	1.82 (0.65)	<0.01	1.43 (0.41)	<0.001
Postpartum week	-0.00 (0.01)	0.85	-0.00 (0.01)	0.80	-0.02 (0.00)	<0.001	-0.01 (0.00)	0.06
<i>Interaction term</i>								
Postpartum week # Caesarean vs vaginal	-0.00 (0.02)	0.98	0.02 (0.03)	0.42	0.00 (0.01)	0.86	-0.00 (0.01)	0.92

SE, standard error.

*The model was adjusted for pre-pregnancy BMI and family income.

**Refers to maximum likelihood estimator.

β , longitudinal mixed-effect model with beta coefficients.

Statistical significance for interaction terms was considered when the p values were <0.10.

Supplementary Table 8 – Models of longitudinal prediction of body fat (%), fat mass (kg), fat-free mass (kg), and BMI (kg/m²) between 1 – 8.5 months postpartum according to breastfeeding status, Brazil (n = 234).

Breastfeeding status*	Body fat (%)		Fat mass (kg)		Fat free mass (kg)		BMI (kg/m ²)	
	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**	β (SE)	p**
<i>Main effects</i>								
non-EBF vs EBF	-0.47 (0.66)	0.47	-0.43 (0.58)	0.45	0.11 (0.40)	0.78	0.14 (0.18)	0.43
Postpartum week	-0.01 (0.02)	0.47	-0.00 (0.02)	0.67	-0.03 (0.01)	<0.01	-0.01 (0.00)	0.03
<i>Interaction term</i>								
Postpartum week # non-EBF vs EBF	0.02 (0.02)	0.38	0.02 (0.02)	0.40	0.00 (0.01)	0.65	-0.00 (0.00)	0.89

SE, standard error; *EBF*, exclusive breastfeeding; *non-EBF*, no exclusive breastfeeding.

*The model was adjusted for pre-pregnancy BMI, parity, maternal age, and family income.

**Refers to maximum likelihood estimator.

β , longitudinal mixed-effect model with beta coefficients.

Statistical significance for interaction terms was considered when the p values were <0.1.

7.2 ARTIGO 2

Maternal adiposity and breast milk volume in Brazilian and Danish lactating women: The Mothers, Infants, and Lactation Quality Study (MILQ)

Authors

Campos, A.D.S.

Abstract

Background: Maternal nutritional status may influence breast milk production. However, data on this relationship across different populations remains scarce. **Aim:** To investigate the association between maternal fat mass (FM, kg) and fat mass index (FMI, kg/m²) with breast milk volume (BMV) in Brazilian and Danish lactating women. **Methods:** This longitudinal study included 139 Brazilian and 188 Danish mother-infant dyads, with data collection at 1.0–3.49 (M1), 3.5–5.99 (M2), and 6.0–8.5 (M3) months postpartum. In Brazil, body composition was assessed by bioelectrical impedance analysis (BIA) and deuterium oxide dose-to-mother (DTM), which also estimated BMV. In Denmark, body composition was assessed using BIA, and milk volume was measured by 24-hour test-weighing. Latent growth mixture models identified two clusters: “medium” and “higher” milk production. Unadjusted and adjusted logistic regression models explored the associations of FM and FMI with these clusters, with separate analyses for each country. **Results:** In Brazil, no associations were found when FM and FMI were estimated using BIA. However, with DTM estimations, each kilogram increase in FM raised the odds of belonging to the “higher” milk production group by 5% in the adjusted model (OR = 1.05, 95% CI 1.00, 1.11). In Denmark, each kilogram increase in FM reduced the odds of belonging to the “higher” group by 8% (OR = 0.92; 95% CI 0.88, 0.96) in the adjusted model. FMI showed no significant associations in either country. **Conclusion:** Maternal adiposity influences BMV differently across populations, underscoring the importance of maternal characteristics in lactation studies.

Clinical trials registry number (NCT03254329)

Keywords: adiposity, human milk, breastfeeding, infant intake, nutritional status, lactation, deuterium oxide.

Introduction

Breastfeeding (BF) is widely recognized as the optimal practice of infant nutrition in the first six months of life (BALOGUN *et al.*, 2015; PÉREZ-ESCAMILLA *et al.*, 2023; VICTORA *et al.*, 2016; WHO, 2013). The World Health Organization (WHO) recommends exclusive breastfeeding (EBF) for the first six months, followed by continued breastfeeding up to two years or beyond (WHO, 2013). Despite these guidelines, the prevalence of EBF varies across countries. In 2019, low- and middle-income countries reached an EBF rate of 49.6% (NEVES *et al.*, 2021), which falls short of the global target of 70% EBF by 2030 (UNICEF/WHO/WORLD BANK, 2021).

Several factors contribute to early cessation of EBF (BOCCOLINI; DE CARVALHO; COUTO DE OLIVEIRA, 2015; GIANNI LORELLA MARIA *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2022; PÉREZ-ESCAMILLA *et al.*, 2019), with self-reported insufficient milk supply (SRIM) being among the most commonly cited reasons, reported by 44.8% of mothers globally (PÉREZ-ESCAMILLA *et al.*, 2023). Several risk factors for SRIM have been identified, including maternal overweight or obesity (SEGURA-PÉREZ *et al.*, 2022). Additionally, studies have shown that pre-pregnancy obesity is also a risk factor for breastfeeding initiation, exclusive and any breastfeeding duration (BABENDURE *et al.*, 2015; HUANG; OUYANG; REDDING, 2019).

The relationship between maternal nutrition status and breast milk volume (BMV) remains poorly understood. Obesity is thought to delay the onset of lactogenesis II—the phase when milk production increases—possibly due to hormonal imbalances associated with excessive body fat (LUZARDO-OCAMPO *et al.*, 2023; NOMMSEN-RIVERS *et al.*, 2010). Some studies suggest a negative association of higher maternal fat mass (FM) with BMV (DIANA *et al.*, 2019; YOUNG *et al.*, 2023), while others show a positive (ETTYANG *et al.*, 2005; NAZLEE *et al.*, 2011) or null association (MONTANA *et al.*, 2024).

Given the rising global prevalence of obesity among women of reproductive age (CHEN; XU; YAN, 2018), it is critical to understand how maternal adiposity influences BMV. Exploring this association across different populations, such as Brazil and Denmark, allows a better understanding of cultural, environmental, and biological factors that may shape lactation dynamics. Within this manuscript, we tested the association between maternal adiposity and BMV over the first 8.5 months of lactation, comparing two distinct populations.

Methods

Study design and settings

The present study uses data from the international multi-center study The Mothers, Infants, and Lactation Quality (MILQ) (Clinical trial registration: NCT03254329), a cohort study conducted in Bangladesh, Brazil, Denmark, and The Gambia (ALLEN *et al.*, 2021). The current analyses included mother-infant dyads from Brazil and Denmark.

Participants were recruited from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil, and Copenhagen, Denmark, during pregnancy and followed until 8.5 months of lactation. Four visits were scheduled during the study period: one at 24-72 hours postpartum with colostrum collection (C), followed by three additional visits at 1.0–3.49 months (M1), 3.5–5.99 months (M2), and 6.0–8.5 months postpartum (M3). Data collection occurred from January 2018 to March 2020 in Brazil and from January 2018 to December 2019 in Denmark.

Maternal height, weight, and body composition were measured at visit M1. Daily BMV was estimated using two different methods: the deuterium oxide dose-to-mother technique (DTM) in Brazil and 24-hour test-weighing in Denmark. Additional data on birth details, sociodemographic characteristics, maternal and infant health conditions, and breastfeeding practices were obtained through questionnaires (ALLEN *et al.*, 2021).

Participants

In Brazil, women were recruited during the third trimester (>28th gestational week) or immediately after delivery, while in Denmark, they were enrolled before entering the third trimester of pregnancy (<28th gestational week). Participation required written informed consent at both sites.

Mother-infant dyads were screened based on inclusion and exclusion criteria set by the MILQ study (ALLEN *et al.*, 2021). Mothers were required to be 18-40 years old, free of chronic or infectious diseases, with a pre-pregnancy BMI between 18.5-29.9 kg/m². They should be non-smokers and have not used vitamin and mineral supplementation during the third trimester of pregnancy, except those recommended by the Brazilian government guidelines (iron and folic acid) (BRASIL., 2013) and by Danish Health Authorities (iron, folic acid, vitamin D, and calcium). Additionally, they needed to have a low intake of fortified foods (<3 times per week) and not follow a vegan or macrobiotic diet. Women were excluded if they presented relevant past or current medical issues (e.g., gestational diabetes or pre-eclampsia) or if they discontinued EBF before M1.

For infants, inclusion criteria comprised being singleton and born at term (≥ 37 and ≤ 42 gestational weeks) with a birth weight between 2500 to 4200 g, without congenital

malformations affecting feeding, growth or development. Infants were excluded if they had z-scores <-2 for length-for-age, weight-for-age, or weight-for-length (WHO, 2006); no EBF at M1 or if breastfeeding was discontinued entirely at any point during the follow-ups. Formula use was allowed up to seven days after birth, and infants remained classified as EBF.

In Brazil, 494 mother-infant dyads were initially recruited, with 32 withdrawn, resulting in 462 following to visit C. Between visits C and M1, 34 pairs were excluded, and an additional 87 withdrew, leaving 341 women moving forward to M2. At M2, 106 were excluded, and 39 withdrew from the remaining participants. In Denmark, 375 dyads were initially recruited, with 22 withdrawn and 32 excluded, leaving 320 pairs for visit C. Between visits C and M1, 16 dyads were excluded and 25 withdrew, leaving 279 for M2, where 62 were excluded, and 11 withdrew. Reasons for exclusion in both cohorts included pre- or post-term births (gestational age <37 or >42 weeks), low birth weight ($<2,500$ g), macrosomia ($>4,200$ g), maternal medical conditions (pre-eclampsia and gestational diabetes), and maternal alcohol intake (>30 g or >50 mL per week). Withdrawals were due to COVID-19, moved away, failure to attend visits, infant death, project end, excessive time commitment, or other reasons. Only women with at least one breast milk volume measurement during follow-up were included, comprising 139 Brazilians and 188 Danish women (**Figure 1**).

Data collection

Assessment for maternal anthropometry and body composition

Pre-pregnancy BMI was calculated as weight divided by height squared (kg/m^2) using data from the pregnancy booklet or self-reported information. It was then categorized as normal weight (18.5 - 24.9 kg/m^2) or overweight (25.0 - 29.9 kg/m^2). In both countries, maternal height was recorded as the average of three measurements taken during M1 using a fixed digital stadiometer (SECA 264) with 1 mm precision.

Maternal weight and total fat mass (FM, kg) were measured at M1 in both countries. In Brazil, these measurements were taken using Tanita MC-780U (Tanita Corporation, Arlington Heights, USA), following the methodology previously described (CAMPOS *et al.*, 2024). The FM was also estimated through back extrapolation of the DTM technique data (IAEA, 2010a). In Denmark, maternal weight and body composition were measured using the Tanita MC-780MA instrument (Tanita Corporation, Tokyo, Japan) after ensuring participants had an empty bladder before performing the exam. The total FM was estimated using the internal Tanita algorithm, which incorporates information such as sex, age, and height into the device. More

details are described elsewhere (CHRISTENSEN *et al.*, 2022). The fat mass index (FMI, kg/m²) was calculated by dividing FM (kg) by height squared (m²).

24-hour breast milk volume

The deuterium oxide dose-to-mother technique

In Brazil, the DTM technique was applied to assess the 24-hour infant's breast milk intake from M1 to M3, following the protocol outlined by the *International Atomic Energy Agency* (IAEA, 2010b). Mothers (dressed in light clothing) and infants (undressed) were weighed using a digital scale Tanita MC-780U (Tanita Corporation, Arlington Heights, USA) on day 0 and day 14. A 30 g dose of deuterium oxide (D₂O) (99.8% purity; Sigma-Aldrich, Canada) was accurately measured with a calibrated analytical scale (Marte AD3300, São Paulo, Brazil) and placed in a clean, dry plastic bottle with a sealed lid to prevent leakage. Lactating mothers consumed a single dose of D₂O on day 0, followed by the immediate addition of 25 mL of filtered water to the dose bottle to ensure that no deuterium-labeled water remained in the container.

Saliva samples were collected from the mother and infant on day 0 before administering an oral dose of D₂O and subsequently on days 1, 2, 3, 4, 13, and 14. At least 0.5 mL of saliva was collected each time by placing a small cotton ball in their mouths for a few minutes, then compressing the cotton into 10 mL syringes to release the sample into sterile cryotubes. A 30-minute complete fasting period was observed before saliva collection to ensure no residual food particles were present. These samples were immediately stored in an ultra-freezer at -80°C until they were sent for analysis.

The deuterium enrichments of the saliva samples from both the mother and infant were analyzed using Fourier transform infrared spectroscopy (4500t FTIR, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) at *St. Jhon's Research Institute*, India. These enrichments were subsequently used to estimate the infant's total breast milk intake over 24 hours and to determine the mother's total body water, from which the maternal FM was calculated (IAEA, 2010a, 2010b).

Test-weighing

In Denmark, BMV was estimated during visits M1-M3 using the 24-hour test-weighing method with a digital scale (ADE M101000-01; ADE GmbH & Co., Hamburg, Germany), which had an accuracy of 5 g for weights under 10 kg and 10 g for weights over 10 kg. Mothers were instructed to complete the test-weighing protocol within the week following each visit, weighing their infants in the same clothes and diaper before and after each feeding over 24

hours, along with one additional weighing. The breast milk intake was calculated based on the weight difference between pre-and post-feed measurements. Any feed exceeding 400 g was marked as an outlier and excluded, and logs with more than three missing feeds over 24 hours were discarded from the analysis. The hot deck imputation method was applied for logs with three or fewer missing feeds, using neighboring weights from the same infant. The final test-weighing values were increased with 5% to account for insensible water losses (FAO; CONSULTATION, 2001).

Sociodemographic data collection

At baseline, a structured questionnaire was used to collect sociodemographic and reproductive data, including maternal age (in years), marital status (single or married/with a partner), parity (primiparous or multiparous), and maternal employment status at baseline (employed or unemployed). During visit C, a second structured questionnaire was administered to collect birth details, such as the mode of delivery (caesarean section or vaginal) and the infant's sex (male or female).

Statistical analysis

All continuous variables were assessed for normality by visually inspecting histograms, skewness, kurtosis, and the Shapiro-Wilk test. Summary statistics are presented as mean \pm SD for normally distributed variables and median (interquartile range, IQR) for skewed variables. Absolute (n) and relative frequencies (%) were calculated for categorical variables.

Implausible values for BMV were evaluated through visual inspection of box plots and histograms for each visit and a longitudinal assessment of changes over time, following the Boone-Heinonen *et al.* (2019) methodology. Four observations were removed: two from Brazil and two from Denmark. To determine the feasibility of combining data from both sites, an analysis of covariance (ANCOVA) was performed at each visit, adjusting for the child's age in days. The results showed a statistically significant difference between Brazil and Denmark at the last follow-up (M3) (data not shown). Due to the uncertainty about whether this difference arises from population characteristics or disparities in BMV estimation methods, separate models were constructed. This approach ensures robust analyses and valid results.

A latent growth mixture model (LGMM) approach was used to identify distinct patterns in BMV over time to capture heterogeneity within subpopulations. This method uncovers unobserved subpopulations, allowing for the depiction of longitudinal changes and the exploration of differences among these latent subgroups (WANG; HANGES, 2011). BMV

trajectories were modelled with a continuous latent variable, while categorical latent variables (classes) represented distinct subpopulations. Separate latent-class trajectories were fitted for each country to account for potential differences in patterns and BMV estimation methods between populations.

Data analysis was conducted in four steps to identify latent classes and investigate maternal body composition profiles associated with these trajectories. First, BMV trajectories were modelled, and linear and polynomial forms were tested to determine the most appropriate model. Second, the optimal number of classes was determined by comparing models with 2 to 9 classes. The best-fitting LGMM was selected based on the lowest Akayke Information Criteria (AIC), high entropy values for confident classification (RAM; GRIMM, 2009), and ensuring that each class contained at least 5% of the cohort (NYLUND; ASPAROUHOV; MUTHÉN, 2007). Distinct trajectories were labelled according to their visual characteristics (“Higher” and “Medium”).

The third step involved fitting logistic regression models to estimate associations between maternal adiposity at M1 (FM and FMI) as the exposure and the BMV classes as the outcome. Models were run both unadjusted and adjusted for a set of covariates (maternal age, infant sex, infant age, pre-pregnancy BMI, parity, and WAZ), chosen *a priori* based on the theoretical evidence of potential associations between maternal adiposity and BMV. The models estimated odds ratios (OR) with corresponding 95% confidence intervals (95% CI). In the final step, multicollinearity was checked using a variance inflation factor (VIF) threshold of 10 (KIM, 2019), and model residuals were assessed using Pearson’s chi-square test. Also, the receiver operator characteristic curves (ROCs) were drawn to assess the logistic regression model’s prediction performance. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

All statistical analyses were performed using Stata software (StataCorp, version 15.0) and R software (*lcmm* package, version 4.3.2, The R Foundation).

Ethics

This study was conducted according to the guidelines in the Declaration of Helsinki. All procedures were approved by Brazil’s National Commission for Research Ethics (2.086.708, 2.875.218, 4.865.685, approved on 29 May 2017), the Research Ethics Committees of the Maternity School Federal University of Rio de Janeiro (1.948.992, 2.769.611, 4.449.007, approved on 6 Mar. 2017); and the Municipal Secretary of Health and Civil Defence of the State of Rio de Janeiro (2.100.255, approved on 5 Jun. 2017), Brazil; Project number: 64767717.4.0000.5275. All procedures were approved by the Danish Committees on

Biomedical Research Ethics for the Capital Region of Denmark (H-17015174). Written informed consent was obtained from all participants.

Results

Sample characteristics

Three hundred twenty-seven women were included in this study, with 139 from Brazil and 188 from Denmark (**Table 1**). They were categorized into two groups based on their latent-classes trajectories: “higher” and “medium” breast milk producers (**Figure 2**). Among the Brazilian participants, 58 (41.7%) were classified as higher producers, while 81 (58.3%) were medium producers. In Denmark, the majority of women were higher producers, with 123 (65.4%) in this group and 65 (34.6%) classified as medium producers (**Table 1**).

Among higher producers, Brazilian women were younger (26.3 years vs 31.4 years) and shorter (161.8 cm vs 168.6 cm) than Danish women. At baseline, employment was less common among Brazilian (37.9% vs. 79.7%), a smaller proportion of Brazilian had vaginal deliveries (81% vs. 94.3%), and were primiparous (50% vs. 70.7%) compared to Danish higher producers. However, marital status was similar between the two countries, with most mothers in Brazil and Denmark being married or living with a partner. These differences remained consistent within the medium producers’ groups (**Table 1**).

Brazilian women in the higher production group had greater FM by both methods, BIA (21.6 ± 5.5 kg) and DTM (24.7 ± 6.3 kg), compared to Danish mothers (18.7 ± 5.6 kg). A similar trend was observed for FMI, with Brazilian women recording 8.2 ± 2.0 kg/m² by BIA and 9.4 ± 2.4 kg/m² by DTM, while Danish women had 6.6 ± 1.9 kg/m². Among medium producers, the pattern shifted: Brazilian women had lower FM based on BIA data (20.6 ± 5.6 kg) than Danish women (21.3 ± 5.8 kg), but when using DTM data, Brazilian FM remained higher. Brazilian FMI by both methods, BIA (8.1 ± 2.2 kg/m²) and DTM (9.1 ± 2.3 kg/m²) were consistently higher than those of Danish women (7.5 ± 2.1 kg/m²) (**Table 1**).

Brazilian women consistently produced more BMV than their Danish counterparts across all visits in both production groups. In the higher production group, at M1, the difference was 118 mL (972.2 mL/day vs. 854.2 mL/day). At M2, it was 92.3 mL (1,027.5 mL/day vs 935.2 mL/day), and by M3, the gap expanded to 190.9 mL (955.8 mL/day vs 764.9 mL/day). A similar pattern was observed in the medium production group (**Table 1**).

Association of maternal adiposity and milk volume latent-classes trajectories

Significant differences were observed between the two countries in the logistic regression analysis testing the association between maternal FM, FMI, and BMV categories (**Table 2**). For Brazilian mothers, after adjusting the model, each additional kilogram of FM was associated with a 5% increase in the odds of belonging to the higher production group (OR = 1.05, 95% CI = 1.00; 1.11) (**Table 2**).

Danish mothers showed significant negative associations between maternal adiposity and BMV. These results remained consistent in the adjusted model, where FM was associated with an 8% decrease in the odds of being in the higher production group (OR = 0.92, 95% CI = 0.88; 0.96). FMI continued to show no significant association after adjustment (OR = 1.12, 95% CI = 0.92; 1.35) (**Table 2**).

Discussion

The results of this study suggest a complex association between maternal adiposity and BMV, with notable differences between Brazilian and Danish mothers. Among Brazilian women, we observed a trend toward increased odds of higher BMV with rising FM in the adjusted model, although the effect was relatively modest and non-significant. In contrast, Danish mothers exhibited a significant inverse relationship, suggesting that higher maternal FM levels may negatively impact BMV.

Our results indicate that Brazilian mothers consistently produced more milk than Danish mothers, regardless of production category (higher or medium). This finding aligns with existing literature showing that the deuterium dilution method generally provides higher estimates than test-weighing, even when adjusted for insensible water losses. However, it is also important to consider that Brazilian women may naturally have higher milk production levels than Danish women, suggesting a possible population-based difference in lactation. Furthermore, the average values observed at each follow-up point in both countries are consistent with previous studies (RIOS-LEYVRAZ; YAO, 2023).

The results observed among Danish women are consistent with previous studies. Young *et al.* (2023) showed in a cross-sectional study of 232 Indian mother-infant dyads that each unit increase in BMI and each 1% increase in body fat percentage were associated with a reduction of 7.0 mL (95% CI: -12.4, -1.6) and 3.5 mL (95% CI: -6.0, -1.1) in milk volume output, respectively. Similarly, Diana *et al.* (2019), in a cross-sectional study of 112 Indonesian mothers, found that a 1% increase in maternal body fat percentage, assessed via DTM, was associated with an ~5.0 mL (95% CI: -9.6, -0.2) reduction in BMV among exclusively breastfed infants, after adjusting the models for maternal age (years), infant age (months), infant sex, and

socio-economic status. Despite differences in methodological approaches, our study and prior research point to the same trend: higher maternal body fat is associated with lower BMV. This consistency strengthens the evidence that maternal FM plays a significant role in lactation outcomes.

It has been suggested that maternal body fat can impair the initiation and maintenance of lactation (NOMMSEN-RIVERS *et al.*, 2010, 2022), reducing breast milk intake and increasing reliance on other foods (NAZLEE *et al.*, 2011). Animal studies suggest that an obesogenic environment triggers early mammary gland involution, with fewer and smaller alveoli, increased adipose tissue, and hormonal imbalances. These changes, along with adipocyte hypertrophy and elevated leptin, contribute to reduced milk production and lower expression of milk-related genes (LUZARDO-OCAMPO *et al.*, 2023). Additionally, hormonal changes at the glandular level, such as a reduced prolactin response, have been proposed as mechanisms that may limit breastfeeding capacity in obese women (KAM *et al.*, 2021; RASMUSSEN; KJOLHEDE, 2004).

Another important aspect not explored in this article is the composition of appetite-regulating hormones and macronutrients in breast milk. Evidence suggests that maternal adiposity is positively associated with the leptin content in human milk (CHRISTENSEN *et al.*, 2022; KUGANANTHAN *et al.*, 2017) and is also linked to a higher fat concentration (DANIEL *et al.*, 2021). This higher lipid content and the presence of leptin in breast milk may promote infant satiety, potentially leading to decreased feeding frequency and duration, which could result in reduced milk volume (KENT; PRIME; GARBIN, 2012).

On the other hand, our findings for Brazilian mothers, which showed a positive association between FM and BMV in the adjusted model, suggest that the effects of adiposity may be influenced by contextual and population-specific factors, such as the sociocultural environment (AMIR; DONATH, 2007; BJØRSET *et al.*, 2018; LAMOUNIER *et al.*, 2021). Only one other study found similar results, though it involved mothers with underweight. In Kenya, Ettyang *et al.* (2005) examined lactating women with a BMI <18.5 and found a positive correlation between upper arm circumference and triceps skinfold thickness with milk volume. This suggests that, under conditions of lower energy reserves, greater adiposity may support breast milk production

Recently, Montana *et al.* (2024) showed in a systematic review and meta-analysis that the current literature does not support the association between maternal adiposity and BMV. However, the authors also highlighted that the available studies have limitations, including the underrepresentation of mothers with excessive adipose tissue. Therefore, it is possible that the

modulation of milk production is not solely restricted to energy reserves. Additionally, differences in demographic and reproductive patterns and the techniques used to assess maternal body composition (BIDDULPH *et al.*, 2022), may have contributed to the disparities observed in the literature and between the two countries in our study. Factors such as maternal age over 30 years which was more prevalent among Danish women (NOMMSEN-RIVERS *et al.*, 2010) may be a risk factor for delayed lactogenesis II. Besides the proportion of vaginal deliveries may also influence lactation success (HOBBS *et al.*, 2016; WU *et al.*, 2018).

The longitudinal design of this study is a key strength, allowing for a detailed assessment of the relationship between maternal adiposity and BMV over time while utilizing a gold-standard method in the Brazilian sample. However, certain limitations must be acknowledged. A major limitation is the use of different methods for estimating BMV across the two populations; the test-weighing method may underestimate total milk volume compared to the DTM, even with adjustments for insensible water losses (RIOS-LEYVRAZ; YAO, 2023). Additionally, maternal FM was assessed using BIA in Danish women, which may have underestimated adiposity due to the overestimation of FFM resulting from breast milk, potentially affecting the accuracy of measurements. Our study fails to explore factors such as the composition of macronutrients and hormones in breast milk and genetic factors in both populations, which may serve as potential mediators of the different associations observed. This highlights the need for further research that comprehensively addresses all these factors.

Conclusion

In conclusion, this study reveals significant differences in the relationship between maternal adiposity and BMV among Brazilian and Danish mothers. Brazilian mothers exhibited a slight trend toward higher odds of being in the high-production group with increased FM. In contrast, Danish mothers showed a significant negative association between FM and milk volume. These findings suggest that environmental and cultural factors influence lactation dynamics, underscoring the need for further research on the mechanisms involved, including dietary, socio-economic influences, and breast milk composition, informing public health policies that support optimal breastfeeding practices.

Funding Information

This work was funded by the Bill & Melinda Gates Foundation (grant numbers: OPP1148405 and INV-002300), intramural USDA-Agricultural Research Service project

5306-51000-004-00D, the Federal University of Rio de Janeiro, and the University of Copenhagen.

Conflict of interest

All authors declare no conflict of interest.

References

ALLEN, L. H.; HAMPEL, D.; SHAHAB-FERDOWS, S.; ANDERSSON, M.; BARROS, E.; DOEL, A. M.; GEHRT, K.; CHRISTENSEN, S. H.; ISLAM, M.; KAC, G.; KEYA, F. K.; MICHAELSEN, K. F.; DE, D.; MUCCI, B.; NJIE, F.; PEERSON, J. M.; MOORE, S. E. The Mothers, Infants, and Lactation Quality (MILQ) Study: A Multi-Center Collaboration. **Curr Dev Nutri**, v. 5, 2021.

AMIR, L. H.; DONATH, S. A systematic review of maternal obesity and breastfeeding intention, initiation and duration. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 7, 4 jul. 2007.

BABENDURE, J. B.; REIFSNIDER, E.; MENDIAS, E.; MORAMARCO, M. W.; DAVILA, Y. R. Reduced breastfeeding rates among obese mothers: A review of contributing factors, clinical considerations and future directions. **International Breastfeeding Journal**, v. 10, n. 1, 1 jul. 2015.

BALOGUN, O. O.; DAGVADORJ, A.; ANIGO, K. M.; OTA, E.; SASAKI, S. Factors influencing breastfeeding exclusivity during the first 6 months of life in developing countries: A quantitative and qualitative systematic review. **Maternal and Child Nutrition**, v. 11, n. 4, p. 433–451, 2015.

BIDDULPH, C.; HOLMES, M.; KUBALLA, A.; CARTER, R. J.; MAHER, J. Beyond the BMI: Validity and Practicality of Postpartum Body Composition Assessment Methods during Lactation: A Scoping Review. **Nutrients**, v. 14, n. 11, 1 jun. 2022.

BJØRSET, V. K.; HELLE, C.; HILLESUND, E. R.; ØVERBY, N. C. Socio-economic status and maternal BMI are associated with duration of breast-feeding of Norwegian infants. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 8, p. 1465–1473, 2018.

BOCCOLINI, C. S.; DE CARVALHO, M. L.; COUTO DE OLIVEIRA, M. I. Factors associated with exclusive breastfeeding in the first six months of life in Brazil: A systematic review. **Revista de Saude Publica**, v. 49, 2015.

BOONE-HEINONEN, J.; TILLOTSON, C. J.; O'MALLEY, J. P.; MARINO, M.; ANDREA, S. B.; BRICKMAN, A.; DEVOE, J.; PURO, J. Not so implausible: impact of longitudinal assessment of implausible anthropometric measures on obesity prevalence and weight change in children and adolescents. **Annals of Epidemiology**, v. 31, p. 69- 74.e5, 1 mar. 2019.

BRASIL. **Programa Nacional de Suplementação de Ferro - Manual de Condutas Gerais**. Brasília: Ministério de Saúde., 2013. 24 p.

CHEN, C.; XU, X.; YAN, Y. Estimated global overweight and obesity burden in pregnant women based on panel data model. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, 1 ago. 2018.

CHOWDHURY, R.; SINHA, B.; SANKAR, M. J.; TANEJA, S.; BHANDARI, N.; ROLLINS, N.; BAHL, R.; MARTINES, J. Breastfeeding and maternal health outcomes: A systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics**, v. 104, p. 96–113, 1 dez. 2015.

CHRISTENSEN, S. H.; LEWIS, J. I.; LARNKJÆR, A.; FRØKIÆR, H.; ALLEN, L. H.; MØLGAARD, C.; MICHAELSEN, K. F. Associations between maternal adiposity and appetite-regulating hormones in human milk are mediated through maternal circulating concentrations and might affect infant outcomes. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, n. November, p. 1–15, 2022.

DANIEL, A. I.; SHAMA, S.; ISMAIL, S.; BOURDON, C.; KISS, A.; MWANGOME, M.; BANDSMA, R. H. J.; O'CONNOR, D. L. Maternal bmi is positively associated with human milk fat: A systematic review and meta-regression analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 113, n. 4, p. 1009–1022, 2021.

DIANA, A.; HASZARD, J. J.; HOUGHTON, L. A.; GIBSON, R. S. Breastmilk intake among exclusively breastfed Indonesian infants is negatively associated with maternal fat mass. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 8, p. 1206–1208, 1 ago. 2019.

ETTYANG, G. A.; VAN MARKEN LICHTENBELT, W. D.; ESAMAI, F.; SARIS, W. H. M.; WESTERTERP, K. R. Assessment of body composition and breast milk volume in lactating mothers in pastoral communities in Pokot, Kenya, using deuterium oxide. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 49, n. 2, p. 110–117, mar. 2005.

FAO, J.; CONSULTATION, U. N. U. E. **Human energy requirements: report of a joint FAO/ WHO/UNU Expert Consultation**. **Food and nutrition bulletin**. [s.l: s.n.].

GIANNI LORELLA MARIA; BETTINELLI ENRICA MARIA; MANFRA PRISCILLA; SORENTINO GABRIELE; BEZZEE ELENA; PLEVANI LAURA; CAVALLARO GIACOMO; RAFFAELI GANNY; CRIPPA LETIZIA BEATRICE; COLOMBO LORENZO; MORNIROLI DANIELA; LIOTTO NADIA; ROGGERO PAOLA; VILLAMOR EDUARDO; MARCHISIO PAOLA; MOSCA FABIO. Breastfeeding Difficulties and Risk for Early Breastfeeding Cessation. **Nutrients**, v. 11, n. 2266, p. 1–10, 2019. Disponível em: <<http://doi.org/10.3390/nu11102266>>.

HOBBS, A. J.; MANNION, C. A.; MCDONALD, S. W.; BROCKWAY, M.; TOUGH, S. C. The impact of caesarean section on breastfeeding initiation, duration and difficulties in the first four months postpartum. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 16, n. 1, 26 abr. 2016.

HUANG, Y.; LIU, Y.; YU, X. Y.; ZENG, T. Y. The rates and factors of perceived insufficient milk supply: A systematic review. **Maternal and Child Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 1–13, 2022.

HUANG, Y.; OUYANG, Y. Q.; REDDING, S. R. Maternal Prepregnancy Body Mass Index, Gestational Weight Gain, and Cessation of Breastfeeding: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Breastfeeding Medicine**, v. 14, n. 6, p. 366–374, 2019.

IAEA. **Introduction to Body Composition Assessment Using the Deuterium Dilution Technique with Analysis of Urine Samples by Isotope Ratio Mass Spectrometry**. [s.l.: s.n.]84 p.

IAEA. **Stable Isotope Technique to Assess Intake of Human Milk in Breastfed Infants**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2010b. 81 p.

KAM, R. L.; BERNHARDT, S. M.; INGMAN, W. V.; AMIR, L. H. Modern, exogenous exposures associated with altered mammary gland development: A systematic review. **Early Human Development**, v. 156, 1 maio 2021.

KENT, J. C.; ASHTON, E.; HARDWICK, C. M.; REA, A.; MURRAY, K.; GEDDES, D. T. Causes of perception of insufficient milk supply in Western Australian mothers. **Maternal and Child Nutrition**, v. 17, n. 1, 1 jan. 2021.

KENT, J. C.; PRIME, D. K.; GARBIN, C. P. Principles for Maintaining or Increasing Breast Milk Production. **Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing**, v. 41, n. 1, p. 114–121, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1552-6909.2011.01313.x>>.

KIM, J. H. Multicollinearity and misleading statistical results. **Korean Journal of**

Anesthesiology, v. 72, n. 6, p. 558–569, 2019. Disponível em: <https://stat.duke.edu/~kfl5/Lock_RREE_Results_2010.pdf>.

KUGANANTHAN, S.; GRIDNEVA, Z.; LAI, C. T.; HEPWORTH, A. R.; MARK, P. J.; KAKULAS, F.; GEDDES, D. T. Associations between maternal body composition and appetite hormones and macronutrients in human milk. **Nutrients**, v. 9, n. 3, 2017.

LAMOUNIER, D. M. B.; AZEREDO, C. M.; FERREIRA ANTUNES, J. L.; CONDE, W. L.; RINALDI, A. E. M. Sociodemographic, health and pro-breast-feeding policies and programmes associated with breast-feeding duration in Latin American countries. **Public Health Nutrition**, v. 24, n. 15, p. 4985–4996, 2021.

LUZARDO-OCAMPO, I.; DENA-BELTRÁN, J. L.; RUIZ-HERRERA, X.; OCAMPO-RUIZ, A. L.; MARTÍNEZ DE LA ESCALERA, G.; CLAPP, C.; MACOTELA, Y. Obesity-derived alterations in the lactating mammary gland: Focus on prolactin. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 559, 1 jan. 2023.

MONTANA, A. V.; MILDON, A.; DANIEL, A. I.; PITINO, M. A.; BAXTER, J. A. B.; BEGGS, M. R.; UNGER, S. L.; O’CONNOR, D. L.; WALTON, K. Is Maternal Body Weight or Composition Associated with Onset of Lactogenesis II, Human Milk Production, or Infant Consumption of Mother’s Own Milk? A Systematic Review and Meta-Analysis. **Advances in Nutrition**, v. 15, n. 6, p. 100228, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.advnut.2024.100228>>.

NAZLEE, N.; BILAL, R.; LATIF, Z.; BLUCK, L. Maternal Body Composition and Its Relationship to Infant Breast Milk Intake in Rural Pakistan. **Food and Nutrition Sciences**, v. 02, n. 09, p. 932–937, 2011.

NEVES, P. A. R.; VAZ, J. S.; MAIA, F. S.; BAKER, P.; GATICA-DOMÍNGUEZ, G.; PIWOZ, E.; ROLLINS, N.; VICTORA, C. G. Rates and time trends in the consumption of breastmilk, formula, and animal milk by children younger than 2 years from 2000 to 2019: analysis of 113 countries. **The Lancet Child and Adolescent Health**, v. 5, n. 9, p. 619–630, 2021.

NOMMSEN-RIVERS, L. A.; CHANTRY, C. J.; PEERSON, J. M.; COHEN, R. J.; DEWEY, K. G. Delayed onset of lactogenesis among first-time mothers is related to maternal obesity and factors associated with ineffective breastfeeding. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 92, n. 3, p. 574–584, 1 set. 2010.

NOMMSEN-RIVERS, L. A.; WAGNER, E. A.; ROZNOWSKI, D. M.; RIDDLE, S. W.;

WARD, L. P.; THOMPSON, A. Measures of Maternal Metabolic Health as Predictors of Severely Low Milk Production. **Breastfeeding Medicine**, v. 17, n. 7, p. 566–576, 2022.

NYLUND, K. L.; ASPAROUHOV, T.; MUTHÉN, B. O. Deciding on the Number of Classes in Latent Class Analysis and Growth Mixture Modeling: A Monte Carlo Simulation Study. **Structural Equation Modeling**, v. 14, n. 4, p. 535–569, 2007.

PÉREZ-ESCAMILLA, R.; BUCCINI, G. S.; SEGURA-PÉREZ, S.; PIWOZ, E. Perspective: Should Exclusive Breastfeeding Still Be Recommended for 6 Months? **Advances in Nutrition**, v. 10, n. 6, p. 931–943, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/advances/nmz039>>.

PÉREZ-ESCAMILLA, R.; TOMORI, C.; HERNÁNDEZ-CORDERO, S.; BAKER, P.; BARROS, A. J. D.; BÉGIN, F.; CHAPMAN, D. J.; GRUMMER-STRAWN, L. M.; MCCOY, D.; MENON, P.; RIBEIRO NEVES, P. A.; PIWOZ, E.; ROLLINS, N.; VICTORA, C. G.; RICHTER, L. Breastfeeding: crucially important, but increasingly challenged in a market-driven world. **The Lancet**, v. 401, n. 10375, p. 472–485, 2023.

RAM, N.; GRIMM, K. J. Methods and Measures: Growth mixture modeling: A method for identifying differences in longitudinal change among unobserved groups. **International Journal of Behavioral Development**, v. 33, n. 6, p. 565–576, 2009.

RASMUSSEN, K. M.; KJOLHEDE, C. L. Prepregnant Overweight and Obesity Diminish the Prolactin Response to Suckling in the First Week Postpartum. **Pediatrics**, v. 113, n. 5, 2004. Disponível em: <<http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/113/5/>>.

RIOS-LEYVRAZ, M.; YAO, Q. The Volume of Breast Milk Intake in Infants and Young Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Breastfeeding Medicine**, v. 18, n. 3, p. 188–197, 1 mar. 2023.

SEGURA-PÉREZ, S.; RICHTER, L.; RHODES, E. C.; HROMI-FIEDLER, A.; VILAR-COMPTE, M.; ADNEW, M.; NYHAN, K.; PÉREZ-ESCAMILLA, R. Risk factors for self-reported insufficient milk during the first 6 months of life: A systematic review. **Maternal and Child Nutrition**, v. 18, n. S3, 1 maio 2022.

UNICEF/WHO/WORLD BANK. Levels and trends in child malnutrition UNICEF / WHO / World Bank Group Joint Child Malnutrition Estimates Key findings of the 2021 edition. **World Health Organization**, p. 1–32, 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240025257>>.

VICTORA, C. G.; BAHL, R.; BARROS, A. J. D.; FRANÇA, G. V. A.; HORTON, S.; KRASEVEC, J.; MURCH, S.; SANKAR, M. J.; WALKER, N.; ROLLINS, N. C.; ALLEN, K.; DHARMAGE, S.; LODGE, C.; PERES, K. G.; BHANDARI, N.; CHOWDHURY, R.; SINHA, B.; TANEJA, S.; GIUGLIANI, E.; HORTA, B.; MAIA, F.; DE MOLA, C. L.; HAJEEBHOY, N.; LUTTER, C.; PIWOZ, E.; MARTINES, J. C.; RICHTER, L. Breastfeeding in the 21st century: Epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. **The Lancet**, v. 387, n. 10017, p. 475–490, 30 jan. 2016.

WANG, M.; HANGES, P. J. Latent Class Procedures: Applications to Organizational Research. **Organizational Research Methods**, v. 14, n. 1, p. 24–31, 2011.

WHO. **WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age Methods and development** Geneva, Switzerland. WHO Press, 2006.

WHO. **Essential nutrition actions : improving maternal, newborn, infant and young child health and nutrition.** [s.l: s.n.]

WU, Y.; WANG, Y.; HUANG, J.; ZHANG, Z.; WANG, J.; ZHOU, L.; NI, Z.; HAO, L.; YANG, N.; YANG, X. The association between caesarean delivery and the initiation and duration of breastfeeding: a prospective cohort study in China. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 12, p. 1644–1654, 1 dez. 2018.

YOUNG, M. F.; FAERBER, E. C.; MEHTA, R. V.; RANJAN, S.; SHETTY, S. A.; RAMAKRISHNAN, U.; RANGIAH, K.; BOSE, B.; DEVI, S.; DWARKANATH, P.; KURPAD, A. V.; TANEJA, S.; MARTORELL, R. Maternal nutritional status and milk volume and composition in India: an observational study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 117, n. 4, p. 830–837, 1 abr. 2023.

Table 1 - Characteristics of lactating women within each breast milk volume latent-class trajectory group in Brazil (n = 139) and Denmark (n = 188).

	Brazil¹				Denmark²			
	Higher		Medium		Higher		Medium	
	n = 58 (41.7%)		n = 81 (58.3%)		n = 123 (65.4%)		n = 65 (34.6%)	
	Mean (SD)		Mean (SD)		Mean (SD)		Mean (SD)	
Maternal age at birth, (y)	26.3 (5.4)		28.3 (6.1)		31.4 (3.4)		31.6 (3.4)	
Maternal height, (cm)	161.8 (5.8)		160.5 (6.1)		168.6 (6.1)		167.8 (5.9)	
Maternal weight (kg)	66.1 (8.7)		64.7 (8.3)		66.1 (8.5)		68.1 (8.3)	
Fat mass (kg) by BIA	21.6 (5.5)		20.6 (5.6)		18.7 (5.6)		21.3 (5.8)	
Fat mass (kg) by DTM	24.7 (6.3)		23.2 (5.8)		-		-	
Fat mass index (kg/m ²) by BIA	8.2 (2.0)		8.1 (2.2)		6.6 (1.9)		7.5 (2.1)	
Fat mass index (kg/m ²) by DTM	9.4 (2.4)		9.1 (2.3)		-		-	
Breast milk volume (mL/day)								
1-3.49 months postpartum (M1)	972.2 (153.5)		739.2 (135.4)		854.2 (150.4)		699.1 (130.9)	
3.5-5.99 months postpartum (M2)	1,027.5 (128.9)		740.2 (173.5)		935.2 (156.3)		701.6 (158.2)	
6-8.49 months postpartum (M3)	955.8 (171.3)		605.8 (166.4)		764.9 (146.5)		444.2 (148.2)	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Marital status*								
Married/with partner	50	86.2	68	84.0	121	98.4	63	96.9
Single	8	13.8	13	16.0	2	1.6	2	3.1

Maternal occupation*								
Unemployed	36	62.1	41	50.6	25	20.3	12	18.5
Employed	22	37.9	40	49.4	98	79.7	53	81.5
Parity								
Primiparous	29	50.0	25	30.9	87	70.7	47	72.3
Multiparous	29	50.0	56	69.1	36	29.3	18	27.7
Delivery mode								
Caesarean	11	19.0	17	21.0	7	5.7	4	6.2
Vaginal	47	81.0	64	79.0	116	94.3	61	93.8
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)								
Normal weight (18.5 – 24.9)	32	55.2	47	58.0	106	86.2	52	80.0
Overweight (25.0 – 29.9)	26	44.8	34	42.0	17	13.8	13	20.0
Infant sex								
Male	34	58.6	42	51.9	61	49.6	24	36.9
Female	24	41.4	39	48.1	62	50.4	41	63.1

BIA, bioelectrical impedance analysis; *DTM*, deuterium oxide dose-to-mother technique; *SD*, standard deviation.

¹Breast milk volume assessed by deuterium oxide dose-to-mother technique. ²Breast milk volume assessed by test-weighing method.

*Information collected at baseline.

Note: Latent growth mixture models identified two different trajectory groups of breast milk production that were named by their visual characteristics (“higher” and “medium”). The “higher” class indicates the highest production level, while the “medium” class represents the medium production level based on the sample distribution. The maternal anthropometry and body composition data were assessed at M1 visit (1-3.49 months postpartum).

Table 2 – Logistic regression models exploring the association of maternal adiposity and milk volume latent-classes trajectories.

	Breast milk volume (mL/day) latent-classes trajectories	
	OR (95% CI)	<i>p</i> *
Brazil ¹		
BIA data		
<i>Unadjusted</i>		
Fat mass (kg)	1.01 (0.97; 1.06)	0.44
Fat mass index (kg/m ²)	1.00 (0.89; 1.11)	0.99
<i>Adjusted</i>		
Fat mass (kg)	1.05 (0.98; 1.11)	0.11
Fat mass index (kg/m ²)	1.08 (0.91; 1.28)	0.36
DTM data		
<i>Unadjusted</i>		
Fat mass (kg)	1.02 (0.98; 1.06)	0.15
Fat mass index (kg/m ²)	1.03 (0.93; 1.14)	0.48
<i>Adjusted</i>		
Fat mass (kg)	1.05 (1.00; 1.11)	0.05
Fat mass index (kg/m ²)	1.10 (0.95; 1.28)	0.19
Denmark ^{▲, 2}		
<i>Unadjusted</i>		
Fat mass (kg)	0.93 (0.90; 0.96)	<0.001
Fat mass index (kg/m ²)	0.99 (0.86; 1.14)	0.90
<i>Adjusted</i>		
Fat mass (kg)	0.92 (0.88; 0.96)	<0.001
Fat mass index (kg/m ²)	1.12 (0.92; 1.35)	0.23

BIA, bioelectrical impedance analysis; *DTM*, deuterium oxide dose-to-mother technique; *OR*, Odds ratio; *95% CI*, 95% confidence interval; *ppBMI*, pre-pregnancy body mass index (kg/m²); *WAZ*, z-score of weight-for-age

¹ Breast milk volume assessed by deuterium oxide dose-to-mother technique. ² Breast milk volume assessed by test-weighing method.

▲ Maternal body composition assessed using BIA. *Maximum likelihood estimator. Statistical significance for *p*-value <0.05.

Note: models adjusted by maternal age (years), infant age (months), infant sex (male and female), *ppBMI* (pre-pregnancy normal weight or overweight), parity (multiparous or

primiparous), and WAZ (z-score of weight-for-age at M1). The reference class was “medium” producers. The maternal body composition data were assessed at M1 visit (1-3.49 months postpartum). The number of individuals by class and country is as follows: Brazil: Higher: n = 58 (41.7%), Medium: n = 81 (58.3%); Denmark: Higher: n = 123 (65.4%), Medium: n = 65 (34.6%).

Figures

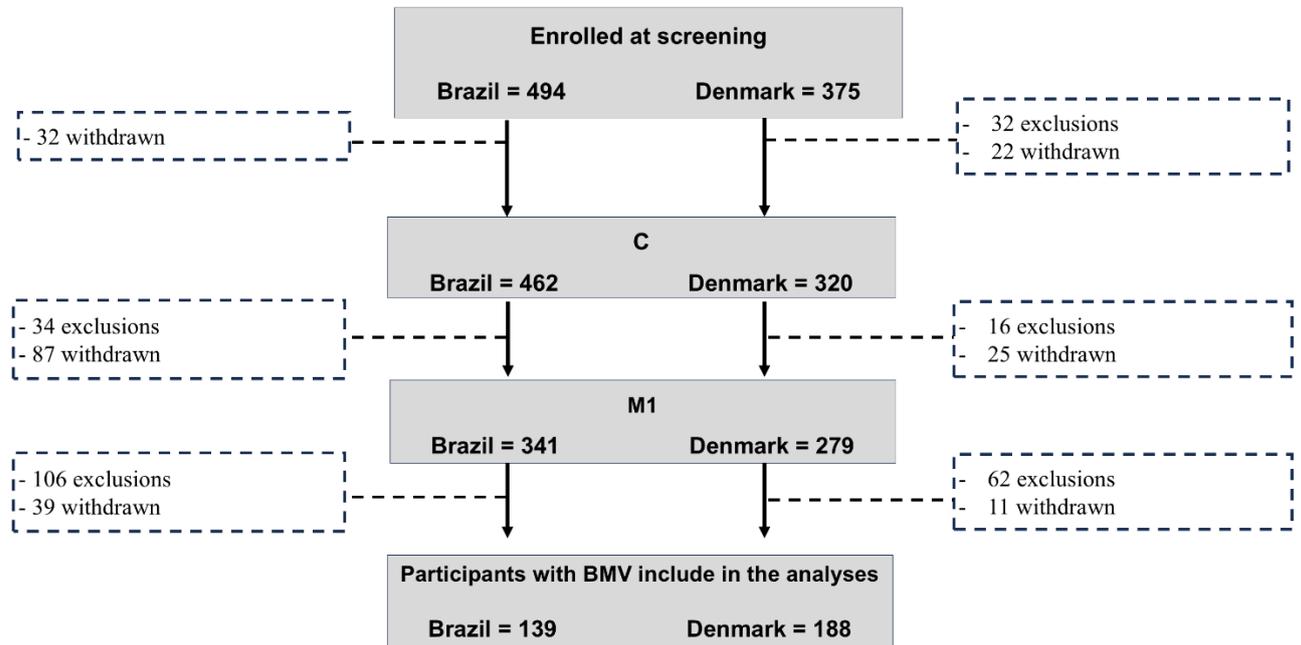


Figure 1 – Flow diagram of participants included in the study from both cohorts.

BMV, breast milk volume; *C*, visit C (visit at 24 to 72 hours postpartum); *M1*, visit M1 (at 1 – 3.49 months postpartum).

Note: Reasons for exclusion in both cohorts are pre- or post-term (gestational age ≤ 37 or ≥ 42 weeks); low birth weight (≤ 2.500 g birth weight); macrosomia (≥ 4.200 g birth weight); maternal medical issues (pre-eclampsia and gestational diabetes); maternal alcohol intake >30 or >50 mL per week. Withdrawn reasons are COVID-19, moved away, failure to attend the visit, infant died, project end, too much time spending in visits or other reason. Only women with at least one breast milk volume measurement during the follow-up were included.

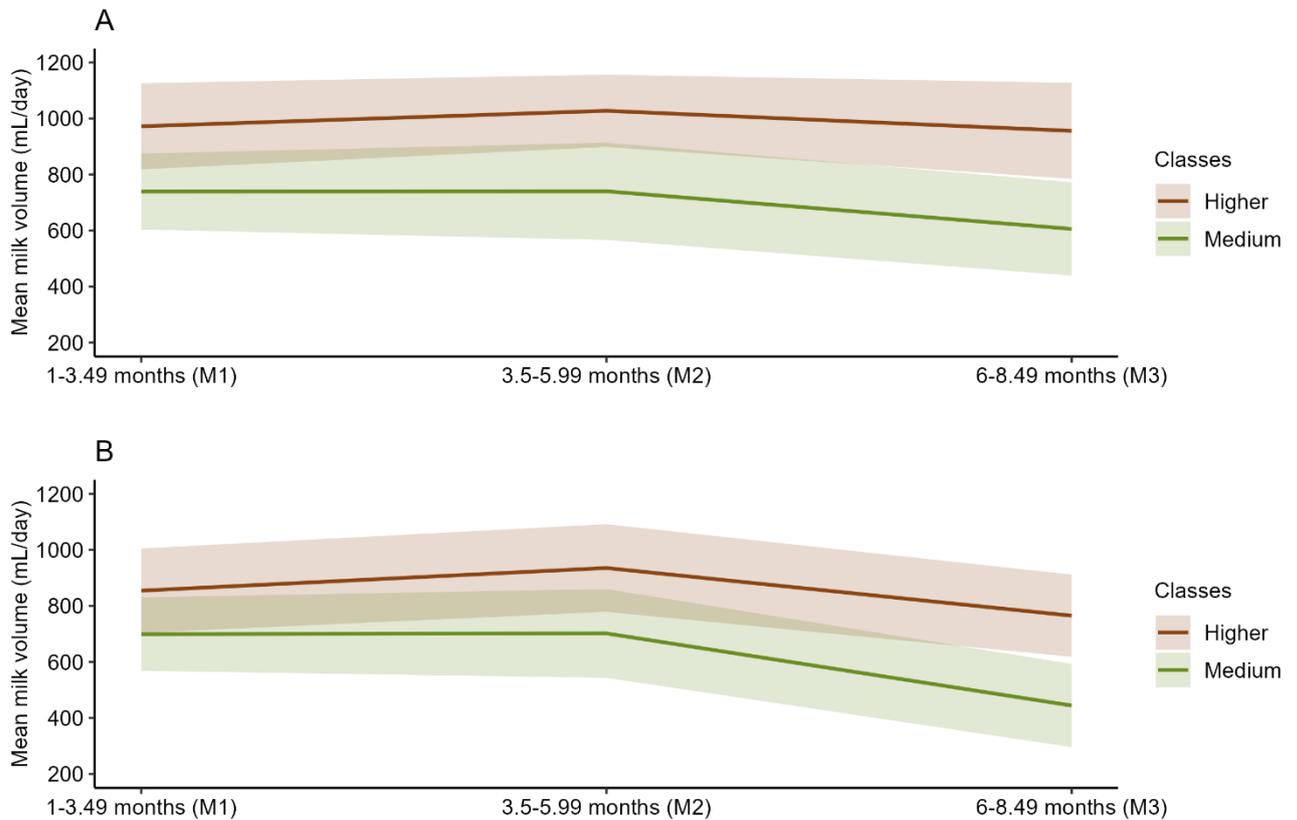


Figure 2 – Breast milk volume latent-class trajectory group in Brazil ($n = 139$) and Denmark ($n = 188$).

Note: Latent growth mixture model was applied to identify different trajectories of breast milk volume over time. The trajectories were modelled with a continuous latent variable. The curves represent the average of breast milk volume production (mL/day) by latent-class trajectory group, considering only time without adjustment for additional factors. The shaded areas around the curves indicate the 95% confidence interval. The "higher" class indicates the highest production level, while the "medium" class represents the medium production level based on the sample distribution. The number of individuals by class and country is as follows: **(A) Brazil:** Higher: $n = 58$ (41.7%), Medium: $n = 81$ (58.3%); **(B) Denmark:** Higher: $n = 123$ (65.4%), Medium: $n = 65$ (34.6%).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A literatura postula que o organismo materno aumenta suas reservas de tecido adiposo durante a gestação para sustentar a lactação no pós-parto, sendo esperado, portanto, uma mobilização destas reservas durante este período. No entanto, este conceito tem sido confrontado por estudos que mostram que características individuais e fatores socioeconômicos podem influenciar como estas reservas serão mobilizadas. Além disso, um desfecho negativo que vem sendo associado com o excesso de adiposidade da mãe é a redução do VLM, o que pode comprometer a manutenção do AM.

Os resultados do primeiro artigo desta tese confirmam que a variação nos componentes corporais maternos pode ser determinada por características individuais e socioeconômicas da mulher. Observou-se que, apesar da redução no IMC, a MG materna se manteve estável, enquanto a MLG foi o único componente corporal que reduziu de forma significativa. Sendo identificados como preditores destas mudanças o sobrepeso pré-gestacional, a multiparidade, a idade materna superior a 30 anos, o parto cesáreo, o sexo da criança e a renda familiar.

O resultado referente à redução da MLG é particularmente surpreendente, considerando que todas as mulheres acompanhadas mantiveram AME por pelo menos 3,5 meses e continuaram com algum tipo de AM ao longo de todo o período estudado. Assim, era esperado que houvesse depleção das reservas de tecido adiposo, que não foi o observado. Ademais, este resultado reforça que populações saudáveis podem acumular MG a cada ciclo reprodutivo e levantam novas questões que merecem ser consideradas e futuramente exploradas, tais como a perda muscular e a perda óssea em lactantes, bem como o impacto que estas perdas têm à longo prazo.

Adicionalmente, os fatores associados com essas mudanças destacam a importância de se dar atenção à saúde da mulher durante o período pré concepção, evitando que ela inicie o ciclo reprodutivo já com maior risco de desenvolver ou agravar o excesso de peso. Os demais fatores ressaltam a importância de se considerar as condições individuais e socioeconômicas das mães, além do aleitamento materno em si, no manejo da perda de peso no pós-parto. Estes resultados apontam para a necessidade de se propor diretrizes com orientações mais específicas e voltadas para grupos sociais mais vulneráveis.

O segundo artigo da tese mostra a complexidade da interação da adiposidade materna com a produção de leite materno. A associação positiva observada entre as brasileiras sugere que a adiposidade pode desempenhar um papel benéfico na lactação em certos contextos, mas ainda não é claro se a MG materna consegue responder sozinha a este resultado. Por outro lado,

a associação negativa vista entre as dinamarquesas pode refletir diferenças culturais, dietéticas ou de apoio à saúde materna. Embora esta tese utilize dados longitudinais obtidos por meio de métodos robustos para estimativa do VLM e da CCM, vale destacar que fatores adicionais, tais como o conteúdo de macronutrientes, hormônios e outros componentes do leite, podem também ser influenciados pela adiposidade materna. Esses, por sua vez, podem ser mediadores destes resultados a partir da modificação das características do AM (duração e frequência de mamada, por exemplo), que podem estar associados com mudanças no VLM em si.

É fundamental que sejam conduzidos mais estudos longitudinais e de maior escala, incluindo uma ampla variedade de perfis antropométricos de mulheres e com aplicação de metodologias robustas que permitam aferir com precisão a CCM e o VLM. Investigar a influência que a composição corporal, especialmente a adiposidade, tem sobre o VLM é essencial para identificação de alvos estratégicos que possam melhorar os parâmetros do AM como um todo. Além disso, compreender como o período pós-parto afeta as mudanças na CCM, especialmente o acúmulo de gordura, e identificar os fatores modificáveis que influenciam essas mudanças, abre caminhos para o desenvolvimento de políticas públicas e estratégias de manejo de peso mais eficazes nesse período. Isso é particularmente importante para prevenir que o pós-parto se torne um fator de risco para a obesidade em mulheres, ao mesmo tempo em que se garante suporte direcionado a grupos específicos e se minimizam os impactos negativos no AM decorrentes da redução do volume de leite.

9 REFERÊNCIAS

ADA. **Position of The American Dietetic Association and The Canadian Dietetic Association: Nutrition for physical fitness and athletic performance for adults.** *Journal of the American Dietetic Association*. [s.l: s.n.].

ALBERNAZ, E.; VICTORA, C. G.; HAISMA, H.; WRIGHT, A.; COWARD, W. A. Lactation counseling increases breast-feeding duration but not breast milk intake as measured by isotopic methods. *J Nutr*, v. 133, n. 1, p. 205–10, 2003.

ALTMAN, D. G.; BLAND, M.; ALTMAN, D. G. Statistics Notes Interaction revisited: the difference between two estimates. *BMJ*, v. 326, p. 25, 2003.

AMIR, L. H.; DONATH, S. A systematic review of maternal obesity and breastfeeding intention, initiation and duration. *BMC Pregnancy and Childbirth*, v. 7, 4 jul. 2007.

BABENDURE, J. B.; REIFSNIDER, E.; MENDIAS, E.; MORAMARCO, M. W.; DAVILA, Y. R. Reduced breastfeeding rates among obese mothers: A review of contributing factors, clinical considerations and future directions. *International Breastfeeding Journal*, v. 10, n. 1, 1 jul. 2015.

BABIC, A.; SASAMOTO, N.; ROSNER, B. A.; TWOROGGER, S. S.; JORDAN, S. J.; RISCH, H. A.; HARRIS, H. R.; ROSSING, M. A.; DOHERTY, J. A.; FORTNER, R. T.; CHANG-CLAUDE, J.; GOODMAN, M. T.; THOMPSON, P. J.; MOYSICH, K. B.; NESS, R. B.; KJAER, S. K.; JENSEN, A.; SCHILDKRAUT, J. M.; TITUS, L. J.; CRAMER, D. W.; BANDERA, E. V.; QIN, B.; SIEH, W.; MCGUIRE, V.; SUTPHEN, R.; PEARCE, C. L.; WU, A. H.; PIKE, M.; WEBB, P. M.; MODUGNO, F.; TERRY, K. L. Association between Breastfeeding and Ovarian Cancer Risk. *JAMA Oncology*, v. 6, n. 6, 1 jun. 2020.

BARRY, V. G.; MARTIN, S. L.; CHANDLER-LANEY, P.; CARTER, E. B.; WORTHINGTON, C. S. A Comparison of Bioimpedance Analysis vs. Dual X-ray Absorptiometry for Body Composition Assessment in Postpartum Women and Non-Postpartum Controls. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 19, n. 20, 1 out. 2022.

BIDDULPH, C.; HOLMES, M.; KUBALLA, A.; CARTER, R. J.; MAHER, J. Beyond the BMI: Validity and Practicality of Postpartum Body Composition Assessment Methods during Lactation: A Scoping Review. *Nutrients*, v. 14, n. 11, 1 jun. 2022.

BIJARI, M.; JANGJOO, S.; EMAMI, N.; RAJI, S.; MOTTAGHI, M.; MOALLEM, R.; JANGJOO, A.; SABERI, A. The Accuracy of Visceral Adiposity Index for the Screening of Metabolic Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Endocrinology*, 2021.

BISWAS, S. K.; BANERJEE, S.; BAKER, G. W.; KUO, C. Y.; CHOWDHURY, I. The Mammary Gland: Basic Structure and Molecular Signaling during Development. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 7, 1 abr. 2022.

BOCCOLINI, C. S.; DE CARVALHO, M. L.; COUTO DE OLIVEIRA, M. I. Factors associated with exclusive breastfeeding in the first six months of life in Brazil: A systematic review. *Revista de Saude Publica*, v. 49, 2015.

BOCCOLINI, C. S.; LACERDA, E. M. D. A.; BERTONI, N.; OLIVEIRA, N.; ALVES-SANTOS, N. H.; FARIAS, D. R.; CRISPIM, S. P.; CARNEIRO, L. B. V.; SCHINCAGLIA,

R. M.; GIUGLIANI, E. R. J.; CASTRO, I. R. R. De; KAC, G. Trends of breastfeeding indicators in Brazil from 1996 to 2019 and the gaps to achieve the WHO/UNICEF 2030 targets. **BMJ Global Health**, v. 8, n. 9, 4 set. 2023.

BÖHM, A.; HEITMANN, B. L. The use of bioelectrical impedance analysis for body composition in epidemiological studies. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, p. S79–S85, 2013.

BOONE-HEINONEN, J.; TILLOTSON, C. J.; O’MALLEY, J. P.; MARINO, M.; ANDREA, S. B.; BRICKMAN, A.; DEVOE, J.; PURO, J. Not so implausible: impact of longitudinal assessment of implausible anthropometric measures on obesity prevalence and weight change in children and adolescents. **Annals of Epidemiology**, v. 31, p. 69- 74.e5, 1 mar. 2019.

BRAGA, G. C.; FERRIOLLI, E.; QUINTANA, S. M.; FERRIANI, R. A.; PFRIMER, K.; VIEIRA, C. S. Immediate postpartum initiation of etonogestrel-releasing implant: A randomized controlled trial on breastfeeding impact. **Contraception**, v. 92, n. 6, p. 536–542, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2015.07.009>>.

BRASIL. **Saúde da criança : aleitamento materno e alimentação complementar**. 2. ed. [s.l.: s.n.]184 p.

BRASIL, M. da S. **Resolução n. 466 de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos** Conselho Nacional de Saúde, 2012.

BROWNELL, E.; HOWARD, C. R.; LAWRENCE, R. A.; DOZIER, A. M. Delayed onset lactogenesis II predicts the cessation of any or exclusive breastfeeding. **Journal of Pediatrics**, v. 161, n. 4, p. 608–614, out. 2012.

BUONFIGLIO, D. C.; RAMOS-LOBO, A. M.; FREITAS, V. M.; ZAMPIERI, T. T.; NAGAISHI, V. S.; MAGALHÃES, M.; CIPOLLA-NETO, J.; CELLA, N.; DONATO, J. Obesity impairs lactation performance in mice by inducing prolactin resistance. **Scientific Reports**, v. 6, 1 mar. 2016.

BUTTE, N. F.; ELLIS, K. J.; WONG, W. W.; HOPKINSON, J. M.; O’BRIAN SMITH, E. Composition of gestational weight gain impacts maternal fat retention and infant birth weight. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 189, n. 5, p. 1423–1432, 2003.

BUTTE, N. F.; HOPKINSON, J. M. Body Composition Changes during Lactation Are Highly Variable among Women. **J. Nutr.**, v. 128, p. 381S-385S, 1998. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article-abstract/128/2/381S/4724013>>.

BUTTE, N. F.; WONG, W. W.; KLEIN, P. D.; GARZA, C. Measurement of milk intake: tracer-to-infant deuterium dilution method. **British Journal of Nutrition**, v. 65, n. 1, p. 3–14, 1991.

CARRILHO, T. R. B.; HUTCHEON, J. A.; RASMUSSEN, K. M.; REICHENHEIM, M. E.; FARIAS, D. R.; FREITAS-COSTA, N. C.; KAC, G.; OLIVEIRA, A. E.; ESTEVES-PEREIRA, A. P.; SATO, A. P. S.; DA SILVA, A. A. M.; GOMES, C. de B.; DE MORAES, C. L.; SAUNDERS, C.; DA SILVA ROCHA, D.; BARROS, D. C.; GIGANTE, D. P.; DOS SANTOS NETO, E. T.; LACERDA, E. M. de A.; FUJIMORI, E.; SURITA, F. G.; BIERHALS, I. O.; CAPELLI, J. de C. S.; CECATTI, J. G.; VAZ, J. dos S.; CESAR, J. A.; MASTROENI, M. F.; CARVALHAES, M. A. de B. L.; LEAL, M. do C.; DOMINGUES, M. R.; FERNANDES, M. P.; REICHENHEIM, M. E.; DREHMER, M.; BATALHA, M. de A.; DE FREITAS-COSTA, N. C.; PADILHA, P. de C.; SOUZA, R. T.; MASTROENI, S. S. de B. S.; SALDIVA, S. R. D. M.; DA CRUZ, S. S.; MORAIS, S. S. Gestational weight gain according

to the Brazilian charts and its association with maternal and infant adverse outcomes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 117, n. 2, p. 414–425, 1 fev. 2023.

CARRILHO, T. R. B.; RASMUSSEN, K. M.; HUTCHEON, J. A.; ALVES, R. F. S.; FARIAS, D. R.; FREITAS-COSTA, N. C.; GONZALEZ, M. M.; BATALHA, M. A.; KAC, G. Prevalence and temporal trends in prepregnancy nutritional status and gestational weight gain of adult women followed in the Brazilian Food and Nutrition Surveillance System from 2008 to 2018. **Maternal and Child Nutrition**, v. 18, n. 1, 1 jan. 2022.

CHO, G. J.; YOON, H. J.; KIM, E. J.; OH, M. J.; SEO, H. S.; KIM, H. J. Postpartum changes in body composition. **Obesity**, v. 19, n. 12, p. 2425–2428, dez. 2011.

CHOUA, G.; KARI, K. El; HALOUI, N. El; SLATER, C.; AGUENAOU, H.; MOKHTAR, N. Quantitative Assessment of Breastfeeding Practices and Maternal Body Composition in Moroccan Lactating Women during Six Months after Birth Using Stable Isotopic Dilution Technique. **International Journal of Maternal and Child Health**, v. 1, n. 3, p. 45–50, 2013.

CHOWDHURY, R.; SINHA, B.; SANKAR, M. J.; TANEJA, S.; BHANDARI, N.; ROLLINS, N.; BAHL, R.; MARTINES, J. Breastfeeding and maternal health outcomes: A systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics**, v. 104, p. 96–113, 1 dez. 2015.

COWARD, W. A. Measuring milk intake in breast fed babies.pdf. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 3, p. 275–279, 1984.

DAVID W. HOSMER, J.; LEMESHOW, S.; STURDIVANT, R. X. Applied Logistic Regression Analysis. *In: Technometrics*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2013. p. 192.

DAVIES, P. S. W. Stable isotopes: their use and safety in human nutrition studies. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 3, p. 362–365, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41430-020-0580-0>>.

DEWEY, K. G.; HEINIG, M. J.; NOMMSEN, L. A.; LÖNNERDAL, B. Adequacy of energy intake among breast-fed infants in the DARLING study: relationships to growth velocity, morbidity, and activity levels. Davis Area Research on Lactation, Infant Nutrition and Growth. **The Journal of pediatrics**, v. 119, n. 4, p. 538–47, 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1919883>>.

DIANA, A.; HASZARD, J. J.; HOUGHTON, L. A.; GIBSON, R. S. Breastmilk intake among exclusively breastfed Indonesian infants is negatively associated with maternal fat mass. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 8, p. 1206–1208, 1 ago. 2019.

ENDRES, L. K.; STRAUB, H.; MCKINNEY, C.; PLUNKETT, B.; MINKOVITZ, C. S.; SCHETTER, C. D.; RAMEY, S.; WANG, C.; HOBEL, C.; RAJU, T.; SHALOWITZ, M. U. Postpartum weight retention risk factors and relationship to obesity at 1 year. **Obstetrics and Gynecology**, v. 125, n. 1, p. 144–152, 1 jan. 2015.

ETTYANG, G. A.; VAN MARKEN LICHTENBELT, W. D.; ESAMAI, F.; SARIS, W. H. M.; WESTERTERP, K. R. Assessment of body composition and breast milk volume in lactating mothers in pastoral communities in Pokot, Kenya, using deuterium oxide. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 49, n. 2, p. 110–117, mar. 2005.

FAO, J.; CONSULTATION, U. N. U. E. **Human energy requirements: report of a joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation**. Food and nutrition bulletin. [s.l: s.n.].

GEDDES, D. T. Inside the Lactating Breast: The Latest Anatomy Research. **Journal of**

Midwifery and Women's Health, v. 52, n. 6, p. 556–563, nov. 2007.

GEDDES, D. T.; GRIDNEVA, Z.; PERRELLA, S. L.; MITOULAS, L. R.; KENT, J. C.; STINSON, L. F.; LAI, C. T.; SAKALIDIS, V.; TWIGGER, A. J.; HARTMANN, P. E. 25 years of research in human lactation: From discovery to translation. **Nutrients**, v. 13, n. 9, 2021.

GIANNI, M. L.; BETTINELLI, M. E.; MANFRA, P.; SORRENTINO, G.; BEZZE, E.; PLEVANI, L.; CAVALLARO, G.; RAFFAELI, G.; CRIPPA, B. L.; COLOMBO, L.; MORNIROLI, D.; LIOTTO, N.; ROGGERO, P.; VILLAMOR, E.; MARCHISIO, P.; MOSCA, F. Breastfeeding difficulties and risk for early breastfeeding cessation. **Nutrients**, v. 11, n. 10, 2019.

GUNDERSON, E. P.; STERNFELD, B.; WELLONS, M. F.; WHITMER, R. A.; CHIANG, V.; QUESENBERRY JR, C. P.; LEWIS, C. E.; SIDNEY, S. Childbearing may increase visceral adipose tissue independent of overall increase in body fat. **Obesity**, v. 16, n. 5, p. 1078–1084, maio 2008.

HAISMA, H.; COWARD, W. A.; ALBERNAZ, E.; VISSER, G. H.; WELLS, J. C. K.; WRIGHT, A.; VICTORA, C. G. Breast milk and energy intake in exclusively, predominantly, and partially breast-fed infants. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n. 12, p. 1633–1642, 2003.

HARINK, T. den; ROELOFS, M. J. M.; LIMPENS, J.; PAINTER, R. C.; ROSEBOOM, T. J.; VAN DEUTEKOM, A. W. Maternal obesity in pregnancy and children's cardiac function and structure: A systematic review and meta-analysis of evidence from human studies. **PLoS ONE**, v. 17, n. 11 November, 1 nov. 2022.

HASSIOTOU, F.; GEDDES, D. Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. **Clinical Anatomy**, v. 26, n. 1, p. 29–48, 2013.

HENDRIKSON, E. C.; SEACAT, J. M.; NEVILLE, M. C. Insensible weight loss in children under one year of age. **Acta Paediatr Scand**, v. 74, n. 5, p. 678–80, 1985.

HENNIGAR, S. R.; VELASQUEZ, V.; KELLEHER, S. L. Obesity-induced inflammation is associated with alterations in subcellular zinc pools and premature mammary gland involution in lactating mice. **Journal of Nutrition**, v. 145, n. 9, p. 1999–2005, 2015.

HESLEHURST, N.; VIEIRA, R.; AKHTER, Z.; BAILEY, H.; SLACK, E.; NGONGALAH, L.; PEMU, A.; RANKIN, J. The association between maternal body mass index and child obesity: A systematic review and meta-analysis. **PLoS Medicine**, v. 16, n. 6, 1 jun. 2019.

HEYMSFIELD, S. B.; WANG, Z.; BAUMGARTNER, R. N.; ROSS, R. HUMAN BODY COMPOSITION: Advances in Models and Methods. **Annu. Rev. Nutr**, v. 17, p. 527–58, 1997. Disponível em: <www.annualreviews.org>.

HEYMSFIELD, S. B.; WANG, Z.; VISSER, M.; GALLAGHER, D.; PIERSON, R. N. Techniques used in the measurement of body composition: an overview with emphasis on bioelectrical impedance analysis. **Am J Clin Nutr**, v. 64, p. 478–84, 1996. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ajcn/article-abstract/64/3/478S/4651656>>.

HUANG, Y.; LIU, Y.; YU, X. Y.; ZENG, T. Y. The rates and factors of perceived insufficient milk supply: A systematic review. **Maternal and Child Nutrition**, v. 18, n. 1, 1 jan. 2022.

HUANG, Y.; OUYANG, Y. Q.; REDDING, S. R. Maternal Prepregnancy Body Mass Index, Gestational Weight Gain, and Cessation of Breastfeeding: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Breastfeeding Medicine**, v. 14, n. 6, p. 366–374, 1 jul. 2019.

IAEA. **Stable Isotope Technique to Assess Intake of Human Milk in Breastfed Infants.** Vienna: International Atomic Energy Agency, 2010a. 81 p.

IAEA. **Introduction to Body Composition Assessment Using the Deuterium Dilution Technique with Analysis of Urine Samples by Isotope Ratio Mass Spectrometry.** [s.l.: s.n.]84 p.

IM. **Nutrition during lactation.** Washington, DC: National Academy Press, 1991. 326 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Nacional de Saúde 2019 : Atenção primária à saúde e informações antropométricas.** Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. -, 2020. 66 p.

IOM; NRC. **Weight Gain during Pregnancy - Reexamining the Guidelines.** [s.l.: s.n.]v. 15

JEEJEEBHOY, K. N.; MEGUID, M. M. Assessment of nutritional status in the oncologic patient. **Surgical Clinics of North America**, v. 66, n. 6, p. 1077–1090, 1986. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0039-6109\(16\)44075-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0039-6109(16)44075-2)>.

JIANG, M.; GAO, H.; VINYES-PARES, G.; YU, K.; MA, D.; QIN, X.; WANG, P. Association between breastfeeding duration and postpartum weight retention of lactating mothers: A meta-analysis of cohort studies. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 4, p. 1224–1231, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2017.05.014>>.

KAC, G.; BENICIO, M. H. D. A.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G.; VALENTE, J. G. Nine months postpartum weight retention predictors for Brazilian women. **Public Health Nutrition**, v. 7, n. 5, p. 621–628, ago. 2004a.

KAC, G.; BENÍCIO, M. H. D. A.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G.; VALENTE, J. G.; STRUCHINER, C. J. Breastfeeding and postpartum weight retention in a cohort of Brazilian women. **Am J Clin Nutr**, v. 79, p. 487–93, 2004b.

KAC, G.; BENÍCIO, M. H. D. A.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G.; VALENTE, J. G.; STRUCHINER, C. J. Gestational weight gain and prepregnancy weight influence postpartum weight retention in a cohort of Brazilian women. **American Society for Nutrition Sciences**, v. 134, p. 661–666, 2004c.

KAM, R. L.; BERNHARDT, S. M.; INGMAN, W. V.; AMIR, L. H. Modern, exogenous exposures associated with altered mammary gland development: A systematic review. **Early Human Development**, v. 156, 1 maio 2021.

KENT, J. C.; ASHTON, E.; HARDWICK, C. M.; REA, A.; MURRAY, K.; GEDDES, D. T. Causes of perception of insufficient milk supply in Western Australian mothers. **Maternal and Child Nutrition**, v. 17, n. 1, 1 jan. 2021.

KENT, J. C.; PERRELLA, S. L.; GEDDES, D. Measurement of human milk production and infant milk intake—challenges and opportunities. *In*: MCGUIRE, M. K.; O’CONNOR, D. L. **Human Milk.** London: Charlotte Cackle, 2021.

KIM, J. H. Multicollinearity and misleading statistical results. **Korean Journal of Anesthesiology**, v. 72, n. 6, p. 558–569, 2019. Disponível em: <https://stat.duke.edu/~kf15/Lock_RREE_Results_2010.pdf>.

KINOSHITA, M.; WHITE, M. J.; DOOLAN, A. Clinical assessment of breastfeeding in preterm infants. **European Journal of Clinical Nutrition**, n. July 2023, 2024. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41430-024-01471-3>>.

KIRKEGAARD, H.; BLIDDAL, M.; STØVRING, H.; RASMUSSEN, K. M.; GUNDERSON, E. P.; KØBER, L.; SØRENSEN, T. I. A.; NØHR, E. A. Maternal weight change from prepregnancy to 18 months postpartum and subsequent risk of hypertension and cardiovascular disease in Danish women: A cohort study. **PLoS Medicine**, v. 18, n. 4, 2 abr. 2021.

KYLE, U. G.; BOSAEUS, I.; DE LORENZO, A. D.; DEURENBERG, P.; ELIA, M.; GÓMEZ, J. M.; HEITMANN, B. L.; KENT-SMITH, L.; MELCHIOR, J. C.; PIRLICH, M.; SCHARFETTER, H.; SCHOLS, A. M. W. J.; PICHARD, C. Bioelectrical impedance analysis - Part I: Review of principles and methods. **Clinical Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1226–1243, 2004.

LEE, J. J.; PEDLEY, A.; HOFFMANN, U.; MASSARO, J. M.; FOX, C. S. Association of Changes in Abdominal Fat Quantity and Quality With Incident Cardiovascular Disease Risk Factors. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 68, n. 14, p. 1509–1521, 4 out. 2016.

LEE, S. Y.; GALLAGHER, D. Assessment methods in human body composition. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 11, n. 5, p. 566–572, 2008.

LIU, Z.; DIANA, A.; SLATER, C.; PRESTON, T.; GIBSON, R. S.; HOUGHTON, L.; DUFFULL, S. B. Development of a nonlinear hierarchical model to describe the disposition of deuterium in mother–infant pairs to assess exclusive breastfeeding practice. **Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**, v. 46, n. 1, p. 1–13, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10928-018-9613-x>>.

LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign, IL: Human Kinetics Books, 1988.

LUZARDO-OCAMPO, I.; DENA-BELTRÁN, J. L.; RUIZ-HERRERA, X.; OCAMPO-RUIZ, A. L.; MARTÍNEZ DE LA ESCALERA, G.; CLAPP, C.; MACOTELA, Y. Obesity-derived alterations in the lactating mammary gland: Focus on prolactin. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 559, 1 jan. 2023.

MACIAS, H.; HINCK, L. Mammary gland development. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology**, v. 1, n. 4, p. 533–557, jul. 2012.

MARAN, A.; ATKINSON, S. A.; BERTRAM, V.; VANNIYASINGAM, T.; THABANE, L.; MOTTOLA, M. F.; PHILLIPS, S. M. Exploring comparative assessment of adiposity measures during pregnancy and postpartum. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 49, p. 365–371, 1 jun. 2022.

MARCHI, J.; BERG, M.; DENCKER, A.; OLANDER, E. K.; BEGLEY, C. Risks associated with obesity in pregnancy, for the mother and baby: A systematic review of reviews. **Obesity Reviews**, v. 16, n. 8, p. 621–638, 2015.

MARSHALL, N. E.; LAU, B.; PURNELL, J. Q.; THORNBURG, K. L. Impact of maternal obesity and breastfeeding intention on lactation intensity and duration. **Maternal and Child Nutrition**, v. 15, n. 2, 1 abr. 2019.

MCCLURE, C. K.; CATOV, J. M.; NESS, R.; BODNAR, L. M. Associations between gestational weight gain and BMI, abdominal adiposity, and traditional measures of cardiometabolic risk in mothers 8 y postpartum. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 98, n. 5, p. 1218–1225, 1 nov. 2013.

MEDOUA, G. N.; NANA, E. S.; ESSA'A, V. J.; NTSAMA, P. M.; MATCHAWE, C.; RIKONG, H. A.; ESSAME OYONO, J. L. Body composition of Cameroonian lactating women determined by anthropometry, bioelectrical impedance, and deuterium dilution. **Nutrition**, v.

27, n. 4, p. 414–419, abr. 2011.

MOORE, S. E.; PRENTICE, A. M.; COWARD, W. A.; WRIGHT, A.; FRONGILLO, E. A.; FULFORD, A. J. C.; MANDER, A. P.; PERSSON, L. Å.; ARIFEEN, S. E.; KABIR, I. Use of stable-isotope techniques to validate infant feeding practices reported by Bangladeshi women receiving breastfeeding counseling. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, n. 4, p. 1075–1082, 2007.

MUTSERT, R. de; GAST, K.; WIDYA, R.; DE KONING, E.; JAZET, I.; LAMB, H.; LE CESSIE, S.; DE ROOS, A.; SMIT, J.; ROSENDAAL, F.; DEN HEIJER, M. Associations of Abdominal Subcutaneous and Visceral Fat with Insulin Resistance and Secretion Differ between Men and Women: The Netherlands Epidemiology of Obesity Study. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 1 fev. 2018.

NEVILLE, M. C. ANATOMY AND PHYSIOLOGY OF LACTATION. **Pediatric Clinics of North America**, v. 48, n. 1, 2001.

NEVILLE, M. C.; MCFADDEN, T. B.; FORSYTH, I. Hormonal Regulation of Mammary Differentiation and Milk Secretion. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 7, n. 1, 2002.

NEVILLE, M. C.; MORTON, J. Physiology and Endocrine Changes Underlying Human Lactogenesis II. **American Society for Nutrition Sciences**, v. 131, p. 3005–3008, 2001. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/131/11/3005S/4686700>>.

NEVILLE, M. C.; MORTON, J.; UMEMURA, S. Lactogenesis. The Transition from Pregnancy to Lactation. **Pediatric Clinics of North America**, v. 48, n. 1, 2001.

NGUYEN, B.; JIN, K.; DING, D. Breastfeeding and maternal cardiovascular risk factors and outcomes: A systematic review. **PLoS ONE**, v. 12, n. 11, 1 nov. 2017.

NOMMSEN-RIVERS, L. A.; CHANTRY, C. J.; PEERSON, J. M.; COHEN, R. J.; DEWEY, K. G. Delayed onset of lactogenesis among first-time mothers is related to maternal obesity and factors associated with ineffective breastfeeding. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 92, n. 3, p. 574–584, 1 set. 2010.

NOMMSEN-RIVERS, L. A.; WAGNER, E. A.; ROZNOWSKI, D. M.; RIDDLE, S. W.; WARD, L. P.; THOMPSON, A. Measures of Maternal Metabolic Health as Predictors of Severely Low Milk Production. **Breastfeeding Medicine**, v. 17, n. 7, p. 566–576, 1 jul. 2022.

NYLUND, K. L.; ASPAROUHOV, T.; MUTHÉN, B. O. Deciding on the Number of Classes in Latent Class Analysis and Growth Mixture Modeling: A Monte Carlo Simulation Study. **Structural Equation Modeling**, v. 14, n. 4, p. 535–569, 2007.

OBUCHOWSKA, A.; STANDYŁO, A.; KIMBER-TROJNAR, Ż.; LESZCZYŃSKA-GORZELAK, B. The possibility of using bioelectrical impedance analysis in pregnant and postpartum women. **Diagnostics**, v. 11, n. 8, 1 ago. 2021.

OLIVEIRA, D. S. de; BOCCOLINI, C. S.; FAERSTEIN, E.; VERLY-JR, E. Duração do aleitamento materno e fatores associados entre 1960 e 2000. **Jornal de Pediatria**, v. 93, n. 2, p. 130–135, 1 mar. 2017.

PÉREZ-ESCAMILLA, R.; BUCCINI, G. S.; SEGURA-PÉREZ, S.; PIWOZ, E. Perspective: Should Exclusive Breastfeeding Still Be Recommended for 6 Months? **Advances in Nutrition**, v. 10, n. 6, p. 931–943, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/advances/nmz039>>.

PÉREZ-ESCAMILLA, R.; TOMORI, C.; HERNÁNDEZ-CORDERO, S.; BAKER, P.; BARROS, A. J. D.; BÉGIN, F.; CHAPMAN, D. J.; GRUMMER-STRAWN, L. M.; MCCOY, D.; MENON, P.; RIBEIRO NEVES, P. A.; PIWOZ, E.; ROLLINS, N.; VICTORA, C. G.; RICHTER, L. Breastfeeding: crucially important, but increasingly challenged in a market-driven world. **The Lancet**, v. 401, n. 10375, p. 472–485, 2023.

PEREZ, M. R.; CASTRO, L. S. de; CHANG, Y.-S.; SAÑUDO, A.; MARCACINE, K. O.; AMIR, L. H.; ROSS, M. G.; COCA, K. P. Breastfeeding Practices and Problems Among Obese Women Compared with Nonobese Women in a Brazilian Hospital. **Women's Health Reports**, v. 2, n. 1, p. 219–226, 1 jun. 2021.

RABI, B.; BENJEDDOU, K.; IDRISSE, M.; RAMI, A.; MEKKAOU, B.; HAMDouchi, A. El; BENKIRANE, H.; BARKAT, A.; SAEID, N.; KARI, K. El; AGUENAOU, H. Effects of breastfeeding on maternal body composition in moroccan lactating women during twelve months after birth using stable isotopic dilution technique. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 1–14, 1 jan. 2021.

RAM, N.; GRIMM, K. J. Methods and Measures: Growth mixture modeling: A method for identifying differences in longitudinal change among unobserved groups. **International Journal of Behavioral Development**, v. 33, n. 6, p. 565–576, 2009.

RASMUSSEN, K. M.; KJOLHEDE, C. L. Prepregnant Overweight and Obesity Diminish the Prolactin Response to Suckling in the First Week Postpartum. **Pediatrics**, v. 113, n. 5, 2004. Disponível em: <<http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/113/5/>>.

RIOS-LEYVRAZ, M.; YAO, Q. The Volume of Breast Milk Intake in Infants and Young Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Breastfeeding Medicine**, v. 18, n. 3, p. 188–197, 1 mar. 2023.

RÖSSNER, S.; ÖHLIN, A. Pregnancy as a Risk Factor for Obesity: Lessons from the Stockholm Pregnancy and Weight Development Study. **Obesity Research**, v. 3, n. 2 S, p. 267s–275s, 1995.

ROTHMAN, K. J. BMI-related errors in the measurement of obesity. **International Journal of Obesity**, v. 32, p. S56–S59, 2008.

ROYSTON, P.; ALTMAN, D. G. Regression Using Fractional Polynomials of Continuous Covariates: Parsimonious Parametric Modelling. **Source: Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)**, v. 43, n. 3, p. 429–467, 1994.

SCOTT, J. A.; BINNS, C. W.; ODDY, W. H. Predictors of delayed onset of lactation. **Maternal and Child Nutrition**, v. 3, p. 186–193, 2007.

SLATER, C.; KAESTEL, P.; HOUGHTON, L. Assessing Breastfeeding Practices Objectively Using Stable Isotope Techniques. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 75, n. 2, p. 109–113, 2019.

SOLTANI, H.; FRASER, R. B. A longitudinal study of maternal anthropometric changes in normal weight, overweight and obese women during pregnancy and postpartum. **British Journal of Nutrition**, v. 84, n. 1, p. 95–101, 2000.

SORIA-CONTRERAS, D. C.; RIFAS-SHIMAN, S. L.; ARIS, I. M.; PERNG, W.; SWITKOWSKI, K. M.; TÉLLEZ-ROJO, M. M.; TREJO-VALDIVIA, B.; LÓPEZ-RIDAURA, R.; OKEN, E. Weight Trajectories after Delivery are Associated with Adiposity and Cardiometabolic Markers at 3 Years Postpartum among Women in Project Viva. **Journal**

of **Nutrition**, v. 150, n. 7, p. 1889–1898, 1 jul. 2020.

TO, W. W. K.; WONG, M. W. N. Body fat composition and weight changes during pregnancy and 6-8 months post-partum in primiparous and multiparous women. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 49, n. 1, p. 34–38, fev. 2009.

VERDUCI, E.; GIANNÌ, M. L.; VIZZARI, G.; VIZZUSO, S.; CERASANI, J.; MOSCA, F.; ZUCCOTTI, G. V. The triad mother-breast milk-infant as predictor of future health: A narrative review. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 1–15, 1 fev. 2021.

VICTORA, C. G.; BAHL, R.; BARROS, A. J. D.; FRANÇA, G. V. A.; HORTON, S.; KRASEVEC, J.; MURCH, S.; SANKAR, M. J.; WALKER, N.; ROLLINS, N. C.; ALLEN, K.; DHARMAGE, S.; LODGE, C.; PERES, K. G.; BHANDARI, N.; CHOWDHURY, R.; SINHA, B.; TANEJA, S.; GIUGLIANI, E.; HORTA, B.; MAIA, F.; DE MOLA, C. L.; HAJEEBHOY, N.; LUTTER, C.; PIWOZ, E.; MARTINES, J. C.; RICHTER, L. Breastfeeding in the 21st century: Epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. **The Lancet**, v. 387, n. 10017, p. 475–490, 30 jan. 2016.

VOERMAN, E.; SANTOS, S.; INSKIP, H.; AMIANO, P.; BARROS, H.; CHARLES, M. A.; CHATZI, L.; CHROUSOS, G. P.; CORPEleijn, E.; CROZIER, S.; DOYON, M.; EGGESBØ, M.; FANTINI, M. P.; FARCHI, S.; FORASTIERE, F.; GEORGIU, V.; GORI, D.; HANKE, W.; HERTZ-PICCIOTTO, I.; HEUDE, B.; HIVERT, M. F.; HRYHORCZUK, D.; IÑIGUEZ, C.; KARVONEN, A. M.; KÜPERS, L. K.; LAGSTRÖM, H.; LAWLOR, D. A.; LEHMANN, I.; MAGNUS, P.; MAJEWSKA, R.; MÄKELÄ, J.; MANIOS, Y.; MOMMERS, M.; MORGEN, C. S.; MOSCHONIS, G.; NOHR, E. A.; NYBO ANDERSEN, A. M.; OKEN, E.; PAC, A.; PAPADOPOULOU, E.; PEKKANEN, J.; PIZZI, C.; POLANSKA, K.; PORTA, D.; RICHIARDI, L.; RIFAS-SHIMAN, S. L.; ROELEVELD, N.; RONFANI, L.; SANTOS, A. C.; STANDL, M.; STIGUM, H.; STOLTENBERG, C.; THIERING, E.; THIJS, C.; TORRENT, M.; TRNOVEC, T.; VAN GELDER, M. M. H. J.; VAN ROSSEM, L.; VON BERG, A.; VRIJHEID, M.; WIJGA, A.; ZVINCHUK, O.; SØRENSEN, T. I. A.; GODFREY, K.; JADDOE, V. W. V.; GAILLARD, R. Association of Gestational Weight Gain with Adverse Maternal and Infant Outcomes. **JAMA**, v. 321, n. 17, p. 1702–1715, 7 maio 2019.

WALKER, R. E. Oxylipins as Potential Regulators of Inflammatory Conditions of Human Lactation. **Metabolites**, v. 12, n. 10, 1 out. 2022.

WALKER, R. E.; HARVATINE, K. J.; ROSS, A. C.; WAGNER, E. A.; RIDDLE, S. W.; GERNAND, A. D.; NOMMSEN-RIVERS, L. A. Fatty Acid Transfer from Blood to Milk Is Disrupted in Mothers with Low Milk Production, Obesity, and Inflammation. **Journal of Nutrition**, v. 152, n. 12, p. 2716–2726, 1 dez. 2022a.

WALKER, R.; NOMMSEN-RIVERS, L.; HARVATINE, K.; RIDDLE, S.; ROSS, A. C.; WAGNER, E.; GERNAND, A. Inflammation May Alter the Association Between Serum and Milk Fatty Acid Profiles in Women With Low Milk Production. **Current Developments in Nutrition**, 2022b. Disponível em: <https://academic.oup.com/cdn/article/6/Supplement_1/723/6606496>.

WANG, M.; HANGES, P. J. Latent Class Procedures: Applications to Organizational Research. **Organizational Research Methods**, v. 14, n. 1, p. 24–31, 2011.

WANG, X.; KISHMAN, E. E.; LIU, J.; CASTLEBERRY, L. A.; MCLAIN, A.; SPARKS, J. R.; COOK, J. W. Body weight and fat trajectories of Black and White women in the first postpartum year. **Obesity**, v. 31, n. 6, p. 1655–1665, 1 jun. 2023.

WANG, Z.; PIERSON, R.; HEYMSFIELD, S. El modelo de cinco niveles: un nuevo enfoque para organizar la investigación sobre la composición corporal. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 1, p. 19–28, 1992. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ajcn/article/56/1/19/4715618>>.

WATSON, C. J.; KHALED, W. T. Mammary development in the embryo and adult: A journey of morphogenesis and commitment. **Development**, v. 135, n. 6, p. 995–1003, 2008.

WEAVER, L. T. In the balance: Weighing babies and the birth of the infant welfare clinic. **Bulletin of the History of Medicine**, v. 84, n. 1, p. 30–57, 2010.

WELLS, J. C. K.; GRIFFIN, L.; TRELEAVEN, P. Independent changes in female body shape with parity and age: Life-history approach to female adiposity. **American Journal of Human Biology**, v. 22, n. 4, p. 456–462, jul. 2010.

WHO/UNICEF. The extension of the 2025 Maternal, Infant and Young Child nutrition targets to 2030. 2019. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/events/2012_proposed_globaltargets_backgroundpaper.pdf>.

WHO. **WHO Expert Committee on Physical Status: the use and interpretation of Anthropometry**. [s.l: s.n.]

WHO. **Obesity: Preventing and managing the Global epidemic**. [s.l: s.n.].

WHO. **WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age Methods and development** Geneva, Switzerland. WHO Press, 2006.

WHO. **Indicators for assessing infant and young child feeding practices**. Geneva, Switzerland: WHO, 2008.

WHO. **Essential nutrition actions : improving maternal, newborn, infant and young child health and nutrition**. [s.l: s.n.]

WIDEN, E. M.; FACTOR-LITVAK, P. R.; GALLAGHER, D.; PAXTON, A.; PIERSON, R. N.; HEYMSFIELD, S. B.; LEDERMAN, S. A. The Pattern of Gestational Weight Gain is Associated with Changes in Maternal Body Composition and Neonatal Size. **Maternal and Child Health Journal**, v. 19, n. 10, p. 2286–2294, 26 out. 2015.

WOODWARD, D. R.; CUMMING, F. J. Do ambient temperature and humidity influence the breast-milk intake of babies? **Journal of Paediatrics and Child Health**, v. 26, n. 6, p. 347–350, 1990.

YOUNG, M. F.; FAERBER, E. C.; MEHTA, R. V.; RANJAN, S.; SHETTY, S. A.; RAMAKRISHNAN, U.; RANGIAH, K.; BOSE, B.; DEVI, S.; DWARKANATH, P.; KURPAD, A. V.; TANEJA, S.; MARTORELL, R. Maternal nutritional status and milk volume and composition in India: an observational study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 117, n. 4, p. 830–837, 1 abr. 2023.

YU, X.; LI, J.; LIN, X.; LUAN, D. Association between Delayed Lactogenesis II and Early Milk Volume among Mothers of Preterm Infants. **Asian Nursing Research**, v. 13, n. 2, p. 93–98, 1 maio 2019.

ANEXOS

Anexo A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a fazer parte do estudo ‘**Construção de valores de referência para micronutrientes no leite humano: Estudo multicêntrico colaborativo**’ que está sendo desenvolvido por pesquisadores do Instituto de Nutrição Josué de Castro, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (INJC/UFRJ).

Este estudo tem como objetivo principal avaliar a quantidade de vitaminas e minerais do leite materno para que se possa estabelecer a recomendação diária adequada destes nutrientes, tanto para a mãe quanto para o bebê. Além disso, este estudo irá avaliar a relação da alimentação da mãe com a qualidade do leite materno. A qualidade do leite também será relacionada com o peso, a altura, e a circunferência do braço da mãe e com o peso, o comprimento, a circunferência da cabeça e do braço do bebê. Com os resultados desse estudo será criada uma estratégia para avaliar a necessidade de se consumir suplementos e alimentos fortificados durante a gestação e durante a amamentação do bebê. Outro objetivo deste estudo é quantificar o volume de leite produzido no dia a dia pelas mães que estão amamentando para saber se essa quantidade de leite produzida interfere na quantidade de vitaminas e minerais do próprio leite. Por fim, o estudo também quer ver se a quantidade de leite recomendada pela Organização Mundial da Saúde está correta ou se precisa mudar.

Você não é obrigada a participar do estudo e, mesmo aceitando, poderá desistir e retirar o seu consentimento a qualquer momento. Isso não trará nenhum prejuízo para você, nem para a sua relação conosco ou com os profissionais deste centro de saúde ou de qualquer outra unidade do Sistema Único de Saúde (SUS). Você poderá continuar, normalmente, com o seu acompanhamento de saúde nesta unidade. Você terá o tempo que desejar para refletir sobre sua participação no estudo e poderá consultar, se achar necessário, seus familiares ou outras pessoas que possam ajudá-la a tomar esta decisão.

Como irei participar?

Após ler este termo, caso, você aceite participar do estudo, você fornecerá algumas informações gerais como: nome completo, endereço, telefone, data de nascimento, nível de escolaridade e renda da família. Além disso, algumas informações complementares sobre sua saúde serão obtidas a partir do seu prontuário. Você terá o direito de não fornecer alguns dados solicitados caso não se sinta confortável ou segura para isso.

Você receberá orientações e aconselhamento sobre a importância do aleitamento materno exclusivo durante a gravidez e/ou logo após o nascimento do seu bebê na maternidade. O aleitamento materno exclusivo significa que o bebê não poderá receber água, suco ou chá, ou seja, deverá ser alimentado somente com leite materno. Após o parto, você e seu filho passarão por **4 encontros** com os profissionais da nossa equipe:

Encontro 1

Ocorrerá ainda na maternidade, entre 24 e 72 horas após o parto. Neste dia você irá responder algumas perguntas sobre o parto, sobre o início da amamentação e a saúde do bebê. Iremos coletar uma amostra de seu leite (2 ml aproximadamente meia colher de chá).

Encontro 2

Ocorrerá quando seu bebê estiver com idade de no mínimo 1 mês e no máximo 3 meses e 15 dias de vida. Neste dia você irá responder a perguntas sobre sua saúde (histórico de doenças, uso de medicamentos/suplementos como uso de vitaminas ou minerais a exemplo do uso de ácido fólico, ferro ou vitamina D, entre outros), como está sendo a amamentação do bebê e sobre seu estilo de vida (alimentação, prática de atividade física, fumo, consumo de bebidas alcoólicas). Também serão feitas perguntas sobre sua alimentação, consumo de sal, sobre seus sentimentos e o desenvolvimento do seu filho. Você passará por avaliações de saúde que incluirão medidas como o peso, a altura, a circunferência do braço e o cálculo do seu percentual de gordura corporal. Serão coletadas amostras de fezes, urina e leite materno. Será coletado todo o volume de leite de uma de suas mamas com o auxílio de uma bomba de coleta de leite. Em seguida, iremos coletar uma amostra de 25 ml (aproximadamente 1 colher de sopa) do seu leite e o restante será oferecido ao seu bebê. A quantidade de amostra de fezes é de no mínimo 5 gramas (aproximadamente 1 colher de chá) e a de urina é de no mínimo 15 ml (aproximadamente 1 colher de sopa). Também iremos coletar uma amostra de 10 ml de seu sangue (aproximadamente 1 colher de sopa rasa). Seu filho também passará por avaliações de saúde que incluirão medidas como o peso, o comprimento, circunferência do braço e da cabeça e composição corporal. Também iremos coletar amostras de fezes, no mínimo 5 gramas (aproximadamente 1 colher de chá), urina (15 ml, aproximadamente 1 colher de sopa) e sangue do seu filho (2 ml, aproximadamente meia colher de chá). Você receberá um copo de água contendo uma substância chamada deutério, a qual não tem cor, nem sabor, nem cheiro e **não faz mal** nem a você e nem ao seu bebê. Essa substância é eliminada pela urina, saliva e leite materno e a partir dela poderemos calcular a quantidade de leite que seu bebê consumiu em 24 horas. Para isso, iremos coletar amostras de sua saliva e de seu bebê (15 ml, aproximadamente 1 colher de sopa) no dia do nosso encontro, e nos dias 1, 2, 3, 4, 13 e 14 após você ter ingerido a água com deutério. O encontro 1 terá duração aproximada de 1 hora. Existe a possibilidade de que você seja sorteada para realizar uma nova coleta de leite materno, da mesma forma descrita anteriormente, no 14º dia após esta visita.

Encontro 3

Ocorrerá quando seu bebê estiver com idade de no mínimo 3 meses e 16 dias até no máximo 5 meses e 29 dias de vida. Neste dia, você responderá perguntas sobre problemas com a amamentação, com a sua saúde e com a saúde do seu bebê que possam ter ocorrido entre o segundo e o terceiro encontro, também com relação aos seus sentimentos. Você responderá novamente perguntas sobre seus hábitos alimentares e sobre a alimentação do seu bebê, além de novas perguntas sobre o desenvolvimento do seu filho.

Iremos realizar novamente suas medidas de peso, altura, circunferência do braço e calcular o seu percentual de gordura corporal e medidas no seu filho como o peso, o comprimento, circunferência do braço e da cabeça e composição corporal. Também serão coletadas novas amostras de fezes, urina, leite materno e sangue da senhora e de seu bebê (fezes, urina e saliva). As quantidades serão as mesmas do primeiro encontro. O sangue do seu bebê poderá ou não ser coletado neste encontro. Caso seja coletado o sangue do seu bebê neste encontro, a quantidade será a mesma do encontro anterior (2 ml, aproximadamente meia colher de chá) e **não coletaremos o sangue do seu bebê novamente no próximo encontro**. Você receberá novamente a água com deutério e coletaremos novamente amostras de sua saliva e de seu bebê nos dias 1, 2, 3, 4, 13 e 14 após este encontro. A duração aproximada do encontro 3 é de 1 hora. Caso você não tenha sido selecionada para coletar o leite materno no 14º após a visita 2, existe a possibilidade de que você seja selecionada para coletar novamente o leite materno no 14º dia após esta visita.

Encontro 4

Ocorrerá quando seu bebê estiver com idade no mínimo 6 meses e no máximo 8 meses e 15 dias de vida. Neste dia, você responderá novamente perguntas sobre problemas com a amamentação, alimentação, com a sua saúde e com a saúde do seu bebê que possam ter ocorrido entre o terceiro e o quarto encontro, também com relação aos seus sentimentos. Você responderá novas perguntas sobre o desenvolvimento do seu filho.

Iremos avaliar novamente suas medidas de peso, altura, circunferência do braço e percentual de gordura corporal e de seu filho (medidas de peso, comprimento, circunferência do braço e da cabeça e composição corporal). Serão realizadas novas coletas de suas fezes, urina, leite materno e sangue (10 ml, aproximadamente 1 colher de sobremesa) e de fezes, urina e saliva do seu bebê. Só haverá coleta de sangue do seu bebê neste encontro se não tiver ocorrido coleta de sangue no encontro anterior (terceiro encontro). Caso isso ocorra, a quantidade a ser coletada neste encontro será a mesma da primeira coleta (2 ml, aproximadamente meia colher de chá). Você receberá novamente a água com deutério e coletaremos novamente amostras de sua saliva e de seu bebê nos dias 1, 2, 3, 4, 13 e 14 após este encontro. A duração aproximada do encontro 4 é de 1 hora. Caso você não tenha sido selecionada para coletar o leite materno no 14º após as visitas 2 ou 3, existe a possibilidade de que você seja sorteada para coletar novamente o leite materno no 14º dia após esta visita.

A coleta de todas as amostras seguirá as instruções fornecidas pela nossa equipe e iremos fornecer todo o material descartável necessário. Todos os exames e avaliações serão gratuitos, ou seja, você não terá nenhum tipo de custo. No seu leite, será analisada a quantidade das vitaminas A, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, C, D, E e de nutrientes como ferro, cobre, zinco, cálcio, magnésio, sódio, potássio, iodo, selênio, além de gorduras, proteínas e açúcares, com o objetivo de avaliar a qualidade nutricional do seu leite. Nós também iremos analisar a quantidade das vitaminas A, B1, B2, B6, B9, B12, D, E, e de nutrientes como ferro, cobre, zinco, iodo, proteínas e hormônios da tireoide no seu sangue e no sangue do seu filho para avaliar o seu estado geral de saúde e do seu filho e verificar como o seu leite influencia na quantidade desses compostos no sangue do seu filho. Parte do sangue de vocês poderá ser utilizada para análises do material genético (DNA/RNA) que vai avaliar quais variações genéticas podem influenciar na quantidade de nutrientes no seu organismo e de que forma isso influencia na qualidade do seu leite e no estado nutricional do seu filho. Também iremos analisar a quantidade de iodo na sua urina e na urina do seu filho para avaliar se este nutriente está presente em quantidade adequada, pois este mineral participa da formação de hormônios importantes para o bom funcionamento do metabolismo, além de ser fundamental para o crescimento e desenvolvimento do seu filho. Nas amostras de fezes, nós iremos analisar a presença de bactérias, para tentar entender de que forma elas podem afetar seu estado de saúde geral e o crescimento e desenvolvimento do seu filho.

As amostras coletadas serão enviadas para análise no Departamento de Nutrição, da Universidade da Califórnia, na cidade de Davis, Estados Unidos, local em que ficarão armazenadas até que todas as análises sejam realizadas pelo período máximo de 10 anos. Para cada material biológico coletado (sangue, urina, fezes, saliva e leite materno) haverá amostras reservas que ficarão guardadas no Instituto de Nutrição Josué de Castro, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por um prazo de até 10 anos, sob responsabilidade da UFRJ e gerenciamento do Professor Gilberto Kac, sem fins comerciais, em um sistema seguro de identificação, garantindo o sigilo, o respeito à confidencialidade e à recuperação dos dados para fornecimento de informações de interesse da pesquisa. As amostras poderão ser utilizadas em estudos futuros, mas a cada nova pesquisa a ser realizada com suas amostras biológicas, será solicitado um novo consentimento, com assinatura de um novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, previamente analisado e aprovado pelo sistema CEP/CONEP.

Você tem o direito de solicitar por escrito e assinado, a qualquer momento, a destruição ou devolução das amostras fornecidas que ainda não tenham sido analisadas. No caso de amostras já analisadas, forneceremos seus resultados e caso você retire seu consentimento, os resultados obtidos a partir dessas amostras não serão utilizados no estudo. Após o período de 10 anos, caso você não tenha solicitado a devolução de suas amostras biológicas, as mesmas serão descartadas, conforme normas vigentes de órgãos técnicos competentes. Você será informada sobre a destruição de suas amostras biológicas e encerramento do período de armazenamento das mesmas.

Você será ressarcida dos gastos que tiver para participar deste estudo, seja com transporte, alimentação, hospedagem entre outros gastos, podendo se estender ao seu acompanhante caso necessário. Você será agendada de acordo com a sua disponibilidade, sempre tentando conciliar com outras consultas que você já tenha marcado na unidade. Você poderá receber ligações telefônicas ou mensagens de celular de nossa equipe para fornecer informações não obtidas no dia do encontro e também poderá ligar para a equipe do projeto caso tenha alguma pergunta ou dúvida.

Quais os benefícios?

Ao participar deste estudo, você terá a oportunidade de realizar uma avaliação mais completa e detalhada da sua saúde e do seu bebê. Você receberá aconselhamento sobre aleitamento materno e poderá tirar todas as dúvidas sobre este e outros assuntos que são importantes para garantir a sua saúde e do seu bebê, com profissionais devidamente qualificados. Este acompanhamento também é importante para que você tenha uma vida mais saudável, prevenindo problemas de saúde futuros.

Você tem o direito de conhecer os resultados obtidos a partir das amostras biológicas fornecidas. Assim, você e seu filho receberão os resultados das avaliações realizadas. Você também tem o direito de receber orientações quanto aos resultados de seus exames e caso seja detectado algum problema de saúde, você será orientada quanto ao tratamento adequado, incluindo aconselhamento genético quando aplicável, a qualquer tempo.

Os resultados obtidos neste estudo serão importantes para identificar deficiências de nutrientes, para auxiliar na prescrição (recomendação) de suplementos durante a gestação e no pós-parto e para a criação de políticas de saúde voltadas para a suplementação e/ou fortificação de alimentos para o grupo materno e infantil. Ao aceitar participar deste projeto, você estará contribuindo não apenas para a melhoria da sua saúde e do seu bebê, mas também estará ajudando futuras mães e bebês.

Quais os riscos?

Este estudo oferece baixo risco a você e ao seu filho. Todas as avaliações serão conduzidas de maneira a evitar danos, sejam de dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual. A coleta das amostras de sangue, leite, fezes, urina e saliva será realizada com material descartável para evitar contaminação. Em algumas pessoas pode aparecer um pequeno hematoma (mancha arroxeadada) no local de retirada do sangue, que desaparecerá em pouco tempo e não requer cuidado especial. Entretanto, todas as medidas serão empregadas para evitar e/ou reduzir estes possíveis riscos.

O pesquisador responsável pelo estudo se compromete a proporcionar de forma gratuita assistência imediata e integral a você e/ou seu filho por qualquer dano imediato ou posterior, direto ou indireto relacionado ao estudo, pelo tempo que for necessário, bem como indenização diante de eventuais danos decorrentes desta pesquisa.

A pesquisa será imediatamente suspensa na ocorrência de qualquer risco ou dano, previsto ou não neste termo. O problema será comunicado ao médico responsável pelo seu

acompanhamento e as devidas providências serão tomadas em caráter mediato, sendo comunicado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (CEP/SMS-RJ) e à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Responsabilidades do pesquisador

Todas as informações que você fornecer serão mantidas em sigilo e utilizadas apenas para fins de pesquisa. Nenhuma outra pessoa ou profissional terá acesso as suas informações, somente os pesquisadores deste estudo. Todos os questionários que você responder, bem como todas as amostras biológicas que você fornecer (sangue, fezes, urina, saliva e leite materno), não irão apresentar seu nome, mas sim um código composto por letras e números. Esse código é iniciado pela letra “M”, quando se refere à mãe, ou “C”, quando se refere à criança, seguido pela letra “R”, que indica a cidade de origem (Rio de Janeiro). Em seguida, o código recebe uma numeração de 3 dígitos (de 001 até 250), que é atribuída a cada participante, de maneira crescente, por ordem de entrada no estudo, o qual é de conhecimento exclusivo da equipe de pesquisa. Os tubos contendo as amostras biológicas que serão enviadas ao exterior também não possuem seu nome, eles apresentam uma etiqueta com o código de identificação, data da coleta da amostra, tipo de amostra (ex: leite, urina, etc), número da consulta (visitas de 1 a 4) e um código de barras. Quando divulgarmos os resultados deste estudo, seu nome e endereço **NÃO serão revelados**. Você receberá os resultados das avaliações e exames realizados assim que estiverem disponíveis.

Este termo de consentimento é um documento importante e você irá receber uma via na qual consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o estudo e sobre sua participação, agora ou a qualquer momento.

Em caso de dúvida em relação à condução ética do estudo, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar – Centro – Rio de Janeiro – RJ – CEP 20031-040; e-mail: cepsms@rio.rj.gov.br / cepsmsrj@yahoo.com.br; telefone: 2215-1485; horário de atendimento: 9h às 16h) e/ou com o Comitê de Ética em Pesquisa Maternidade Escola - UFRJ (Endereço: Rua das Laranjeiras, 180 - Laranjeiras - CEP: 22240-003 - Rio de Janeiro - RJ – Brasil Tel.: (21) 2285-7935 – Tel/Fax: (21) 2205-9064 - E-mail: cep@me.ufrj.br, horário de atendimento: 9h às 12h e das 14h às 16h) e/ou com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP (Endereço: SRTV 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar – Asa Norte CEP: 70719-040, Brasília – DF.; telefone: (61) 3315-5878 / (61) 3315-5879; e-mail: conep@saude.gov.br; horário de atendimento: 8h às 18h). Os Comitês de Ética são responsáveis pela avaliação ética da pesquisa e têm a função de garantir e resguardar a integridade e os direitos dos participantes da pesquisa e também de receber denúncias e apurá-las.

Uma via deste consentimento informado será arquivada no Observatório de Epidemiologia Nutricional, do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Meu consentimento

Declaro que entendi os objetivos e condições da pesquisa.

Li e concordo com a minha participação e a do meu bebê.

Rio de Janeiro, ____/____/____

Nome e assinatura do pesquisador

Nome e assinatura do participante da pesquisa

Contato do coordenador da pesquisa

Professor Dr. Gilberto Kac

Observatório de Epidemiologia Nutricional/Instituto de Nutrição Josué de Castro/**Universidade Federal do Rio de Janeiro**

Av. Carlos Chagas Filho, 373, bloco J, 2º andar, sala 29, Cidade Universitária - Rio de Janeiro, RJ - Brasil. CEP: 21941-902.

Telefone: 3938-6595. E-mail: observatorio@nutricao.ufrj.br

Anexo B – Protocolo de antropometria materna e infantil



The MILQ Study:
Developing Reference Values
for Nutrients in Human Milk

Lindsay Allen
& the MILQ Study Team

MANUAL DE ANTROPOMETRIA MATERNA E INFANTIL

Rio de Janeiro

Observatório de Epidemiologia Nutricional

Capítulo 1. Tipos de erro em medidas antropométricas

1. Conceito de validade

Em estudos epidemiológicos, por vezes lançamos mão de uma amostra para realizar inferências sobre a população de referência. O objetivo nesses casos é encontrar uma estimativa amostral que seja o mais próxima possível do parâmetro populacional (valor real da medida). A validade de um estudo guarda relação com o quão perto do alvo (valor real) conseguimos chegar a partir da medida realizada e poderia ser definida como “o grau de garantia dado às inferências derivadas de um estudo em particular, especialmente a generalização para além da amostra estudada, quando se consideram **os métodos** utilizados, a representatividade da amostra estudada, e a natureza da população de onde a amostra foi retirada”. O termo válido é derivado do latim *validus*, que significa forte. A validade pode ser subdividida em validade interna e validade externa.

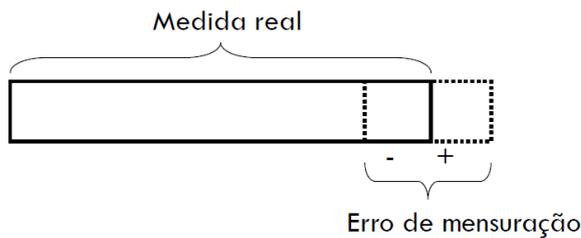
Validade Interna - Capacidade dos resultados de fazer inferências sobre a população fonte, que participou do estudo. Diretamente relacionada à **qualidade do planejamento e da execução do estudo**.

Validade Externa - Capacidade de generalização dos resultados para além da população estudada, para população externa à amostra. Conceito subjetivo que **depende da representatividade da amostra** e das características dos grupos nos quais estou querendo realizar inferências.

Dessa forma, a validade de um estudo pode ser comprometida pela ocorrência de erros ou vieses em diferentes etapas do estudo, como por exemplo, na concepção, escolha do desenho, instrumentos utilizados, coleta dos dados, análise dos dados, entre outras. Nesse sentido os métodos empregados para a realização de medidas antropométricas correspondem a um item crítico de controle para evitar erros/vieses e garantir a validade e precisão do estudo.

2. Tipos de erro em antropometria

No dicionário erro é classificado como antônimo de acerto; equívoco; engano; inexatidão. Em metrologia corresponde à diferença entre o valor exato de uma grandeza e o valor dado por uma medição. Em epidemiologia o erro é a “*diferença entre o resultado de uma medição e o verdadeiro valor da característica*” (Pereira, 2005), como mostra a figura abaixo.



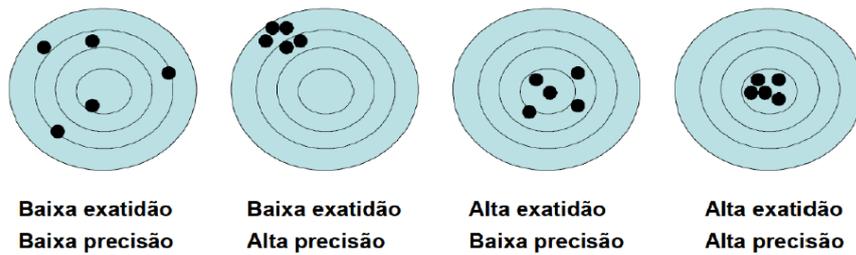
Erro sistemático

Tendenciosidade que induz a conclusões sistematicamente diferentes da verdade. Nos casos em que existe erro sistemático obtemos medidas constantemente desviadas para um dos lados (para mais ou para menos) em relação ao valor real. Como exemplo de fator que pode gerar erro sistemático, temos: *balança desnivelada na parte posterior que sempre mostra valor inferior ao real*. Erros do tipo sistemático estão relacionados ao comprometimento da **exatidão** do estudo, ou seja, reduzem a habilidade de obter uma medida próxima ao valor real. A ocorrência deste tipo de erro tem consequências sérias em epidemiologia. Nestes casos, tende-se a gerar associações artificiais entre os eventos, diluir a associações verdadeiras, ou mesmo inverter a direção das associações.

Erro aleatório

Este tipo de erro ocorre em torno do valor real da medida, mas sem predileção por um dos lados (para mais ou para menos), ou seja, o erro não é tendencioso (sistemático); é casual. Como exemplo de erro aleatório, podemos citar um profissional não capacitado, que ora mede usando um protocolo/técnica (erra para mais), ora mede usando outro (erra para menos). Erros aleatórios diminuem a **precisão** do estudo, ou seja, a capacidade de obter o mesmo valor em medidas repetidas no mesmo indivíduo em condições idênticas; consistência dos resultados quando a medição se repete. Nestes casos as consequências em epidemiologia são menos graves, principalmente quando temos estudos de grande tamanho amostral, se tiver pequena amplitude, em geral, tem pouca influência prática nos resultados finais da investigação. De forma geral esse tipo de erro tende a reduzir a associação entre eventos.

Na figura abaixo temos alguns exemplos de estudos com comprometimento da exatidão e precisão. No primeiro deles, temos presentes erros sistemáticos e aleatórios tornando as medidas inválidas (muito distantes do alvo, valor real). No segundo caso, temos medidas precisas que foram muito próximas, mas que ficaram distante do valor real, devido a um erro sistemático que tendiam a estimar valores sistematicamente diferentes do parâmetro. No terceiro caso, temos medidas próximas da realidade, mas com baixa reprodutibilidade (precisão). Por último, temos o estudo válido, com alta precisão e exatidão.



3. Como diminuir os erros na prática de antropometria?

Adoção de protocolos antropométricos padronizados

Conhecer as fontes de erro para preveni-las

Fontes de erro em antropometria

Antropometrista

Falta de **sensibilização**

Falta de **sistematização dos procedimentos**

Falta de **treinamento** da técnica de medição

Manejo inadequado do equipamento

Fluxo de trabalho inadequado

Erros de **leitura** do instrumento

Erros no registro dos resultados devido à:

Pressa

Escrita com caneta ou lápis falhando

Espaço limitado no formulário

Letra ilegível

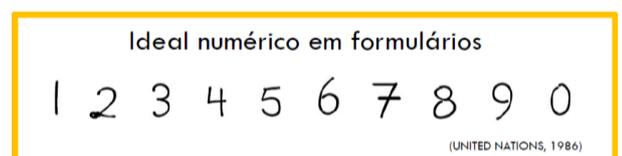
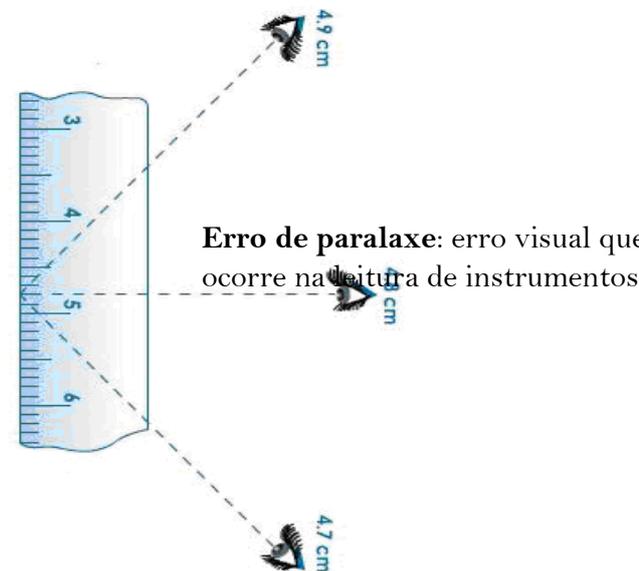
Digitação incorreta

Instrumento/ Equipamento

Equipamento inadequado para a medida de interesse

Não foi fabricado para medir pessoas Ex. fita de costura para medir perímetros

Fabricado para medir pessoas, mas inapropriado para realizar a medição adequadamente (precisão, capacidade e amplitude) Ex. Pesagem de bebês em balança de adulto



Instrumento **defeituoso ou quebrado** - Ex. estadiômetro com haste móvel frouxa

Falta de **manutenção** - Ex. letras falhadas na régua do infantômetro ou na trena

Falta de **calibração**

Local de onde as medidas serão realizadas

- Falta de **privacidade**
- **Iluminação** deficiente
- **Temperaturas** extremas
- **Piso** irregular
- Espaço físico insuficiente
- **Posicionamento** inadequado dos equipamentos no ambiente

Cuidados gerais na obtenção de medidas antropométricas

Local

Adequado às medidas realizadas (fluxo e espaço)

Agradável

Piso plano e pelo menos uma parede lisa em ângulo reto com o piso

Privacidade

Antropometrista e Equipamentos

Padronização/treinamento antropometrista

Dois técnicos idealmente (observador/ medidor e assistente)

Roupas adequadas

Instrumentos adequados e calibrados

Padronização do protocolo de aferição

Registro de medidas antropométricas

Dois técnicos (observador e assistente)

Observador: realiza medida e leitura; deverá falar a leitura em voz alta e clara. Repetir o processo.

Assistente: anota a medida e certifica o posicionado do indivíduo e equipamentos. Indica a próxima medida a ser realizada

Capítulo 2. Medidas Antropométricas Maternas

1. Estatura

Equipamento: Seca 264 - Estadiômetro digital fixo

Dados técnicos

Faixa de medição em cm:	30 - 220 cm
Graduação:	1 mm
Alimentação Elétrica:	Pilhas
Medida (L x A x P):	428 x 2318 x 474 mm
Peso líquido:	5 kg



1.1 Calibração da Medida

Calibragem da corredeira superior

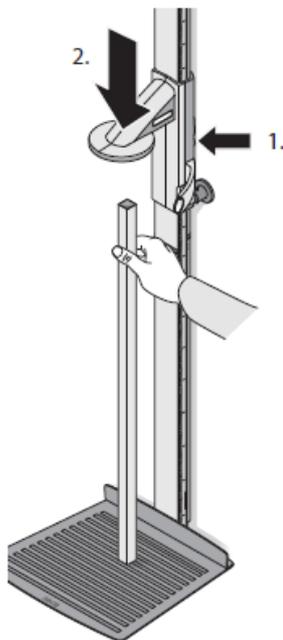
Antes de poder efectuar pela primeira vez medições de alturas com o aparelho, é necessário calibrá-lo. Isso é conseguido "ensinando" uma medida de referência ao aparelho.

Calibragem automatizada

Com a ajuda da barra de calibragem fornecida é possível realizar uma calibragem automatizada.

1. Prima a tecla Start  da corredeira superior.

No mostrador aparece "---".



2. Mantenha o botão de travagem premido e movimente a corredeira superior até ser indicado um valor de altura no mostrador.

ATENÇÃO!

Medição errada devido a uma calibragem incompleta

O valor de altura indicado não corresponde à posição efectiva da corredeira superior.

- Conclua a calibragem tal como está descrito nesta secção.
3. Coloque a barra de calibragem fornecida (comprimento 0,8 m) na vertical sobre o tapete para os pés e mantenha-a nessa posição.
 4. Mantenha o botão de travagem premido e insira a corredeira superior sobre a barra de calibragem.



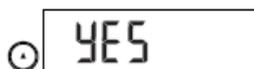
5. Mantenha a tecla Enter (**send/print**) e a tecla de seta (**hold/zero**) premidas em simultâneo para abrir o menu. O item de menu seleccionado por último aparece no mostrador (aqui: "bEEP").



6. Prima a tecla de seta (**hold/zero**) as vezes necessárias até aparecer "CAL" no mostrador.



7. Confirme a sua selecção com a tecla Enter (**send/print**).



8. Selecciona com a tecla de seta (**hold/zero**) a definição "Yes".



9. Confirme a sua selecção com a tecla Enter (**send/print**). Aparece a indicação "Auto".



10. Confirme a indicação com a tecla Enter (**send/print**).

O aparelho está calibrado. Já pode realizar as medições de alturas com o aparelho.

1.2 Medida

Procedimento – Realizado três vezes para cálculo da média

Aperte a tecla “start”  da parte móvel do estadiômetro. No visor aparecerá “-----“.

Mantenha o botão de travagem pressionado e movimente a parte móvel do estadiômetro até ser indicado um valor de altura no visor.

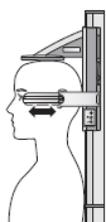
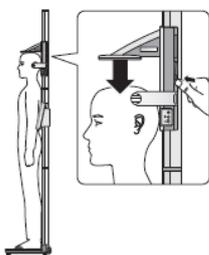
Mantenha o botão de travagem pressionado e empurre a parte móvel para cima até a mulher conseguir colocar-se debaixo da mesma.

Pedir para a puérpera retirar os sapatos e qualquer adereço de cabelo/cabeça;

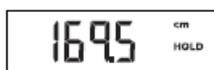
A mulher deve estar ereta, de costas para a coluna de aferição, com braços estendidos ao longo do corpo, com o tronco equilibrado na cintura, joelhos retos;

Os ossos internos dos calcânhares devem se tocar, bem como a parte interna de ambos os joelhos. Essa junção dos joelhos deve ser feita sempre que possível, porém por vezes não será possível devido ao inchaço dos membros inferiores ou a concentração de gordura nos mesmos.

Unir os pés, fazendo um ângulo reto com as pernas;



Indicar permanentemente o resultado da medição (Hold)



8. A parte posterior da cabeça, os ombros, as nádegas e os calcânhares encostados na superfície do estadiômetro;
9. Mantenha o botão de travagem pressionado e posicione a parte móvel do estadiômetro na parte superior da cabeça da mulher.
10. Puxe a régua de Frankfurt para fora da parte móvel.
11. Alinhe o plano de Frankfurt da mulher com a linha adequada a partir das três linhas existentes na régua de Frankfurt.
12. Mantenha o botão de travagem pressionado e corrija a posição da corredeira superior.
13. Leia a estatura no visor e anote o resultado.
14. Peça que a puérpera sai do aparelho e repita a medida.

depois de ter posicionado a corredeira superior.

É exibida a mensagem "HOLD".

A corredeira superior pode agora ser deslocada sem que o valor de medição indicado se altere.

2. Para desactivar a função HOLD, prima a tecla de seta (hold/zero). A mensagem "HOLD" desaparece.

1.3 Cuidados Gerais

Higienizar o equipamento sempre que necessário;

Com o auxílio de produtos de limpeza domésticos ou desinfetantes não abrasivos.

2. Peso

Equipamento: Seca Robusta 813 - Balança digital de alta capacidade para uso pessoal.

Dados técnicos

Capacidade: 200 kg

Graduação (g): 100 g

Alimentação Elétrica: Pilhas

Medida (L x A x P): 433 x 47 x 373 mm

Peso líquido: 2,9 kg

Funções: Desligar automático, Ligar automático por toque, Mudar kg/lbs/sts, Auto-HOLD, Step-Off



2.1 Medida

A mulher deve estar com o mínimo de roupa possível e as mesmas devem ser leves (atenção aos objetos no bolso);

Pedir para que tire objetos pesados e os sapatos;

Tocar suavemente a superfície da balança, até que ligue;

Quando aparecer “0,0” a mesma estará pronta para ser utilizada;

Solicite que a mulher suba na balança e se posicione no centro do equipamento, mantendo-se ereta, com os pés juntos e os braços estendidos ao longo do corpo. É importante que a mulher não olhe para baixo (mantenha o olhar fixo no horizonte) e não se apoie durante o procedimento;

Espere que o valor estabilize (valor fixado no visor) e realize a leitura;

Anote no REDCap, com uma casa decimal.

2.2 Cuidados Gerais

Sempre que necessário, realize a limpeza da balança;

Limpar com produtos de limpeza domésticos ou desinfetantes;

Nunca utilizar produtos agressivos ou abrasivos como álcool, pode danificar a superfície do aparelho.

3. MUAC – Mid upper arm circumference (Perímetro do Braço)

Equipamento: Trena Antropométrica CESCORF

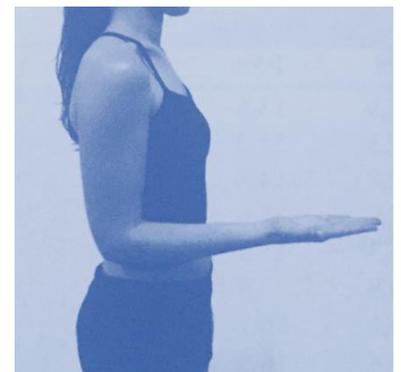
Dados técnicos

Sensibilidade:	1 mm
Amplitude leitura:	2 m
Início da numeração:	10 cm do início da trena
Dimensões:	45 mm x 43 mm
Comprimento/Largura	2 m/6 mm
Peso líquido:	24 g

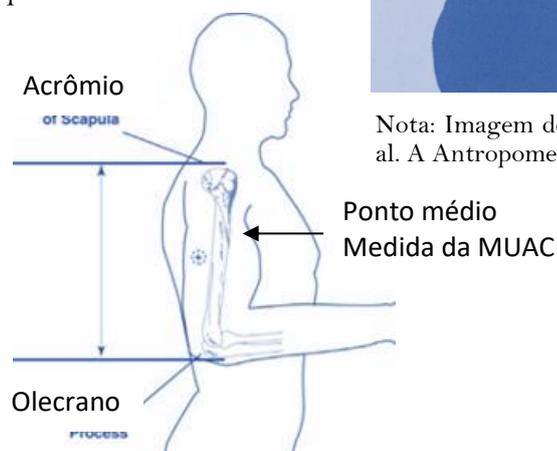


3.1 Medida

1. Posicionar o **braço direito** da mulher junto ao corpo, com cotovelo flexionado a 90° e palma da mão voltada para cima, como mostra a figura ao lado.
2. Identificar o ponto extremo do ombro (acrômio) e o ponto mais extremo do cotovelo (olecrano). A localização do acrômio pode ser facilitada apalpando lateralmente a superfície superior da escápula.
3. Estender a trena antropométrica ao longo da lateral do braço, com o ponto zero da trena sobre o acrômio até o olecrano. Marcar com o lápis dermográfico um traço sobre o ponto médio entre estes dois pontos anatômicos.
4. Posicionar-se ao lado da mulher, e solicitar que a mesma deixe o cotovelo estendido e o braço relaxado com a palma da mão voltada para a coxa.



Nota: Imagem do livro Barros et al. A Antropometria, 2009





Nota: Imagens do livro Barros et al. A Antropometria, 2009

Passar a trena ao redor do braço, em plano horizontal (perpendicular ao eixo do braço), em cima do ponto médio marcado. A fita deve ficar firme, mas não deve comprimir a pele.

Realizar a leitura no ponto da fita que se cruza com o valor zero, ao nível dos olhos.

Registrar a medida no REDCap com precisão de 0,1 cm.

3.2 Cuidados Gerais

Higienizar a fita entre as medidas.

Capítulo 3. Medidas Antropométricas da Criança

Comprimento

Equipamento: Seca 416 - Infantômetro para medição de bebês e crianças

Dados técnicos

Faixa de medição em cm:	33 - 100 cm
Graduação:	1 mm, 1 mm
Medida (L x A x P):	1103 x 169 x 402 mm
Peso líquido:	3,8 kg
Funções:	Medição deitado



Medida

Certifique-se de que o infantômetro está acondicionado em uma superfície plana e estável.

Higienize o equipamento;

Peça para a mãe/responsável retirar toda a roupa da criança e mantenha apenas a fralda;

Qualquer touca, enfeite/prendedor de cabelo deve ser retirado;

Peça para que a mãe coloque a criança deitada de sobre o equipamento;

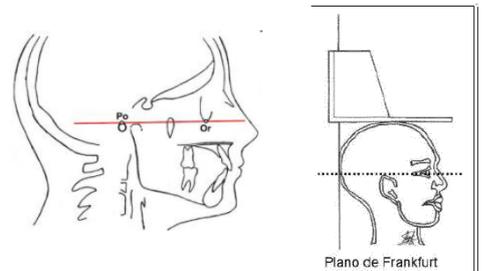
Posicione a cabeça da criança de modo que a parte mais alta do crânio esteja encostada na parte fixa do infantômetro (segundo o plano de Frankfurt);

Solicite que a mãe segure a cabeça da criança a fim de garantir que a cabeça permaneça encostada e o pescoço não esteja encolhido;

Esticar as pernas da criança e colocar os braços e o cotovelo sobre joelhos e pernas, forçando-os suavemente contra o aparelho, de modo que as duas pernas fiquem estendidas;



Plano de Frankfurt



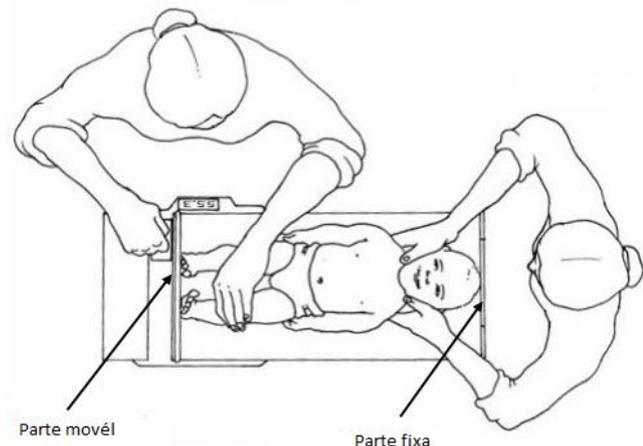
O Plano de Frankfurt na cabeça passa pela borda superior do canal auricular (condutos auditivos externos) e pelo ponto mais baixo na margem da órbita ocular



Pressionar o botão de trava do aparelho e trazer a parte móvel do infantômetro até encontrar a sola do pé da criança, o **calcânhar** deve estar posicionado **a 90° do aparelho** e **todo o pé da criança deve encostar-se à parte móvel do infantômetro**;

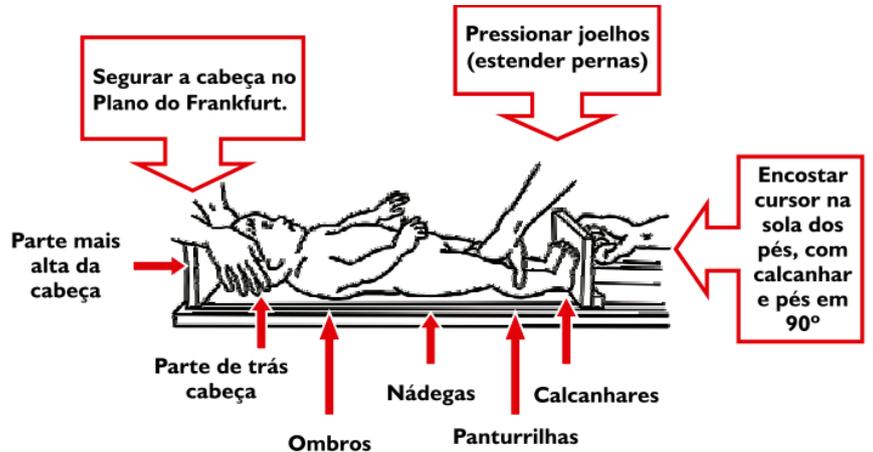
Verificar se a cabeça da criança permanece posicionada de forma correta e em caso

positivo, realizar a leitura da medida. Em caso negativo, reposicionar a cabeça e pernas da criança;



Fazer a leitura com precisão de 1 mm e registrar no REDCap.

Obs: é importante que a criança esteja todo encostada na superfície do equipamento como mostra a figura abaixo.

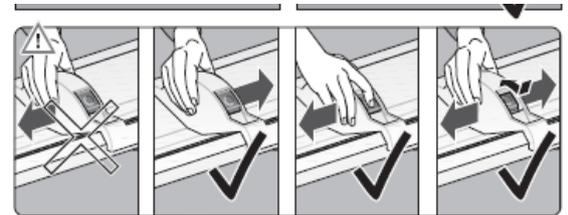
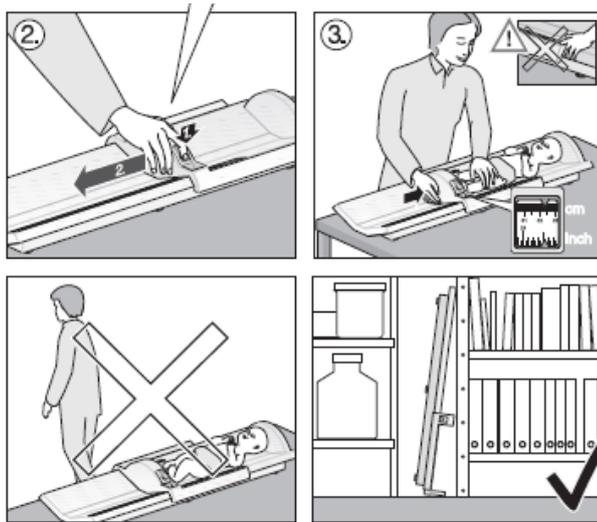


1.2 Cuidados gerais

Limpar o infantômetro sempre que necessário;

Limpar com o auxílio de um pano úmido.

Não devem ser utilizados produtos de limpeza.



Peso

Equipamento: Seca 376 - Balanças de bebê sem fio com bandeja extra grande

Dados técnicos

Classe de Aprovação: III (3)

Capacidade: 20 kg

Graduação (g): 5 g < 7,5 kg > 10 g



Alimentação Elétrica:	Pilhas, Rede elétrica
Medida (L x A x P):	620 x 190 x 358 mm
Peso líquido:	3,7 kg
Funções:	RESET, Sinais acusticos podem ser ativados, Desligar automático, Amortização, TARA, Proteção de sobrecarga, ENVIAR, interface sem fio, ENVIAR-auto, IMPRIMIR-auto, IMPRIMIR, BMIF, ESTAB, Auto-HOLD, Limpar-auto, Mudar automática da faixa de medição

2.1 Preparação do equipamento

Acondicione a balança em uma superfície plana e nivelada;

Ajuste a balança rodando os pés roscados. A bolha de ar do nível deve encontrar-se no centro do círculo;

Caso a balança não esteja nivelada, ajuste um pé de cada vez até que a bolha fique no centro do visor;

Ligue a balança pressionando START;

Espere até que apareça 0,00 no visor;

Colocar um papel lençol sobre a balança, sendo esse trocado a cada criança a ser pesada e caso seja necessário tare a balança ate que o visor marque 0,00;

A balança está pronta para a aferição.

2.2 Medida

Solicite ao responsável retirar toda a roupa da criança, inclusive fralda;

Peça que o responsável segure a criança;

Tare a balança (a mesma deve estar ligada e marcando 0,000 kg);

Coloque ou peça para que o responsável coloque a criança no centro da balança de modo que todas as partes do corpo da criança fiquem dentro da mesma. Certifique-se de que a criança não esteja em contato com ninguém;



Espera a balança estabilizar o valor e realizar a leitura e registre no REDCap.

Não é necessário repetir o peso;

Retirar a criança da balança e solicitar que o responsável coloque a fralda;



2.3 – Cuidados

Sempre que
balança;

Limpar com
desinfetante;

Nunca utilizar produtos agressivos ou abrasivos como álcool, podem danificar a superfície do aparelho.

3. Perímetro Cefálico

Equipamento: Trena Antropométrica CESCORF

Dados técnicos

Sensibilidade: 1 mm

Amplitude leitura: 2 m

Início da numeração: 10 cm do início da trena

Dimensões: 45 mm x 43 mm

Comprimento/Largura 2 m/6 mm

Peso líquido: 24 g

Gerais

necessário, fazer a limpeza da

produtos de limpeza doméstico ou



3.1 Medida

Pedir para a mãe retirar todos os adornos do cabelo da criança;

A criança deve ficar no colo da mãe ou de um antropometrista assistente; Ou, no caso de recém-nascidos, pode ser feito com a criança deitada;

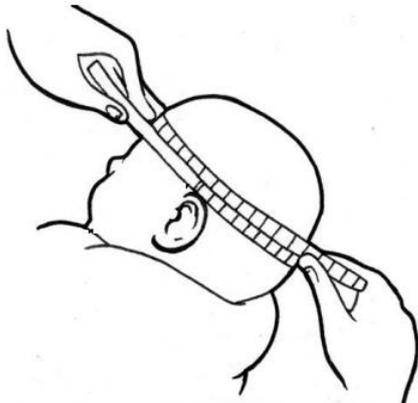
Nem sempre é fácil para o antropometrista posicionar a fita corretamente em torno da cabeça porque muitos lactentes, especialmente os bebês mais velhos, acham essa medida incômoda.



Sente ao lado da mãe, posicione a fita antropométrica ao redor da cabeça da criança, com o lado da escala para o antropometrista;

Posicione a fita sobre as sobrancelhas da criança e sobre a protuberância do crânio na parte posterior da cabeça;

Procurar o ponto mais posterior do occipital, de modo a obter **o maior perímetro**. A fita métrica deve passar na mesma altura da cabeça nas duas laterais. A fita deve estar levemente apertada o suficiente para comprimir o cabelo.



Pressione levemente a fita sobre a pele da criança e faça a leitura do lado direito;

Registre a medida no REDCap com precisão de 1mm;

Retire a fita da cabeça da criança;

Repetir novamente os procedimentos;

A fita deve ser descartada a cada aferição.

4. MUAC – Mid-upper arm circumference – **Perímetro do Braço**

Equipamento: Trena Antropométrica CESCORF

Dados técnicos

Sensibilidade: 1 mm

Amplitude leitura: 2 m

Início da numeração: 10 cm do início da trena



Dimensões: 45 mm x 43 mm

Comprimento/Largura 2 m/6 mm

Peso líquido: 24 g

4.1 Medida

Peça a mãe/responsável para retirar qualquer roupa que cubra o braço da criança;

Com a ajuda de um assistente, com a criança em decúbito lateral sobre uma superfície plana, ou no colo do responsável, posicione o **braço direito** da criança junto ao corpo, com cotovelo flexionado a 90°.

Identifique o ponto extremo do ombro (acrômio) e o ponto mais extremo do cotovelo (olecrano). A localização do acrômio pode ser facilitada apalpando lateralmente a superfície superior da escápula.

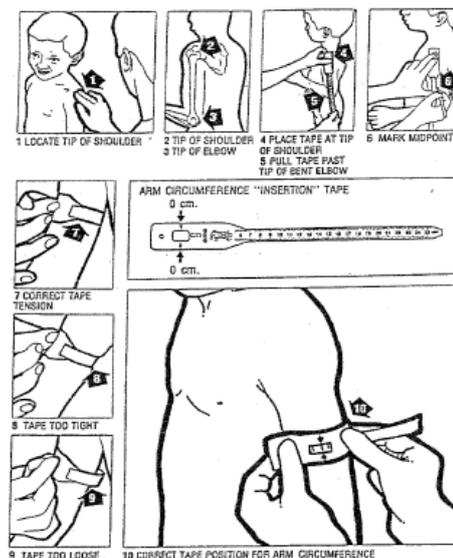
Estenda a trena antropométrica ao longo da lateral do braço, com o ponto zero da trena sobre o acrômio até o olecrano. Marcar com o lápis dermatográfico um traço sobre o ponto médio entre estes dois pontos anatômicos.

Posicionar-se ao lado da criança, com o braço esticado ao longo do corpo e idealmente relaxado.

Passar a trena ao redor do braço, em plano horizontal (perpendicular ao eixo do braço), em cima do ponto médio marcado. A fita deve ficar firme, mas não deve comprimir a pele.

Realizar a leitura no ponto da fita que se cruza com o valor zero, ao nível dos olhos.

Registrar a medida no REDCap com precisão de 0,1 cm.



3.2 Cuidados Gerais

Higienizar a fita entre as medidas.

Referências

A padronização das medidas seguiu as recomendações do MS (2011) e foram baseadas no manual do estudo multicentrico da OMS "WHO Multicentre Growth Reference Study (MGRS), no manual "Anthropometry Handbook" do International Fetal and Newborn Growth Standards for the 21st Century (INTERGROWTH-21st) (Abril, 2012), e no manual de cada um dos equipamentos. Além disso foi consultado o livro Medronho et al. Epidemiologia. 2009.

Anexo C – Protocolo para administração de isótopo e coleta de saliva materna e infantil

**Construção de valores de referência para micronutrientes no leite humano:
Estudo multicêntrico colaborativo (*The Mothers, Infants and Lactation
Quality (MILQ) Project: A Multi-Center Collaborative Study*)**

**PROTOCOLO PARA TÉCNICA DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA AVALIAR O
VOLUME DE INGESTÃO DE LEITE MATERNO**

O Isótopo de deutério ^2H na forma de $^2\text{H}_2\text{O}$ é fornecido a mulher lactante e é incorporado em sua água corporal sendo eliminado de seu corpo na saliva, no suor, na urina e no leite materno. As amostras de saliva da mãe e da criança serão coletadas e o deutério será medido por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (EITF).

Procedimentos

1. Pesar a mãe com roupas leves. Pesar o bebê sem roupa.
2. Coletar amostras de saliva da mãe e da criança no *baseline*.
3. Ofertar bebida à mãe (30g de $^2\text{H}_2\text{O}$) utilizando um canudo.
4. A mãe deverá amamentar seu bebê como o de costume. A criança irá ingerir o $^2\text{H}_2\text{O}$ por meio do leite materno.
5. Amostras de saliva serão coletadas da mãe e do bebê nos dias 1, 2, 3, 4, 13 e 14 após a ingestão do $^2\text{H}_2\text{O}$.
6. O deutério nas amostras de saliva será medido por EITF.
7. A ingestão de volume de leite materno e água de outras fontes serão calculadas usando uma planilha.

Preparação do armazenamento das amostras

1. Colocar o número de identificação do participante e a data em todos os sacos (prepará-los antes da coleta de amostras de saliva).
2. Para minimizar o crescimento bacteriano, as amostras de saliva devem ser armazenadas em uma bolsa térmica ou geladeira até que possam ser transferidas para um freezer a -20°C para armazenamento até a análise.

Protocolo para a dosagem materna

1. 10 ml de D2O: Inverter o frasco de dose individual várias vezes imediatamente antes da dosagem para misturar qualquer condensação do volume de líquido para a tampa.
2. Pedir à mãe para beber a dose por meio de um canudo.
3. Registrar o número do frasco da dose e o tempo de administração.
4. Adicionar 25 mL de água potável no frasco da dose e inverter várias vezes, pedir a mãe para beber essa água por meio de um canudo. Repetir este passo três vezes.
5. A mãe deverá amamentar o bebê normalmente nos próximos 14 dias.
6. Recolher a saliva das mães e lactentes no início do estudo e 1, 2, 3, 4, 13 e 14 dias após a administração do deutério, no mesmo horário do dia em que a dose foi administrada.



Protocolo para amostra de saliva do bebê

1. Usar um *swab* de algodão, mover o *swab* na boca do bebê até saturá-lo com saliva.

2. Remover o *swab* e colocá-lo em uma seringa de 10 mL.
3. Anotar o horário de coleta da amostra.
4. Coletar a saliva no frasco de armazenamento de 2 mL, repetir esses passos para coletar 2 mL de amostra.
5. Vedar a tampa do frasco com parafilm e guardar o frasco em um saco zip-lock.



Protocolo para amostra de saliva materna

1. Peça à mãe para colocar duas bolas de algodão na boca.
2. Remover o êmbolo de uma seringa de 20 mL.
3. Transferir as bolas de algodão para a seringa e recolocar o embolo e pressioná-lo até o volume de 2 mL.
4. Repetir os passos para obter 4 mL de saliva. Vede a abertura da tampa com parafilm e coloque-o em um saco zip-lock.



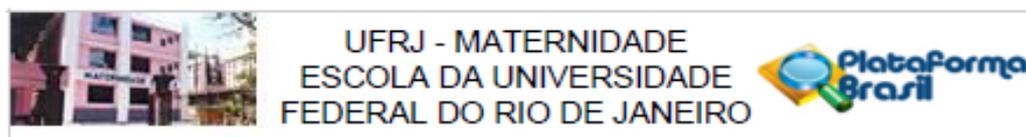
Protocolo para manuseio da amostra e armazenamento

1. Guardar os frascos em sacos zip-lock separados para prevenir contaminação cruzada entre participantes e entre as amostras pré e pós-dose.

2. Usar 13 sacos zip-lock pequenos para cada par mãe-bebê: um para as amostras da linha de base; seis sacos para as amostras pós-dose dos bebês; seis sacos para as amostras pós-dose das mães. Usar um saco zip-lock grande para guardar todas as amostras do par mãe-bebê juntas.



Anexo D – Parecer Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola – Universidade Federal do Rio de Janeiro



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Construção de valores de referência para micronutrientes no leite humano

Pesquisador: Gilberto Kac

Área Temática: Pesquisas com coordenação e/ou patrocínio originados fora do Brasil, excetuadas aquelas com copatrocínio do Governo Brasileiro;

Versão: 1

CAAE: 64767717.4.0000.5275

Instituição Proponente: Instituto de Nutrição Josué de Castro

Patrocinador Principal: United States Department of Agriculture

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.948.992

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de Pesquisa irá propor valores de referência para concentrações de micronutrientes e aminoácidos no leite humano baseado em dados de mulheres adultas bem nutridas e não suplementadas (com exceção dos suplementos previstos pelo Ministério da Saúde para o período gestacional – ferro, ácido fólico e cálcio), provenientes de quatro países (Brasil, Dinamarca, Bangladesh e Gambia). O centro coordenador será nos Estados Unidos (Professora Lindsay Allen, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e da Universidade da Califórnia, Davis). No Brasil, o centro de coleta de dados será no Rio de Janeiro, e terá coordenação do Professor Gilberto Kac, do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Trata-se de um estudo multicêntrico, prospectivo com três etapas de seguimento no pós-parto: 1 – 3,4 meses, 3,5 – 5,9 meses e 7 – 8,9 meses. Serão coletadas amostras de leite materno, sangue, fezes e urina das mães e das crianças. Serão realizadas medidas antropométricas maternas, infantis e aplicados questionários para avaliar a dieta materna (recordatório de 24 horas), o desenvolvimento infantil (Ages and Stages Questionnaire) e a presença de doenças na mãe e na criança. Será estimado o volume diário de leite pelo método de Hartmann, que será validado pelo método de transferência de deutério mãe para filho (considerado padrão-ouro) em uma subamostra de 30 mulheres. A construção dos valores de referência será realizada utilizando

Endereço: Rua das Laranjeiras, 180
Bairro: Laranjeiras **CEP:** 22.240-003
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2556-9747 **Fax:** (21)2205-9064 **E-mail:** cep@me.ufrj.br

Anexo E – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro

SECRETARIA MUNICIPAL DE
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -
SMS/RJ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Construção de valores de referência para micronutrientes no leite humano

Pesquisador: Gilberto Kac

Área Temática: Pesquisas com coordenação e/ou patrocínio originados fora do Brasil, excetuadas aquelas com copatrocínio do Governo Brasileiro;

Versão: 1

CAAE: 64767717.4.3001.5279

Instituição Proponente: Instituto de Nutrição Josué de Castro

Patrocinador Principal: United States Department of Agriculture

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.100.255

Apresentação do Projeto:

Preliminarmente informo que este projeto foi aprovado pelo CEP de origem (Maternidade Escola da UFRJ) e pela CONEP. O Parecer Consubstanciado da CONEP recebeu o número 2.086.708.

Da detida análise do Parecer Consubstanciado, que tratava de cumprimento de pendências apresentadas pela CONEP e que situavam-se no TCLE. Todas as pendências foram atendidas e aprovadas pela CONEP, recomendo que recepcionemos o Parecer da CONEP por completo.

Os itens "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram extraídos do arquivo "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_862646.pdf", gerado na Plataforma Brasil em 24.05.2017.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda o aleitamento materno exclusivo (AME) nos seis primeiros meses de vida da criança por ser um período em que grande parte das potencialidades humanas se desenvolvem. Assim, é importante dar sustentação a essa recomendação de todas as formas possíveis. Uma dessas formas envolve dar mais atenção à

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar

Bairro: Centro

CEP: 20.031-040

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2215-1485

E-mail: cepsms@rio.rj.gov.br

Anexo F – Parecer Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Construção de valores de referência para micronutrientes no leite humano

Pesquisador: Gilberto Kac

Área Temática: Pesquisas com coordenação e/ou patrocínio originados fora do Brasil, excetuadas aquelas com copatrocínio do Governo Brasileiro;

Versão: 3

CAAE: 64767717.4.0000.5275

Instituição Proponente: Instituto de Nutrição Josué de Castro

Patrocinador Principal: United States Department of Agriculture

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.086.708

Apresentação do Projeto:

Os itens "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram extraídos do arquivo "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_862646.pdf", gerado na Plataforma Brasil em 24.05.2017.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda o aleitamento materno exclusivo (AME) nos seis primeiros meses de vida da criança por ser um período em que grande parte das potencialidades humanas se desenvolvem. Assim, é importante dar sustentação a essa recomendação de todas as formas possíveis. Uma dessas formas envolve dar mais atenção à qualidade do conteúdo nutricional do leite materno e o estado nutricional da mãe e da criança nos primeiros seis meses de vida, especialmente em países pouco desenvolvidos ou em desenvolvimento. Estudos apontaram que as concentrações de muitos micronutrientes no leite humano são menores em mulheres que consomem dietas nutricionalmente inadequadas. Esses são, em geral, micronutrientes de grande importância para a saúde pública devido à alta prevalência de inadequação e aos efeitos adversos causados por essas deficiências, tais como vitamina A, vitamina B12 e iodo. Outros nutrientes negligenciados com alta prevalência de

Endereço: SEPEN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br