



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



**GABRIELA TORRES SILVA**

FATORES MATERNOS E INFANTIS ASSOCIADOS COM A TRAJETÓRIA DE  
VOLUME DE LEITE HUMANO E PRÁTICAS DE ALEITAMENTO MATERNO:  
RESULTADOS DA COORTE MILQ BRASIL

RIO DE JANEIRO

2024

Gabriela Torres Silva

FATORES MATERNOS E INFANTIS ASSOCIADOS COM A  
TRAJETÓRIA DE VOLUME DE LEITE HUMANO E PRÁTICAS DE  
ALEITAMENTO MATERNO: RESULTADOS DA COORTE MILQ BRASIL

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Nutricionais.

Orientador: Professor Dr. Gilberto Kac  
Coorientador: Dra. Daniela de Barros Mucci

Rio de Janeiro

2024

T586f Torres Silva, Gabriela  
Fatores maternos e infantis associados com a trajetória de volume de leite humano e práticas de aleitamento materno: Resultados da coorte MILQ Brasil / Gabriela Torres Silva. -- Rio de Janeiro, 2024.

134 f.

Orientador: 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. Aleitamento Materno. 2. Volume de leite humano. 3. Saúde materno-infantil. 4. Óxido de deutério. 5. Depressão pós-parto. I. Kac, Gilberto, orient. II. de Barros Mucci, Daniela, coorient. III. Título.

Gabriela Torres Silva

FATORES MATERNOS E INFANTIS ASSOCIADOS COM A TRAJETÓRIA  
DE VOLUME DE LEITE HUMANO E PRÁTICAS DE ALEITAMENTO  
MATERNO: RESULTADOS DA COORTE MILQ BRASIL

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Nutricionais.

Examinado por:

---

Prof. Dr. Teresa Helena Macedo da Costa  
Universidade de Brasília/Departamento de Nutrição  
**Membro examinador**

---

Prof. Dr. Cintia Chaves Curioni  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro/Instituto de Nutrição  
**Membro examinador**

---

Prof. Dr. Elisa Maria de Aquino Lacerda  
Universidade Federal do Rio de Janeiro/Instituto de Nutrição Josué de Castro  
**Membro examinador**

---

Prof. Dr. Aline Alves Ferreira  
Universidade Federal do Rio de Janeiro/Instituto de Nutrição Josué de Castro  
**Membro examinador**

---

Prof. Dr. Amanda Caroline Cunha Figueiredo  
Universidade Federal do Rio de Janeiro/Instituto de Nutrição Josué de Castro  
**Revisora**

---

Prof. Dr. Gilberto Kac  
Universidade Federal do Rio de Janeiro/Instituto de Nutrição Josué de Castro  
**Orientador**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha família, aos meus pais, Maria e Gilvan, sem cujo incentivo, apoio e valores eu não teria chegado até aqui; à minha irmã, Mariana, pelo apoio e amor; e também ao meu companheiro de vida, Daniel, que me acompanhou durante toda a jornada com muito amor e parceria.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar comigo em cada passo desta fase, por me dar forças nas dificuldades e por me abençoar com as oportunidades que tornaram este trabalho possível.

Aos meus pais, Maria e Gilvan que sempre me apoiaram e deram suporte a cada sonho e decisão que tomei. À minha mãe, deixo ainda um agradecimento especial, por me mostrar desde sempre que mulheres são capazes de conquistar tudo que almejam. Você é minha fortaleza e fonte de inspiração, obrigada por me ensinar tanto, todos os dias, mesmo distante. À minha irmã, que juntamente aos meus pais, sempre me incentivou e apoiou.

Ao meu companheiro de vida, Daniel, minha gratidão por toda a parceria, paciência e apoio em todos os momentos durante essa jornada. Obrigada por todo o amor, pelos conselhos sábios e por estar ao meu lado nos desafios e conquistas. Sou grata também por me proporcionar ser mãe de pet do Gladstone, nosso “Tom Tom”, que também se fez muito importante ao longo dessa trajetória, sendo meu fiel e amoroso companheiro e completando nossa família.

À minha família, agradeço por todo apoio, amor e compreensão diante da minha ausência em momentos tão importantes. Em especial, à minha madrinha, Antônia, por seu incentivo constante e por me inspirar com sua sabedoria. Agradeço também à minha tia Niva e às minhas primas Daniela e Sandra, por estarem sempre presentes e pelo apoio incondicional ao longo dessa jornada.

Aos meus amigos, agradeço por sempre apoiarem minhas decisões e abraçarem meus sonhos. Mesmo à distância, vocês sempre me ouviram e acolheram nos momentos em que mais precisei. Um agradecimento especial ao meu amigo de infância, Dario, que é fonte de inspiração e que me recebeu no Rio de Janeiro com todo carinho do mundo. Aos queridos Paulo, Ludmila, Gabriel, Jéssica, Caroline, Raiana e Roberta, sou grata pela amizade de vocês e pelas visitas, que trouxeram alegria e me deram a sensação acolhedora de estar em casa.

À minha dupla de doutorado, Adriana, minha gratidão por ter compartilhado cada etapa desta jornada comigo. Sua parceria e alto astral tornaram todo o processo muito mais leve. Às queridíssimas “gurias” – Aline, Bruna e Amanda – agradeço imensamente pela parceria única. Obrigada por me ensinarem tanto, por segurarem minha mão e por me guiarem quando precisei. Vivemos intensamente esse projeto juntas, e a força da nossa

união foi, sem dúvida, fundamental ao longo desse caminho. Um agradecimento especial também à querida Ana Lorena e Daniela Paula, que foram essenciais. Obrigada pela paciência, dedicação e pelos valiosos ensinamentos.

Ao meu orientador Gilberto, expressei minha profunda gratidão pela orientação, paciência e incentivo ao longo dessa jornada. Sua sabedoria foi essencial para a construção deste trabalho. Obrigada pela oportunidade, por acreditar no meu potencial, me desafiar a superar limites e por compartilhar seu conhecimento. À minha co-orientadora Daniela, agradeço pelo apoio, suporte e pela disponibilidade durante este processo. Sua dedicação ao projeto foi essencial. Obrigada por estar presente e pelo auxílio durante as etapas dessa jornada.

À equipe de campo MILQ-Brasil, meus mais sinceros agradecimentos, em especial, Luciana, Hellen, Juliana, Tamilles, Arnaldo, Tamires e Lívia. A convivência com todos, as trocas enriquecedoras, os ensinamentos e as risadas compartilhadas tornaram essa jornada ainda mais especial. Vocês foram essenciais para tornar o trabalho de campo mais leve e foram fundamentais para a realização deste estudo.

Às participantes do estudo MILQ e seus filhos, minha sincera gratidão. Com elas, aprendi muito além do âmbito profissional. Cada participação foi fundamental para a realização deste estudo, e sou imensamente grata por contribuírem com seu tempo, histórias e experiências, permitindo que o estudo acontecesse e se concretizasse.

Aos professores que sempre me incentivaram e abriram as portas da ciência para mim, sou profundamente grata. Destaco especialmente as professoras da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul: Rita de Cássia Avellaneda, Deise Bresan, Priscila Sanches e Patrícia Del-Ré. Agradeço também aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pelos valiosos ensinamentos, e a todos aqueles que contribuíram para minha formação. Um agradecimento especial aos professores que aceitaram integrar a banca desta tese de doutorado, Aline Ferreira, Amanda Figueiredo, Teresa da Costa, Cintia Curioni e Elisa Lacerda, pela disponibilidade e importante contribuição.

Por fim, gostaria de expressar minha gratidão a todos os membros do Observatório de Epidemiologia Nutricional, em especial, aos meus amigos do subsolo – Letícia Ramos, Giovana Cursino, Yve Ferreira, Thiago Alves, Nathália Oliveira – e também a todos aqueles, de forma direta ou indireta, contribuíram de alguma maneira para minha formação profissional e pessoal.

Gabriela Torres Silva

## **EPÍGRAFE**

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Técnica de deutério "dose-to-mother" .....	33
<b>Figura 2</b> - Fluxograma do estudo MILQ Brasil.....	53
<b>Figura 3</b> - Fluxograma do estudo e seleção das participantes incluídas no artigo 1.....	55

### Artigo 1

<b>Figure 1.</b> Fluxograma da coorte MILQ Brasil, considerando participantes com dados de volume de leite durante a lactação. <i>Flow chart of the MILQ Brazil cohort, considering participants with milk volume data during lactation.....</i>	81
<b>Figure 2.</b> Trajetória do volume de leite (mL/dia) de acordo com as semanas pós-parto. <i>Trajectory of breast milk volume (mL/day) according to postpartum weeks.....</i>	86
<b>Figure 3.</b> Predições longitudinais do volume de leite (mL/dia) de acordo com os fatores materno-infantis. <i>Longitudinal predictions of milk volume (mL/day) according to maternal-infant factors.....</i>	87

### Artigo 2

<b>Figure 1.</b> Trajetória de escore de sintomas depressivos em mulheres lactantes. <i>Trajectory of postpartum depression symptoms scores in lactating women.....</i>	105
<b>Figure 2.</b> Gráfico <i>alluvial</i> dos sintomas depressivos por período de acompanhamento, estratificados pela trajetória dos escores de sintomas de depressão pós-parto. <i>Alluvial plot of postpartum depressive symptoms at follow-up points stratified by trajectory of postpartum depression symptoms score .....</i>	106

## LISTA DE TABELAS

### Artigo 1

- Table 1.** Características das lactantes e crianças do estudo MILQ, Rio de Janeiro, Brazil.  
*Characteristics of lactating and infants from MILQ Study, Rio de Janeiro, Brazil.....*82
- Table 2.** Média de volume de leite ao longo do tempo de acordo com fatores materno-infantis do estudo MILQ, Rio de Janeiro, Brazil.  
*Mean milk volume over time according to maternal-infant factors from MILQ Study, Rio de Janeiro, Brazil.....*83
- Table 3.** Fatores associados com o volume de leite ao longo do tempo (1 - 8,5 meses) do estudo MILQ, Rio de Janeiro, Brazil  
*Factors associated with milk volume over time (1 – 8.5 months) from MILQ Study, Rio de Janeiro, Brazil.....*85

### Artigo 2

- Table 1.** Características maternas das participantes do estudo.  
*Descriptive maternal characteristics of the study participants.....*104
- Table 2.** Perfil dos padrões de aleitamento materno de acordo com os clusters.  
*Profile of breastfeeding patterns according to clusters.....*107
- Table 3.** Associação entre a trajetória de sintomas depressivos e clusters de padrão de aleitamento materno.  
*Association between clusters of postpartum depression symptoms scores and breastfeeding pattern clusters.....*108

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Vantagens e desvantagens das técnicas mais utilizadas para estimativa de ingestão e produção de leite humano.....	31
<b>Quadro 2</b> - Classes de medicamentos prejudiciais à lactação.....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$^2\text{H}$	Deutério
$^2\text{H}_2\text{O}$	Óxido de deutério
$^3\text{H}$	Trítio
ACT	Água corporal total
AM	Aleitamento materno
AMC	Amamentação Materna Continuada
AMC1	Amamentação Materna Continuada no 1º ano de vida
AMC2	Amamentação Materna Continuada aos 2 anos de vida
AME	Aleitamento materno exclusivo
ASQ-3	<i>Ages and Stages</i> versão 3
BDI	<i>Beck Depression Inventory</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CIDI-SF	<i>Composite International Diagnostic Interview—Short Form</i>
DANT	Doenças e agravos não transmissíveis
DPP	Depressão pós-parto
EAAB	Estratégia Amamenta e Alimenta Brasil
E-MILQ	<i>Early Mothers, Infants and Lactation Quality</i>
ENANI	Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil
EPDS	<i>Edinburgh Postnatal Depression Scale</i>
FIL	<i>feedback inhibitor of lactation</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
GM	Glândula mamária
GSDS	<i>Glasgow Sleep Disturbance Scale</i>
IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i>
IgA	Imunoglobulina A
IMC	Índice de massa corporal
INJC	Instituto de Nutrição Josué de Castro

kg	Quilograma
LH	Leite humano
MILQ	The Mothers, Infants and Lactation Quality
MINI	<i>Mini International Neuropsychiatric Interview</i>
MTA	Mulher trabalhadora que amamenta
Não-AME	Não aleitamento materno exclusivo
NBCAL	Norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes
OMS	Organização Mundial de Saúde
ParcAM	Aleitamento materno parcial
PNAISC	Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Criança
PNAN	Programa Nacional de Alimentação e Nutrição
PNDS	Pesquisas Nacionais de Demografia e Saúde da Mulher e da Criança
PNIAM	Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno
PPGN	Programa de Pós-Graduação em Nutrição
PRAMS	<i>Pregnancy Risk Assessment Monitoring System</i>
REDCap	<i>Research Electronic Data Capture</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
VIF	Fator de inflação da variância
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	16
<b>RESUMO</b> .....	18
<b>ABSTRACT</b> .....	20
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	22
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	24
2.1 ALEITAMENTO MATERNO .....	24
2.2 FISIOLOGIA DA LACTAÇÃO .....	26
2.3 COMPOSIÇÃO DE LEITE HUMANO .....	29
2.4 VOLUME DE LEITE E TÉCNICAS PARA SUA ESTIMATIVA .....	30
2.5 FATORES ASSOCIADOS AO VOLUME DE LEITE .....	34
2.5.1 Fatores maternos.....	34
2.5.2 Fatores infantis.....	38
2.6 SAÚDE MENTAL MATERNA .....	41
2.6.1 Depressão pós-parto e aleitamento materno .....	44
<b>3. JUSTIFICATIVA</b> .....	48
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	50
4.1 OBJETIVO GERAL .....	50
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	50
<b>5. HIPÓTESES</b> .....	51
<b>6. MÉTODOS</b> .....	52
6.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	52
6.2 LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO .....	52
6.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DO ESTUDO .....	54
6.4 PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS E AMOSTRAS BIOLÓGICAS .....	56
6.4.1 Coleta de dados.....	56
6.4.2 Coleta de saliva.....	56
6.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO.....	57
6.5.1 Variáveis dependentes .....	57
6.5.1.1 Análise do volume de leite.....	57
6.5.2 Variáveis independentes .....	59
6.5.2.1 Variáveis sociodemográficas, de estilo de vida, obstétricas e saúde.....	59
6.5.2.2 Padrão de aleitamento materno.....	60

6.5.2.3 Sintomas depressivos pós-parto.....	60
6.6 ASPECTOS ÉTICOS.....	61
6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	62
6.7.1 Artigo 1.....	62
6.7.2 Artigo 2.....	63
<b>7. RESULTADOS .....</b>	<b>65</b>
7.1 Artigo 1.....	66
7.2 Artigo 2.....	88
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>109</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>111</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>121</b>

## APRESENTAÇÃO

Esse tese de doutorado faz parte de um estudo maior intitulado 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*]. Trata-se de um estudo multicêntrico, realizado em Bakau na Gâmbia, Dhaka em Bangladesh, Copenhagen na Dinamarca e Rio de Janeiro, no Brasil. A coordenação geral é de responsabilidade da professora Lindsay Allen, do *Western Human Nutrition Research Center* do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e da Universidade da Califórnia-Davis.

No Brasil, o estudo foi conduzido no Hospital Maternidade Herculano Pinheiro, situado no bairro de Madureira, na cidade do Rio de Janeiro e coordenado pelo professor Gilberto Kac. A coleta de dados ocorreu de janeiro de 2018 a março de 2022, mas foi interrompido entre março e agosto de 2021, em decorrência da pandemia de COVID-19. A coleta de dados foi realizada por pesquisadores do Observatório de Epidemiologia Nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). O projeto foi financiado pela fundação *Bill & Melinda Gates*.

Durante o período de 2020–2022 participei de atividades do projeto como treinamentos, coleta de dados, conferência de digitação de dados dietéticos, orientação de alunos de iniciação científica, elaboração de materiais técnico-científicos, gerenciamento de grupo de mães na plataforma WhatsApp® e supervisão do projeto em campo. Além disso, pude contribuir na elaboração, construção de protocolos e supervisão de campo do projeto *Early Mothers, Infants and Lactation Quality (E-MILQ)*.

A presente tese de doutorado engloba uma subamostra do estudo MILQ e tem dois objetivos principais: i) investigar a influência de variáveis maternas e infantis na variação do volume de leite durante a lactação e ii) analisar a associação entre sintomas de depressão pós-parto e práticas de aleitamento materno, incluindo volume de leite, frequência e duração do aleitamento, além da idade de introdução de líquidos/alimentos. A aluna obteve a concessão de uma bolsa de doutorado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Esse documento segue as normas disponibilizadas pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e foi estruturado nas seguintes seções: resumo/*abstract*, introdução, referencial teórico,



justificativa, objetivo geral e específicos, hipóteses, métodos, resultados, considerações finais, referências e anexos. Os resultados foram apresentados em formato de artigos científicos: i. *Maternal and infant factors associated with human milk trajectory in the postpartum period*; ii. *Associations between postpartum depressive symptom trajectories and breastfeeding patterns: Results from the MILQ-Brazil study*.

## RESUMO

SILVA, Gabriela Torres. **Fatores maternos e infantis associados à trajetória de volume de leite humano e práticas de aleitamento materno: resultados da coorte MILQ Brasil**. 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.

O ato de amamentar é um processo complexo, influenciado por fatores sociodemográficos, ambientais e de saúde materno-infantil, incluindo a saúde mental, mas poucos estudos investigaram a relação desses fatores na trajetória do volume de LH e nas características da amamentação. Os objetivos desse estudo foram: Avaliar a associação entre fatores sociodemográficos, ambientais e de saúde materno-infantil e a trajetória do volume de leite (1 – 8,5 meses pós-parto), e investigar a relação entre sintomas depressivos maternos no pós-parto e as práticas de aleitamento materno ao longo dos primeiros 8,5 meses pós-parto. O estudo MILQ-Brasil foi uma coorte prospectiva conduzida no Rio de Janeiro com pares de mãe-filho saudáveis. O desenho contemplou a linha de base na gestação (28 – 35 semanas), e quatro acompanhamentos: até 72h após o nascimento (C); 1 – 3,49 meses (M1); 3,5 – 5,9 meses (M2) e 6 – 8,5 meses (M3). Dados sociodemográficos, de estilo de vida, obstétricos, de práticas de aleitamento e saúde foram obtidos com o uso de questionários padronizados. Para o rastreamento dos sintomas de depressão pós-parto (DPP), foi utilizada a *Edinburgh Postnatal Depression Scale* (EPDS). O volume de LH (24h) foi estimado pelo método de transferência de deutério mãe-criança. A concentração de deutério na saliva foi medida por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. Foram desenvolvidos modelos lineares de efeitos mistos longitudinais para examinar as associações entre os fatores maternos-infantis e o volume de LH ao longo do tempo. Foram identificadas trajetórias de sintomas depressivos por meio de classe latente e padrões de aleitamento por *K-means clustering*. Modelos multinomiais foram ajustados para avaliar a associação entre as trajetórias de sintomas depressivos pós-parto e os padrões de aleitamento materno. Foi observado uma variação significativa no volume de LH, com um declínio aproximado de 4 mL por semana. A variação no volume de LH indicou que mulheres que amamentaram > 13 vezes/dia tiveram um acréscimo adicional de 9,97 mL por semana ao longo do estudo em comparação com aquelas que amamentaram < 13

vezes/dia. A interação entre o status de aleitamento materno exclusivo ( AME) e o tempo indicou um decréscimo mais rápido no volume, aproximadamente 11 mL por semana, entre as mães com crianças não exclusivamente amamentadas em comparação com o grupo AME. Foram identificadas duas trajetórias de sintomas de DPP: "menores escores" (87%) e "maiores escores" (12%), e três diferentes padrões de AM (Cluster 1, 2 e 3). Mulheres com maiores escores de sintomas depressivos apresentaram quatro vezes a chance de pertencer ao Cluster 3, caracterizado por maior volume e frequência de amamentação e introdução precoce de líquidos e alimentos, em comparação ao Cluster 1 (modelo não ajustado: OR = 4,17; p = 0,055). No modelo ajustado, entretanto, essa associação não foi significativa. A trajetória de volume de LH ao longo da lactação está associada a paridade, a frequência de aleitamento e *status* de AME. Adicionalmente, maiores escores de sintomas de DPP tendem a estar relacionadas a alta frequência de aleitamento, maior volume de LH e a introdução precoce de alimentos líquidos e sólidos.

**Palavras-chave:** lactação; aleitamento materno; óxido de deutério; depressão materna; volume de leite; pós-parto.

## ABSTRACT

SILVA, Gabriela Torres. **Maternal and infant factors associated with human milk volume trajectory and breastfeeding practices: Results from the MILQ Brazil cohort.** Rio de Janeiro, 2024. Thesis project (PhD in Nutrition Science) - Josué de Castro Institute of Nutrition, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Breastfeeding is a complex process influenced by sociodemographic, environmental, and maternal-infant health factors, including mental health. However, few studies have investigated the impact of these factors on the trajectory of human milk (HM) volume and breastfeeding characteristics. The objectives of this study were: to assess the association between sociodemographic, environmental, and maternal-infant health factors and the trajectory of HM volume (1–8.5 months postpartum), and to investigate the relationship between postpartum maternal depressive symptoms and breastfeeding practices during the first 8.5 months postpartum. The MILQ-Brazil study was a prospective cohort conducted in Rio de Janeiro with healthy mother-infant pairs. The design included a baseline during pregnancy (28–35 weeks) and four follow-up visits: up to 72 hours after birth (C); 1–3.49 months (M1); 3.5–5.9 months (M2); and 6–8.5 months (M3). Sociodemographic, lifestyle, obstetric, breastfeeding practices, and health data were collected using standardized questionnaires. The Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) was used to screen for postpartum depressive symptoms (PPD). HM volume (24h) was estimated using the deuterium oxide mother-child transfer method. Deuterium concentration in saliva was measured using Fourier-transform infrared spectroscopy. Longitudinal mixed-effects linear models were developed to examine associations between maternal-infant factors and HM volume over time. Depressive symptom trajectories were identified using latent class analysis and breastfeeding patterns by K-means clustering. Multinomial models were adjusted to assess the association between postpartum depressive symptom trajectories and breastfeeding patterns. A significant variation in HM volume was observed, with an approximate decline of 4 mL per week. The variation in HM volume indicated that women who breastfed >13 times/day had an additional increase of 9.97 mL per week throughout the study compared to those who breastfed <13 times/day. The interaction between exclusive breastfeeding (EBF) status and time indicated a faster decline in volume, approximately 11 mL per week, among mothers with non-exclusively breastfed

infants compared to the EBF group. Two depressive symptom trajectories were identified: "lower scores" (87%) and "higher scores" (12%), along with three different breastfeeding patterns (Cluster 1, 2, and 3). Women with higher depressive symptom scores had four times the likelihood of belonging to Cluster 3, characterized by greater HM volume, higher breastfeeding frequency and early introduction of liquids and foods, compared to Cluster 1 (unadjusted model: OR = 4.17; p = 0.055). However, this association was not significant in the adjusted model. The trajectory of HM volume throughout lactation is associated with parity, breastfeeding frequency, and EBF status. Additionally, higher scores of maternal depressive symptoms tend to be related to higher breastfeeding frequency, greater HM volume, and early introduction of liquid and solid foods.

**Keywords:** lactation; breastfeeding; deuterium oxide; maternal depression; milk volume; postpartum.

## 1. INTRODUÇÃO

O leite humano (LH) é reconhecido como padrão-ouro para a alimentação e nutrição de lactentes. O aleitamento materno exclusivo (AME) nos primeiros 6 meses de idade e sua continuidade de forma complementar até os 24 meses ou mais, é recomendado universalmente, devido aos seus diversos benefícios a curto e longo prazo (VICTORA et al., 2016; EIDELMAN et al., 2012; WHO, 2001). Embora tenha sido observada uma melhora nas taxas de AME e do aleitamento materno (AM) continuado no Brasil entre 1996 – 2019, as prevalências nacionais ainda não se aproximam das metas estabelecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e Fundo das Nações Unidas para infância (UNICEF) (BOCCOLINI et al., 2023; UFRJ, 2021; WHO, 2021).

Para ampliar ações de incentivo à amamentação, é fundamental compreender as questões que afetam a escolha da prática de alimentação infantil (COHEN et al., 2018). A interrupção do AME e o desmame precoce estão associados a diversos fatores, entre os quais se destacam a saúde mental materna e a percepção de produção insuficiente de LH pela mãe (KENT et al., 2021). A literatura sobre fatores associados ao volume de LH é escassa, no entanto, alguns fatores como as características sociodemográficas, anatomia da mama materna e fatores de saúde infantil já foram descritos (GEDDES et al., 2021; KENT; PERRELLA; GEDDES, 2021; NEVILLE, 1995). Além disso, a revisão conduzida por Kent et al. (2021) ressalta a importância de investigações adicionais para compreender as contribuições dos fatores psicológicos, como a depressão pós-parto (DPP).

Os dados advindos da pesquisa Nascer no Brasil (n = 23.894), revelaram alta prevalência dos sintomas de DPP, afetando uma em cada quatro mulheres brasileiras no período de seis meses pós-parto (THEME FILHA et al., 2016). Os sintomas depressivos durante esse período podem prejudicar o vínculo mãe-filho, comprometendo o cuidado nutricional da criança, bem como seu desenvolvimento físico e mental (BRUMMELTE; GALEA, 2015). Apesar de não haver uma descrição de relação direta entre a DPP e o volume de leite, essa condição de saúde mental pode interferir negativamente nas práticas de AM (SLOMIAN et al., 2019; DIAS; FIGUEIREDO, 2015; WHO, 2009).

Embora a saúde e o desenvolvimento infantil da criança em AME dependam de uma produção adequada de LH, raramente o volume de leite é medido em pesquisas científicas ou no ambiente clínico (KENT et al., 2021). Além disso, há uma escassez de

dados longitudinais sobre as diferentes características do AM, como o volume de leite e o período em que outros alimentos são introduzidos na dieta dos lactentes. Essa lacuna de informações é atribuída, em parte, às dificuldades associadas à mensuração acurada dessas variáveis (IAEA, 2010). A técnica de diluição de deutério é considerada padrão-ouro para quantificar o volume de leite ingerido, pois é uma abordagem que não interfere nas práticas habituais de aleitamento, ao contrário dos métodos teste de pesagem ou da extração de LH, ambos comumente utilizados em diversos estudos (DIANA et al., 2019; IAEA, 2010).

A lactação é um processo complexo entre a díade mãe-filho e envolve desde o funcionamento secretor das células epiteliais mamárias até aspectos psicológicos maternos, sendo todos relacionados e importantes para uma amamentação bem-sucedida (TRUCHET; HONVO-HOUÉTO, 2017). Nesse contexto, se faz importante compreender o perfil e os fatores que influenciam comportamento do volume de leite ao longo do tempo, principalmente considerando o ineditismo desses dados na população brasileira.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 ALEITAMENTO MATERNO

O AM é a melhor estratégia natural de vínculo, afeto, proteção e nutrição para a criança, e é reconhecido como a forma mais econômica e eficaz para redução da morbimortalidade infantil (BRASIL, 2009). O LH fornece o suprimento nutricional perfeitamente adaptado para a criança, além de desempenhar um papel crucial na promoção do crescimento e desenvolvimento saudáveis. Assim, a proteção, o apoio e a promoção do AM devem ser considerados como uma questão de saúde pública (MOSCA et al., 2017).

A OMS recomenda o LH como única fonte de nutrientes para crianças durante os primeiros 6 meses de vida da criança e como uma fonte importante até os 2 anos (WHO, 2001). A prática do AM é classificada em quatro categorias: i) exclusivo, quando o lactente recebe apenas o LH, sem ingestão de outros líquidos, exceto xaropes e medicamentos; ii) predominante, quando além do LH, há a ingestão combinada com água, suco ou chá; iii) misto ou parcial, quando há ingestão de LH e outros tipos de leites ou fórmulas, e d) complementado, quando o LH e outros alimentos são ingeridos (BRASIL, 2009; WHO, 2007).

O AM é fundamental para atingir as metas globais de nutrição, saúde, crescimento econômico e sustentabilidade ambiental (WHO, 2018). A sua prática está associada a diversos benefícios em curto e longo prazo para as crianças, como, redução da mortalidade infantil por infecções, aumento do quociente de inteligência, redução do risco de sobrepeso e obesidade na fase de adolescência e vida adulta e doenças e agravos não transmissíveis (DANT), como diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiometabólicas (HORTA; LORET DE MOLA; VICTORA, 2015; VICTORA et al., 2016; BELLÚ, 2017; WONG et al., 2018).

Os benefícios do AM para a mãe incluem o risco reduzido para câncer de mama, câncer de ovário e diabetes mellitus tipo 2 (VICTORA et al., 2016), além de contribuir para redução da retenção de peso no pós-parto (KAC et al., 2004). O AM ainda atua na melhoria do metabolismo da glicose materna (YASUHI et al., 2017), na regulação hormonal (HANDLIN et al., 2009; NEELON et al., 2015) e na proteção à saúde mental, sendo capaz de atenuar as respostas ao estresse e reduzir o risco do desenvolvimento de depressão (YSTROM, 2012).



Além das inúmeras vantagens, o AM ainda é reconhecido na contribuição para a prosperidade dos países, ao reduzir custos associados ao tratamento de doenças evitáveis e por promover o desenvolvimento de indivíduos mais saudáveis, os quais se tornarão possivelmente uma mão de obra mais qualificada. A partir das evidências científicas sobre o potencial do AM para salvar vidas e promover o desenvolvimento socioeconômico de um país, têm-se direcionado investimentos em políticas globais que visam aumentar as taxas de AM e oferecer incentivos para sua prática (MELO, de OLIVEIRA, PEREIRA, 2019).

Muitos dos esforços empreendidos por meio de políticas de saúde pública e programas impactaram significativamente a prática do AM no Brasil desde a década de 1970. O Programa Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) (1976) e o Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno (PNIAM) implementados em 1981, podem ser considerados pilares dessas propostas (MELO; OLIVEIRA, PEREIRA, 2019). Ao longo do tempo, outras estratégias de promoção e aconselhamento sobre a amamentação foram estabelecidas no âmbito mundial e são reconhecidas como essenciais para maior adesão e manutenção do AM (FELTNER et al., 2018).

A Norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes, para Crianças de Primeira Infância, Bicos, Chupetas e Mamadeiras (NBCAL) de 1988 é uma das estratégias fundamentais que se consolidaram como políticas de proteção à amamentação. Esta norma restringiu o marketing dos substitutos do LH e defendeu o direito a quatro meses de licença maternidade para as mulheres atuantes no mercado de trabalho, assegurado na nova Constituição Brasileira (REA, 2003). A iniciativa Hospital Amigo da Criança (*Baby-Friendly Hospital Initiative*), publicada em 1990 pela OMS e pelo Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), e atualizada em 2009, é outra peça-chave. Essa iniciativa tem como base a adoção pelos estabelecimentos com leitos obstétricos dos "Dez passos para o sucesso do aleitamento materno" (OMS; UNICEF, 1990; OMS; UNICEF, 2009).

No Brasil, também foi instituída a Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Criança (PNAISC), a qual se estrutura em sete eixos estratégicos, com a finalidade de orientar e qualificar as ações e serviços de saúde da criança no território nacional. O segundo eixo é dedicado ao aleitamento materno e à alimentação complementar saudável e engloba as seguintes ações: i) a Iniciativa Hospital Amigo da Criança; ii) a Estratégia Nacional para Promoção do Aleitamento Materno e Alimentação Complementar Saudável no Sistema Único de Saúde – Estratégia Amamenta e Alimenta

Brasil (EAAB); iii) a Mulher Trabalhadora que Amamenta; iv) a Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano; v) a implementação da NBCAL; vi) a mobilização social em aleitamento materno (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Indicadores-chave de amamentação são utilizados para monitorar o progresso e o impacto das medidas e políticas implementadas ao longo do tempo. Os quatro principais são: i) início precoce do AM; ii) AME com menos de 6 meses de idade; iii) aleitamento materno continuado no 1º ano (AMC1) e iv) aleitamento materno continuado aos 2 anos de idade (AMC2). Globalmente, as metas atuais para as taxas de amamentação a serem alcançadas até 2030 são: 70% para início precoce da amamentação e AME <6 meses; 80% para AMC1 e 60% para AMC2 (WHO, 2021).

Em um estudo que analisou dados das Pesquisas Nacionais de Demografia e Saúde da Mulher e da Criança (PNDS-1996 e PNDS-2006) e do Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil (ENANI) – 2019, foi observado aumento significativo no indicador de AME de 1996 – 2019. A taxa passou de 26,9% em 1996 para 45,8% em 2019 (BOCCOLINI et al., 2023). Entre os indicadores, o AM na primeira hora de vida tem maior probabilidade de atingir a meta estipulada pela OMS/UNICEF para 2030, devido à sua ascendente prevalência entre 1996 e 2019. O aumento de 36,3% em 1996 para 60,9% em 2006 e 62,5% em 2019 indica que será necessário aumentar em 12,2% para o cumprimento da meta (BOCCOLINI et al., 2023).

Apesar dos avanços pró-aleitamento, as taxas de AM ainda estão aquém do ideal, em diversas regiões e por diferentes contextos. As práticas de AM são influenciadas por uma ampla gama de fatores, que incluem desde barreiras estruturais, como a falta de políticas públicas eficazes e apoio adequado, até aspectos socioeconômicos, como desigualdade de renda e condições de trabalho desfavoráveis. Além disso, fatores culturais, como normas e crenças locais, e questões biológicas e médicas, como dificuldades físicas para amamentar e falta de orientação especializada, também desempenham um papel significativo. Diante dessa complexidade, a promoção do AM requer estratégias integradas e abrangentes de saúde pública, capazes de abordar essas múltiplas dimensões de forma eficaz (PÉREZ-ESCAMILLA et al., 2023).

## 2.2 FISIOLOGIA DA LACTAÇÃO

A produção e secreção do LH são processos fisiológicos complexos que ocorrem como resultado do desenvolvimento progressivo da glândula mamária (GM) ao longo de

várias fases da vida, incluindo a puberdade, gravidez e lactação. Esses estágios são controlados por uma interação entre hormônios sistêmicos, como estrogênio, progesterona, prolactina e fator de crescimento epidérmico, juntamente com fatores externos. Esses elementos atuam em conjunto para coordenar a função secretora das células epiteliais mamárias e garantir o fornecimento adequado de LH, contribuindo para o sucesso da amamentação (LEVINE; MUNEYYIRCI- DELALE, 2018).

A lactogênese refere-se à síntese e secreção do leite, e é principalmente desencadeada após o nascimento. Esse processo é mantido enquanto necessário para o neonato ou até que os estímulos e fatores que sustentam e promovam a lactação cessem (BUHIMSCHI, 2004). A lactogênese ocorre em três fases distintas, denominadas lactogênese I, II e galactopoiese que são influenciadas por uma cascata de mudanças fisiológicas (PILLAY; DAVIS, 2022).

Durante a lactogênese I, que ocorre no período gestacional, a mama passa por modificações anatômicas e fisiológicas. As concentrações de progesterona, prolactina e lactogênio placentário aumentam e estimulam a proliferação das unidades ducto-lobulares terminais da mama (NEVILLE; MORTON, 2001). Durante essa fase, a GM atinge um nível de diferenciação suficiente para começar a secretar pequenas quantidades de LH (KULSKI; HARTMANN, 1981). Apesar de ocorrer a completa diferenciação da GM até o final da gestação, apenas uma pequena quantidade de colostro é produzida ao final do último trimestre, devido à inibição dos hormônios placentários, particularmente da progesterona, à ação da prolactina (BLACKBURN, 2012). Além disso, a secreção de LH é inibida devido às altas concentrações plasmáticas de progesterona e estrogênio até o momento do parto (TRUCHET; HONVO-HOUÉTO, 2017).

O estágio II da lactogênese inicia entre 30-40 horas pós-parto, após a retirada da placenta e o rápido declínio dos concentração de progesterona e lactogênio placentário. Essa fase é conhecida como ativação secretora, e popularmente como “descida do leite”, sendo caracterizada por produção abundante de LH (PANG; HARTMANN, 2007; NEVILLE; MORTON; UMEMURA, 2001). Nesse estágio, é necessário que a mama esteja bem desenvolvida e que os concentração de prolactina, cortisol e insulina sejam adequados, visto que, após o parto, o número de receptores de prolactina na mama aumenta, e atuam sinergicamente com o cortisol e a insulina para estimular a produção de proteínas e gorduras do LH pelas células secretórias alveolares (BLACKBURN, 2012; NEVILLE; MORTON, 2001). Durante essa fase é possível observar mudanças

no volume e na composição do LH (NEVILLE; MORTON; UMEMURA, 2001).

A galactopoiese é a fase em que a produção de LH é mantida por meio do estímulo hormonal da prolactina e da ocitocina. A produção de LH é desencadeada principalmente durante o ato de amamentar, sob a influência da prolactina. Por sua vez, é transportada pela corrente sanguínea até a GM, onde causa a contração das células mioepiteliais que envolvem os alvéolos. Essas contrações pressionam o LH por meio do sistema ductal em direção ao mamilo, facilitando a remoção pela criança durante a amamentação ou por outros métodos de extração (PILLAY; DAVIS, 2022; TRUCHET; HONVO-HOUÉTO, 2017). No entanto, o reflexo da ocitocina, ou também chamado “reflexo de ejeção do leite”, fica condicionado às sensações e sentimentos da mãe, como o ato de ver, tocar, cheirar e/ou ouvir o choro da criança, além de fatores emocionais como motivação e autoconfiança materna (BRASIL, 2009).

A lactação é sustentada pela estimulação do mamilo e pela consequente extração regular do LH, que envia impulsos neurais ao hipotálamo e desencadeia a liberação de prolactina pela hipófise anterior e ocitocina pela hipófise posterior (WHO, 2009). Para a síntese e secreção contínuas de LH, a GM deve receber os reflexos neuroendócrinos, e apesar de a prolactina e a ocitocina atuarem independentemente em diferentes receptores celulares, sua ação combinada é essencial para o sucesso da lactação (PILLAY; DAVIS, 2022; GOLAN; ASSARAF, 2020).

Outro mecanismo especialmente importante para a regulação contínua após o estabelecimento da lactação, de forma local na mama, é mediado por uma substância chamada de *feedback inhibitor of lactation* (FIL). Esse polipeptídeo secretado pelas células epiteliais secretoras da GM possibilita que o controle na quantidade de LH produzido a partir da ingestão da criança. Nesta fase, a prolactina é necessária para permitir que a secreção do LH ocorra, contudo, sem o controle da quantidade da produção de LH (WHO, 2009; PEAKER; WILDE, 1996; WILDE; PRENTICE; PEAKER, 1995).

Este controle local ocorre independentemente em cada mama, como é possível observar quando ocorre de uma mama reduzir ou parar de produzir LH enquanto a outra continua, por exemplo, caso haja sucção apenas de um lado. Se o leite não é removido, o FIL tende a se acumular impedindo que as células secretoras produzam mais LH. Quando há a retirada do LH, o FIL também é removido, e a secreção é novamente retomada (WHO, 2009). O estudo de Daly et al. (1996), mostrou que a produção de LH é regulada para corresponder a ingestão da criança. A taxa de síntese de LH demonstrou

estar relacionada com o grau em que a mama foi drenada após a amamentação, sendo a produção de LH subsequente maior se a mama tiver sido bem drenada.

O período inicial de amamentação pode ser complexo, visto que a primeira semana de lactação é importante para estabelecer uma oferta adequada de LH (HILL; ALDAG; CHATTERTON, 2016). A produção inadequada de LH no início da lactação pode gerar a produção de um volume de LH abaixo do ideal ao longo da lactação (KENT; GARDNER; GEDDES, 2016). O estudo de Brownell et al. (2012), conduzido nos Estados Unidos com 2.491 mulheres, demonstrou que a lactogênese tardia estava associada a chances maiores de interrupção do AM (OR 1,62; IC95%:1,14–2,31) e AME (OR 1,62; IC95%: 1,18–2,22) em 4 semanas após o parto. O estudo com mulheres na zona rural da Guatemala (n = 328) mostrou que a lactogênese tardia também estava relacionada ao aumento no risco de interromper o AME nos primeiros 6 meses de vida (RR 1,49; IC 95%: 1,05–2,11) (HRUSCHKA et al., 2003). Dados obtidos pelo estudo *Tongji Maternal and Child Health Cohort* na China (n = 2.877), demonstraram uma associação significativa entre lactogênese tardia e interrupção precoce de AME em 3 (RR 1,24; IC 95% 1,10–1,39) e 6 meses pós-parto (RR 1,14; IC 95% 1,04–1,24) (HUANG et al., 2020).

### 2.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO

O LH é composto por diversos constituintes como macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídeos), micronutrientes (vitaminas e minerais), células, bactérias e compostos bioativos (incluindo oligossacarídeos, hormônios, imunoglobulinas, citocinas) (CHRISTIAN et al., 2021). Sua composição é complexa e dinâmica, e se modifica ao longo do período de lactação para atender às necessidades nutricionais e imunológicas da criança (ANDREAS et al., 2015; BALLARD; MORROW, 2013).

A composição do LH é variável durante os estágios de lactação, entre mulheres, entre as mamas da mesma mãe, no decurso da mesma mamada, de acordo com o volume de LH produzido e dos diferentes estados nutricionais maternos (BALLARD; MORROW, 2013). As concentrações dos nutrientes presentes no LH podem ser influenciadas por uma variedade de fatores maternos e infantis, alguns dos quais podem ser modificáveis. Além disso, aspectos metodológicos, como o horário da coleta do LH, o método de extração, a técnica de análise dos nutrientes e a padronização das amostras podem influenciar os resultados obtidos (CHRISTIAN et al., 2018; DROR; ALLEN,

2018; BALLARD; MORROW, 2013).

O colostro é o primeiro LH a ser produzido, possui coloração amarelada e consistência viscosa, que preenche as células alveolares no último trimestre da gestação. A sua secreção é feita durante os 2-3 primeiros dias pós-parto em pequenos volumes e pode atingir cerca de 40-50 mL no primeiro dia. O colostro é rico em compostos imunológicos, como a Imunoglobulina A (IgA), lactoferrina, leucócitos, e contém alto teor de proteínas, vitaminas lipossolúveis (A, E e K) e citocinas (WHO, 2009). A ingestão de colostro na primeira mamada em até 60 minutos após o nascimento oferece benefícios que estão associados à duração prolongada do AM (MOORE et al., 2012) e redução da mortalidade infantil, especialmente em países de baixa renda (BOCCOLINI et al., 2013). Em geral, são ingeridos entre até 5 mL nesse momento (KENT; GARDNER; GEDDES, 2016).

O leite de transição é secretado entre 7 e 14 dias após o parto. Esse leite possui características semelhantes ao colostro, no entanto, apresenta concentrações inferiores de citocinas como a interleucina 10 e a interleucina 12 (BALLARD; MORROW, 2013). A produção do leite de transição tende a ser mais elevada (> 500 mL/24h), para atender às demandas nutricionais infantis (BALLARD; MORROW, 2013; ARTHUR; SMITH; HARTMANN, 1989).

O leite maduro começa a ser secretado a partir do 15º dia após o parto. Esse leite é composto por maiores concentrações de lipídeos e menores de fatores imunológicos, proteínas e lactose, que decrescem ao longo da lactação (BALLARD; MORROW, 2013, WHO, 2009). O teor de gordura no LH maduro pode atingir 3,6% em média, podendo variar de acordo com a hora do dia, dieta materna e duração da lactação (ANDREAS et al., 2015). O volume também é variável, contudo, mulheres com um único filho e em AME até 6 meses podem apresentar média de 710 a 830 mL de volume de leite por dia (BUTTE; KING, 2005).

#### 2.4 VOLUME DE LEITE E TÉCNICAS PARA SUA ESTIMATIVA

Mulheres em AME precisam manter uma produção adequada de LH. Características como boa motilidade intestinal, excreção de urina suficiente (NEIFERT, 2001) e ganho de peso infantil satisfatório (WHO, 2009) são indicações de lactação efetiva. Contudo, questionamentos e incertezas acerca da adequação da produção de LH

são frequentes e podem ser esclarecidas ou confirmadas por meio de uma avaliação objetiva (KENT et al., 2015).

Macy et al. (1930) foram pesquisadores pioneiros a realizar estimativas da produção de LH. Esses pesquisadores mediram a produção de LH das participantes por meio da extração manual do volume de leite total. Atualmente dois métodos são mais utilizados para a avaliação da produção de LH e volume ingerido pela criança por serem considerados confiáveis: teste de pesagem (KENT, PERRELLA, GUEDES, 2021; ROZNOWSKI et al., 2020) e a técnica de diluição de deutério (LAI et al., 2010; IAEA, 2010; COWARD et al., 1982), sendo esta última abordada com mais ênfase neste trabalho. Ambos os métodos apresentam vantagens e limitações (GEDDES et al., 2021), conforme demonstrado no Quadro 1.

**Quadro 1** - Vantagens e desvantagens das técnicas mais utilizadas para estimativa de ingestão e produção de leite humano

	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Teste de pesagem</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Permite investigação de padrões de amamentação;</li> <li>▪ Permite verificar como é a eficácia da remoção do leite humano pela criança.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Necessário acompanhar todas as mamadas, inclusive no período noturno;</li> <li>▪ Limitações práticas como: cooperação do responsável pela criança, possível estresse adicional e variabilidade nas medições;</li> <li>▪ Alterações na rotina mãe-filho, podendo ter um efeito nos padrões habituais de alimentação;</li> <li>▪ Uso de balanças de alta precisão, falta de viabilidade em ambientes menos desenvolvidos.</li> </ul>
<b>Diluição de deutério</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ É considerado o método mais acurado porque mede de forma direta a ingestão de LH;</li> <li>▪ Pode ser realizado sem interrupção da rotina habitual;</li> <li>▪ A medição não é considerada invasiva.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Não fornece informações sobre padrões de amamentação;</li> <li>▪ Análise requer equipamentos especializados e onerosos.</li> </ul>

Fonte: A autora.

O teste de pesagem é a técnica mais tradicionalmente aplicada para medir a ingestão e produção de LH (KENT et al., 2015; IAEA, 2010). Este método inclui a pesagem da criança completamente vestida antes e depois de cada mamada e, quando

necessário, antes e depois de cada alimentação complementar, bem como a medição da quantidade de LH ordenhado (KENT; GARDNER; GEDDES, 2016). O volume de LH é estimado a partir da diferença entre os pesos antes e depois de cada mamada. A ingestão diária é a soma de todas as mamadas individuais ao longo do dia (COWARD, 1984). Esse tipo de medição demonstrou ser reprodutível quando realizado duas vezes com um intervalo de 2 a 4 dias consecutivos entre as medições. A técnica demanda mais tempo e o procedimento tende a interferir no padrão habitual de alimentação (KENT; PERRELLA; GEDDES, 2021; ROOHI et al., 2000).

No estudo de Prentice et al. (1986), a performance da lactação foi avaliada em duas comunidades com condições nutricionais distintas. Em uma vila rural da Gâmbia, onde a dieta é marginalmente suficiente para a sobrevivência, foram realizados testes mensais de pesagem ao longo de 18 meses (n = 183). A outra comunidade, composta por mulheres de classe média e alta de Cambridge, Inglaterra, foi acompanhada por nove meses (n = 48). O volume de LH pode ser comparado diretamente até os 3 meses de idade devido ao AME. Apesar das diferenças contextuais, os resultados mostraram pouca variação no volume de LH no pico de três meses, levando os autores a concluir que o desempenho da lactação foi notavelmente semelhante entre as mulheres das duas comunidades.

Kent et al. (2006) observaram que a produção de LH foi relativamente estável em uma amostra de 71 mães de crianças australianas em AME entre 1 e 6 meses de idade. O valor médio foi de  $788 \pm 169$  g. O estudo foi conduzido com o método de pesagem, no qual as mulheres pesaram as crianças antes e depois de cada mamada por 24 a 26 horas e coletaram pequenas amostras de LH de ambas as mamas, a cada vez que a criança era pesada. No entanto, não houve correção da perda insensível de água corporal, que engloba a perda de água ocorrida sem a consciência direta do indivíduo, incluindo a transpiração, a respiração e as perdas associadas aos processos fisiológicos normais, como a produção de urina e fezes.

A técnica de diluição de deutério para medir o volume de LH foi introduzida em 1979 por Coward et al. (1979). Nessa técnica há administração de deutério à criança ou à mãe (COWARD et al., 1982). O princípio básico é o mesmo do método radioativo de Trítio ( $^3\text{H}$ ) comumente utilizado em animais na década de setenta. Trata-se de um procedimento baseado na medição da taxa de *turnover* da água no corpo usando um marcador. No entanto, o  $^3\text{H}$  foi substituído pelo deutério ( $^2\text{H}$ ) por ser um marcador não radioativo, podendo ser usado em humanos, e então extrapolado para calcular a ingestão



ou produção de LH (ROOHI et al., 2000).

O  $^2\text{H}$  é um isótopo estável de hidrogênio, capaz de ser metabolizado no corpo da mesma maneira que a água e é disperso pela água do corpo em questão de horas. Sua administração é feita oralmente na forma de óxido de deutério ( $^2\text{H}_2\text{O}$ ), também chamado de água deuterada, e após se misturar com a água corporal, é eliminado do organismo por meio da urina, saliva, suor e LH (IAEA, 2010). A técnica de deutério *dose-to-mother* consiste em fornecer água marcada com  $^2\text{H}_2\text{O}$  à mãe e acompanhar seu desaparecimento na mãe e sua aparição na criança (**Figura 1**).

**Figura 1** - Técnica de deutério "dose-to-mother"



1. Ingestão de  $^2\text{H}_2\text{O}$  pela mãe
2. Consumo de  $^2\text{H}_2\text{O}$  pela criança através do LH
3. A saliva da mãe e da criança são enriquecidas com  $^2\text{H}_2\text{O}$

Fonte: Adaptado de International Atomic Energy Agency (2010).

Nota:  $^2\text{H}_2\text{O}$ : óxido de deutério; LH: leite humano.

Essa técnica também permite estimar a ingestão de água da criança a partir de fontes que não sejam o LH e avaliar a composição corporal da mãe. A avaliação da ingestão de LH e da ingestão de água de fontes além do LH é baseada em um modelo de dois compartimentos, em que, a água corporal total (ACT) da mãe é o primeiro compartimento e a ACT da criança é o segundo compartimento. A conexão entre os compartimentos é o fluxo de LH da mãe para a criança (IAEA, 2010). Em um estado de

equilíbrio, as entradas de água são iguais às saídas e a quantidade de água presente em cada compartimento não varia. O método então mede as taxas de *turnover* de água corporal, que são então extrapoladas para calcular o volume de LH (RHOOI 2000). O cálculo é baseado no fluxo de água da mãe para o lactente, assumindo que o LH é composto por 87,1% de água (IAEA, 2010). Essa técnica é uma abordagem que não interfere nas práticas da alimentação habitual da criança, ao contrário do teste de pesagem ou de outros, como bombeamento de LH (DIANA et al., 2019; IAEA, 2010).

Sabe-se que os diferentes tipos de métodos para mensuração do volume de LH podem influenciar nos valores obtidos (RIOS-LEYVRAZ; YAO, 2023). Em um estudo comparativo dos métodos óxido de deutério *versus* teste de pesagem pelo método de Altman e Bland (1983), foram considerados 9 pares de mãe-filho americanos saudáveis, com idade entre 1 e 6 meses, sendo cinco em AME e quatro em AM. Observou-se uma concordância significativa na produção de LH em 24 horas entre a diluição de deutério e a avaliação por teste de pesagem, realizada ao longo de 5 dias. A diferença média foi de 12 mL (2%) e a diferença máxima obtida foi de 12%, sendo a estimativa pela diluição de deutério mais elevada (BUTTE et al., 1988).

Uma revisão sistemática abrangeu estudos realizados em países desenvolvidos (Europa, América do Norte, Austrália e Nova Zelândia) publicados entre 1970 – 2002 com crianças saudáveis, nascidas a termo e com idades entre 3 e 6 meses em AME. A pesquisa comparou três estudos (n = 43), que utilizaram métodos isotópicos, com 38 estudos (n = 1146) que utilizaram o teste de pesagem. Constatou-se que a medição do volume de LH em 24 horas, por meio da técnica de diluição de deutério, resultou em uma estimativa 8% mais alta do que a fornecida pelo teste de pesagem (p = 0,02) (REILLY; ASHWORTH; WELLS, 2005).

## 2.5 FATORES ASSOCIADOS AO VOLUME DE LEITE

### 2.5.1 Fatores maternos

Evidências científicas indicam que lactantes, exceto aquelas com patologias graves, possuem capacidade adequada para produzir LH em quantidade suficiente para sustentar a amamentação. Contudo, essa produção pode apresentar variações associadas a diversos fatores, como idade materna, paridade, estresse, uso de substâncias medicamentosas e estado nutricional (SLATER; KAESTEL; HOUGHTON, 2019; IOM, 1991).

### *Idade materna*

Um estudo da década de 80, com mães entre 15 – 37 anos e com filhos em AME (n = 18) demonstrou que maior faixa etária não apresenta um efeito prejudicial na produção de LH (DEWEY et al., 1986). Dados de um estudo posterior, com mulheres adultas de 23 – 42 anos e com crianças em AME (n=71), mostram que a produção média de LH é de 750 mL, avaliada a partir do teste de pesagem. Neste estudo não foi observada uma associação significativa entre a idade materna e a produção de LH ( $r^2 = 0,028$ ). Ainda nesta pesquisa, não foi encontrada relação entre a paridade e o volume de LH ( $r^2 = 0,051$ ) (KENT et al., 2006).

### *Paridade*

No estudo de coorte conduzido por Ingram et al. (1999) no Reino Unido com o uso de teste de pesagem entre 1–4 semanas pós-parto (n = 91), foi observado que a paridade pode desempenhar papel significativo no volume de LH durante a primeira semana pós-parto. As mulheres multíparas (n = 37) produziram 142 mL a mais de LH em 24 horas do que mulheres primíparas (n = 54) ( $p < 0,001$ ).

Em um ensaio randomizado realizado por Bystrova et al. (2007) com mulheres russas, as participantes foram agrupadas com base no tempo pós-parto e na paridade. O estudo incluiu 11 blocos de oito mães, divididos igualmente entre primíparas (n = 88) e multíparas (n = 88). Os resultados das 176 participantes mostraram que, no quarto dia após o parto, o volume médio de LH foi de 225 mL para primíparas e 239 mL para multíparas. Não houve diferença significativa na produção de LH entre os dois grupos quando praticavam amamentação sob livre demanda ( $p = 0,47$ ). No entanto, observou-se que as multíparas realizaram um número maior de mamadas por dia (8,6 vezes) em comparação com as primíparas (6,4 vezes) ( $p = 0,011$ ).

### *Estado nutricional materno*

A relação entre o estado nutricional materno e o volume de leite ainda não é completamente compreendida. Essas relações são complexas, devido a fatores biológicos e psicossociais, que podem contribuir para um AM sub-ótimo entre mulheres com baixo peso, sobrepeso ou obesidade. Estudos indicam que em mães lactantes com estado nutricional limítrofe, a composição do LH tende a se manter adequada (PRENTICE; GOLDBERG, 1994; IOM,1991). No entanto, outros estudos citam que em casos de desnutrição severa, a produção diária de LH pode ser comprometida (ETTYANG et al., 2005; SOLIMAN et al., 2014).

Murhima'Alika et al. (2016), em um estudo de coorte retrospectivo realizado na República Democrática do Congo com lactantes e crianças de 2 a 12 meses, investigaram duas categorias de mães: aquelas tratadas para desnutrição aguda severa na infância (n = 39) e um grupo controle da comunidade, sem histórico de desnutrição (n = 40). Os resultados indicaram que a desnutrição aguda severa na infância não afetou a capacidade de produção de LH entre o grupo de lactantes com histórico de desnutrição em relação ao grupo controle ( $827,4 \pm 171,4$  g/dia e  $833,7 \pm 152,1$  g/dia,  $p = 0,864$ , respectivamente).

Lactantes com obesidade, baseado no IMC ( $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), têm uma menor probabilidade de iniciar a lactação e maior probabilidade de interromper precocemente o AM em comparação com aquelas com eutrofia ( $\geq 18,5$ - $24,9$  kg/m<sup>2</sup>) (AMIR, 2007; RASMUSSEM et al., 2007). Essa disparidade pode ser atribuída a fatores como edema mamário pós-natal, atraso na ativação secretora, disfunção endócrina e fatores psicossociais (BEVER et al., 2015). Todavia, há poucos estudos que avaliaram essa relação com a produção de LH (KENT; PERRELLA; GEDDES, 2021).

O estudo transversal conduzido por Young et al. (2023) na Índia, envolveu 232 mulheres adultas com diferentes categorias de IMC (baixo peso, IMC  $< 18,5$  kg/m<sup>2</sup>; peso normal, IMC  $18,5$ - $24,9$  kg/m<sup>2</sup>; e sobrepeso/obesidade, IMC  $\geq 25,0$  kg/m<sup>2</sup>) e crianças com idades entre 2 e 4 meses, testou a associação entre o estado nutricional antropométrico materno (incluindo IMC e percentual de gordura corporal) e o volume de LH. O método utilizado foi o de deutério *dose-to-mother*. Os resultados mostraram que o IMC materno ( $\beta = -7,0$ ; IC95% :  $-12,4$ ,  $-1,6$ ) e o percentual de gordura ( $\beta = -3,5$ , IC 95%:  $-6,0$ ,  $-1,1$ ) foram negativamente associados ao volume de LH. Essas associações foram mais evidentes e significativas no modelo ajustado para idade materna, idade da criança, sexo, peso-para-idade e AME.

Diana et al. (2019) conduziram um estudo transversal para examinar a associação entre a massa de gordura materna e o volume de LH em mães em AME, cujos filhos tinham entre 2 e 5,3 meses de idade, em áreas rurais da Indonésia (n = 121). O método de deutério *dose-to-mother* foi empregado para avaliar tanto o volume de LH quanto o percentual de gordura materna. Os resultados revelaram uma associação negativa entre o volume de LH e a massa de gordura materna, medida pelo método de deutério ( $\beta = -4,88$ , IC 95%:  $-9,59$ ,  $-0,18$ ) mesmo após ajuste para nível socioeconômico, idade materna (anos), idade da criança (meses) e sexo.

### *Frequência de mamada e aspectos do sono materno*

No estudo de Kent et al. (2006), com lactentes saudáveis de 1 a 6 meses de idade, exclusivamente amamentados (n = 71), a média de ingestão de LH variou de 0 a 233 mL por dia. Além disso, foi observada uma frequência de mamadas entre 6 e 18 vezes durante 24 horas, com 64% da amostra amamentada de 1 a 3 vezes durante o período noturno. No período inicial de AM, distúrbios do sono clinicamente significativos são comuns e podem ter um efeito negativo na produção de LH e outros importantes indicadores de saúde materna (EIDELMAN, 2022).

O estudo de Carrega et al. (2020), teve por objetivo examinar o impacto do distúrbio do sono no volume de LH de 24 horas e na amamentação durante o período pós-parto inicial. Participaram do estudo 29 mulheres primíparas americanas durante a 2ª e a 4ª semana pós-parto, juntamente com seus filhos nascidos a termo e em AME até a 2ª semana pós-parto. Para medição do volume de LH foi utilizado o teste de pesagem. Os resultados revelaram uma relação inversa entre a qualidade de sono das mães, avaliada pela escala *Glasgow Sleep Disturbance Scale* (GSDS), e o volume de LH em 24 horas, sugerindo que uma qualidade de sono inferior está correlacionada a uma produção de LH mais baixa após 2 semanas pós-parto ( $r = - 0,42$ ,  $p = 0,03$ ).

### *Uso de fármacos e outros fatores*

Outros fatores determinantes da produção de LH foram destacados no estudo de revisão de Farah et al. (2021), como a ingestão de medicamentos ou substâncias que sabidamente inibem a síntese de LH (**Quadro 2**); a mastite, que além de afetar a produção de LH, também está associada a alterações na composição do leite (KENT; PERRELLA; GEDDES, 2021); e cirurgias nas mamas, traumas ou *piercing* no mamilo. Esses procedimentos podem alterar os ductos de passagem do LH, interrompendo assim a sua remoção e, com o tempo, potencialmente isolando o tecido glandular, causando estase do LH, apoptose e regressão do tecido (CHENG et al., 2018; KRAUT et al., 2017).

**Quadro 2** - Classes de medicamentos prejudiciais à lactação

Classe medicamentosa	Princípio ativo	Potencial efeito
Anti-histamínico	Difenidramina (Benadryl)	Diminuição da secreção de prolactina
	Clorfeniramina (cloro Trimeton)	
	Prometazina (Fenergan)	
Antipsicóticos atípicos	Aripiprazol (Abilify)	Redução da secreção de prolactina
Epinefrina	Cloridrato de pseudoefedrina (descongestionante)	Diminuição da prolactina e ocitocina. Reduz a produção de leite humano em até 24%
Bloqueadores dos receptores de estrogênio	Tamoxifeno (Nolvadex)	Supressão da lactação
Hormônios	Estrogênio	Eleva a dopamina, inibindo a prolactina
	Progestinas	Inibe a ligação da prolactina
Simpaticomiméticos	Fenilefrina (NeoSinefrina)	Diminuição da ocitocina, hormônio do crescimento e prolactina
	Pseudoefedrina (Sudafed)	

Fonte: Adaptado de Farah et al. (2021) e Geddes et al. (2021).

### 2.5.2 Fatores infantis

O estudo de revisão de Geddes et al. (2021) destaca que lactentes do sexo masculino tendem a ingerir cerca de 80 a 100 mL a mais do que as lactentes do sexo feminino. Essa característica também reflete na capacidade de armazenamento da mama, sendo maior para mães de meninos (ENGSTROM, 2007; MITOULAS et al., 2002). No estudo de da Costa et al. (2010), com crianças em aleitamento materno predominante, foi observado que o volume de LH em crianças do sexo masculino (n = 555; 803 mL/dia) é cerca de 5% maior em relação às do sexo feminino (n = 551; 749 mL/dia) (p < 0,01). Esse fato pode ser atribuído à maior massa magra dos meninos ao longo da infância e às percepções maternas de que os meninos têm necessidades energéticas mais elevadas, exigindo um maior volume de LH (da COSTA et al., 2010).

O peso ao nascer é frequentemente associado com a produção de LH, especialmente em crianças nascidas pré-termo (GOMEZ-JUGE et al., 2023; KEDIDA,

ASFAW, ABEBE, 2023; ASZTALOS, 2018). O baixo peso ao nascer é associado a um menor volume de LH ingerido, comumente atribuído a fatores como o atraso na lactogênese II e o subdesenvolvimento dos reflexos de sucção e deglutição (YU et al., 2019). Estudos de revisão destacam que crianças com maior peso ao nascer apresentam sucção mais vigorosa, uma maior frequência ou duração da amamentação, o que pode resultar em um aumento do volume de LH (KENT; PERRELLA; GEDDES, 2021; IOM, 1991).

A relação entre o peso do lactente e o volume de LH é complexa e pode apresentar um caráter bidirecional. Por um lado, o peso infantil pode influenciar a demanda por LH, já que crianças maiores possuem necessidades nutricionais mais elevadas e, conseqüentemente, consomem maiores volumes de LH. Em contrapartida, mães com alta produção de LH podem favorecer um crescimento infantil mais acelerado, destacando a influência materna nesse processo (YOUNG et al., 2023). Na revisão e meta-análise de Rios- Leyvraz e Yao (2023), foi observado que o peso corporal infantil é um possível preditor para o volume de LH ingerido, no entanto, não foram avaliadas as diferenças entre crianças nascidas a termo e pré-termo.

Em um estudo da década de 90 com dados do *The DARLING Study (Davis Area Research on Lactation, Infant Nutrition and Growth)*, a ingestão de LH foi avaliada por teste de pesagem em 73 crianças nascidas a termo e em AME aos 3 meses de idade. Observou-se que o peso ao nascer e o peso aos 3 meses de idade foram positivamente correlacionados à ingestão de LH ( $r = 0,33$ ;  $r = 0,56$ , respectivamente). No entanto, em uma regressão múltipla com outras variáveis explicativas como sexo e duração da amamentação (minutos), apenas o peso aos 3 meses de idade e a duração da amamentação permaneceram significativos, representando 37% da variância na ingestão de LH ( $p < 0,001$ ) (DEWEY et al., 1991).

Kent, Gardner e Geddes (2016) avaliaram 116 mães australianas com filhos nascidos a termo, em AME ou parcialmente amamentados, com idades entre 6 e 28 dias. As participantes foram divididas em dois grupos: com e sem problemas percebidos de amamentação. O teste de pesagem foi utilizado para medir o perfil de amamentação, considerando a soma da ingestão total de LH e o volume ordenhado. Apenas 53 mulheres completaram o perfil de 24 horas, e não foi encontrada associação significativa entre o peso ao nascer e a produção de LH ( $p > 0,13$ ).

No estudo conduzido por Huang e Chih (2020), que incluiu pares de mães e filhos saudáveis de Taiwan em AME durante o primeiro mês pós-parto ( $n = 23$ ), o volume de

LH foi avaliado por teste de pesagem. A amostra foi dividida em quem tinha frequência de aleitamento <10 vezes por dia (grupo I) e ≥10 vezes por dia (grupo II). Os resultados revelaram que o volume de LH por mamada foi significativamente maior no grupo II em comparação com o grupo I (71,6 ± 4,0 mL *versus* 54,1 ± 5,2 mL,  $p < 0,05$ ). Além disso, a frequência de aleitamento ≥10 vezes/dia mostrou-se associada positivamente as concentrações basais de prolactina e ao ganho de peso infantil.

Kent et al. (2013) estudaram 52 mulheres e crianças australianas nascidas a termo e em AME durante o período de 1 – 6 meses. Os autores observaram que a frequência de aleitamento diminuiu em 0,2 vezes a cada semana ( $p < 0,001$ ) entre 1 e 3 meses, enquanto não foram observadas mudanças significativas entre 3 e 6 meses. Os autores também observaram que cada amamentação adicional resultou, em média, em uma redução de 10,4 mL no volume de leite por mamada ( $p < 0,001$ ), enquanto cada semana adicional de idade da criança aumentou o volume de leite em 0,7 mL ( $p = 0,002$ ). O efeito combinado da diminuição da frequência e aumento da idade da criança está associado a maior eficiência da ingestão de LH durante a mamada.

A frequência da amamentação também pode variar após a introdução de alimentos complementares, e pode variar de acordo com a disponibilidade de LH e tipos de alimentos, bem como as demandas da criança, incluindo suas necessidades nutricionais, padrões de ingestão e comportamento alimentar (WHO, 2009). No estudo de revisão e meta-análise de Rios-Leyvraz e Yao (2023) com 167 estudos, ao avaliar subgrupos de diferentes práticas de AM, foi observada a maior ingestão de volume de leite entre crianças em AME (729 mL/dia;  $n = 5.961$ ) em relação às crianças de AM misto (634 mL/dia;  $n = 6.523$ ) ( $p = 0,031$ ).

Haisma et al. (2003), conduziram um estudo com crianças de 4 meses de idade ( $n = 70$ ) em Pelotas, Brasil, e utilizaram o método de diluição de deutério para medição da ingestão de LH e um questionário de frequência e quantidade de alimentos para classificar as práticas de AM. A amostra foi dividida em AME ( $n = 35$ ), AM predominante ( $n = 16$ ) e AM parcial (ParcAM) ( $n = 19$ ). Observou-se uma maior média de volume de LH no grupo AME (815 mL/dia) em relação aos grupos AM predominante (763 mL/dia) e ParcAM (603 mL/dia), sem significância estatística ( $p = 0,26$ ). No entanto, o volume de LH de crianças ParcAM foi significativamente menor em comparação com crianças em AME ( $p = 0,004$ ).



## 2.6 SAÚDE MENTAL MATERNA

Fatores psicológicos, como depressão, baixa autoconfiança e estresse, podem influenciar negativamente a forma como a mãe responde às necessidades da criança, impactando de maneira adversa o AM (KENT et al., 2021). Segundo a definição da OMS, a saúde mental é caracterizada por um estado de bem-estar no qual o indivíduo reconhece suas próprias habilidades, é capaz de lidar com os estresses comuns da vida, desempenha um papel produtivo e contribui para sua comunidade. O transtorno depressivo, também conhecido como depressão, é um transtorno mental comum, que envolve um humor deprimido ou perda de prazer ou interesse em atividades por longos períodos (WHO, 2023).

A depressão encontra-se entre as principais enfermidades crônicas que afetam pessoas jovens (10 a 49 anos) em escala mundial, sendo as mulheres mais atingidas (LIU, 2020). Esta enfermidade foi classificada como a quarta principal causa de transtornos mentais e estima-se que aproximadamente 350 milhões de pessoas são acometidas (KESSLER; BROMET, 2013; WHO, 2023). No entanto, a depressão comumente não é diagnosticada e tratada devido ao estigma associado à condição, à limitada eficácia das opções terapêuticas disponíveis e à insuficiência de recursos destinados à saúde mental (SMITH; de TORRES, 2014).

O período perinatal é repleto de transformações e alterações na saúde mental estão entre as principais comorbidades durante essa fase da vida (HOWARD et al., 2014). Entre essas alterações, destacam-se os *blues* puerperais, um fenômeno comum e transitório que acomete a maioria das mulheres nos primeiros 4 a 10 dias após pós-parto. Esses sintomas, embora desconfortáveis, são considerados leves, autolimitados e não comprometem o funcionamento diário (KROSKA; STOWE, 2020). No entanto, apesar de sua natureza geralmente benigna, podem ser confundidos com a DPP, que apresenta maior gravidade e uma prevalência global combinada de 17,7% (HAHN-HALBROOK et al., 2018).

A fisiopatologia da DPP é complexa e ainda não completamente elucidada. Contudo, há evidências de que fatores biológicos, como alterações hormonais, predisposição genética e função imunológica, podem desempenhar um papel significativo. De acordo com a *American Psychiatric Association* (2013), a DPP não é definida como um código diagnóstico único pelo *Diagnostic and Statistical Manual of*

*Mental Disorders* (DSM-5). Em vez disso, utiliza-se o diagnóstico de transtorno depressivo maior com o especificador “com início no periparto”, indicando que os sintomas surgem durante a gravidez ou nas primeiras 4 semanas após o parto.

Os critérios diagnósticos incluem a presença de sintomas por, no mínimo, 2 semanas, impacto clínico significativo e exclusão de outras causas. Em contextos de pesquisa, o período da DPP é definido de forma menos rígida, podendo ser relacionado durante a gravidez ou até 12 meses após o parto (KROSKA; STOWE, 2020). De forma geral, o diagnóstico da DPP é marcado por uma grande variabilidade, que inclui o momento de início, histórico prévio de depressão, fatores relacionados à gestação e a criança, condições sociais, carga genética e influências endócrinas. Essa diversidade de características pode levar à manifestação de diferentes fenótipos depressivos, o que torna desafiadora a identificação de fatores etiológicos específicos, incluindo os hormonais (STEWART; VIGOD, 2019).

A sintomatologia da DPP, em geral, pode incluir sentimentos de extrema tristeza, culpa, baixa autoestima e desesperança (DOIS et al., 2012). A duração é variável, e embora a maioria dos casos se resolva em alguns meses com tratamento, aproximadamente 40% das mulheres com DPP experimentam recaídas, seja durante uma gestação subsequente ou de forma independente da gravidez. Quando não tratada, a DPP tende a recair repetidamente, resultando em episódios depressivos recorrentes e trazendo consequentes dificuldades para o vínculo mãe-bebê e para a família. O manejo eficaz da DPP requer uma abordagem abrangente e, frequentemente, multidisciplinar, que envolve autocuidado materno, proteção do sono, exercício físico, estratégias de apoio psicossocial, investigação e gerenciamento de estressores sociais, comorbidades médicas e psiquiátricas (STEWART; VIGOD, 2016; STEWART; VIGOD, 2019).

A depressão durante a gestação e no pós-parto é um importante problema de saúde pública que afeta mulheres em todo o mundo. Estudos demonstram que alterações na saúde mental materna no período gestacional e pós-parto parecem ser mais prevalentes nos países de baixa e média renda quando comparados aos países desenvolvidos (DENNIS; FALAH-HASSANI; SHIRI, 2017; WOODY et al., 2017; BRUMMELTE; GALEA, 2016). Dadi, Miller e Mwanri (2020) realizaram uma revisão sistemática e meta-análise abrangendo países de baixa e média renda, incluindo 58 estudos (n = 63.293) publicados entre 2007 e 2017 e conduzidos na África, em países das Américas do Norte e do Sul, e na Ásia. Observou-se um aumento na prevalência de DPP de 18% em 2010-2012 para 25% (2016-2017) em países de média e baixa renda nos

últimos sete anos.

O estudo de Theme-Filha et al. (2016), a partir dos dados do inquérito nacional "Nascer no Brasil 2011-2012", envolvendo 23.894 mulheres entre 6 – 18 meses pós-parto, revelou que a prevalência de DPP foi de 25,7% entre as mulheres até nove meses após o parto e de 27,1% entre aquelas de 9 a 18 meses pós-parto. Além disso, ao investigar os potenciais fatores de risco nesta amostra, foi observado que a DPP está predominantemente associada a fatores sociodemográficos e individuais, como etnia, classe econômica, histórico de problemas de saúde mental e consumo de álcool.

Múltiplos fatores de risco ambientais foram relacionados à DPP, como, a depressão pré-natal, gravidez não planejada, ansiedade pré-natal, baixa ou nula interação mãe-filho, falta de apoio social, dependência financeira e/ou conjugal, multiparidade, baixa escolaridade, desemprego, estado marital (separação, divórcio ou ausência de apoio conjugal) e histórico de violência (O'HARA; MC CABE, 2013; VAZ et al., 2014; ZHAO; ZHANG, 2020). Disparidades raciais e étnicas também são comumente relacionadas à DPP, com as mães autodeclaradas negras apresentando a maior prevalência do transtorno (ONYEWUENYI et al., 2023).

Além disso, fatores relacionados como nutrição e estilo de vida, como dieta materna, e estado nutricional, também estão sendo investigados em relação ao maior risco de depressão pós-parto, como por exemplo, o IMC pré-gestacional elevado. No estudo serial e transversal de Kadhka et al. (2024), foram analisados dados dos prontuários eletrônicos de saúde da *Kaiser Permanente Southern California* (KPSC), abrangendo 442.308 nascimentos de 2010 - 2021. A DPP foi diagnosticada com mais frequência entre mulheres com sobrepeso ou obesidade. Houve maior prevalência entre as mulheres com obesidade classe I (16,7% *versus* 13,5%) e obesidade classe II/III (15,4% *versus* 10,4%). Outros exemplos, são deficiências de nutrientes, como a vitamina D. No Brasil, o estudo conduzido por Figueiredo et al. (2017) com 179 mulheres brasileiras ao longo da gestação, revelou que maiores concentrações de vitamina D (25(OH)D nmol/L) no primeiro trimestre gestacional estão associadas a uma menor probabilidade de sintomas depressivos durante a gestação ( $p=0,047$ ).

Conforme citado, os sintomas depressivos nesse período podem prejudicar a relação entre mãe e filho, o que compromete os cuidados nutricionais com a criança, assim como o desenvolvimento físico e mental (BRUMMELTE; GALEA, 2016). Na revisão sistemática de Farías-Antúnez, Xavier e Santos (2018) foram considerados apenas estudos longitudinais publicados até 2017 ( $n = 20$ ) e que englobavam crianças

desde o nascimento até os 18 anos de idade. A depressão materna resultou em um déficit no crescimento durante o primeiro ano de vida, e de forma persistente até os cinco anos de idade.

### **2.6.1 Depressão pós-parto e aleitamento materno**

A DPP é a condição psiquiátrica mais comum que se associa ao sofrimento materno, cujo período de alto risco ocorre geralmente nos primeiros meses após o parto (EVAGOROU et al., 2016), mesmo período em que a OMS preconiza o AME (WHO, 2001). A amamentação proporciona um impacto psicológico positivo na mãe, melhorando seu bem-estar e sua interação com a criança (POPE; MAZMANIAM, 2016). Inicialmente, a relação entre amamentação e DPP foi considerada como sendo unidirecional, já que, o efeito protetor do AM na saúde mental materna seria capaz de atenuar as respostas ao estresse e reduzir o risco de desenvolver depressão (YSTROM, 2012; SEIMYR et al., 2004). No entanto, estudos observaram que a DPP estava ligada a menores taxas de amamentação e à interrupção precoce do AME e, ainda, que a não amamentação e o desmame precoce estavam associados ao aumento do risco de DPP (POPE; MAZMANIAM, 2016).

A atenção à saúde mental materna e à amamentação são consideradas questões críticas de saúde pública. A relação entre AME e DPP tem sido investigada por diversos pesquisadores (DIAS et al., 2015; POPE; MAZMANIAM, 2016; DAGLA et al, 2021;), contudo, os estudos acerca deste tema têm sido desenvolvidos predominantemente em países de alta renda (ISLAM, 2021). Apesar de ser uma temática com grande relevância, ainda não há um consenso bem estabelecido sobre sua causalidade e em que direção ela ocorre (POPE; MAZMANIAM, 2016).

Em um estudo qualitativo que teve como um dos objetivos identificar os antecedentes, barreiras e facilitadores da amamentação para mães americanas com DPP (n=34), as participantes identificaram cinco fatores antecedentes que favorecem a iniciação da amamentação: o apoio profissional, saúde da criança, saúde materna, custo-benefício e fé. Quanto à manutenção da amamentação, foram destacados quatro fatores facilitadores: conexão com o bebê, redução do estresse, características pessoais da mãe e estratégias logísticas. Além disso, sete barreiras foram apontadas: dor física, preocupações com a nutrição do bebê, sentimentos negativos, dificuldades com a pega, condições médicas, amamentação em público e sono (STELSON et al., 2021).

Na revisão sistemática conduzida por Slomian et al. (2019), apenas 22 dos 122 artigos elegíveis avaliaram a associação entre a DPP e amamentação. Esses estudos, em sua maioria foram conduzidos nos Estados Unidos e Europa, e envolveram mães com idades entre 13 e 49 anos. Os resultados indicaram que as mães com sintomas depressivos apresentaram maior probabilidade de interromper o AME, enfrentar dificuldades na amamentação, relatar baixa autoeficácia na amamentação, ou seja, uma menor confiança em sua própria capacidade de amamentar. Além disso, escores mais altos de sintomas depressivos também foram associados ao desmame precoce.

No trabalho de Flores-Quijano et al. (2008) mulheres lactantes e crianças nascidas a termo no México (n = 163) foram acompanhados entre a segunda e 12<sup>o</sup> semana pós-parto. Os resultados mostram que 24,5% das mulheres apresentaram escore EPDS compatível com risco de sintomas depressivos (escore  $\geq 13$  na escala EPDS) e 59% não se sentiram seguras para amamentar, devido à falta de confiança em sua capacidade de produzir LH suficiente. A presença de sintomas de DPP e a baixa confiança em amamentar foram significativamente correlacionadas entre si ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,01$ ). Ainda, foi observado que a presença de sintomas depressivos pós-parto está correlacionada ao AME ( $r = 0,22$ ;  $p < 0,05$ ). As mulheres com DPP optaram pela introdução de alimentos complementares precoce em relação as mulheres sem sintomas de DPP ( $p = 0,006$ ).

Os resultados obtidos em uma coorte com 83 mulheres brasileiras em AME, no período de até 210 dias pós-parto corroboram com o estudo de Flores-Quijano et al. (2008). Nesta pesquisa, a DPP foi identificada como um potencial fator de risco para a autoeficácia em amamentar e para a interrupção precoce do AME. Os resultados indicaram que o grupo de mulheres com sintomas depressivos (escore  $\geq 10$  na escala EPDS) interrompeu o AME, em média, 10 dias antes das mulheres sem sintomas, sendo que a mediana de duração da amamentação exclusiva no grupo sem sintomas foi de 38 dias pós-parto ( $p < 0,03$ ). Além disso, as chances de interrupção do AME diminuíram em 80% quando a autoeficácia das mulheres aumentou ( $p = 0,0058$ ) (VIEIRA et al., 2018).

No estudo de Wouk et al. (2017) com a população norte-americana (n = 44.294), foram utilizados dados do Sistema de Monitoramento de Avaliação de Risco de Gravidez (*Pregnancy Risk Assessment Monitoring System - PRAMS*) 2010–2011 para investigar a relação entre saúde mental e práticas de AM. Os dados indicaram que aos 3 meses pós-parto 12% das mulheres relataram sintomas de DPP. Foi observado que as mulheres com sintomas de DPP tinham 0,58 (IC 95%: 0,50, 0,68) vezes menos chances de praticar

AME aos três meses após o parto, em comparação com aquelas que não relataram sintomas de DPP.

Em culturas ocidentais, estudos mostraram que a percepção de leite materno insuficiente está ligada a sintomas depressivos, sugerindo que essa percepção pode atuar como um mediador na relação entre a depressão e a interrupção precoce da amamentação (Dennis & McQueen, 2009; Zubaran & Foresti, 2013). Rahman et al. (2016) em um estudo de coorte em uma região rural do Paquistão, avaliou uma amostra composta por 132 mulheres com depressão e 147 mulheres sem depressão, que foram acompanhadas desde o terceiro trimestre de gestação até 6 meses pós-parto. Neste trabalho, a presença de depressão esteve associada a um menor número de dias de AME, 91,8 dias vs. 108,7 dias (IC 95%: 3,4; 30,3,  $p = 0,014$ ). Não foi observada diferença na quantidade de LH produzido (24h) aos 4 meses pós-parto entre mães com e sem depressão ( $p = 0,57$ ). No entanto, as mães com depressão foram significativamente mais propensas a relatar percepção de leite insuficiente em relação as mulheres não depressivas, de acordo os escores do questionário de percepção de leite insuficiente aos 6 meses pós-parto (34,4 vs. 39,7,  $p = 0,004$ ).

Apesar da relação entre a DPP e a amamentação, são escassos os estudos que investigam a DPP em relação ao volume LH. Carrega et al. (2020) investigaram o sono materno no pós-parto, a DPP e volume de LH em 29 mulheres primíparas e crianças a termo, durante a segunda semana pós-parto e o primeiro mês de vida. Nesse estudo, o modelo completo indicou que fadiga materna, os sintomas depressivos e qualidade do sono explicaram 24% da variância total no volume de LH ( $R^2 = 0,24$ ,  $p = 0,08$ ); no entanto, a baixa qualidade do sono contribuiu com 21% da variância total para o menor volume de leite, resultando em uma mudança significativa no  $R^2$  ( $F(1, 25) = 6,73$ ,  $p = 0,02$ ). A pior qualidade do sono foi o único preditor significativo para um menor volume de LH (24h) ( $\beta = -0,70$ ,  $p = 0,02$ ).

Um estudo investigou 34 mulheres primíparas japonesas no primeiro mês pós-parto que amamentavam exclusivamente ou parcialmente, e avaliou o papel do sono e a fadiga nesse período com a DPP. A média de frequência de aleitamento foi de  $12,4 \pm 3,2$  vezes/dia e o tempo total médio de amamentação foi de  $247,4 \pm 101,8$  min/dia. A frequência de sono no terceiro dia pós-parto, o tempo total médio de amamentação e a fadiga no quinto dia pós-parto foram fatores que afetaram o escore dos sintomas depressivos pela EPDS ( $p \leq 0,05$ ) (KAWASHIMA et al., 2022).

No estudo longitudinal de Rudzik et al. (2023), realizado na Inglaterra com 61

mulheres com crianças nascidas a termo, foram coletados dados nas semanas 6, 12 e 18 pós-parto. Os resultados indicaram que os sintomas de DPP podem estar associados a distúrbios do sono, devido à percepção negativa do sono entre as mulheres com sintomas depressivos. No entanto, os escores da EPDS não foram mais elevados entre as participantes que amamentavam exclusivamente em comparação com as que usavam fórmula, em nenhum dos momentos avaliados: 6 semanas (AME: 4,84; fórmula: 4,05;  $p = 0,762$ ), 12 semanas (AME: 4,00; fórmula: 3,60;  $p = 0,733$ ) e 18 semanas (AME: 4,65; fórmula: 3,95;  $p = 0,673$ ).

A confiança na prática de amamentar evolui à medida que o nível de apoio social aumenta e as atitudes que impulsionam o comportamento de amamentação mudam positivamente (MERCAN; SELCUK, 2021). A identificação, avaliação das questões psicológicas maternas e o fornecimento de apoio às mães lactantes podem ajudar a melhorar a adesão à amamentação (GILA-DÍAZ et al., 2020). Mais investigações são necessárias para determinar as contribuições relativas dos fatores fisiológicos e psicológicos (KENT et al., 2021).

### 3. JUSTIFICATIVA

O AM é amplamente reconhecido como um dos pilares da saúde infantil e há diversas evidências acerca dos benefícios que sustentam sua recomendação. Além disso, dado o crescente reconhecimento da importância da amamentação para o binômio mãe-filho, bem como os desafios enfrentados para ampliar a prevalência de aleitamento materno mundialmente, compreender os determinantes do volume de LH torna-se essencial. Tal conhecimento pode subsidiar estratégias para otimizar a produção de LH e apoiar mulheres na manutenção da amamentação, promovendo, assim, benefícios diretos para a saúde materna e infantil.

Características do aleitamento materno, como o volume de LH, a frequência e duração das mamadas e introdução de outros líquidos e/ou alimentos podem ser modelados por uma complexa interação de fatores, incluindo aspectos fisiológicos, emocionais, ambientais e sociais. Apesar da importância da temática, a variabilidade nas características do AM precisam ser melhores investigadas, identificando diferentes padrões, e considerando também o uso de metodologias mais avançadas na estimativa do volume de leite, como a técnica de deutério *dose-to-mother*, reconhecida como padrão-ouro.

Há uma evidente lacuna na literatura científica quanto à trajetória do volume de LH e às características do AM ao longo da lactação na população brasileira, particularmente no que se refere a dados longitudinais que explorem os determinantes do, como fatores maternos, infantis e contextuais, bem como as variações associadas a diferentes fases da lactação. Ademais, a escassez de estudos que englobam crianças nascidas a termo e não exclusivamente amamentadas limita a compreensão abrangente do aleitamento. Além disso, faz-se importante considerar o crescente aumento na prevalência de alterações na saúde mental materna no período perinatal e seus impactos na saúde da mãe e da criança. Entender como sintomas depressivos durante este período podem influenciar na performance de lactação é fundamental, tendo em vista que a DPP tem relação com a iniciação tardia da amamentação, menor autoconfiança no volume de leite secretado e cessação precoce do aleitamento materno.

Os dados advindos dessa tese poderão elucidar fatores que afetam o volume de LH com o uso do método padrão-ouro, de forma longitudinal, e em mulheres brasileiras, dado inédito na literatura, além de contribuir com dados sobre sintomas depressivos e



características do aleitamento materno até 8,5 meses pós-parto. Poderão ainda, fortalecer as ações e políticas públicas voltadas para o incentivo ao aleitamento materno no Brasil, visando a promoção de uma prática mais eficaz e sustentável por meio do início precoce do AM e sua manutenção de forma exclusiva até os 6 meses, bem como ampliar o entendimento acerca das necessidades nutricionais infantis, já que são desconhecidas em sua completude.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a associação entre fatores sociodemográficos, ambientais e da saúde materno-infantil e a trajetória do volume de leite (1–8,5 meses pós-parto), e investigar a relação entre sintomas depressivos maternos no pós-parto e os diferentes padrões de aleitamento materno ao longo dos primeiros 8,5 meses pós-parto.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

#### **Artigo 1**

- i. Descrever a trajetória do volume de leite durante a lactação, entre 1–8,5 meses pós-parto.
- ii. Testar a associação entre fatores maternos e infantis (sociodemográficos, estilo de vida, obstétricos e de saúde) e o volume de leite ao longo do tempo do período entre 1–8,5 meses pós-parto.

#### **Artigo 2**

- iii. Identificar as trajetórias de sintomas depressivos maternos no período entre 1–8,5 meses pós-parto.
- iv. Explorar os padrões de aleitamento materno, considerando características como o volume de leite, a frequência e duração das sessões de aleitamento e idade de introdução de líquidos e alimentos no período entre 1 – 8,5 meses pós-parto.
- v. Avaliar a associação entre as trajetórias de sintomas depressivos no pós-parto e os padrões de aleitamento materno, tendo em vista, dados do período entre 1–8,5 meses pós-parto.

## **5. HIPÓTESES**

### **Artigo 1**

Características sociodemográficas, comportamentais e de saúde influenciam o volume de leite humano produzido por lactantes. A maior idade materna, presença de sobrepeso pré- gestacional, parto cesáreo e menor renda familiar estão relacionados a um menor volume de leite. Por outro lado, mães de crianças do sexo masculino, o maior número de partos, maior tempo de AME e frequência estão associados a uma maior média de volume de leite.

### **Artigo 2**

A presença de sintomas depressivos em mulheres durante o período pós-parto está associada às características como redução no volume de leite, menor frequência de mamadas ao dia, e à interrupção precoce do aleitamento materno exclusivo.

## 6. MÉTODOS

### 6.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

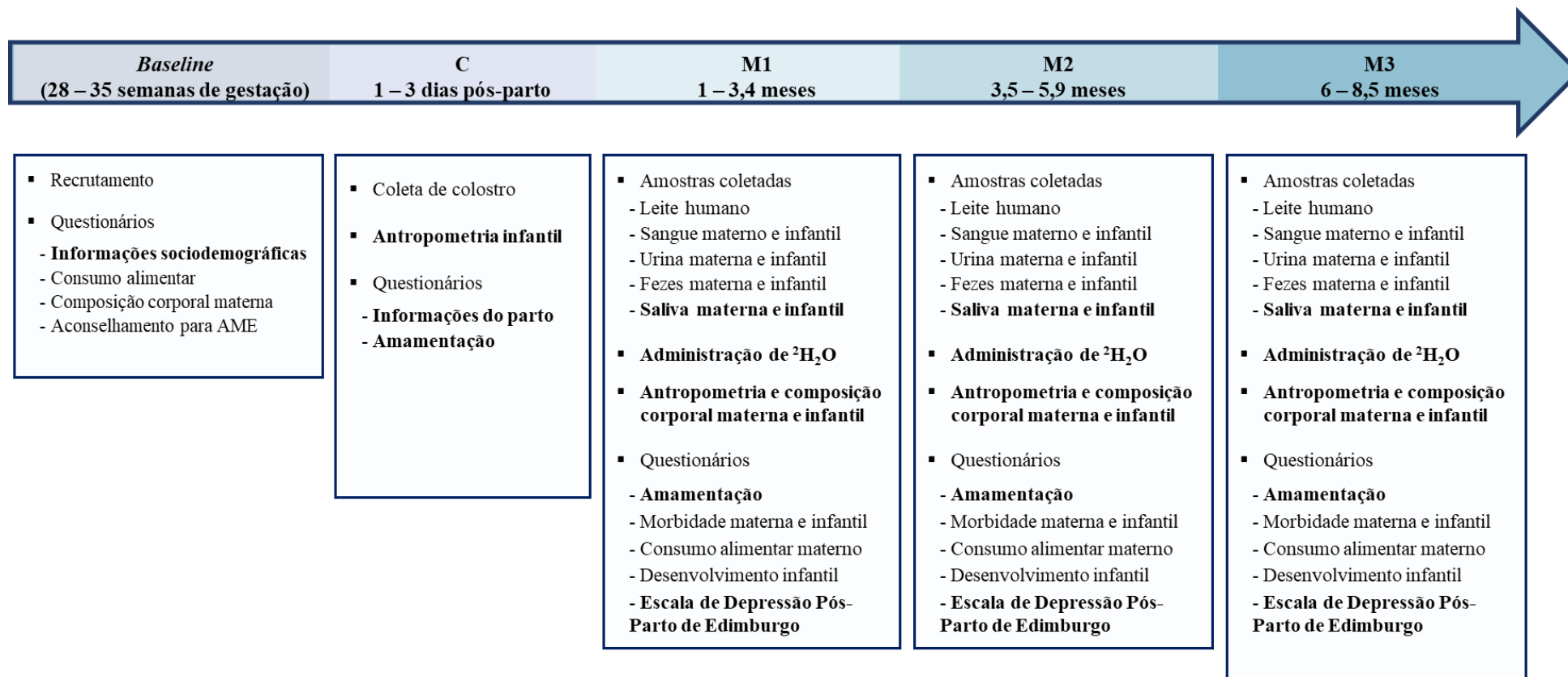
O MILQ é um estudo com desenho longitudinal prospectivo composto pelo *baseline* e quatro pontos de acompanhamento. O recrutamento das participantes ocorreu durante o terceiro trimestre de gestação entre 28 – 35 semanas (*baseline*), e as demais etapas de seguimento em até 72h após o nascimento (C); 1 – 3,49 meses (M1); 3,5 – 5,9 meses (M2) e 6 – 8,5 meses (M3) (Figura 2). Nesse estudo foram considerados os dados sociodemográficos (*baseline*); informações do parto, amamentação e dados antropométricos (C); saliva materna e infantil, administração de deutério, antropometria materna e infantil, dados de práticas de AM e de sintomas depressivos (M1, M2 e M3), conforme destacado na Figura 2.

### 6.2 LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO

A coleta de dados ocorreu no Hospital Maternidade Herculano Pinheiro, localizada no bairro de Madureira, Zona norte da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Este hospital está integrado ao programa Cegonha Carioca e atende gestantes de onze unidades de saúde, incluindo clínicas da família e centros municipais de saúde da área programática 3.3 do município.

Foram recrutadas mulheres adultas, saudáveis e seus filhos. O recrutamento ocorreu durante a “Visita Cegonha”, momento em que a gestante realiza a visita à maternidade e participa de ações educativas promovidas pela equipe do hospital. Neste momento, as mulheres foram abordadas, avaliadas de acordo com os critérios de elegibilidade e então convidadas a integrar a amostra do estudo. A amostra do presente estudo foi composta por pares de mães-filhos participantes do estudo multicêntrico MILQ – Brasil, que tiveram amostras de saliva analisadas em pelo menos um ponto de acompanhamento (**Figura 3**).

**Figura 2** - Fluxograma do estudo MILQ Brasil



Fonte: O autor.

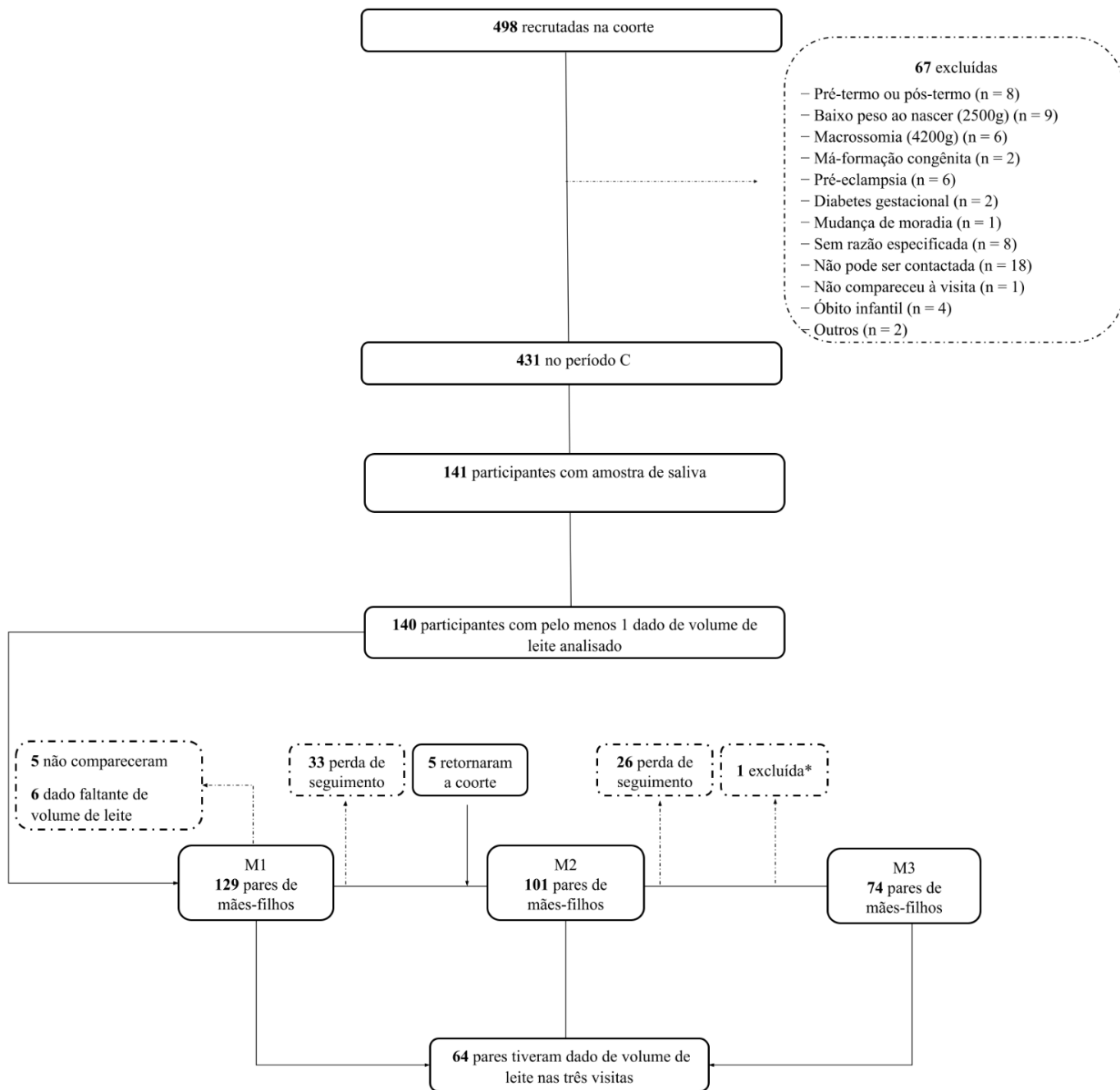
Notas: AME: Aleitamento materno exclusivo; <sup>2</sup>H<sub>2</sub>O: água com óxido de deutério.

### 6.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DO ESTUDO

Os critérios de elegibilidade para participação no estudo foram: idade entre 18 e 40 anos; gestação de feto único; ausência de problemas médicos relevantes anteriores à gestação ou atuais; ausência de suplementação de vitaminas ou minerais durante o terceiro trimestre de gestação ou lactação, com exceção de ferro e ácido fólico; intenção de amamentar de forma exclusiva pelo menos até 3,5 meses e de forma complementada até 8,5 meses; índice de massa corporal pré-gestacional  $\geq 18,5$  e  $< 30$  kg/m<sup>2</sup>; estatura  $> 145$  cm; consumo de álcool  $< 30$ g por semana; não ser tabagista e dieta composta por pelo menos quatro dos oito grupos de alimentos investigados, consumidos no mínimo três vezes por semana, incluindo obrigatoriamente os grupos 4, 5 ou 6 (Grupos: 1. Leguminosas; 2. Nozes, sementes e castanhas; 3. Leite e derivados; 4. Carnes, aves e pescados; 5. Ovos; 6. Vegetais verde escuros; 7. Frutas e vegetais alaranjados; 8. Outras frutas e vegetais).

Os critérios de exclusão do estudo foram: desenvolvimento de diabetes gestacional e/ou pré-eclâmpsia, má-formação congênita, recém nascido prematuro ou pós-termo; peso ao nascer  $< 2.500$ g e  $> 4.200$  gramas; interrupção do aleitamento materno exclusivo antes da etapa de acompanhamento de 1 – 3,5 meses; desmame antes de 8,5 meses pós-parto; problemas de saúde materna grave; comprimento para idade, peso para idade ou peso para o comprimento  $< -2$  escore-Z; suplementação materna de micronutrientes durante a lactação, exceto ferro e ácido fólico.

**Figura 3** - Fluxograma do estudo e seleção das participantes incluídas no artigo 1



Fonte: O autor.

Nota: 1 exclusão por valor implausível. M1 (1 – 3,49 meses pós-parto); M2 (3,5 – 5,9 meses pós-parto); M3 (6 – 8,5 meses pós-parto).

## 6.4 PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS E AMOSTRAS BIOLÓGICAS

### 6.4.1 Coleta de dados

Os questionários foram aplicados com uso de computadores, *tablets* e/ou *notebooks*, por meio do *Research Eletronic Data Capture* (REDCap) *online*, um software que permite a construção, utilização e o gerenciamento de formulários de entrada de dados ( <http://project-redcap.org/>). Treinamentos com a equipe de entrevistadores foram realizados anteriormente e ao longo do estudo, com o objetivo de garantir a qualidade dos dados coletados no estudo, padronizar as entrevistas e reduzir o viés de informação.

O refinamento no controle de qualidade na coleta de dados também foi previamente estruturado com o estabelecimento de valores limites nos campos de respostas dos formulários disponíveis na plataforma e por meio da revisão dos questionários aplicados diariamente por meio de outro entrevistador.

### 6.4.2 Coleta de saliva

A coleta de saliva foi realizada para estimar o volume de leite de 24 horas, por meio do método de transferência de deutério mãe-criança, estabelecido pela *International Atomic Energy Agency* (IAEA) (IAEA, 2010). Inicialmente, verificou-se que não houve ingestão de alimentos sólidos e/ou líquidos por pelo menos 30 minutos anteriores ao início do procedimento de coleta.

As amostras de saliva foram coletadas nos períodos M1, M2 e M3. O peso corporal materno e infantil foi medido antes da administração de óxido de deutério. A pesagem das mulheres participantes foi realizada em balança Tanita, modelo MC-780U (Tanita Corporation, Arlington Heights, USA) e as crianças em balança pediátrica digital SECA 376 (Seca GmbH & Co., Hamburg, Germany). O peso corporal da mãe e da criança foi novamente medido no 14<sup>o</sup> dia de coleta de saliva, seguindo os mesmos procedimentos.

Em cada um dos pontos de acompanhamento, foi coletada uma amostra de saliva pré- dose e posteriormente foi ofertado uma dose de 30g de óxido de deutério à mãe (Número do produto: S17385, Sercon, Reino Unido). A dose de óxido de deutério foi preparada em um frasco devidamente identificado, com auxílio de uma balança analítica calibrada com precisão de 0,01 g (AD3300, Marte Científica, Brasil).



As participantes ingeriram a dose de óxido de deutério por meio de um canudo. Em seguida, cerca de 25 mL de água potável foram adicionados ao mesmo frasco. O conteúdo foi então vertido repetidamente e oferecido novamente à mãe para assegurar a ingestão completa de qualquer resíduo remanescente. Esse procedimento foi repetido três vezes. Nos dias 1, 2, 3, 4, 13 e 14 subsequentes de cada onda de acompanhamento, foram coletadas aproximadamente 0,5 mL de amostra de saliva da mãe e do filho por meio de bolas de algodão. O conteúdo de saliva foi retirado das bolas de algodão por meio de uma seringa e transferido para tubos criogênicos rotulados com o número de identificação dos participantes, data e hora da coleta da amostra. Os tubos foram alocados em sacos zip-lock devidamente identificados e mantidos armazenados a -80°C até o envio para o *St. John's Research Institute*, localizado em Bangalore, Karnataka, Índia. Neste laboratório, foram conduzidas as análises destas amostras sob responsabilidade do professor Anura Vishwanath Kurpad, do departamento de fisiologia.

## 6.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO

### 6.5.1 Variáveis dependentes

#### 6.5.1.1 Análise do volume de leite

A avaliação da concentração de deutério na saliva foi medida por espectrometria por infravermelho com transformada de Fourier, do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) (4500t FTIR, Agilent Technologies, Santa Clara, Estados Unidos), com o uso do software MicroLab PC®. Primeiramente, foi realizado o teste de controle de qualidade (água potável e 1000 mg/kg de óxido de deutério), para assegurar que o teor de deutério estivesse dentro da faixa esperada. Os resultados foram registrados em gráfico de Shewhart, uma ferramenta de controle usada monitorar a variação dos dados ao longo do tempo em um processo. Este gráfico exibe os pontos de dados coletados, juntamente com os limites de controle, facilitando a identificação de variações significativas no processo.

Todas as análises foram realizadas com a amostra em temperatura ambiente. Iniciou-se com todas as amostras da mãe em ordem consecutiva, da pré-dose ao 14º dia pós-dose, e posteriormente as amostras da criança, seguindo a mesma sequência. A análise das amostras de saliva anterior a dose e pós-dose de óxido de deutério foram

feitas em duplicata. Considerou-se um resultado aceitável, aqueles com diferença entre as duplicatas consecutivas dentro de 3 mg/kg. Todos os dados foram registrados diretamente em planilhas do Microsoft Excel, fornecidas pelo IAEA.

O cálculo da ingestão de leite materno baseou-se no modelo de estado estacionário de dois compartimentos, ajustando os dados de concentração de deutério a um modelo de *turnover* de água na mãe e na criança. O *turnover* da água na mãe foi gerado pela equação exponencial (1) e os dados da criança foram ajustados de acordo com o modelo multi-exponencial (2).

$$\frac{E_{m(t)}}{E_{m(0)}} = e^{-k_{mm}t} \quad (1)$$

$E_{m(t)}$  refere-se ao enriquecimento isotópico no corpo da mãe no tempo  $t$ ;  
 $t$  é o tempo desde que a dose foi ingerida, ou seja, o tempo após a dosagem em dias;  
 $E_{m(0)}$  é o enriquecimento de deutério no tempo zero;  
 $k_{mm}$  é o *turnover* de água na mãe (kg/dia), ou seja, a inclinação da curva de eliminação do isótopo.

$$E_{b(t)} = E_{m(0)} \left( \frac{F_{bm}}{V_b} \right) \left( \frac{e^{-k_{mm}t} - e^{-\left(\frac{F_{bb}}{V_b}\right)t}}{\left(\frac{F_{bb}}{V_b}\right) - k_{mm}} \right) \quad (2)$$

$E_{b(t)}$  refere-se ao enriquecimento isotópico no corpo da criança no tempo  $t$ ;  
 $F_{bm}$  é a água transferida da mãe-filho através do LH (kg/dia);  
 $V_b$  é a distribuição total de deutério da criança (kg), determinados pelo peso da criança;  
 $F_{bb}$  é a perda total de água do lactente (kg/dia).

As curvas de enriquecimento da mãe e da criança foram ajustadas a partir da função 'Solver' do Microsoft Excel, que visa minimizar a diferença entre os dados

observados e os valores previstos pelo modelo. Isso permite um ajuste mais preciso dos dados, determinando as constantes que melhor se alinham com os pontos coletados e resultando em uma curva de ajuste mais precisa. E então, são extrapoladas para o cálculo da ingestão de LH (3), assumindo que o LH é composto por 87,1% de água (HOLLAND et al, 1991).

$$M = \frac{F_{bm}}{0.871 \text{ kg/d}} \quad (3)$$

#### 6.5.1.2 Padrão de aleitamento materno

Essa variável foi definida como um conjunto de características do AM [volume de leite, frequência de aleitamento, duração do aleitamento por mamada e idade de introdução de líquidos/alimentos]. A avaliação do volume de leite foi relatada na subseção anterior. Os demais dados foram autorrelatados pela participante e coletados por meio de questionários sobre as práticas de aleitamento materno ao longo do período do estudo (M1, M2 e M3). A frequência de aleitamento materno em 24h foi calculada a partir da soma do número de vezes em que a participante relatou amamentar durante o período diurno (6h às 21h59) e noturno (22h às 5h59) em cada onda de acompanhamento. A duração média do aleitamento materno por mamada foi relatada pela participante em minutos, a cada encontro. Já a idade de introdução de líquidos/alimentos foi obtida com base no relato do mês e a semana em que qualquer líquido, alimento sólido ou semi-sólido foi introduzido na dieta da criança, com exceção de soluções de reidratação oral, xaropes vitamínicos ou minerais e medicamentos. As idades relatadas em meses e semanas foram convertidas para dias, considerando-se 30,44 dias por mês e 7 dias por semana, e posteriormente expressas como idade em dias.

### 6.5.2 Variáveis independentes

#### 6.5.2.1 Variáveis sociodemográficas, de estilo de vida, obstétricas e saúde

Foram aplicados questionários estruturados para coletar os dados sociodemográficos, de estilo de vida, obstétricas e de saúde. As variáveis sociodemográficas e de estilo de vida incluídas nesse estudo foram coletadas no *baseline*: idade materna (anos), escolaridade (anos de estudo), renda familiar (valor total mensal em reais), cor da pele autodeclarada (branca, negra, parda e outros), situação conjugal (com e sem parceiro), peso pré-gestacional (kg) e altura (m). O IMC pré-gestacional foi obtido por autorrelato da participante sobre peso e altura no período anterior à gestação. O cálculo foi feito pela fórmula peso (kg) dividido pela altura ao quadrado (m<sup>2</sup>) e classificado conforme os pontos de corte da OMS (1995). Valores entre  $\geq 18.5$  e  $< 25.0$  kg/m<sup>2</sup> foram considerados como eutrofia, e valores entre  $\geq 25.0$  e  $< 30.0$  kg/m<sup>2</sup> como sobrepeso.

As seguintes variáveis obstétricas e de saúde da criança foram coletadas no período C: paridade (primíparas/múltiparas), tipo de parto (vaginal/cesáreo), sexo da criança (feminino/masculino) e aleitamento materno na primeira hora de vida (sim/não), de forma autorrelada. Já o peso ao nascer (gramas), foi obtido por meio da caderneta da criança.

#### 6.5.2.2 *Status* de aleitamento materno e frequência de aleitamento

Dados sobre o *status* de aleitamento materno e a frequência de aleitamento foram obtidas nos períodos M1, M2 e M3. A frequência de aleitamento materno em 24h foi calculada a partir da soma do número de vezes em que a participante relatou amamentar durante o período diurno (6h às 21h59) e noturno (22h às 5h59) em cada visita. A variável foi então categorizada em acima ou igual à média ou abaixo da média, com base na média de frequência de amamentação ao longo do período de estudo.

O *status* de aleitamento materno foi determinado com base no relato da mãe e dividido em duas categorias. Na categoria "Aleitamento Materno Exclusivo" (AME), foram incluídas crianças em AME, de acordo com a classificação da OMS (WHO, 2007). A outra categoria, "Não-AME", foi estabelecida com base no relato materno sobre a idade em que a criança foi introduzida a líquidos e/ou alimentos sólidos/semissólidos.

#### 6.5.2.3 Sintomas depressivos pós-parto

A EPDS validada para a população brasileira (SANTOS et al., 2007) foi

aplicada nos períodos M1, M2 e M3 para o rastreio dos sintomas de depressão pós-parto. Esta ferramenta de triagem desenvolvida por Cox, Holden e Sagovsky (1987) é comumente empregada no período perinatal (HEWITT et al., 2010; O'CONNOR et al., 2015). A escala é constituída por 10 enunciados com quatro opções de respostas com pontuação 0, 1, 2 ou 3 de acordo com a presença e intensidade dos sintomas depressivos relativos aos sete dias anteriores a entrevista. A pontuação pode variar de 0 – 30 pontos (Anexo 1).

A aplicação da escala foi realizada cuidadosamente em local reservado e sem a presença do companheiro ou acompanhantes, para evitar possível constrangimento materno com relação a alguma das questões abordadas. Para este estudo, foi considerado os valores do escore da EPDS, e também o ponto de corte de  $\geq 11$  para determinar a prevalência de sintomas depressivos (LEVIS et al., 2020). É válido ressaltar que as participantes do estudo no Brasil que apresentaram escores maiores que onze na EPDS foram referenciadas para acompanhamento clínico com especialistas em saúde mental do Instituto de Psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IPUB).

## 6.6 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Maternidade Escola da UFRJ (ANEXO 2), pelo CEP da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (ANEXO 3) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE 64767717.4.3001.5279) (ANEXO 4). As atividades da pesquisa foram conduzidas seguindo as orientações da Declaração de Helsinki (WMA, 2013) e da resolução 466/2012 da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (BRASIL, 2012).

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi apresentado e explicado a cada participante no momento do recrutamento (ANEXO 5). As participantes que aceitaram participar do estudo assinaram uma via do documento, que foi entregue ao entrevistador, e receberam uma cópia para si, contendo informações sobre a pesquisa e o contato do pesquisador responsável.

## 6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 6.7.1 Artigo 1

A normalidade dos dados foi avaliada utilizando o teste de Shapiro-Wilk, histogramas, medidas de assimetria e curtose. As variáveis maternas e infantis categóricas foram descritas por meio de frequências absolutas e relativas, e as variáveis contínuas usando a média e desvio padrão; e mediana e intervalo interquartil. A inspeção de valores discrepantes e implausíveis na variável desfecho empregou o método para estudos longitudinais proposto por Boone-Heinonen et al. (2019).

As médias de volume de leite foram descritas em média e desvio-padrão para M1, M2, M3, de acordo com as variáveis maternas e infantis. A trajetória de volume de leite entre 1 – 8,5 meses pós-parto foi estimada usando modelos lineares mistos longitudinais. O volume médio de leite foi expresso em mL/dia e o tempo em semanas pós-parto. O modelo linear misto bivariado foi utilizado para avaliar a relação entre fatores maternos e infantis e o volume de leite. Esses modelos foram usados para selecionar apenas covariáveis significativas ( $p < 0,20$ ) para inclusão no modelo múltiplo.

Foram desenvolvidos modelos lineares de efeitos mistos longitudinais para examinar as associações entre idade materna, renda familiar total, paridade, peso ao nascer, frequência da amamentação, *status* de amamentação e volume de leite ao longo do tempo. O intercepto e o tempo em semanas foram considerados como efeitos aleatórios. Testes de razão de verossimilhança foram conduzidos para avaliar a significância dos componentes aleatórios incorporados no modelo. A multicolinearidade foi avaliada com o uso de técnicas diagnósticas, incluindo análise do fator de inflação da variância (VIF) e matrizes de correlação, para examinar as interrelações entre as variáveis independentes.

Interações entre fatores maternos-infantis significativos e tempo (semanas pós-parto) foram testadas para avaliar como as mudanças no volume de leite ao longo do tempo diferiam com base nas variáveis paridade, frequência da amamentação e *status* de aleitamento materno. Apenas resultados significativos foram apresentados nos gráficos de interação. A significância estatística dos termos de interação foi estabelecida em  $p < 0,10$ , considerando o poder limitado para detectar interações em amostras pequenas (ALTMAN; BLAND, 2003).

Foram usados gráficos de diagnóstico para verificar violações de todas as suposições dos modelos: gráficos residuais foram usados para avaliar a linearidade e homocedasticidade. Gráficos de quantil-quantil foram empregados para avaliar a normalidade tanto dos resíduos quanto dos efeitos aleatórios. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Stata Data Analysis and Statistical Software (STATA, StataCorp, College Station, TX, USA), versão 15.0, e o pacote de software estatístico R, versão 3.6.0 (The R Foundation, Vienna, Áustria).

### 6.7.2 Artigo 2

A distribuição das variáveis contínuas foi avaliada utilizando histogramas, o teste de Shapiro-Wilk e a análise das medidas de assimetria e curtose. As características maternas e infantis foram descritas por meio do cálculo das frequências absolutas e relativas para as variáveis categóricas, enquanto as médias/desvios padrão e as medianas/amplitude interquartil foram utilizadas para as variáveis contínuas. Outliers e valores implausíveis para o desfecho foram avaliados visualmente por meio de boxplots e histogramas, com valores que excederam três desvios padrão acima ou abaixo da média ( $\pm 3$  DP) classificados como outliers.

Para desenvolver as trajetórias dos sintomas depressivos pós-parto utilizando os escores do EPDS, foi empregado um Modelo de Crescimento de Classes Latentes (*Latent Class Growth Model* - LCGM), um tipo especializado de Modelo de Mistura de Crescimento (*Growth Mixture Model* - GMM). Essa abordagem permite identificar classes latentes distintas antes de realizar o GMM. O modelo considera medidas repetidas ao longo do tempo, com o objetivo de identificar classes latentes que reflitam a heterogeneidade das trajetórias longitudinais de sintomas depressivos na população (HOEKSTRA et al., 2015). Essa técnica facilitou a identificação de classes latentes de mulheres que apresentaram trajetórias semelhantes de escores de sintomas depressivos ao longo do estudo, com base nas diferenças interindividuais e nos padrões latentes na população. A seleção do número apropriado de classes latentes foi guiada pelo menor valor absoluto do Critério de Informação de Akaike (AIC) e do Critério de Informação Bayesiano (BIC), além de considerar a proporção de indivíduos em cada classe latente, garantindo que cada classe contivesse pelo menos 5% da amostra (HERLE et al., 2020). Duas trajetórias foram identificadas em nosso estudo.

Um gráfico aluvial, um tipo de diagrama de fluxo, foi utilizado para visualizar

as transições dos dados dos sintomas depressivos ao longo dos períodos do estudo. Um ponto de corte de  $\geq 11$  foi utilizado para determinar a prevalência de sintomas depressivos dentro de cada uma das trajetórias identificadas (SANTOS et al., 2007).

A técnica *K-means clustering* foi aplicada para agrupar as mulheres em subgrupos homogêneos com base em semelhanças nas variáveis relacionadas ao aleitamento materno (volume de leite materno, frequência e duração do aleitamento, e idade de introdução de líquidos ou alimentos) ao longo do período do estudo, a fim de identificar padrões de aleitamento materno. O pacote de software R ‘kml3d’ foi utilizado para realizar o agrupamento das trajetórias longitudinais. O número de grupos foi determinado com base na análise dos valores de AIC e BIC, considerando também a interpretação clínica dos grupos resultantes e a adequação das proporções de participantes em cada grupo. Três clusters distintos foram obtidos.

Modelos multinomiais foram ajustados para avaliar a associação entre as trajetórias de sintomas depressivos pós-parto e os padrões de aleitamento materno, ajustando-se para fatores individuais e sociodemográficos. Variáveis de confusão foram selecionadas a priori com base em evidências teóricas da relação entre a depressão pós-parto e o aleitamento materno (idade materna, paridade, escolaridade materna e IMC pré-gestacional). Razões de chances (OR) com intervalos de confiança de 95% foram estimadas, e a significância estatística foi considerada para  $p < 0,05$ . Todas as análises foram realizadas utilizando a versão 4.1.0 do software R (The R Foundation, Vienna, Áustria).



## 7. RESULTADOS

A seção de resultados será apresentada no formato de dois artigos científicos elaborados para a tese de doutorado. O primeiro artigo intitula-se “*Maternal and infant factors associated with human milk trajectory in the postpartum period*”/“Fatores maternos e infantis associados com a trajetória do volume de leite humano no período pós-parto”. Já o segundo artigo intitula-se “*Associations between postpartum depressive symptom trajectories and breastfeeding patterns: Results from the MILQ-Brazil study*”/“Associação entre a trajetória de sintomas de depressão pós-parto e padrões de aleitamento materno: Resultados do estudo MILQ Brasil”.

## 7.1 Artigo 1 (em processo de validação pelo projeto principal)

*Maternal and infant factors associated with human milk trajectory in the postpartum period*

### Abstract

**Background:** Studies describing trajectories of milk volume throughout lactation and the role of maternal and infant factors using the deuterium dilution method (DTM) are scarce in the literature. **Objective:** To describe the role of socio-economic, environmental, and maternal-child health factors on the variation in milk volume from 1 to 8.5 months postpartum. **Methods:** Data MILQ cohort with Brazilian healthy mother-child pairs (n=140; 304 observations) were collected at 1-3.49 months, 3.5-5.9 months, and 6-8.5 months. Maternal and infant saliva samples were collected to estimate 24-hour milk volume using the DTM. Linear mixed-effects models were employed to assess changes in milk volume over time, and models were developed to examine associations. Interactions between significant maternal-infant factors and time (weeks postpartum) were tested to evaluate how changes in milk volume over time differed based on these factors. **Results:** Longitudinal linear mixed-effect models revealed a significant variation in milk volume, with an approximate decline of 4 mL per week ( $\beta = -4.3$ ; SE = 1.29;  $p < 0.001$ ). Changes in milk volume for primiparous women decreased 5 mL per week more steeply than multiparous women ( $\beta_{interaction} = -5.17$  (-10.43; 0.09); SE = 2.67;  $p = 0.055$ ). Milk volume variation indicated that women who breastfed > 13 times/day had an additional 9.97 mL per week throughout the study period compared to those who breastfed < 13 times/day ( $\beta_{interaction} = 9.97$  (5.02; 14.91); SE = 2.51;  $p < 0.001$ ). The interaction between exclusive breastfeeding status and time indicated a faster decrease in volume, approximately 11 mL per week, among mothers with non-exclusively breastfed children compared to the exclusive breastfeeding group ( $\beta_{interaction} = -11.16$  (-22.21; -10.00); SE = 2.88;  $p < 0.001$ ). **Conclusions:** The results revealed that parity, breastfeeding frequency, and breastfeeding status modify the trajectory of milk volume over time. These findings underscore the relevance of promoting breastfeeding as a fundamental maternal and infant care component.

**Keywords:** milk volume; deuterium technique; breastfeeding; longitudinal study

## **Introduction**

Breastfeeding is essential to achieving global goals in nutrition, health, economic growth, and environmental sustainability (WHO, 2018). Human milk (HM) provides nutrition perfectly tailored for the baby and promotes healthy growth and development (MOSCA et al., 2017). The World Health Organization (WHO) recommends HM as the exclusive source of feeding and hydration for infants during the first six months postpartum and as a significant complementary source for up to 2 years (WHO, 2001) as it offers numerous short- and long- term benefits for children and mothers (WONG et al., 2018; HORTA; VICTORA et al., 2016; LORET DE MOLA; VICTORA, 2015; VICTORA et al., 2016; KAC et al., 2004).

In the last decade, exclusive breastfeeding (EBF) rates during the first six months of life have increased globally, reaching approximately 48% in 2023 (WHO, 2023). In Brazil, despite improvements observed in the rates of EBF and continued breastfeeding between 1996 and 2019, national prevalences still fall short of the goals established by the WHO (BOCCOLINI et al., 2023; UFRJ, 2021; WHO, 2021). The interruption of EBF and early weaning are influenced by several factors, with the mother's perception of insufficient milk supply being one of the crucial determinants (KENT et al., 2021).

During the EBF period (birth – six months), HM production is considered relatively stable (KENT et al., 2006). Studies show that the normal range of 24-hour milk volume spans from 440 to 1220 g (KENT et al., 1999; KENT et al., 2007). A study from the late eighties observed slight variations in milk volume among different population groups and concluded that the production of HM in women from developing and developed countries is similar (PRENTICE et al., 1989).

Longitudinal studies on this topic are scarce in the literature, and due to high attrition rates in these studies, the corresponding milk production rates represent only a select group of women and thus do not reflect the population variability in milk production and infant nutrient requirements (WHO, 2002). Currently, to quantify milk volume, the deuterium oxide method is considered the gold standard, as it is an approach that does not interfere with usual breastfeeding practices, unlike the test weighing or milk expression, both commonly used in studies (DIANA et al., 2019; IAEA, 2010).

Although limited, the literature highlights several aspects that may be associated with milk volume, ranging from maternal sociodemographic and anatomical characteristics to infant health conditions (GEDDES et al., 2021; KENT, PERRELLA, & GEDDES, 2021). Therefore, this manuscript aims to estimate the trajectory of milk volume throughout lactation and assess possible socio-economic, environmental, and maternal-child health factors influencing this variation over time.

## **Methods**

### **Study Design**

This study is part of the prospective multicenter cohort study ‘The Mothers, Infants, and Lactation Quality (MILQ)’, which involves participant recruitment during the third trimester of gestation (baseline) and follow-up across four subsequent stages within 48 hours after birth (C); 1 to 3.49 months (M1); 3.5 to 5.99 months (M2), and 6 to 8.5 months (M3) (ALLEN et al., 2021). The MILQ comprised participants from Bangladesh, Brazil, Denmark, and the Gambia. For the present study, we included a subset of Brazilian women (n=140) who collected one or more saliva samples during the study period (Figure 1).

The participants in this study were recruited from a maternity hospital located in Rio de Janeiro, Brazil, between 2018 and 2020. Eligibility criteria comprised recruitment of healthy mother-child pairs between 37 and 42 weeks of gestation, singleton pregnancy, 18–40 years of age, no vitamin or mineral supplementation during the third trimester of pregnancy or lactation (except for iron and folic acid), intention to breastfeed exclusively, pre-pregnancy body mass index (BMI)  $\geq 18.5$  and  $< 30$  kg/m<sup>2</sup>, height  $> 145$  cm, non-vegan or macrobiotic diet, alcohol consumption  $< 30$ g per week and non-smoking.

Women were excluded from the study in cases of infant congenital malformation, birth weight  $< 2.500$  g or  $> 4.200$  g, cessation of EBF before M2, weaning before 8.5 months postpartum, severe maternal health problems, length-for-age, weight-for-age, or weight-for-length Z-score  $< -2$  and maternal supplementation of micronutrients during lactation except for iron and folic acid.

## **Saliva samples and milk volume analysis**

To estimate the 24-hour milk volume, the deuterium-oxide dose-to-mother method (DTM), established by the International Atomic Energy Agency (IAEA) (IAEA, 2010), was employed. A 30g dose of deuterium oxide (Product Number: S17385, Sercon, United Kingdom) was prepared using a calibrated analytical scale AD3300 (Marte científica, Brazil). More details of how the dose was prepared can be found elsewhere (IAEA, 2010).

Maternal and infant saliva samples were collected before deuterium oxide administration (baseline) after assurance that neither mother nor infant had consumed food or fluid in the past 30 min. During visits M1, M2, and M3, women consumed a single dose of deuterium oxide (30g) with drinking water. Subsequently, post-dose saliva samples from mother and child were collected on days 1, 2, 3, 4, 13, and 14. Women's body weight was measured on a Tanita scale, model MC-780U (Tanita Corporation, Arlington Heights, USA), and children's weight on a SECA 376 digital pediatric scale (Seca GmbH & Co. Hamburg, Germany), both at baseline and on day 14 of collection.

Approximately 0.5 mL of saliva was collected at each time point and stored in cryogenic tubes at -80°C. The frozen samples were shipped on dry ice to the St. John's Research Institute, Koramangala, Bengaluru, India, for analysis. Deuterium-concentrated saliva samples were measured using Fourier-transform infrared spectroscopy (4500t FTIR, Agilent Technologies, Santa Clara, United States), and the results were entered into an IAEA spreadsheet (Microsoft Excel 2013) to calculate the 24-hour milk volume by fitting the curve using the embedded equations (IAEA, 2010).

## **Sociodemographic, health, and breastfeeding variables**

The questionnaires were administered using the Research Electronic Data Capture (REDCap), a software that enables the construction, use, and management of data input forms. Quality control in data collection was ensured by setting predefined acceptable values in the response fields of the forms available on the platform and through daily reviews of the administered questionnaires.

Structured questionnaires were administered during baseline data collection to collect sociodemographic data: maternal age (years/tertile), maternal schooling (years), total monthly family income (tertile), self-reported skin color (white, black,

mixed race, and others), parity (primiparous/multiparous), and marital status (with or without a partner). Pre-pregnancy body mass index (BMI) was calculated in kg/m<sup>2</sup> from self-reported pre-pregnancy weight (kg) and height (m) and categorized as normal weight ( $\geq 18.5 - < 25.0$  kg/m<sup>2</sup>) and overweight ( $\geq 25.0 - < 30.0$  kg/m<sup>2</sup>) (WHO, 1995).

Data regarding childbirth were collected, including delivery mode (vaginal/cesarean), infant sex (female/male), birth weight (grams/tertile), and breastfeeding within the first hour of life (yes/no). Data about breastfeeding status, which varied over time, was based on maternal reports of the infant's age of introduction to complementary foods. EBF was defined as the child receiving only HM without any other liquids or foods except medications. The Non-exclusive breastfeeding (non-EBF) category was determined based on the age (in days) when the child was introduced to liquids and/or solid/semi-solid foods. The breastfeeding frequency was calculated by summing the number of times the participant reported breastfeeding during the day and at night. The mean over time was used as a cutoff point to categorize the variable as "below or equal to the mean" or "above the mean".

## **Ethics**

The study was approved by the Research Ethics Committee (CEP) of the Maternity School of Rio de Janeiro Federal University, by the CEP of the Municipal Health Secretariat of Rio de Janeiro, and by the National Commission for Ethics in Research (CAAE 64767717.4.3001.5279). Research activities were conducted following the guidelines of the Helsinki Declaration of 1975 (WMA, 2013).

## **Statistical analyses**

The distribution of continuous variables was assessed using histograms, Shapiro-Wilk test, measures of skewness, and kurtosis. Maternal and infant characteristics were described by evaluating categorical variables using absolute and relative frequencies and continuous variables using mean/standard deviation and median/interquartile range.

An assessment for outliers and implausible values for the outcome was conducted through visual inspection using boxplots, histograms, and the method for longitudinal studies by Boone-Heinonen et al. (2019). Only one implausible value

was identified and excluded (n=1).

Longitudinal linear mixed-effect models were employed to investigate the relationship between milk volume and time and were used to estimate the milk volume trajectory. The milk volume was expressed in mL/day and described over time, considering the weeks of the postpartum period (4 – 36 weeks).

Milk volume among maternal [maternal age, total family income, skin color, parity, delivery type] and infant [infant sex, birth weight, breastfeeding in the first hour of life, breastfeeding frequency, breastfeeding status] variables at each study point (M1, M2 and M3) were expressed as mean and standard deviation (SD). Bivariate mixed-effects models assessed the relationship between maternal and infant factors and milk volume over time. Covariates were selected *a priori* based on theoretical evidence about potential factors related to milk volume. These models were used to select only significant covariates at  $p < 0.20$  under bivariate modeling for inclusion in the final model.

Longitudinal linear mixed-effects models were developed to examine the associations between maternal age, total family income, parity, birth weight, breastfeeding frequency, breastfeeding status, and milk volume over time. The intercept and time in weeks were considered as random effects. Likelihood ratio tests were conducted to assess the significance of the incorporated random components in the model. Multicollinearity was assessed using diagnostic techniques, including variance inflation factor (VIF) analysis and correlation matrices, to examine the interrelationships among independent variables and identify potential multicollinearity issues. Statistical significance was defined as a p-value  $< 0.05$ .

Interactions between significant maternal-infant factors and time (weeks postpartum) were tested to evaluate how changes in milk volume over time differed based on factors (parity, breastfeeding frequency, and breastfeeding status). The statistical significance of interaction terms was set at  $p < 0.10$ , considering the limited power to detect interactions in small samples (ALTMAN; BLAND, 2003). Only statistically significant results were presented in the interaction plots. We performed diagnostic plots to check for violations of all the model's assumptions; residual plots were used to assess the linearity and homoscedasticity. Quantile-quantile plots were employed to determine the normality of the residuals and random effects. Statistical analyses were performed using Stata Data Analysis and Statistical Software (STATA, StataCorp, College Station, TX, USA), version 15.0, and the R statistical

software package, version 4.3.0 (The R Foundation, Vienna, Austria).

## Results

The mean age of the study participants was 27 years, and 76% had between 8 and 12 years of education. Fifty-seven percent had a normal pre-pregnancy BMI, and 60% reported having >1 child. The breastfeeding status varied across follow-up visits, where at M1, 92% were exclusively breastfeeding, while at M2 and M3, 41% and 5% were exclusively breastfeeding (Table 1).

The longitudinal model revealed a significant variation in milk volume, with an approximate decline of 4 mL per week (Figure 2). In the longitudinal model, primiparous participants presented a higher milk volume than multiparous women ( $\beta = 86.88$ ; SE = 35.46;  $p = 0.015$ ). Mothers of infants born weighing 3160 – 3470 grams exhibited a higher average milk volume than infants weighing 2540 – 3150 grams at birth ( $\beta = 81.6$ ; SE = 39.2;  $p = 0.030$ ). Women who breastfed > 13 times/day during the study period had a higher milk volume in this lactation period ( $\beta = 49.12$ ; SE = 22.63;  $p = 0.031$ ). Mothers with non-EBF infants showed a trajectory of milk volume with a significant decline over time compared to EBF mothers ( $\beta = -63.83$ ; SE = 21.82;  $p = 0.003$ ) (Table 3).

Interaction models with time revealed associations between parity, breastfeeding frequency, breastfeeding status, and milk volume. Milk volume for primiparous women decreased more steeply compared to multiparous women ( $\beta_{\text{interaction}} = -5.17$ ; SE = 2.67;  $p = 0.055$ ) (Figure 3A). Women who breastfed >13 times/day had an additional average of 9.97 mL per week of milk volume over the study period compared to those who breastfed <13 times/day ( $\beta_{\text{interaction}} = 9.97$ ; SE = 2.51;  $p = <0.001$ ) (Figure 3B). Non-EBF mothers had a faster decrease in volume, approximately 11mL per week, among EBF mothers (Figure 3C).



## Discussion

This study revealed that primiparous women had a higher milk volume over time and a faster decay rate than multiparous women. Similarly, women who did not breastfeed exclusively showed a lower average milk volume throughout the study than those exclusively breastfeeding. However, a breastfeeding frequency of  $> 13$  times per day increases the average milk volume by approximately 10 mL per week compared to women who breastfeed  $\leq 13$  times per day. These findings highlight the importance of such factors and provide an updated insight into maternal and infant variables that may play a role in modifying the trajectory of milk volume.

In a recent systematic review and meta-analysis comprising 167 studies ( $n = 20.857$ ) on HM intake measured through test-weighing and DTM and with healthy term children exclusive breastfed up to 6 months, an increase in milk volume was observed in the first month (624 mL/day), followed by a plateau between 3 and 4 months (approximately 750 mL/day) and a progressive decline in milk volume from 4 to 6 months with the introduction of solid foods (RIOS-LEYVRAZ; YAO, 2023). Costa et al. (2010) revealed a rapid increase with an average of 600 mL/day in the first month of life, followed by an average of 820 mL/day at 3 – 4 months, and a slight decline until around 8 – 9 months of age in their study based on a pooled analysis of 1.115 data points using the DTM method and without employing a classification system for breastfeeding status.

Measurement methods can influence the milk volume values (RIOS-LEYVRAZ; YAO, 2023). The application of DTM may result in an estimate 8% higher than that provided by the test-weighing (REILLY, ASHWORTH; WELLS, 2005). Although this difference is smaller when test weighing values are corrected for insensible water losses, few studies consider this factor in their evaluation (RIOS-LEYVRAZ; YAO, 2023). Our study revealed that the average milk volume observed aligns with values described in the literature (GIBSON et al., 2020; KENT et al., 2013) and is very similar to reference value according to the Institute of Medicine for high-income countries in the first 4 to 5 months (728 – 777 mL/day) (IOM, 1991). The milk volume from Brazilian infants remained consistent until the age range characterized by a high introduction of liquid/solid foods, as observed during M3.

Successful lactation depends on various maternal-infant factors, such as positioning the infant correctly on the breast, precautions to avoid sore nipples,

frequent feedings, and maintaining exclusive breastfeeding (IOM, 1991). In this manuscript, women who maintained exclusive breastfeeding exhibited higher milk volume over time. This result corroborates the findings in the study by Kent et al. (1999), where it was demonstrated that HM production from 4 to 10 months postpartum responds to infant demand, mediated by the degree of breast emptying. We found evidence of a significant decline in milk volume in women not exclusively breastfeeding, consistent with literature indicating that breastfeeding practices modify milk volume (RIOS-LEYVRAZ, YAO, 2023). This was an expected outcome, considering that the introduction of complementary foods can harm milk production (RIOS-LEYVRAZ, YAO, 2023; KENT; GARDNER; GEDDES, 2016;), along with reduced suction and breast stimulation. In Haisma et al. (2003), the intake of breast milk by partially breastfed Brazilian infants was reduced by 74% compared to EBF infants at 4 months of age (n=70) using the DTM method.

Although the WHO recommends exclusive breastfeeding until 6 months (WHO, 2009), this practice often ceases prematurely due to mothers' perception of their milk production, which in many cases is seen as insufficient and inadequate to meet the infant's energy needs until 6 months (NIELSEN et al., 2011). A study in Australia with 426 women found that maternal perception of insufficient milk production improved after breastfeeding counseling (KENT et al., 2021). One point in our study is that during the data collection period, participants received breastfeeding counseling and encouragement for the exclusive duration until the infant's 6 months of age; however, it is noticeable that from M1, a considerable number of children were no longer exclusively breastfed.

The average breastfeeding frequency observed in our study surpasses that reported in previous literature. Throughout the study period, infants breastfed an average of 13 times within a 24-hour period, which contrasts with findings from other studies indicating an average of eight breastfeeding sessions per day among exclusively breastfed infants (Kent et al., 2006; Hornell et al., 1999). This study found a higher milk volume between mothers breastfeeding above 13 times/day, regardless of breastfeeding status. Infants breastfed at least seven times in 24 hours in the first two weeks postpartum are associated with establishing adequate milk production (HILL et al., 2005). In a study considering only exclusively breastfed children (n=71), no relationship was found between the number of daily feedings and mothers' 24-hour milk production (KENT, 2006). Evidence reaffirms that, for healthy women, HM production

is driven by the interaction of the infant's appetite, frequency, and effectiveness of extraction (GEDDES et al., 2021). However, other factors can influence breastfeeding frequency, such as breast storage capacity, the infant's gastric emptying capacity, and infant age (KENT et al., 2012).

Few current studies assess milk production over time in healthy mother-child pairs. Most studies focus on evaluating HM intake or with preterm and low-birth-weight infants. In a meta-analysis including 20,857 participants, milk volume intake was influenced by the infant's age, body weight, breastfeeding practices, and measurement methods (RIOS-LEYVRAZ, YAO, 2023). The relationship between infant weight and milk volume is complex and can be bidirectional. Infant weight can influence the demand for milk volume, i.e., larger babies have greater nutritional requirements and consume more HM. However, women with elevated milk production levels can contribute to accelerated infant growth (YOUNG et al., 2023). Another evidence revealed that milk volume was influenced by birth weight and gestational age through differences in suction strength, frequency, and duration (IOM, 1991). Although our sample only included infants within the normal birth weight range, our results showed that birth weight between 3160 – 3470 grams was associated with a higher average milk volume than those born weighing 2540 – 3150 grams. However, no association was found with weekly variation in milk volume.

Some studies have discussed the potential effect of maternal BMI on milk volume, especially concerning obesity, which has been associated with poorer lactation performance (LOVELADY, 2005). One possible pathway for this relationship is the reduced hormonal response time in women with pre-pregnancy overweight and obesity, leading to delayed lactogenesis (RASMUSSEN; KJOLHEDE, 2004). In a cross-sectional study with 232 mother-child pairs using the DTM technique, higher maternal BMI and body fat percentage were associated with lower milk volume (YOUNG et al., 2023). We found no significant association between pre-pregnancy BMI and the trajectory of milk volume. This result can be attributed to the study design, which did not include extreme BMI categories such as underweight and obese women.

There is limited and controversial evidence regarding the role of maternal age, parity, and their relationship with milk production in different populations (IOM, 1991), and various factors influence primiparous and multiparous women differently (BYSTROVA et al., 2007). A study with 53 women, including adolescents, found no correlation between maternal age and parity with milk volume (DEWEY et al., 1986).

In our sample, parity was associated with milk volume, with primiparous participants showing a higher milk volume and a faster longitudinal decline compared to multiparous participants. Indeed, one study utilizing the PRAMS 2016-2017 database (n = 20,964) suggested that primiparous women were more inclined to initiate breastfeeding compared to multiparous women (BUCKMAN et al., 2020). These practices could be a mechanism that results in a higher initial volume of human milk. However, these findings differ from another study involving 1,099 American participants that demonstrated that multiparous women have a greater likelihood of breastfeeding up to 6 months (HACKMAN et al., 2015). Moreover, other studies from the literature show that once lactation is established, there is no statistically significant association between parity and milk intake in well-nourished populations (BUTTE et al., 1984; DEWEY et al., 1986).

The main strengths of this study include the unprecedented longitudinal design for this population, encompassing milk volume data from the first up to 8.5 months postpartum. This design allowed for a comprehensive trajectory analysis, incorporating women with children in EBF and non-EBF. Additionally, the DTM technique used is considered the gold standard. However, some limitations should be acknowledged. No data is available before the first month postpartum, a crucial period of significant changes (WHO, 2009). The sample size at three points in the study is relatively small. The creation of the EBF/Non-EBF variable relied on maternal reports of the infant's introduction to complementary feeding.

In conclusion, the unprecedented results obtained in this population reveal that parity, breastfeeding frequency, and breastfeeding status modify the trajectory of milk volume over time. These findings underscore the relevance of promoting breastfeeding as a fundamental maternal and infant care component. It is crucial to emphasize the complexity of this dynamic. Further longitudinal studies are needed, considering other populations and exploring potential additional factors that may modulate the trajectory of milk volume. This broader approach will contribute to expanding knowledge and, consequently, more effectively guiding breastfeeding practices.

## References

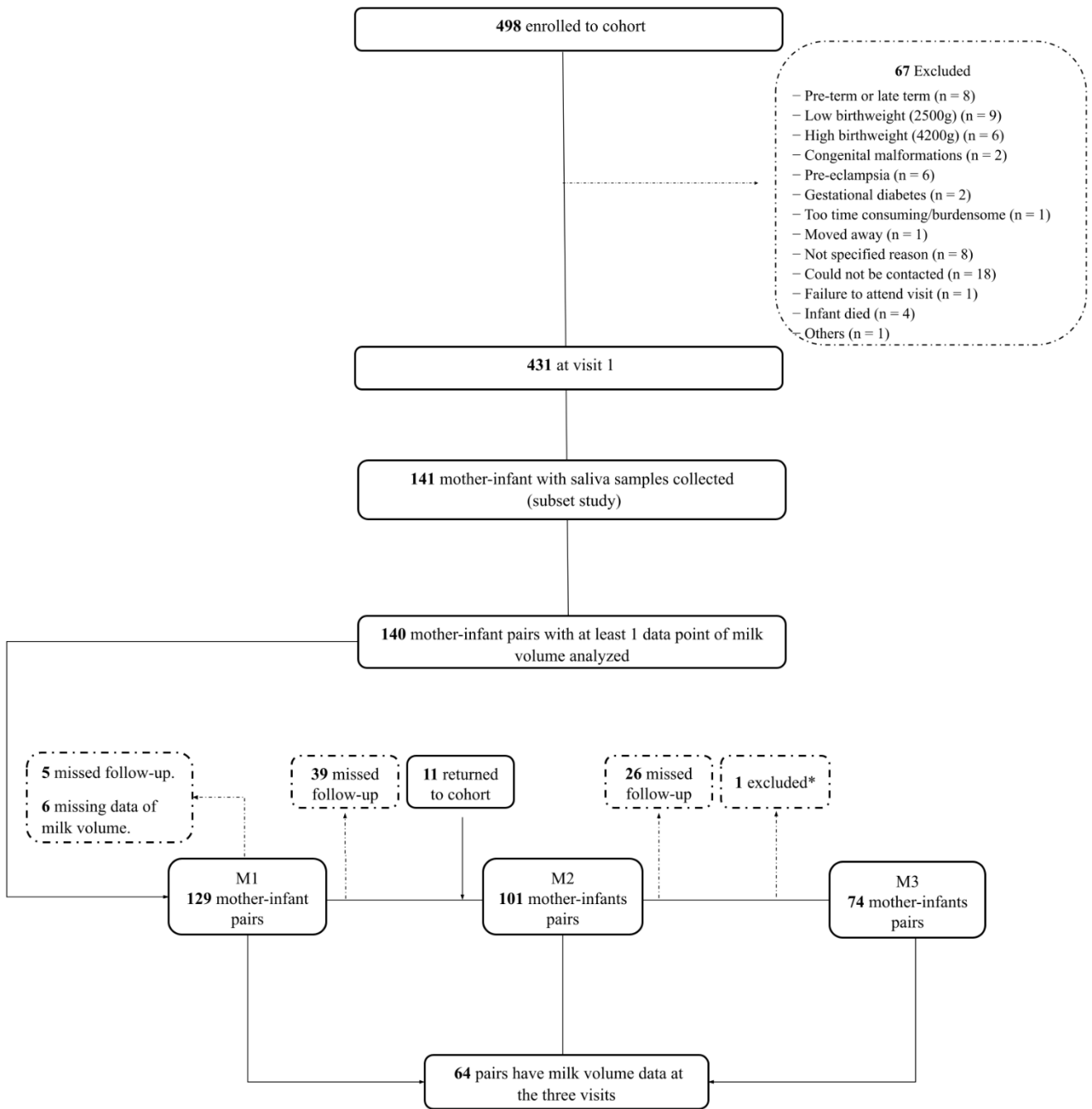
- 1) United Nations Children’s Fund (UNICEF); World Health Organization. Capture the moment, early initiation of breastfeeding: the best start for every newborn. New York, NY: UNICEF; 2018.
- 2) Mosca, F.; Gianni, M. L. Human milk: composition and health benefits. *Pediatr Med Chir.* 2017 Jun 28;39(2):155. doi: 10.4081/pmc.2017.155. PMID: 28673076.
- 3) World Health Organization et al. The optimal duration of exclusive breastfeeding: a systematic review. 2001.
- 4) Wong, P. D.; Anderson, L. N.; Dai, D. D. W.; Parkin, P. C. et al. The Association of Breastfeeding Duration and Early Childhood Cardiometabolic Risk. *J Pediatr*, 192, p. 80-85.e81, Jan 2018.
- 5) Horta, B. L.; Loret de Mola, C.; Victora, C. G. Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure, and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Acta paediatrica*, 104, p. 30-37, 2015.
- 6) Victora, C. G. et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *The Lancet*, v. 387, n. 10017, p. 475-490, 2016.
- 7) Kac, G. et al. Breastfeeding and postpartum weight retention in a cohort of Brazilian women. *The American journal of clinical nutrition*, v. 79, n. 3, p. 487-493, 2004.
- 8) World Health Organization. Rates of breastfeeding increase around the world through improved protection and support. *Global breastfeeding scorecard.* 2023.
- 9) Boccolini, C. S. et al. 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, p. e012529, 2023.
- 10) Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil – ENANI-2019: Resultados preliminares – Indicadores de aleitamento materno no Brasil. UFRJ: Rio de Janeiro, 2020. 9 p.
- 11) Allen, Lindsay H. et al. The Mothers, Infants, and Lactation Quality (MILQ) study: a multi-center collaboration. *Current developments in nutrition*, v. 5, n. 10, p. nzab116, 2021.
- 12) World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO expert committee. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 1995;854:215–23.

- 13) World Medical Association (WMA). Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *The Journal of the American College of Dentists*, v. 81, n. 3, p. 14-18, 2013.
- 14) Boone-Heinonen, Janne et al. 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, 2019.
- 15) Neves, P. A. et al. 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 & Adolescent Health*, 2021.
- 16) Kent, Jacqueline Coral et al. Causes of perception of insufficient milk supply in Western Australian mothers. *Maternal & child nutrition*, v. 17, n. 1, p. e13080, 2021.
- 17) Kent, Jacqueline C. et al. Breast volume and milk production during extended lactation in women. *Experimental physiology*, v. 84, n. 2, p. 435-447, 1999.
- 18) Kent, Jacqueline C. et al. Volume and frequency of breastfeedings and fat content of breast milk throughout the day. *Pediatrics*, v. 117, n. 3, p. e387-e395, 2006.
- 19) Kent, Jacqueline C. How Breastfeeding Works. *Journal of Midwifery & Women's Health*, [s.l.], v. 52, no 6, p. 564–570, 2007.
- 20) Prentice, Andrew et al. Cross-cultural differences in lactational performance. In: *Human lactation 2: maternal and environmental factors*. Boston, MA: Springer US, 1986. p. 13-44.
- 21) World Health Organization. Butte et al. Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life. 2002.
- 22) Institute of Medicine U.S, Subcommittee on Nutrition during Lactation; United States. Health Resources and Services Administration. *Nutrition during lactation*. National Academy Press, Washington, D.C., 1991, p. 309.
- 23) Diana, Aly et al. 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, 2019.
- 24) International Atomic Energy Agency. Stable isotope technique to assess intake of human milk in breastfed infants. In: *IAEA human health series*. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 2010. ISSN 2075–3772; no. 7.
- 25) Kent, Jacqueline C.; Perrella, Sharon L.; Geddes, Donna T. Measurement of human milk production and infant milk intake—challenges and opportunities. *Human Milk*, p. 35-66, 2021.

- 26) Altman, DG; Bland, JM. Interaction revisited: the difference between two estimates. *BMJ* 2003;326(7382):219.
- 27) Gibson, Rosalind S. et al. Association of maternal diet, micronutrient status, and milk volume with milk micronutrient concentrations in Indonesian mothers at 2 and 5 months postpartum. *The American journal of clinical nutrition*, v. 112, n. 4, p. 1039-1050, 2020.
- 28) Kent, Jacqueline C. et al. Longitudinal changes in breastfeeding status from 1 to 6 months of lactation. *Breastfeeding Medicine*, v. 8, n. 4, p. 401-407, 2013.
- 29) Rios-Leyvraz, Magali; Yao, Qisi. 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, 2023.
- 30) Reilly, John J.; Ashworth, Susan; Wells, Jonathan CK. Metabolisable energy consumption in the exclusively breast-fed infant aged 3–6 months from the developed world: a systematic review. *British Journal of Nutrition*, v. 94, n. 1, p. 56-63, 2005.
- 31) Haisma, Hinke et al. 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.
- 32) Lovelady, Cheryl A. Is maternal obesity a cause of poor lactation performance?. *Nutrition Reviews*, v. 63, n. 10, p. 352-355, 2005.
- 33) Rasmussen, Kathleen M.; Kjolhede, Chris L. Prepregnant overweight and obesity diminish the prolactin response to suckling in the first week postpartum. *Pediatrics*, v. 113, n. 5, p. e465-e471, 2004.
- 34) Young, Melissa F. et al. Maternal nutritional status and milk volume and composition in India: an observational study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 117, n. 4, p. 830-837, 2023.
- 35) Bystrova, Ksenia et al. Early lactation performance in primiparous and multiparous women in relation to different maternity home practices. A randomised trial in St. Petersburg. *International breastfeeding journal*, v. 2, n. 1, p. 1-14, 2007.
- 36) Dewey, Kathryn G.; Finley, Dorothy A.; Lönnernald, Bo. Breast milk volume and composition during late lactation (7-20 months). *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, v. 3, n. 5, p. 713-720, 1984.
- 37) Butte, Nancy F. et al. Effect of maternal diet and body composition on lactational performance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 39, n. 2, p. 296-306, 1984.
- 38) Geddes, Donna Tracy et al. 25 Years of research in human lactation: from discovery to translation. *Nutrients*, v. 13, n. 9, p. 3071, 2021.

- 39) Rivera, Olivia C. et al. A common genetic variant in zinc transporter ZnT2 (Thr288Ser) is present in women with low milk volume and alters lysosome function and cell energetics. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, v. 318, n. 6, p. C1166-C1177, 2020.
- 40) Buckman, Cierra et al. Parity and the association between maternal sociodemographic characteristics and breastfeeding. *Breastfeeding Medicine*, v. 15, n. 7, p. 443-452, 2020.
- 41) Hackman, Nicole M. et al. Breastfeeding outcome comparison by parity. *Breastfeeding Medicine*, v. 10, n. 3, p. 156-162, 2015.
- 42) Hornell A, Aarts C, Kylberg E, Hofvander Y, Gebre-Medhin M. Breastfeeding status in exclusively breastfed infants: a longitudinal prospective study in Uppsala, Sweden. *Acta Paediatr* 1999;88:203–11.
- 43) Hill PD, Aldag JC, Chatterton RT, et al. Comparison of milk output between mothers of preterm and term infants: The first 6 weeks after birth. *J Hum Lact* 2005;21(1):22–30.
- 44) Kent, Jacqueline C.; Prime, Danielle K.; Garbin, Catherine P. Principles for maintaining or increasing breast milk production. *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing*, v. 41, n. 1, p. 114-121, 2012.
- 45) Kent, Jacqueline C.; Gardner, Hazel; Geddes, Donna T. Breastmilk production in the first 4 weeks after birth of term infants. *Nutrients*, v. 8, n. 12, p. 756, 2016.
- 46) WHO Library. *Infant and young child feeding: model chapter for textbooks for medical students and allied health professionals*. 2009.
- 47) Nielsen, Susan B. et al. Adequacy of milk intake during exclusive breastfeeding: a longitudinal study. *Pediatrics*, v. 128, n. 4, p. e907-e914, 2011.





**Figure 1.** Flow chart of the MILQ Brazil cohort, considering participants with milk volume data during lactation

Notes: 1 excluded to implausible value. M1 (1 to 3.49 months postpartum); M2 (3.5 to 5.9 months postpartum); M3 (6 to 8.5 months postpartum)

Table 1. Characteristics of lactating and infants from MILQ Study, Rio de Janeiro, Brazil

<b>Continuous variables</b>	<b>Mean/Median (SD/IQR)</b>
Maternal age, y (n=140)	27 (21.9; 32.1)
Total family income, USD <sup>1</sup> (n=136)	404.3 (237.2; 491.1)
Birth weight, g (n=140)	3345.4 (357.2)
Breastfeeding frequency, 24h (n=140)	13.2 (5.6)
<b>Categorical variables</b>	<b>n (%)</b>
Maternal education, y (n=140)	
< 8	18 (12.9)
8 – 12	107 (76.4)
> 12	15 (10.7)
Skin color (n=140)	
White	20 (14.3)
Black	39 (27.9)
Mixed	75 (53.6)
Yellow/Asian/Indigenous	6 (4.2)
Pre-pregnancy BMI, kg/m <sup>2</sup> (n=140)	
Normal (18.5-24.9)	80 (57.1)
Overweight (25.0-30.0 )	60 (42.9)
Parity (n=140)	
Primiparous	55 (39.3)
Multiparous	85 (60.7)
Mode of delivery (n=140)	
Vaginal	112 (80.0)
Cesarean section	28 (20.0)
Infant sex (n=140)	
Male	76 (54.3)
Female	64 (45.7)
Breastfeeding in the 1st hour of life (n=139)	
Yes	107 (77.0)
No	32 (23.0)
Breastfeeding status <sup>1</sup>	
M1 (1 – 3.5 months, n=135) <sup>3</sup>	
Exclusive breastfeeding	125 (92.6)
Non-exclusive breastfeeding	10 (7.4)
M2 (3.5 – 5.9 months, n=101)	
Exclusive breastfeeding	42 (41.6)
Non-exclusive breastfeeding	59 (58.4)
M3 (6 – 8.5 months, n=74)	
Exclusive breastfeeding	4 (5.4)
Non-exclusive breastfeeding	70 (94.6)

Abbreviations: SD, standard deviation; IQR, interquartile range

1 USD, United States dollar. Converted to the USD exchange rate (R\$ 4.94 = USD 1) on March 16, 2020.

2 Exclusive breastfeeding is defined as no other food or drink except breast milk. Non-exclusive breastfeeding was considered when there was the introduction of any other liquid or food.

3 n = 135 because of missing data

Table 2. Mean milk volume over time according to maternal-infant factors from MILQ Study, Rio de Janeiro, Brazil

	Milk volume (mL/d)					
	<i>n</i>	M1 (1 – 3.49)	<i>n</i>	M2 (3.5 – 5.99)	<i>N</i>	M3 (6 – 8.5)
<b>Maternal age, tertile of years</b>						
18 – 23	42	875.3 (167.7)	34	849.0 (245.5)	28	729.2 (313.3)
24 – 30	43	845.7 (183.9)	34	900.2 (222.3)	22	731.6 (275.2)
31 – 40	44	801.8 (195.5)	33	772.2 (237.4)	24	715.2 (165.6)
<b>Total family income, tertile of USD<sup>1</sup></b>						
40 – 302	42	784.8 (183.2)	32	729.3 (231.8)	24	649.6 (263.9)
303 – 457	40	709.6 (162.6)	34	714.7 (234.1)	24	653.4 (207.4)
465 – 2021	44	783.6 (150.2)	31	829.7 (170.3)	23	655.6 (241.1)
<b>Skin color</b>						
White	20	738.2 (166.9)	12	745.9 (200.9)	10	700.4 (166.1)
Black	35	776.2 (165.4)	29	787.6 (187.7)	21	677.5 (240.8)
Mixed	68	765.9 (159.5)	57	742.2 (233.8)	43	636.0 (245.8)
Yellow/Asian/Indigenous	6	753.8 (283.4)	3	1023.0 (175.7)	-	(-)
<b>Parity</b>						
Primiparous	49	806.6 (159.9)	41	797.9 (250.4)	29	641.6 (274.7)
Multiparous	80	732.3 (165.2)	60	743.5 (187.2)	45	666.0 (206.1)
<b>Mode of delivery</b>						
Vaginal	105	764.9 (165.1)	77	763.2 (230.3)	58	661.0 (228.6)
Cesarean section	24	741.2 (174.9)	24	754.7 (166.5)	16	639.8 (259.2)

<b>Infant sex</b>						
Male	69	773.9 (145.4)	52	739.1 (197.6)	35	624.5 (252.4)
Female	60	745.0 (188.0)	49	784.6 (233.9)	39	685.1 (215.1)
<b>Birth weight, tertile of grams</b>						
2540 – 3150	41	743.5 (155.4)	35	721.9 (248.6)	27	664.2 (251.1)
3160 – 3470	48	791.2 (177.8)	31	799.5 (226.3)	21	699.3 (259.6)
3495 – 4150	39	742.4 (164.2)	35	766.6 (165.5)	26	613.8 (191.7)
<b>Breastfeeding in 1<sup>o</sup>hour of life</b>						
Yes	98	753.2 (166.0)	73	779.3 (233.8)	56	665.8 (248.3)
No	30	787.6 (170.2)	27	793.8 (163.5)	18	627.5 (184.9)
<b>Breastfeeding frequency, 24 hours</b>						
≤ 13.2 times	58	854.86 (200.1)	60	822.34 (257.7)	54	738.7 (247.5)
> 13.2 times	71	828.56 (170.2)	41	868.69 (208.0)	20	689.3 (289.4)
<b>Breastfeeding status</b>						
Exclusive breastfeeding	123	844.0 (184.0)	42	929.6 (182.2)	4	855.2 (237.5)
Non-exclusive breastfeeding	6	768.4 (186.6)	59	778.1 (255.2)	70	718.0 (259.1)

Notes: Milk volume was expressed in mean and standard deviation (SD); mL/day. Tertile (lowest/mid/highest).  
1 USD, United States dollar. Converted to the USD exchange rate (R\$ 4.94 = USD 1) on March 16, 2020.

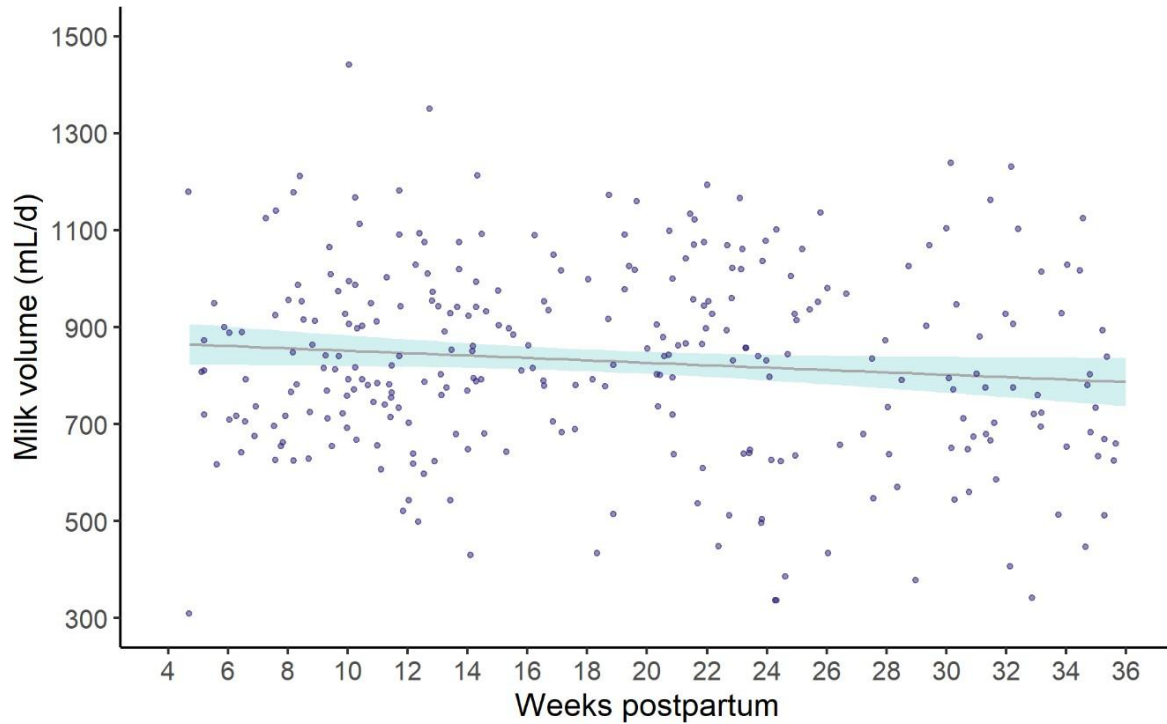
Table 3. Factors associated with milk volume over time (1 – 8.5 months) from MILQ Study, Rio de Janeiro, Brazil

	Milk volume (mL/d)			
	$\beta$	95%CI	SE	p-value
Maternal age (years, tertiles) <sup>1</sup>				
18 – 23	Ref	Ref	Ref	Ref
24 – 30	54.60	-22.4; 131.6	39.11	0.165
31 – 40	4.26	-78.2; 86.7	41.86	0.918
Total family income (USD, tertiles) <sup>1,2</sup>				
40 – 302	Ref	Ref	Ref	Ref
303 – 457	-37.62	-113.3; 38.0	38.41	0.329
465 – 2021	34.75	-43.10; 112.61	39.52	0.381
Parity <sup>2</sup>				
Multiparous	Ref	Ref	Ref	Ref
Primiparous	86.8 8	17.018; 156.75	35. 46	0.015
Birth weight (grams, tertiles) <sup>1</sup>				
2540 – 3150	Ref	Ref	Ref	Ref
3160 – 3470	81.6	8.4; 161.0	39.2	0.030
3495 – 4150	52.6	-26.9; 132.3	40.4	0.195
Breastfeeding frequency (24h, times)				
≤ 13.2	Ref	Ref	Ref	Ref
> 13.2	49.1	4.5; 93.6	22.6	0.031
Breastfeeding status				
Exclusive breastfeeding	Ref	Ref	Ref	Ref
Non-exclusive breastfeeding	-63.83	-109.0; - 21.2	21.82	0.003

Notes: Linear mixed-effects model was performed. Non-exclusive breastfeeding was considered when there was the introduction of any other liquid or food.

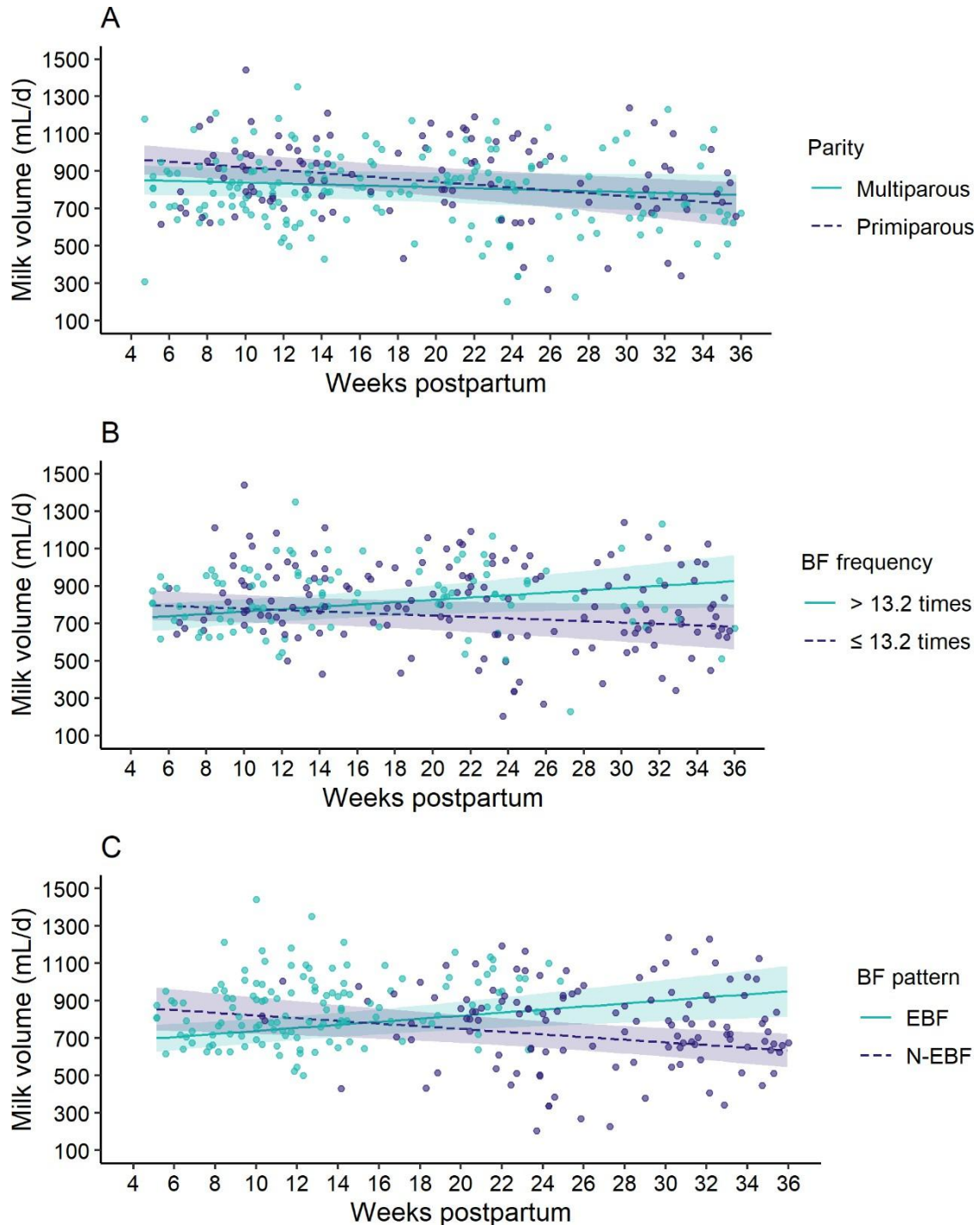
<sup>1</sup>Tertile (lowest/mid/highest)

<sup>2</sup>USD, United States dollar. Converted to the USD exchange rate (R\$ 4.94 = USD 1) on March 16, 2020.



**Figure 2.** Trajectory of breast milk volume (mL/day) according to postpartum weeks.

Notes: Longitudinal linear mixed-effect models for time and milk volume were performed to evaluate changes in milk volume over time ( $n=140$ ; 304 observations). These parameters were used,  $\beta_{interaction}$  (95% CI) = -4.3 (-6.88; -1.80); SE = 1.29;  $p < 0.001$ . SE = Standard error.



**Figure 3.** Longitudinal predictions of milk volume (mL/day) according to maternal-infant factors. Notes: Longitudinal linear mixed-effect models for milk volume were performed. These parameters were used,  $\beta_{interaction}$  (95% CI). (A) Parity,  $\beta_{interaction} = -5.17$  (-10.43; 0.09); SE = 2.67;  $p = 0.055$ . The model was adjusted for maternal age and total family income; (B) Breastfeeding frequency,  $\beta_{interaction} = 9.97$  (5.02; 14.91); SE = 2.51;  $p < 0.001$ . The model was adjusted for parity, breastfeeding status, and birth weight. The mean frequency over time was 13.2 times in 24 hours. (C) Breastfeeding status,  $\beta_{interaction} = -11.16$  (-22.21; -10.00); SE = 2.88;  $p < 0.001$ ; The model was adjusted for parity, breastfeeding frequency, and birth weight. EBF=Exclusive breastfeeding; N-EBF=Non-exclusive breastfeeding was considered when there was the introduction of any other liquid or food; SE=Standard error.

## 7.2 Artigo 2 (em processo para submissão no *Journal of Affective Disorders*)

### **Associations between postpartum depressive symptom trajectories and breastfeeding patterns: Results from the MILQ-Brazil study**

Gabriela Torres Silva<sup>1</sup>, Adriana Divina de Souza Campos<sup>1</sup>, Daniela Paula Polessa<sup>1</sup>, Amanda Caroline Cunha Figueiredo<sup>1</sup>, Bruna Celestino Schneider<sup>1</sup>, Daniela de Barros Mucci<sup>1,2</sup>, Lindsay H. Allen<sup>3,4</sup>, Gilberto Kac<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Nutritional Epidemiology Observatory, Josué de Castro Nutrition Institute, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

<sup>2</sup>Department of Basic and Experimental Nutrition, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil.

<sup>3</sup>USDA, Agricultural Research Service (ARS) Western Human Nutrition Research Center, Davis, CA, USA

<sup>4</sup>Department of Nutrition, University of California, Davis, CA, USA

Corresponding author: Gilberto Kac. Nutritional Epidemiology Observatory, Josué de Castro Nutrition Institute, Rio de Janeiro Federal University, Av. Carlos Chagas Filho, 373 – Bloco J2 – sala 29, Cidade Universitária - Rio de Janeiro – RJ – 21941-902 - Brazil.



## Abstract

*Background:* Studies exploring the association between postpartum depression (PPD) symptoms and breastfeeding (BF) patterns remain limited. This study investigates the association between PPD symptom trajectories and BF patterns between 1-8.5 months. *Methods:* The Mothers, Infant, and Lactation Quality study (MILQ) is a prospective cohort study, and this article presents results for 97 healthy mother-infant pairs from Brazil. Data were collected at 1-3.49 months, 3.5-5.9 months, and 6-8.5 months. PPD symptoms were assessed using the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS). BF patterns were characterized through longitudinal clusters based on milk volume (dose-to-mother technique), feeding frequency and duration, and liquid/food introduction age. Latent trajectory modeling identified PPD symptom trajectories, and multinomial logistic regression assessed associations with breastfeeding clusters. *Results:* Two distinct PPD symptom trajectories were identified: "Lower Score" (87%) and "Higher Score" (12%). The lower score class showed stability throughout the follow-up. In contrast, the higher score class exhibited more transitions, mainly to remission in later stages. Three BF pattern clusters emerged: Cluster 1: average volume and feeding frequency, late liquid/food introduction; Cluster 2: lower volume and feeding frequency, intermediate introduction of liquid/food; Cluster 3: higher volume and feeding frequency, earlier introduction of liquid/food. Women with higher PPD symptoms showed a tendency to be associated with Cluster 3 (OR = 4.17; 95% CI: 0.96–18.50;  $p = 0.055$ ) than Cluster 1. *Conclusions:* This study underscores the complex relationship between maternal mental health and BF behaviors. Higher PPD symptom scores were associated with a greater tendency to engage in less favorable BF practices.

**Keywords:** maternal mental health; breastfeeding; milk volume; lactation; postpartum depression; longitudinal study

## Introduction

Depression ranks among the leading chronic diseases affecting people between 10 and 49 years worldwide, with women of reproductive age being the most affected (Liu, 2020). Depression during pregnancy and the postpartum period represents a significant public health concern. The global pooled prevalence of postpartum depression (PPD) was 17.7%, and countries with high levels of income inequality, such as South Africa (37%) and Mexico (19%), tend to exhibit elevated prevalence of PPD (Hahn-Holbrook et al., 2018). In Brazil, data from the national survey *Nascer no Brasil* with 23,894 women revealed that PPD symptoms may affect 25% of women within six months postpartum (Theme Filha et al., 2016).

Multiple risk factors for PPD have been identified, including prenatal depression or anxiety, poor or absent mother-child interaction, lack of social support, financial and/or marital dependence, multiparity, low educational attainment, difficulties in marital relationships, and a history of experiencing violence (O'Hara and McCabe, 2013; Vaz et al., 2014; Zhao and Zhang, 2020). Depressive symptoms during this period can impair the mother-child relationship, compromising the child's nutritional care, as well as their physical and mental development (Brummelte and Galea, 2015).

Early cessation of breastfeeding (BF) is widely recognized as a critical public health issue. Despite the numerous documented benefits of BF for both mother and child, national BF rates still fall short of the targets set by the World Health Organization (WHO), according to the 2019 Brazilian National Infant Nutrition Survey (Boccolini et al., 2023). While the positive impact of BF is undeniable, the challenges in achieving these targets underscore the need for a deeper understanding of the factors that influence BF practices. One such factor is PPD, whose relationship with BF has been investigated, although most studies have been conducted in high-income countries (Islam et al., 2021).

Studies have shown that mothers with depressive symptoms are more likely to discontinue exclusive breastfeeding (EBF), have BF difficulties, and report lower BF self-efficacy, meaning less confidence in their ability to breastfeed (Merican; Selcuk et al., 2021; Stelson et al., 2021). Additionally, higher scores of PPD symptoms have been associated with early discontinuation of EBF (Slomian et al., 2019; Pope; Mazmanian, 2016). Wouk et al. (2017) observed that women with PPD were 0.58 times less likely

(95% CI: 0.50, 0.68) to practice EBF at three months postpartum compared to those without reported PPD symptoms, using data from the Pregnancy Risk Assessment Monitoring System (PRAMS) from 2010–2011 (n = 44,294).

Identifying and assessing maternal psychological issues and providing support to BF mothers may help improve longer-term BF adherence (Gila-Díaz et al., 2020). The literature on PPD and BF patterns generally explores the association between depressive symptoms and BF duration. However, few studies have examined how distinct trajectories of PPD symptoms over time may relate to different BF patterns. This gap in the literature presents an opportunity to investigate the relationship between depression and BF and how the longitudinal nature of PPD symptoms may influence BF behaviors over time.

This study aims to explore the trajectory of PPD symptoms throughout the lactation period (1–8.5 months), develop clusters of BF patterns based on longitudinal data, and examine the association between the trajectory of PPD symptoms and BF patterns.

## **Methods**

### *Study design and participants*

This study uses Brazilian data from a multicenter prospective cohort study, the Mothers, Infants and Lactation Quality (MILQ), which includes participants from Bangladesh, Brazil, Denmark, and The Gambia. The cohort encompasses recruitment during the third gestational trimester between 28 and 35 weeks (baseline), followed by four subsequent follow-up stages: within 72 hours after birth (C), from 1 to 3.49 months (M1), from 3.5 to 5.9 months (M2), and from 6 to 8.5 months (M3). More details can be found in the MILQ protocol publication (Allen et al., 2021). For the present analysis, we included a subsample comprising Brazilian women who had data for at least two time points that allowed us to estimate the BF patterns (n=97).

All participants in this study were recruited from a maternity hospital located in Rio de Janeiro, Brazil, between January 2018 and March 2020. Eligibility criteria for recruitment included being a healthy mother-infant pair with gestational ages between 37 and 42 weeks, singleton pregnancies, maternal age between 18 and 40 years, absence of vitamin or mineral supplementation during the third trimester of

pregnancy or lactation (except for iron and folic acid), intention to breastfeed, a pre-pregnancy body mass index (BMI)  $\geq 18.5$  and  $< 30$  kg/m<sup>2</sup>, maternal height  $> 145$  cm, a non-vegan or macrobiotic diet, non-smoker status, and alcohol consumption of  $< 30$ g per week.

Exclusion criteria comprised infants born pre- or post-term, congenital malformations, birth weight  $< 2,500$  g or  $> 4,200$  g, cessation of EBF before M2, weaning before M3, infant Z-scores  $< -2$  for length-for-age, weight-for-age, or weight-for-length (WHO, 2006), severe maternal or infant illness, and maternal micronutrient supplementation during lactation (except for iron and folic acid).

#### *Postpartum depression symptoms*

PPD symptoms were assessed at M1, M2, and M3 using the validated Brazilian version of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) described by Santos et al. (2007). The EPDS is one of the most widely used screening tools during the perinatal period (Hewitt et al., 2010; O'Connor et al., 2015). It consists of 10 items, each with four response options scored from 0 to 3, based on the presence and intensity of depressive symptoms during the seven days before the interview. The maximum score on the scale is 30 points, with higher scores indicating greater severity of symptoms. A cut-off of  $\geq 11$  was also used to determine the prevalence of depressive symptoms (Levis et al., 2020).

#### *Breastfeeding patterns*

The BF patterns were defined based on BF characteristics in the sample: breast milk volume (mL/day), BF frequency (number of times in 24 hours), BF duration (minutes per feeding), and infant age of introduction of liquids or solid/semi-solid foods (days). The variables were collected at the three follow-up points (M1, M2, M3).

*Breast milk volume.* The 24-hour milk volume was estimated using the deuterium oxide dose-to-mother (DTM) technique, following the protocol of the International Atomic Energy Agency (IAEA) (IAEA, 2010). For this purpose, a dose of 30g of deuterium oxide (Product: 99.8% S17385, Sercon, UK) was prepared on a calibrated analytical scale (AD3300, Marte Científica, Brazil). Saliva samples from the mother and infant were collected before the administration of deuterium oxide (day 0). Subsequently, the mother received a dose of deuterium oxide, and post-dose saliva

samples from the mother and infant were collected on the following days: 1, 2, 3, 4, 13, and 14. This procedure was performed at M1, M2, and M3. Maternal body weight was measured using a Tanita scale (model MC-780U, Tanita Corporation, Arlington Heights, USA), and infant weight was measured using a digital pediatric scale (SECA 376, Hamburg, Germany) on days 0 and 14 of sample collection.

Approximately 0.5 mL of saliva was obtained at each collection and stored in cryogenic tubes at -80°C. The frozen samples were sent on dry ice to the St. John's Research Institute in Koramangala, Bengaluru, India, for analysis. The deuterium concentration in the samples was measured using Fourier-transform infrared spectroscopy (4500t FTIR, Agilent Technologies, Santa Clara, USA). The results were then entered into an IAEA spreadsheet (Microsoft Excel 2013) to calculate the 24-hour milk volume, using multiexponential equations to fit the curve (IAEA, 2010).

*Breastfeeding frequency.* The BF frequency over 24 hours was obtained through a structured questionnaire and calculated as the total number of times the participant reported BF during the daytime (6:00 AM to 9:59 PM) and nighttime (10:00 PM to 5:59 AM) in each follow-up period.

*Breastfeeding duration.* The duration of BF was determined based on the participant's self-report of the average time spent BF during each feeding. This variable was expressed in minutes.

*Age of introduction of liquids/foods.* The infant's age at the introduction of liquids and foods was obtained through a questionnaire on breastfeeding practices. This age was defined based on participants' self-reports of the month and week when any liquid, solid, or semi-solid food was introduced into the child's diet, excluding oral rehydration solutions, drops, vitamin or mineral syrups, and medications, which would indicate a deviation from EBF as defined by WHO (2007). The reported infant ages in months and weeks were converted to days, considering 30.44 days a month and 7 days a week.

#### *Sociodemographic and health covariates*

The following sociodemographic and health variables were collected at baseline: maternal age (years), education level (< 8; 8-12; >12 years), pre-pregnancy weight (kg), and height (m). The pre-pregnancy BMI was calculated in kg/m<sup>2</sup> from self-reported pre-pregnancy weight (kg) and height (m). Values between  $\geq 18.5$  and <

25.0 kg/m<sup>2</sup> were classified as normal weight, while values between  $\geq 25.0$  and  $< 30.0$  kg/m<sup>2</sup> were overweight (WHO, 1995).

Data on parity (primiparous/multiparous) and delivery mode (vaginal/cesarean section) were collected within 72 hours postpartum. In subsequent follow-up periods (M1, M2, and M3), data on BF status were self-reported by the mother and categorized as EBF and non-EBF according to WHO (2007).

### *Data analysis*

The distribution of continuous variables was evaluated using histograms, the Shapiro-Wilk test, and analyzing measures of skewness and kurtosis. Maternal and infant characteristics were described by calculating absolute and relative frequencies for categorical variables, while means/standard deviations and medians/interquartile ranges were used for continuous variables. Outliers and implausible values for the outcome were assessed visually using boxplots and histograms. Values  $\pm 3$  SD of the mean were classified as outliers.

A Latent Class Growth Model (LCGM), a specialized type of Growth Mixture Model (GMM), was employed to develop the trajectories of PPD symptoms using EPDS scores. This approach allows for identifying distinct latent classes of trajectories before conducting the GMM. The model accounts for repeated measures over time, aiming to identify latent classes that reflect the heterogeneity of longitudinal depressive symptom trajectories within the population (Hoekstra et al., 2015). This technique facilitated the identification of latent classes of women who exhibited similar depressive symptom score trajectories throughout the study based on inter-individual differences and latent patterns in the population. The selection of the appropriate number of latent classes was guided by the lowest absolute value of the Akaike Information Criterion (AIC) and Bayesian Information Criterion (BIC) while also considering the proportion of individuals in each latent class, ensuring that each class contained at least 5% of the sample (Herle et al., 2020). Two trajectories were identified in our study.

An alluvial plot, a type of flow diagram, was used to visualize data transitions of PPD symptoms across study visits. A cut-off point of  $\geq 11$  was used to determine the prevalence of PPD symptoms within each of the identified trajectories (Santos et al., 2007).

Longitudinal multivariate K-means clustering technique was applied to group women into homogeneous subgroups based on similarities in BF trajectories of variables (breast milk volume, BF frequency and duration, and age of introduction of liquids or solid/semi-solid foods) over the study period to identify BF patterns. The R software package ‘kml3d’ was used to perform longitudinal trajectory clustering. The number of clusters was determined based on the analysis of AIC and BIC measures while also considering the clinical interpretation of the resulting clusters and the adequacy of participant proportions in each group. Three different clusters were obtained.

Multinomial models were fitted to assess the association between PPD symptom trajectories and BF patterns, adjusting for individual and sociodemographic factors. Confounders were selected a priori based on theoretical evidence of the relationship between PPD and BF (maternal age, parity, maternal education, and pre-pregnancy BMI). Odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (95% CI) were estimated, and statistical significance was set at  $p < 0.05$ . All analyses were performed using R version 4.1.0.

### *Ethical considerations*

The study was approved by the Research Ethics Committee of the Maternity School of Rio de Janeiro Federal University, by the Research Ethics Committee of the Municipal Health Secretariat of Rio de Janeiro, and by the National Commission for Ethics in Research (CAAE 64767717.4.3001.5279). The project was conducted following the guidelines of the Helsinki Declaration of 1975 (WMA, 2013).

### **Results**

The mean age of participants was 27 years, with 79.4% having 8 to 12 years of education. Fifty-seven percent had a pre-pregnancy BMI classified as normal, while 43% were classified as overweight. Additionally, 60.8% reported having more than one child. EBF prevalence was 100% at M1, 42.5% at M2, and all women had discontinued EBF practices at M3 (Table 1).

The estimated depressive symptoms trajectories indicated that 87% (n=85) of participants were in the lower score class, corresponding to those who exhibited lower PPD symptom scores over time. The higher score class represents 12% of participants

who maintained elevated PPD symptom scores throughout the study period (n=12) (Figure 1).

Figure 2 shows that the lower score class presented stability with a higher frequency of participants maintaining their initial trajectory of EPDS <11 throughout the follow-up periods. The higher score class revealed more transitions, particularly from the presence to the absence of PPD symptoms, especially in later study stages (Figure 2).

Three BF clusters were defined. BF cluster 1 was characterized primarily by women with an average breast milk volume of 842 mL, a higher BF duration per session (28 minutes), and an age of introduction to liquids or solid/semi-solid foods at 177 days postpartum. Cluster 1 was selected as the reference group for subsequent analyses due to its balanced combination of breast milk volume, BF frequency, and duration, which provides a stable baseline for comparison against other clusters. Additionally, this cluster was chosen based on the age of introduction of liquids/foods, as it represented the highest age, indicating that these women maintained EBF for up to six months. Cluster 2 consisted of women with a lower average breast milk volume (761 mL) and age of introduction to solid/semi-solid foods at 126 days postpartum. Cluster 3 comprised women with a higher breast milk volume (920 mL), a BF frequency (20 times/24 hours), and an age of introduction to solid/semi-solid foods at approximately 109 days postpartum (Table 2).

In the unadjusted model (Model 1), women with higher scores of PPD symptoms had four times the odds of being in Cluster 3 of the BF pattern compared to Cluster 1 (OR = 4.17; 95% CI: 0.96–18.50;  $p = 0.055$ ), while no significant association was found for Cluster 2 (OR = 1.95; 95% CI: 0.42–8.88;  $p = 0.386$ ). In the adjusted model (Model 2), the odds of association between high PPD symptom scores and Cluster 3 lost statistical significance after adjusting for confounders (OR = 3.95; 95% CI: 0.84–10.18;  $p = 0.081$ ).

## **Discussion**

This study revealed two distinct trajectories of PPD symptoms during the postpartum period, with a predominance of women exhibiting low and stable scores over time while a smaller proportion maintained elevated scores. Three different BF pattern clusters were identified. Furthermore, women with higher PPD symptoms



showed a tendency to be associated with Cluster 3, suggesting a complex relationship between postpartum mental health and BF practices. These findings indicate a potential association between PPD symptoms and BF patterns, providing preliminary insights into how PPD symptoms may influence BF practices, with implications for shaping BF trajectories over time.

Maternal depression is a complex condition with clinical trajectories that vary widely depending on the severity, persistence, and timing of depressive symptoms. Several cut-off points have been used to categorize the presence of PPD symptoms; however, binary categorizations may not capture the transient nature of maternal mental health. Some studies have investigated maternal PPD symptoms over time, employing other methodological approaches such as group-based modeling, latent profile analysis, and latent growth mixture modeling to capture these distinct trajectories (Matijasevich et al., 2024). These techniques enable the identification of the different trajectories that maternal depression may manifest, elucidating patterns that may not be discernible through conventional analyses. In a recent study using data from the population-based birth cohort MINA-Brazil (n=1,141) conducted in the North region of Brazil, repeated measures of maternal depressive symptoms were collected at 3 and 6–8 months and 1 and 2 years postpartum using the EPDS. Four distinct trajectories of maternal PPD symptoms were identified: low (67.1%), increasing (11.5%), decreasing (17.4%), and high-chronic (4.0%) (Matijasevich et al., 2024).

In another study involving data from 14,170 mothers who participated in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC), the EPDS was used to capture maternal depressive symptoms across 10-time points, including two prenatal (18 and 32 weeks) and eight postnatal time points (2, 8, 21, 33, 61, 73, 97, and 134 months). A latent growth model was applied, identifying four distinct trajectories of maternal depressive symptoms over time: minimal symptoms (79%), increasing symptoms (4%), persistent symptoms (11%), and decreasing symptoms (6%) (Mughal et al., 2023). Most studies on perinatal depressive symptoms identify between two and five trajectories (Baron et al., 2017). Our data also revealed two trajectories: lower score (87%) and higher score (12%), with this distribution reflecting the small number of participants grouped in our study, a result that is consistent with the literature, where most women fall into trajectories of low or nonexistent PPD symptomatology, while approximately 5-12% exhibited elevated and persistent depressive symptoms over time (Matijasevich et al., 2024; Mughal et al., 2023; Sutter-Dallay et al., 2012).

PPD symptoms typically improve over time for most women. However, for a significant proportion, these symptoms become persistent, and if left untreated, approximately 40% of these women may continue to experience symptoms until their children enter preschool (Giallo et al., 2015; Horwitz et al., 2009). Our findings underscore the variability and dynamics of PPD symptoms, as evidenced by the transitions observed in the alluvial plot. Given the potential for far-reaching negative consequences for the mother-child dyad, particularly regarding BF practices, it is crucial to monitor these symptoms over an extended postpartum period.

To our knowledge, this is the first study to perform a cluster analysis to identify BF patterns. Cluster 3 demonstrates a higher mean of breast milk volume and BF frequency that is considerably higher than what is reported in the literature (919 mL and 20 times/24 hours, respectively) (Rios-Leyvraz and Yao, 2023; Kent et al., 2013). However, this cluster also showed shorter breastfeeding durations per feeding than findings in another study by Kent et al. (2013), where exclusively breastfed infants had a median duration of 36 minutes in the first month postpartum and 29 minutes at 3 months postpartum. This paradox can be elucidated by several interrelated factors inherent to this group. The relatively short duration of BF sessions may result in an increased BF frequency, which, in turn, can lead to greater energy expenditure and maternal fatigue (Badr and Zauszniewski, 2017). The lower mean age of introduction of liquids/foods (109 days) may also reflect this set of characteristics, given that factors associated with the early cessation of EBF include high levels of stress and fatigue, as well as parity, dyad separation, maternal education, maternal BF education, maternal breast and nipple pain, return to work, social influence, and perceived inadequate milk supply (Cohen et al., 2018; Morrison et al., 2019).

The findings from the unadjusted and adjusted models reveal a concerning trend regarding maternal PPD symptoms and BF patterns. Specifically, women exhibiting higher PPD symptom scores were four times more likely to be classified in Cluster 3, which is indicative of less favorable BF practices compared to Cluster 1, particularly concerning the earlier introduction of solid/semi-solid foods. While this association did not reach statistical significance, the odds ratio suggests a meaningful relationship that merits further investigation.

Evidence indicates that PPD is associated with the early cessation of EBF (Islam et al., 2021; Gila-Diaz et al., 2020; Silva et al., 2017). In the study by Flores-Quijano et al. (2008), which followed lactating women from the second to the 12th

week postpartum in Mexico (n = 163), it was found that women with depressive symptoms opted for the early introduction of complementary foods compared to those without depressive symptoms. Similarly, Rahman et al. (2016), in a cohort study conducted from the third trimester of pregnancy to six months postpartum in Pakistan, observed that perinatal depression was associated with early breastfeeding cessation but not with reduced breast milk volume. However, depression was related to the perception of insufficient breast milk production.

Commonly, PPD symptoms are often associated with elevated stress levels and the perception of insufficient breast milk volume (Pope; Mazmanian, 2016). A systematic review of 20 studies from high and low-middle-income countries (n=36.700) concluded that women with PPD may experience more concerns about breast milk insufficiency, leading to an increased breastfeeding frequency to ensure adequate intake for the baby. The pattern of frequent and shorter breastfeeding sessions, as observed in Cluster 3, could thus be a response aimed at compensating for the perceived low milk supply despite the higher volume seen in our results. These compensatory behaviors may contribute to maternal fatigue and higher PPD symptom scores, creating a cycle of fatigue and stress that undermines the sustainability of EBF.

The absence of statistically significant results in our models may be attributed to several study limitations, including a small sample size. Furthermore, using the EPDS may represent a limitation, as it is a screening tool for depressive symptoms and does not provide clinical diagnoses, highlighting caution when interpreting findings. Nevertheless, the EPDS is widely utilized in epidemiological research and has been validated for postpartum women in Brazil. Additionally, depressive symptoms and breast milk volume were not assessed before the one-month postpartum period. However, the key strengths of this study include the use of the deuterium oxide DTM technique, considered the gold standard for estimating breast milk volume (IAEA, 2010), the application of longitudinal data during the postpartum period, and the methodological aspects involved in cluster analysis based on trajectories.

In conclusion, this study highlights the complexity of maternal mental health and its impact on BF behaviors. The relationship between PPD symptoms and BF patterns indicates that women with higher PPD symptom scores may be more likely to engage in less favorable BF practices, such as the early introduction of complementary foods. Considering the long-term implications for maternal health and child development, future interventions must focus on the mental health of lactating,

ensuring that necessary support is provided to sustain EBF. Further, longitudinal studies with larger samples are needed to understand these dynamics better and identify potential intervention points to support mothers experiencing PPD symptoms.

### **CRedit authorship contribution statement**

**Gabriela Torres Silva:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Visualization, Methodology, Formal analysis, Data curation, Conceptualization.

**Daniela Paula Polessa:** Writing – review & editing, Methodology, Formal analysis, Data curation, Supervision. **Adriana Divina de Souza Campos, Bruna Celestino**

**Schneider, Daniela de Barros Mucci:** Writing – review & editing. **Amanda Caroline**

**Cunha Figueiredo:** Writing – review & editing, Methodology, Conceptualization,

Supervision. **Gilberto Kac:** Writing – review & editing, Validation, Supervision, Resources, Methodology, Conceptualization, Project administration, Funding acquisition.

### **Declaration of competing interest**

The authors report no conflicts of interest and declare that they have no competing interests.

**Funding:** This work was supported by the Bill & Melinda Gates Foundation (OPP1148405/INV-002300, OPP1061055; and USDA intramural funds (2023-51530-025-00D).

### **Acknowledgments**

We thank all cohort participants and the public maternity hospital in Rio de Janeiro, where the data was collected. We also thank the funding agencies for their financial support.

### **Data availability**

Data described in the manuscript, code book, and analytic code will be made available upon request, pending application and approval.

## References

- Allen, L.H., Hampel, D., Shahab-Ferdows, S., Andersson, M., Barros, E., Doel, A.M., Eriksen, K.G., Christensen, S.H., Islam, M., Kac, G., Keya, F.K., Michaelsen, K.F., Mucci, D.B., Njie, F., Peerson, J.M., Moore, S.E. 2021. The Mothers, Infants, and Lactation Quality (MILQ) Study: A Multi-Center Collaboration. *Curr Dev Nutr.* 10, nzab116. doi: 10.1093/cdn/nzab116.
- Badr, H.A., Zauszniewski, J.A. Meta-analysis of the predictive factors of postpartum fatigue. 2017. *Appl Nurs Res.* 36, 122-127. doi: 10.1016/j.apnr.2017.06.010.
- Baron, E., Bass, J., Murray, S.M., Schneider, M., Lund, C. 2017. A systematic review of growth curve mixture modelling literature investigating trajectories of perinatal depressive symptoms and associated risk factors. *J Affect Disord.* 1, 223:194-208. doi: 10.1016/j.jad.2017.07.046.
- Boccolini, C.S., Lacerda, E.M.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., Kac, G. 2023. Trends of breastfeeding indicators in Brazil from 1996 to 2019 and the gaps to achieve the WHO/UNICEF 2030 targets. *BMJ Glob Health.* 9, e012529.
- Brummelte, S., Galea, L.A. 2016. Postpartum depression: Etiology, treatment and consequences for maternal care. *Horm Behav.* 77, 153-66. doi: 10.1016/j.yhbeh.2015.08.008.
- Cohen, S.S., Alexander, D.D., Krebs, N.F., Young, B.E., Cabana, M.D., Erdmann, P., Hays, N.P., Bezold, C.P., Levin-Sparenberg, E., Turini, M., Saavedra, J.M. 2018. Factors Associated with Breastfeeding Initiation and Continuation: A Meta-Analysis. *J Pediatr.* 203,190-196.e21. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.08.008.
- Flores-Quijano, M.E., Córdova, A., Contreras-Ramírez, V., Farias-Hernández, L., Cruz Tolentino, M., Casanueva, E. 2008. Risk for postpartum depression, breastfeeding practices, and mammary gland permeability. *J Hum Lact.* 24, 50-7. doi: 10.1177/0890334407310587.
- Giallo, R., Bahreinian, S., Brown, S., Cooklin, A., Kingston, D., Kozyrskyj, A. Maternal depressive symptoms across early childhood and asthma in school children: findings from a Longitudinal Australian Population Based Study 2015. *PLoS One.* 3, e0121459. doi: 10.1371/journal.pone.0121459.
- Gila-Díaz, A., Carrillo, G.H., López de Pablo, Á.L., Arribas, S.M., Ramiro-Cortijo, D. 2020. Association between Maternal Postpartum Depression, Stress, Optimism, and Breastfeeding Pattern in the First Six Months. *Int J Environ Res Public Health.* 19, 7153. doi: 10.3390/ijerph17197153.
- Hahn-Holbrook, J., Cornwell-Hinrichs, T., Anaya, I. 2018. Economic and Health Predictors of National Postpartum Depression Prevalence: A Systematic Review, Meta-analysis, and Meta-Regression of 291 Studies from 56 Countries. *Front Psychiatry.* 1, 8:248. doi: 10.3389/fpsy.2017.00248.
- Herle, M., Micali, N., Abdulkadir, M., Loos, R., Bryant-Waugh, R., Hübel, C., Bulik, C.M., De Stavola, B.L. 2020. Identifying typical trajectories in longitudinal data: modelling strategies and interpretations. *Eur J Epidemiol.* 3, 205-222. doi: 10.1007/s10654-020-00615-6.
- Hewitt, C.E., Gilbody, S.M., Mann, R., Brealey, S. 2010. Instruments to identify post-natal depression: Which methods have been the most extensively validated, in what setting and in which language?. *Int J Psychiatry Clin Pract.* 1, 72-6. doi: 10.3109/13651500903198020.

Hoekstra, T., Twisk, J.W.R. The Analysis of Individual Health Trajectories Across the Life Course: Latent Class Growth Models Versus Mixed Models. In: Burton-Jeangros C, Cullati S, Sacker A, et al. (Editors). A Life Course Perspective on Health Trajectories and Transitions. Springer, 2015. Chapter 9. doi: 10.1007/978-3-319-20484-0\_9.

Horwitz, S.M., Briggs-Gowan, M.J., Storfer-Isser, A., Carter, A.S. Persistence of Maternal Depressive Symptoms throughout the Early Years of Childhood. 2009. *J Womens Health (Larchmt)*. 18, 637-45. doi: 10.1089/jwh.2008.1229.

International Atomic Energy Agency. Stable isotope technique to assess intake of human milk in breastfed infants, in: IAEA human health series, Vienna, Austria, 2010.

Islam, M.J., Broidy, L., Baird, K., Rahman, M., Zobair, K.M. 2021. Early exclusive breastfeeding cessation and postpartum depression: Assessing the mediating and moderating role of maternal stress and social support. *PLoS One*. 5, e0251419. doi: 10.1371/journal.pone.0251419.

Kent, J.C., Hepworth, A.R., Sherriff, J.L., Cox, D.B., Mitoulas, L.R., Hartmann, P.E. 2013. Longitudinal changes in breastfeeding patterns from 1 to 6 months of lactation. *Breastfeed Med*. 8, 401-7. doi: 10.1089/bfm.2012.0141.

Liu, Q., He H., Yang, J, Feng, X., Zhao, F., Lyu, J. 2020. Changes in the global burden of depression from 1990 to 2017: Findings from the Global Burden of Disease study. *J Psychiatr Res*. 126, 134-140. doi: 10.1016/j.jpsychires.2019.08.002.

Matijasevich, A., Faisal-Cury, A., Giacomini, I., Rodrigues, J.S., Castro, M.C., Cardoso, M.A. 2024. Maternal depression and offspring mental health at age 5: MINA-Brazil cohort study. *Rev Saude Publica*. 57, 5s. doi: 10.11606/s1518-8787.2023057005560.

Mercan, Y., Selcuk, K.T. 2021. Association between postpartum depression level, social support level and breastfeeding attitude and breastfeeding self-efficacy in early postpartum women. *PLoS One*. 4, e0249538. doi: 10.1371/journal.pone.0249538.

Morrison, A.H., Gentry, R., Anderson, J. Mothers' Reasons for Early Breastfeeding Cessation. 2019. *MCN Am J Matern Child Nurs*. 44, 325-330. doi: 10.1097/NMC.0000000000000566.

Mughal, M.K., Giallo, R., Arshad, M., Arnold, P.D., Bright, K., Charrois, E.M., Rai, B., Wajid, A., Kingston, D. 2023. Trajectories of maternal depressive symptoms from pregnancy to 11 years postpartum: Findings from Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC) cohort. *J Affect Disord*. 328, 191-199. doi: 10.1016/j.jad.2023.02.023.

O'Connor, E., Rossom, R.C., Henninger, M., Groom, H.C., Burda, B.U. 2016. Primary Care Screening for and Treatment of Depression in Pregnant and Postpartum Women: Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA*. 4, 388-406. doi: 10.1001/jama.2015.18948.

O'Hara, M.W., McCabe, J.E. 2013. Postpartum depression: current status and future directions. *Annu Rev Clin Psychol*. 9, 379-407. doi: 10.1146/annurev-clinpsy-050212-185612.

Pope, C.J., Mazmanian, D. 2016. Breastfeeding and Postpartum Depression: An Overview and Methodological Recommendations for Future Research. *Depress Res Treat*. 2016, 4765310. doi: 10.1155/2016/4765310.

Rahman, A., Hafeez, A., Bilal, R., Sikander, S., Malik, A., Minhas, F., Tomenson, B., Creed, F. 2016. The impact of perinatal depression on exclusive breastfeeding: a cohort study. *Matern Child Nutr*. 12, 452-62. doi: 10.1111/mcn.12170.

- Rios-Leyvraz, M., Yao, Q. The Volume of Breast Milk Intake in Infants and Young Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2023. *Breastfeed Med.* 18, 188-197. doi: 10.1089/bfm.2022.0281.
- Santos, I.S., Matijasevich, A., Tavares, B.F., Barros, A.J., Botelho, I.P., Lapolli, C., Magalhães, P.V., Barbosa, A.P., Barros, F.C. 2007. Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. *Cad Saude Publica.* 2007. 11, 2577-88. doi: 10.1590/s0102-311x2007001100005.
- Silva, C.S., Lima, M.C., Sequeira-de-Andrade, L.A.S., Oliveira, J.S., Monteiro, J.S., Lima, N.M.S., Santos, R.M.A.B., Lira, P.I.C. 2017. Association between postpartum depression and the practice of exclusive breastfeeding in the first three months of life. *J Pediatr (Rio J).* 93, 356-364. doi: 10.1016/j.jpmed.2016.08.005.
- Slomian, J., Honvo, G., Emonds, P., Reginster, J.Y., Bruyère, O. 2019. Consequences of maternal postpartum depression: A systematic review of maternal and infant outcomes. *Womens Health (Lond).* 15, 1745506519844044. doi: 10.1177/1745506519844044.
- Stelson, E.A., Kulkacek, L., Frasso, R., Hall, M., Guevara, J.P. 2021. Perspectives on Breastfeeding from Mothers with Postpartum Depression Symptoms: A Qualitative Assessment of Antecedents, Barriers, Facilitators, and Intervention Suggestions. *Breastfeed Med.* 10, 790-798. doi: 10.1089/bfm.2020.0251.
- Sutter-Dallay, A.L., Cosnefroy, O., Glatigny-Dallay, E., Verdoux, H., Rascle, N. 2012. Evolution of perinatal depressive symptoms from pregnancy to two years postpartum in a low-risk sample: the MATQUID cohort. *J Affect Disord.* 1, 23-9. doi: 10.1016/j.jad.2011.08.018.
- Theme Filha, M.M., Ayers, S., da Gama, S.G., Leal, M. C. 2016. Factors associated with postpartum depressive symptomatology in Brazil: The Birth in Brazil National Research Study, 2011/2012. *J Affect Disord.* 194, 159-67. doi: 10.1016/j.jad.2016.01.020.
- Vaz, J.S., Kac, G., Nardi, A.E., Hibbeln, J.R. 2014. Omega-6 fatty acids and greater likelihood of suicide risk and major depression in early pregnancy. *J Affect Disord.* 152-154, 76-82. doi: 10.1016/j.jad.2013.04.045.
- World Health Organization. 1995. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO expert committee. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 854:215–23.
- World Health Organization. Indicators for assessing infant and young child feeding practices. Washington D.C., USA: Conclusions of a consensus meeting held 6-8. 2007.
- World Health Organization. WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-forheight and body mass index-for-age: methods and development. Geneva, Switzerland: WHO: 336 p. 2006.
- World Medical Association. Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. 2013. *JAMA.* 20, 2191-4, 2013.
- Wouk, K., Stuebe, A.M., Meltzer-Brody, S. 2017. Postpartum Mental Health and Breastfeeding Practices: An Analysis Using the 2010-2011 Pregnancy Risk Assessment Monitoring System. *Matern Child Health J.* 3, 636-647. doi: 10.1007/s10995-016-2150-6.
- Zhao, X.H., Zhang, Z.H. 2020. Risk factors for postpartum depression: An evidence-based systematic review of systematic reviews and meta-analyses. *Asian J Psychiatr.* 53, 102353. doi: 10.1016/j.ajp.2020.102353.

Table 1. Descriptive maternal characteristics of the study participants (n=97)

<b>Continuous variables</b>	<b>Mean (SD)</b>
Maternal age, years	27 (5.8)
<b>Categorical variables</b>	<b>n (%)</b>
Maternal education, years	
< 8	12 (12.4)
8 – 12	77 (79.4)
> 12	8 (8.2)
Pre-pregnancy BMI, kg/m <sup>2</sup>	
Normal weight (18.5-24.9)	55 (56.7)
Overweight ( $\geq 25.0$ - $<30$ )	42 (43.3)
Parity, number of deliveries	
Primiparous	38 (39.2)
Multiparous	59 (60.8)
Mode of delivery	
Vaginal	78 (80.4)
Cesarean section	19 (19.6)
Breastfeeding status <sup>2</sup>	
M1 (1 – 3.5 months)	
Exclusive breastfeeding	88 (95.6)
Non-exclusive breastfeeding	4 (4.4)
M2 (3.5 – 5.9 months)	
Exclusive breastfeeding	34 (42.5)
Non-exclusive breastfeeding	46 (57.5)
M3 (6 – 8.5 months)	
Exclusive breastfeeding	(-)
Non-exclusive breastfeeding	63 (100)

Notes: Sample size at M1 (1 – 3.5 months): 94 individuals; M2 (3.5 – 5.9 months): 95 individuals; M3 (6-8.5 months): 88 individuals. SD, standard deviation

1 Women with five or more children are classified as grand multiparous.

2 Exclusive breastfeeding is defined as no other food or drink except breast milk. Non-exclusive breastfeeding was considered when any other liquid or food was introduced.



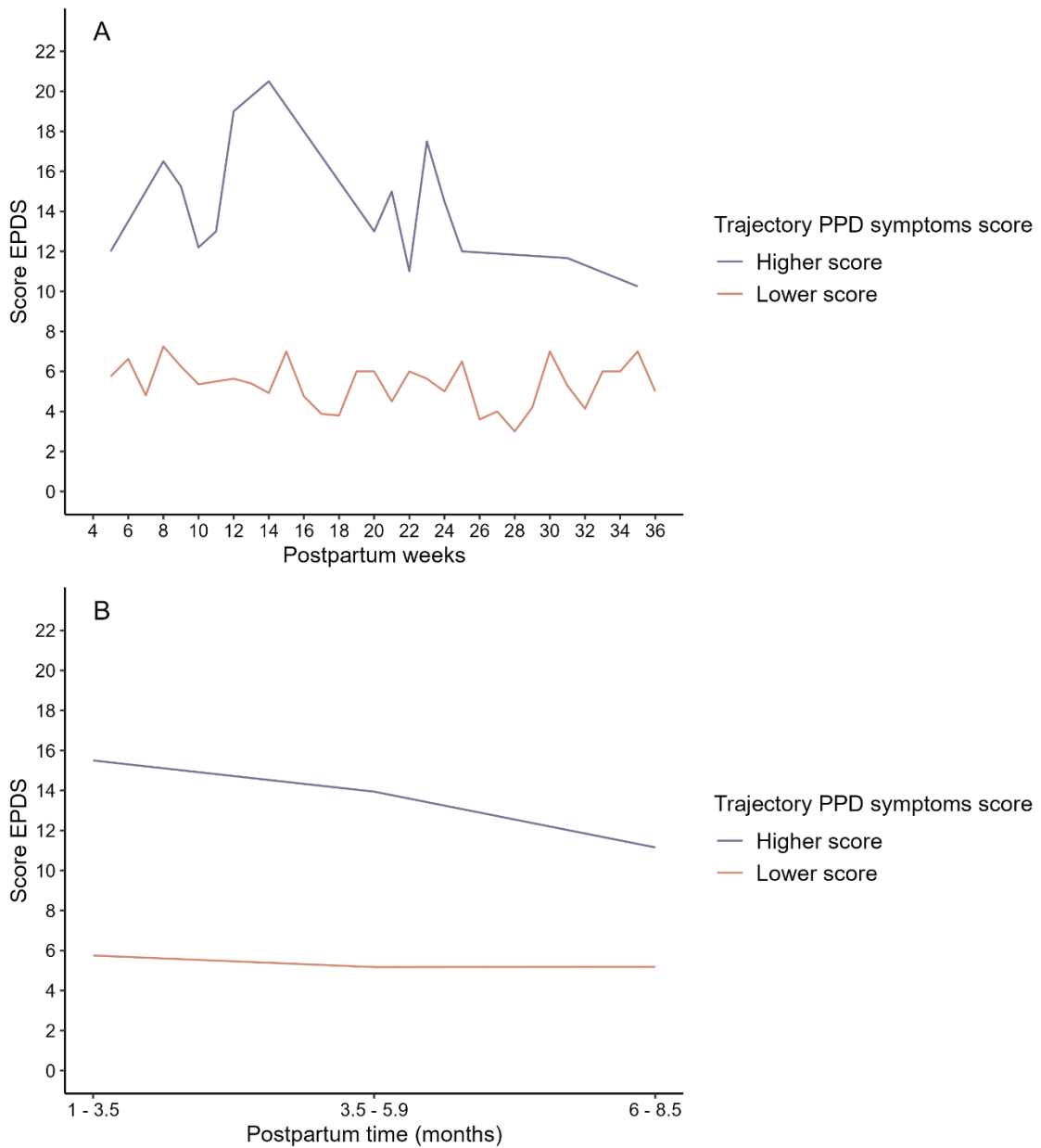


Figure 1. Trajectory of postpartum depression symptoms scores in lactating women. Note: Trajectory was estimated by latent class analysis. Higher score (n=12); Lower score(n=85). A. trajectory presented according to postpartum weeks. B. trajectory according to the study's follow-up periods. PPD, Postpartum depression; EPDS, Edinburgh Postnatal Depression Scale.

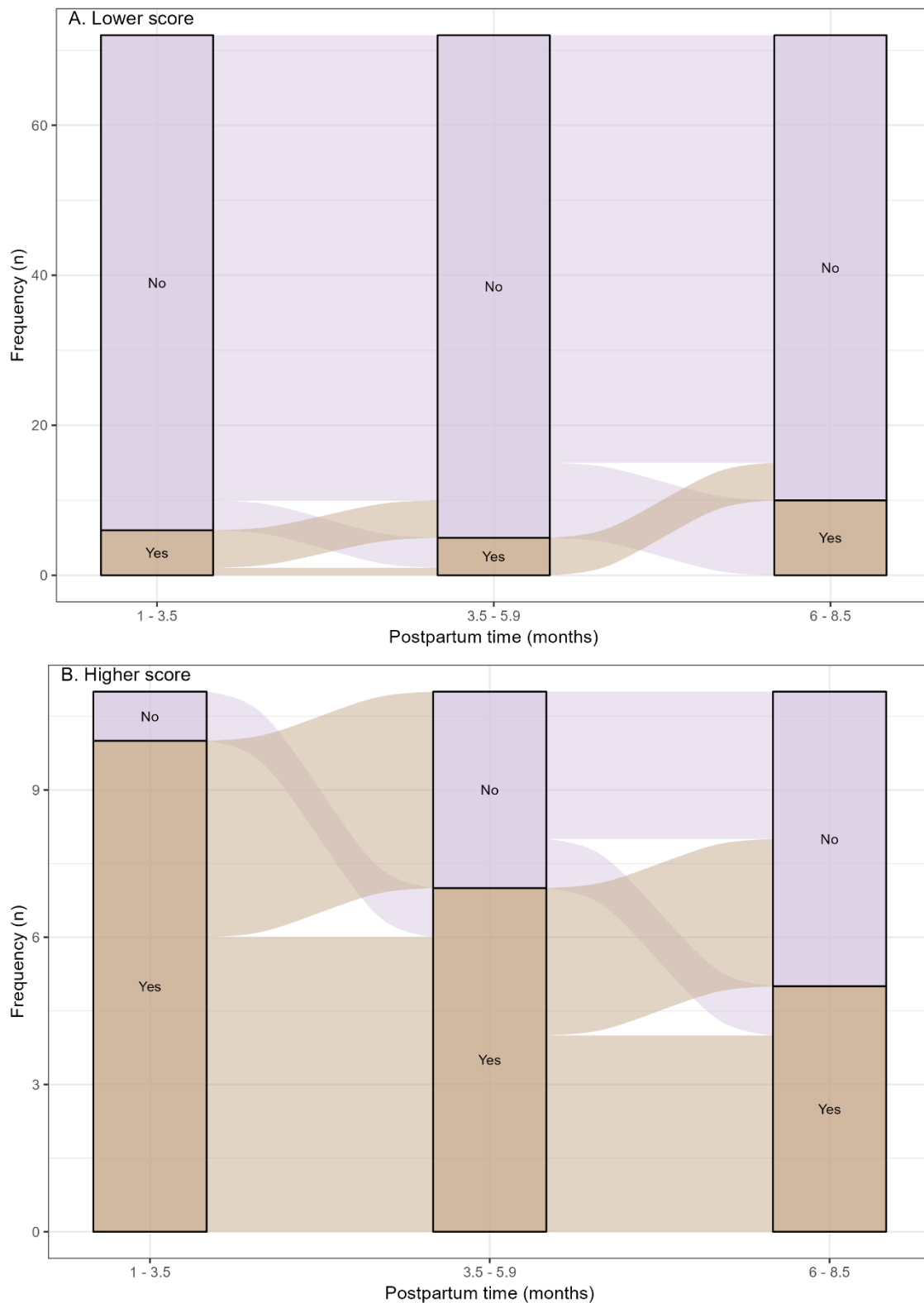


Figure 2. Alluvial plot of postpartum depressive symptoms at follow-up points stratified by trajectory of postpartum depression symptoms score.

Note: The flowing lines in the plot represent changes in EPDS status over time. Postpartum depressive symptoms: Yes ( $\geq 11$ ); No ( $< 11$ ), classified according to the cut-off score established by Santos et al. (2007). EPDS, Edinburgh Postnatal Depression Scale.

Table 2. Profile of breastfeeding patterns according to clusters

<b>Breastfeeding pattern</b>				
	Milk volume (mL)	Breastfeeding frequency (24h, times)	Age of liquid/food introduction (d)	Breastfeeding duration (minutes per feeding)
	Mean (SD)			
<b>Cluster 1 (n=37)</b>	842 (173.6)	13 (4.1)	177 (16.6)	28 (20.9)
<b>Cluster 2 (n=34)</b>	761 (170.8)	13 (4.5)	126 (19.7)	23 (9.9)
<b>Cluster 3 (n=26)</b>	919 (147.3)	20 (7.3)	109 (33.4)	16 (8.0)

Note: SD, standard deviation. Breastfeeding patterns were created using cluster analysis and longitudinal data.

Key characteristics: Cluster 1: moderate volume, average frequency, late liquid/food introduction; Cluster 2: lower volume, lower frequency, intermediate introduction of liquid/food; Cluster 3: higher volume, higher frequency, early introduction of liquid/food.

Table 3. Association between trajectory of postpartum depression symptoms scores and breastfeeding pattern clusters

Trajectory PPD symptoms score	Clusters of breastfeeding patterns				
	Cluster 1 (n=37)	Cluster 2 (n=34)		Cluster 3 (n=36)	
		OR (95% CI)	p-value	OR (95% CI)	p-value
<b>Model 1<sup>a</sup></b>					
Low score	ref	Ref	-	ref	-
High score	ref	1.95 (0.42; 8.88)	0.386	4.17 (0.96; 18.50)	0.055
<b>Model 2<sup>b</sup></b>					
Low score	ref	Ref	-	ref	-
High score	ref	1.73 (0.33; 9.08)	0.512	3.95 (0.84; 10.18)	0.081

Notes: Multinomial logistic regression models were performed. OR = Odds ratio; PPD = Postpartum depression

PPD symptom trajectories estimated by latent class analysis: 'Lower score' indicates consistently lower PPD symptom levels, while 'Higher score' indicates elevated levels throughout the study, according to EPDS score.

Breastfeeding patterns were created using cluster analysis and longitudinal data. The following variables were included: breast milk volume, BF frequency, BF duration per feeding, and the age of introduction of liquids/foods. Key characteristics: Cluster 1: moderate volume, average frequency, late liquid/food introduction; Cluster 2: lower volume, lower frequency, intermediate introduction of liquid/food; Cluster 3: higher volume, higher frequency, early introduction of liquid/food.

<sup>a</sup>Non-adjusted

<sup>b</sup>Adjusted for parity, maternal age, maternal education, and pre-pregnancy BMI.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese contribuiu para o entendimento das complexas relações entre fatores maternos e infantis, os sintomas de depressão pós-parto (DPP) e as características do aleitamento materno no contexto brasileiro. Foram investigados preditores que influenciam o volume de leite materno e a associação da saúde mental materna com distintos os padrões de aleitamento por meio de dois artigos.

No Artigo 1 identificou-se que paridade, frequência de aleitamento e *status* de AME desempenham papéis centrais na trajetória do volume de leite materno. Primíparas apresentaram volumes de leite mais elevados, porém com declínio mais acentuado ao longo do tempo, enquanto a manutenção da AME e uma frequência maior de amamentação (>13 vezes/dia) foram associadas a volumes de leite mais altos. Esses resultados reforçam a importância de práticas de AM alinhada às recomendações estabelecidas, e de estratégias de apoio às mães, especialmente para prolongar a duração da AME e AM continuado.

No Artigo 2, foi possível identificar duas trajetórias distintas de sintomas de DPP (menor escore e maior escore), além de três clusters de padrões de amamentação, caracterizados por diferenças no volume de leite, frequência e duração das mamadas, e idade de introdução de alimentos complementares. Mulheres com maiores escores de sintomas de DPP apresentaram maior chance de pertencer ao cluster 3, caracterizado por alta frequência de amamentação, maior volume de leite e introdução precoce de alimentos líquidos e sólidos. Embora essa associação não tenha alcançado significância estatística, os resultados indicam um padrão preocupante em que sintomas elevados de DPP podem impactar negativamente práticas de amamentação, sugerindo um ciclo de estresse e exaustão materna.

Os resultados desta tese oferecem implicações práticas relevantes. A associação entre sintomas de DPP e padrões de amamentação ressalta a necessidade de intervenções que integrem suporte à saúde mental materna e práticas de amamentação. O acompanhamento longitudinal de mães e lactentes deve ser priorizado, especialmente durante os primeiros meses pós-parto, quando mudanças significativas ocorrem tanto na produção de leite quanto na saúde mental. Além disso, os resultados destacam a importância da elaboração de programas de apoio direcionados a grupos

vulneráveis, como mães primíparas e aquelas com sintomas DPP, para garantir a continuidade do AME e o bem-estar do binômio mãe-bebê.

Apesar das limitações inerentes ao tamanho da amostra e à ausência de dados acerca do volume e de características de aleitamento anterior ao primeiro mês de vida, esta tese utilizou metodologias robustas, como o uso da técnica de diluição de deutério para estimativa do volume de leite e análises estatísticas avançadas, oferecendo contribuições inovadoras ao campo da nutrição. Estudos futuros devem ampliar as investigações com amostras maiores e explorar fatores adicionais que possam influenciar a amamentação e a saúde mental materna, contribuindo para melhora e elaboração de novas estratégias, como programas de apoio à saúde mental para mulheres no pós-parto, monitoramento da saúde da mulher no período pós-parto, além da ampliação de ações de incentivo ao AM.

Em conclusão, esta tese reforça a relevância de promover práticas de amamentação e cuidado a saúde mental no período pós-parto, enfatizando a interdependência entre esses fatores. As políticas públicas e os serviços de saúde devem considerar as interações complexas entre os aspectos biológicos, emocionais e sociais da maternidade para proporcionar cuidados integrados e humanizados às famílias brasileiras. Isso inclui oferecer apoio emocional especializado contínuo às mães, estratégias de prevenção e tratamento de sintomas de DPP. Ainda, investimento em uma maior sensibilização social sobre a importância do apoio à saúde mental materna e à amamentação, combatendo estigmas e promovendo uma rede de apoio eficiente e acessível a todas as mães.

## REFERÊNCIAS

ALTMAN, D. G.; BLAND, J.M. Measurement in Medicine: The Analysis of Method Comparison Studies, **Journal of the Royal Statistical Society Series D: The Statistician**, v. 32, n. 3, p. 307–317,1983.

ALTMAN, D.G.; BLAND, J. Martin. Interaction revisited: the difference between two estimates. **BMJ**, v. 326, n. 7382, p. 219, 2003.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. **American Psychiatric Association**; 2013.

AMIR, L.H.; DONATH, S. A systematic review of maternal obesity and breastfeeding intention, initiation and duration. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 7, p. 1-14, 2007.

ANDREAS, Nicholas J.; KAMPMANN, Beate; LE-DOARE, Kirsty Mehring. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. **Early Human Development**, v. 91, n. 11, p. 629-635, 2015.

ARTHUR, P. G.; HARTMANN, P. E.; SMITH, M. Measurement of the milk intake of breast- fed infants. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 6, n. 5, p. 758-763, 1987.

ASZTALOS, E.V. Supporting mothers of very preterm infants and breast milk production: A review of the role of galactogogues. **Nutrients**, v. 10, n. 5, p. 600, 2018.

BALLARD, O.; MORROW, A.L. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. **Pediatric Clinics**, v. 60, n. 1, p. 49-74, 2013.

BELLÙ, R.; CONDÒ, M. Breastfeeding promotion: evidence and problems. **La Pediatria Medica e Chirurgica**, v. 39, n. 2, 2017.

BEVER, J.B. et al. Reduced breastfeeding rates among obese mothers: a review of contributing factors, clinical considerations and future directions. **International Breastfeeding Journal**, v. 10, p. 1-11, 2015.

BLACKBURN, S. **Maternal, Fetal, & Neonatal Physiology**. 4th ed. Philadelphia (PA): Saunders, Elsevier Health Sciences, 2012.

BOCCOLINI, C.S. et al. Breastfeeding during the first hour of life and neonatal mortality. **Jornal de Pediatria**, v. 89, p. 131-136, 2013.

BOCCOLINI, C.S. et al. 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, p. e012529, 2023.

BOONE-HEINONEN, J. et al. 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, 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Saúde da criança: aleitamento materno e alimentação complementar**. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. 2015.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Saúde da criança: Nutrição Infantil Aleitamento Materno**

BRASIL. Resolução n 466 de 12 de dezembro de 2012: diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília (DF): MS; 2012.

Breastfeeding Duration and Early Childhood Cardiometabolic Risk. **The Journal of Pediatrics**, 192, p. 80-85.e81, 2018.

BROWNELL, E. et al. Delayed onset lactogenesis II predicts the cessation of any or exclusive breastfeeding. **The Journal of pediatrics**, v. 161, n. 4, p. 608-614, 2012.

BRUMMELTE, S.; GALEA, L.A.M. Postpartum depression: Etiology, treatment and consequences for maternal care. **Hormones and behavior**, v. 77, p. 153-166, 2016.

BUHIMSCHI, Catalin S. Endocrinology of lactation. **Obstetrics and Gynecology Clinics**, v. 31, n. 4, p. 963-979, 2004.

BUTTE, N.F. et al. Effect of maternal diet and body composition on lactational performance. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 39, n. 2, p. 296-306, 1984.

BUTTE, N. F. et al. Human-milk intake measured by administration of deuterium oxide to the mother: a comparison with the test-weighing technique. **The American journal of clinical nutrition**, v. 47, n. 5, p. 815-821, 1988.

BYSTROVA, K. et al. Early lactation performance in primiparous and multiparous women in relation to different maternity home practices. A randomised trial in St. Petersburg. **International Breastfeeding Journal**, v. 2, p. 1-14, 2007.

CARREGA, J. et al. Impact of the quality of postpartum sleep and its health determinants on human milk volume. **The American Journal of Maternal/Child Nursing**, v. 45, n. 5, p. 289- 295, 2020.

CHENG, F. et al. Do breast implants influence breastfeeding? A meta-analysis of comparative studies. **Journal of Human Lactation**, v. 34, n. 3, p. 424-432, 2018.

CHRISTIAN, P. et al. The need to study human milk as a biological system. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 113, n. 5, p. 1063-1072, 2021.

COHEN, S.S. et al. Factors associated with breastfeeding initiation and continuation: a meta- analysis. **The Journal of Pediatrics**, v. 203, p. 190-196. e21, 2018.

COWARD, W. A. Measuring milk intake in breast-fed babies. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 275-279, 1984.

COWARD, W. A. Measuring milk intake in breast-fed babies. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 275-279, 1984.

COWARD, W.A. et al. Breast-milk intake measurement in mixed-fed infants by administration of deuterium oxide to their mothers. **Human nutrition. Clinical nutrition**, v. 36, n. 2, p. 141- 148, 1982.

COX, J.L.; HOLDEN, J.M.; SAGOVSKY, R. Detection of postnatal depression: development of the 10-item Edinburgh Postnatal Depression Scale. **The British Journal of Psychiatry**, v. 150, n. 6, p. 782-786, 1987.



- DADI, A. F.; MILLER, E. R.; MWANRI, L. Postnatal depression and its association with adverse infant health outcomes in low- and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 20, n. 1, p. 1-15, 2020.
- DAGLA, M. et al. Women's Mental Health as a Factor Associated with Exclusive Breastfeeding and Breastfeeding Duration: Data from a Longitudinal Study in Greece. **Children**, v. 8, n. 2, p. 150, 2021.
- DALY, S. EJ; HARTMANN, P.E. Infant demand and milk supply. Part 2: The short-term control of milk synthesis in lactating women. **Journal of Human Lactation**, v. 11, n. 1, p. 27- 37, 1995.
- DENNIS, C.L; FALAH-HASSANI, K.; SHIRI, R.. Prevalence of antenatal and postnatal anxiety: systematic review and meta-analysis. **The British Journal of Psychiatry**, v. 210, n. 5, p. 315-323, 2017.
- DEWEY, K. G. et al. Relationship of maternal age to breast milk volume and composition. **Human lactation 2: maternal and environmental factors**, p. 263-273, 1986.
- DEWEY, K.G. et al. Maternal versus infant factors related to breast milk intake and residual milk volume: the DARLING study. **Pediatrics**, v. 87, n. 6, p. 829-837, 1991.
- DIANA, A. et al. 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, 2019.
- DIAS, C.C.; FIGUEIREDO, B. Breastfeeding and depression: a systematic review of the literature. **Journal of Affective Disorders**, v. 171, p. 142-154, 2015.
- DOIS, A. et al. Factores de riesgo asociados a síntomas depresivos post parto en mujeres de bajo riesgo obstétrico atendidas en el sistema público. **Revista médica de Chile**, v. 140, n. 6, p. 719-725, 2012.
- DROR, Daphna K.; ALLEN, Lindsay H. Overview of nutrients in human milk. **Advances in Nutrition**, v. 9, p. 278S-294S, 2018.
- e Alimentação Complementar**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2009. Disponível em:[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude\\_crianca\\_nutricao\\_aleitamento\\_alimentac\\_ao.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_crianca_nutricao_aleitamento_alimentac_ao.pdf).
- EIDELMAN, A.I.; SCHANLER, R.J. Breastfeeding and the use of human milk: An analysis of the American Academy of Pediatrics 2012 Breastfeeding Policy Statement. **Breastfeeding Medicine**, v. 7, n. 5, p. 323, 2012.
- ENGSTROM, J. L. et al. Comparison of milk output from the right and left breasts during simultaneous pumping in mothers of very low birthweight infants. **Breastfeeding Medicine**, v. 2, n. 2, p. 83-91, 2007.
- EVAGOROU, O.; ARVANITI, A.; SAMAKOURI, M. Cross-cultural approach of postpartum depression: manifestation, practices applied, risk factors and therapeutic interventions. **Psychiatric Quarterly**, v. 87, p. 129-154, 2016.

- FARAH, E. et al. Impaired lactation: review of delayed lactogenesis and insufficient lactation. **Journal of Midwifery & Women's Health**, v. 66, n. 5, p. 631-640, 2021.
- FARÍAS-ANTÚNEZ, S. et al. Maternal mood symptoms in pregnancy and postpartum depression: association with exclusive breastfeeding in a population-based birth cohort. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 55, p. 635-643, 2020.
- FARÍAS-ANTÚNEZ, S.; XAVIER, M.O.; SANTOS, I.S. Effect of maternal postpartum depression on offspring's growth. **Journal of Affective Disorders**, v. 228, p. 143-152, 2018.
- FELTNER, C.; WEBER, R. P.; STUEBE, A.; GRODENSKY, C. A. et al. **Breastfeeding Programs and Policies, Breastfeeding Uptake, and Maternal Health Outcomes in Developed Countries**. Agency for Healthcare Research and Quality. 2018.
- FIGUEIREDO, A.C.C. et al. Association between plasma concentrations of vitamin D metabolites and depressive symptoms throughout pregnancy in a prospective cohort of Brazilian women. **Journal of Psychiatric Research**, v. 95, p. 1-8, 2017.
- FLORES-QUIJANO, M.E. et al. Risk for postpartum depression, breastfeeding practices, and mammary gland permeability. **Journal of Human Lactation**, v. 24, n. 1, p. 50-57, 2008.
- GEDDES, D.T. et al. 25 years of research in human lactation: from discovery to translation. **Nutrients**, v. 13, n. 9, p. 3071, 2021.
- GILA-DÍAZ, A. et al. Association between maternal postpartum depression, stress, optimism, and breastfeeding pattern in the first six months. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 19, p. 7153, 2020.
- GOLAN, Y.; ASSARAF, Y.G. Genetic and physiological factors affecting human milk production and composition. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1500, 2020.
- GOMEZ-JUGE, C. et al. Breast Milk Production Variability Among Mothers of Preterm Infants. **Breastfeeding Medicine**, v. 18, n. 8, p. 571-578, 2023.
- HAISMA, H. et al. 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.
- HANDLIN, L. et al. Effects of sucking and skin-to-skin contact on maternal ACTH and cortisol levels during the second day postpartum—influence of epidural analgesia and oxytocin in the perinatal period. **Breastfeeding Medicine**, 4, n. 4, p. 207-220, 2009.
- HAHN-HOLBROOK, J.; CORNWELL-HINRICHS, T.; ANAYA, I. Economic and health predictors of national postpartum depression prevalence: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression of 291 studies from 56 countries. **Frontiers in Psychiatry**, v. 8, p. 248, 2018.
- HEWITT, C. E. et al. Instruments to identify post-natal depression: which methods have been the most extensively validated, in what setting and in which language?. **International Journal of Psychiatry in Clinical Practice**, v. 14, n. 1, p. 72-76, 2010.

HILL, P.D.; ALDAG, J.C.; CHATTERTON, R.T. Initiation and frequency of pumping and milk production in mothers of non-nursing preterm infants. **Journal of Human Lactation**, v. 17, n. 1, p. 9-13, 2001.

HOLLAND, B. et al. **The Composition of Foods**, 5th Edition. Cambridge, UK: McChance and Widdowson. 1991.

HORTA, B. L.; LORET DE MOLA, C.; VICTORA, C. G. Breastfeeding and intelligence: a

HOWARD, L.M. et al. Non-psychotic mental disorders in the perinatal period. **The Lancet**, v. 384, n. 9956, p. 1775-1788, 2014.

HRUSCHKA, D.J. et al. Delayed onset of lactation and risk of ending full breastfeeding early in rural Guatemala. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 8, p. 2592-2599, 2003.

[http://www.who.int/nutrition/publications/iycf\\_indicators\\_for\\_peer\\_review.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/iycf_indicators_for_peer_review.pdf).

HUANG, S.K; CHIH, M.H. Increased breastfeeding frequency enhances milk production and infant weight gain: correlation with the basal maternal prolactin level. **Breastfeeding Medicine**, v. 15, n. 10, p. 639-645, 2020.

IAEA. International Atomic Energy Agency. Stable isotope technique to assess intake of human milk in breastfed infants, in: **IAEA human health series**, Vienna, Austria, 2010.

INGRAM, J.C. et al. Maternal predictors of early breast milk output. **Acta Paediatrica**, v. 88, n. 5, p. 493-499, 1999.

IOM. Institute of Medicine (U.S, Subcommittee on Nutrition during Lactation. and United States. Health Resources and Services Administration, in: **Nutrition during lactation**, National Academy Press. xiii, Washington, D.C., 1991.

ISLAM, M. J. et al. Early exclusive breastfeeding cessation and postpartum depression: Assessing the mediating and moderating role of maternal stress and social support. **PloS One**, v. 16, n. 5, 2021.

KAC, G. et al. Breastfeeding and postpartum weight retention in a cohort of Brazilian women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 3, p. 487-493, 2004.

KAWASHIMA, A.; DETSUKA, N.; YANO, R. Sleep deprivation and fatigue in early postpartum and their association with postpartum depression in primiparas intending to establish breastfeeding. **Journal of Rural Medicine**, v. 17, n. 1, p. 40-49, 2022.

KEDIDA, M.H.; ASFAW, H.M.; ABEBE, F. Factors Associated with an Inadequate Volume of Expressed Milk Among Mothers of Preterm and Low Birth Weight Neonates Admitted to Neonatal Intensive Care Units of Government Hospitals in Addis Ababa, Ethiopia. **Pediatric Health, Medicine and Therapeutics**, p. 1-10, 2023.

KENT, J. C.; GARDNER, H.; GEDDES, D. T. Breastmilk production in the first 4 weeks after birth of term infants. **Nutrients**, v. 8, n. 12, p. 756, 2016.

- KENT, J.C. et al. Causes of perception of insufficient milk supply in Western Australian mothers. **Maternal & Child Nutrition**, v. 17, n. 1, p. e13080, 2021.
- KENT, J.C. et al. Impact of measuring milk production by test weighing on breastfeeding confidence in mothers of term infants. **Breastfeeding Medicine**, v. 10, n. 6, p. 318-325, 2015.
- KENT, J.C. et al. Longitudinal changes in breastfeeding patterns from 1 to 6 months of lactation. **Breastfeeding Medicine**, v. 8, n. 4, p. 401-407, 2013.
- KENT, J.C. et al. Volume and frequency of breastfeedings and fat content of breast milk throughout the day. **Pediatrics**, v. 117, n. 3, p. e387-e395, 2006.
- KENT, J.C.; PERRELLA, S.L.; GEDDES, D.T. Measurement of human milk production and infant milk intake—challenges and opportunities. **Human Milk**, p. 35-66, 2021.
- KESSLER, R.C.; BROMET, E.J. The epidemiology of depression across cultures. **Annual Review Public Health**, v. 34, p. 119-138, 2013.
- KRAUT, R. Y. et al. The impact of breast reduction surgery on breastfeeding: Systematic review of observational studies. **PLoS One**, v. 12, n. 10, p. e0186591, 2017.
- KROSKA, E.B.; STOWE, Z.N. Postpartum depression: identification and treatment in the clinic setting. **Obstetrics and Gynecology Clinics**, v. 47, n. 3, p. 409-419, 2020.
- KULSKI, J.K.; HARTMANN, P.E. Changes in human milk composition during the initiation of lactation. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, v. 59, n. 1, p. 101-114, 1981.
- LEVINE, S. et al. Stress-induced hyperprolactinemia: pathophysiology and clinical approach. **Obstetrics and gynecology international**, v. 2018, 2018.
- LEVIS, B. et al. Accuracy of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) for screening to detect major depression among pregnant and postpartum women: systematic review and meta-analysis of individual participant data. **BMJ**, v. 371, 2020.
- MACY, I.G. et al. Human milk flow. **American Journal of Diseases of Children**, v. 39, n. 6, p. 1186-1204, 1930.
- MATHERS, C. D, LONCAR, D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. **PLoS Medicine**, v. 3, n. 11, 2006.
- MELO, D.S.; OLIVEIRA, M.H de; PEREIRA, D.S. Brazil's progress in protecting, promoting and supporting breastfeeding from the perspective of the global breastfeeding collective. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 39, p. e2019296, 2019.
- MERCAN, Y.; SELCUK, K.T. Association between postpartum depression level, social support level and breastfeeding attitude and breastfeeding self-efficacy in early postpartum women. **PloS One**, v. 16, n. 4, p. e0249538, 2021.
- MITOULAS, L.R. et al. Variation in fat, lactose and protein in human milk over 24h and throughout the first year of lactation. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. 1, p. 29-37, 2002.

- MOORE, E.R. Early skin-to-skin contact for mothers and their healthy newborn infants. **Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing**, v. 42, p. S86, 2013.
- MOSCA, F.; GIANNÌ, M.L. Human milk: composition and health benefits. **La Pediatria Medica e Chirurgica**, v. 39, n. 2, 2017.
- MURHIMA' ALIKA, C.C. et al. Human Milk output among mothers previously treated for severe acute malnutrition in childhood in Democratic Republic of Congo. **BMC Nutrition**, v. 7, p. 1-9, 2021.
- NEELON, S.E.B. et al. Correlation between maternal and infant cortisol varies by breastfeeding status. **Infant Behavior and Development**, v. 40, p. 252-258, 2015.
- NEIFERT, M.R. Prevention of breastfeeding tragedies. **Pediatric Clinics**, v. 48, n. 2, p. 273- 297, 2001.
- NEVILLE, M.C. **Determinants of milk volume and composition**. Academic Press, San Diego, 1995.
- NEVILLE, M.C.; MORTON, J. Physiology and endocrine changes underlying human lactogenesis II. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 11, p. 3005S-3008S, 2001.
- NEVILLE, M.C.; MORTON, J.; UMEMURA, S. Lactogenesis: the transition from pregnancy to lactation. **Pediatric Clinics of North America**, v. 48, n. 1, p. 35-52, 2001.
- O'CONNOR, E. et al. Primary care screening for and treatment of depression in pregnant and postpartum women: evidence report and systematic review for the US Preventive Services Task Force. **The Journal of the American Medical Association**, v. 315, n. 4, p. 388-406, 2015.
- O'HARA, M.W.; MCCABE, J.E. Postpartum depression: current status and future directions. **Annual Review of Clinical Psychology**, v. 9, p. 379-407, 2013.
- ONYEWUENYI, T.L. et al. Neighborhood disadvantage, race and ethnicity, and postpartum depression. **JAMA Network Open**, v. 6, n. 11, p. e2342398-e2342398, 2023.
- PANG, W.; HARTMANN, P.E. Initiation of human lactation: secretory differentiation and secretory activation. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 12, p. 211-221, 2007.
- PEAKER, M.; WILDE, C.J. Feedback control of milk secretion from milk. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 1, p. 307-315, 1996.
- PÉREZ-ESCAMILLA, R. et al. Breastfeeding: crucially important, but increasingly challenged in a market-driven world. **The Lancet**, v. 401, n. 10375, p. 472-485, 2023.
- PILLAY, J.; DAVIS, T.J. **Physiology, lactation**. StatPearls, 2023.
- POPE, C. J.; MAZMANIAN, D. Breastfeeding and postpartum depression: an overview and methodological recommendations for future research. **Depression Research and Treatment**, v. 2016, 2016.

- PRENTICE, A. et al. Cross-cultural differences in lactational performance. In: **Human lactation 2: maternal and environmental factors**. Boston, MA: Springer US, p. 13-44, 1986.
- PRENTICE, A. M.; GOLDBERG, G. R.; PRENTICE, A. Body mass index and lactation performance. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, p. S78-86; discussion S86, 1994.
- RAHMAN, A. et al. The impact of perinatal depression on exclusive breastfeeding: a cohort study. **Maternal & child nutrition**, v. 12, n. 3, p. 452-462, 2016.
- RASMUSSEN, K.M. Association of maternal obesity before conception with poor lactation performance. **Annual Review of Nutrition**, v. 27, p. 103-121, 2007.
- REA, M.F. Reflexões sobre a amamentação no Brasil: de como passamos a 10 meses de duração. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. S37-S45, 2003.
- REILLY, J.J.; ASHWORTH, S.; WELLS, J.C.K. Metabolisable energy consumption in the exclusively breast-fed infant aged 3–6 months from the developed world: a systematic review. **British Journal of Nutrition**, v. 94, n. 1, p. 56-63, 2005.
- 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, 2023.
- ROBINSON, M. et al. Low maternal serum vitamin D during pregnancy and the risk for postpartum depression symptoms. **Archives of Women's Mental Health**, v. 17, p. 213-219, 2014.
- ROOHI, S.; BILAL, R.; LATIF, Z. **Deuterium dilution method for determining the Breast milk intake of babies**. Pakistan Inst. of Nuclear Science and Technology, 2000.
- ROZNOWSKI, D.M. et al. Validity of a 3-hour breast milk expression protocol in estimating current maternal milk production capacity and infant breast milk intake in exclusively breastfeeding dyads. **Breastfeeding Medicine**, v. 15, n. 10, p. 630-638, 2020.
- RUDZIK, A.E.F et al. Relationships between postpartum depression, sleep, and infant feeding in the early postpartum: An exploratory analysis. **Frontiers in Psychiatry**, v. 14, p. 1133386, 2023.
- SANTOS, I. S. et al. Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, p. 2577-2588, 2007.
- SEIMYR, L. et al. In the shadow of maternal depressed mood: experiences of parenthood during the first year after childbirth. **Journal of Psychosomatic Obstetrics and Gynecology**, v. 25, n. 1, p. 23-34, 2004.
- SLOMIAN, J. et al. Consequences of maternal postpartum depression: A systematic review of maternal and infant outcomes. **Women's Health**, v. 15, p. 1745506519844044, 2019.

- SMITH, E.R. et al. Delayed breastfeeding initiation and infant survival: a systematic review and meta-analysis. **PLoS one**, v. 12, n. 7, p. e0180722, 2017.
- SMITH, K.; de TORRES, I. A world of depression. **Nature**, v. 515, n. 181, p. 10-1038, 2014. systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica**, 104, n. 467, p. 14-19, 2015.
- SOLIMAN, S.M.; SOLIMAN, A.M.; BAKR, M.S. Relationships between maternal nutritional status, quantity and composition of breast milk in Egypt. **African Journal of Food Science and Technology**, v. 2, p. 59-64, 2014.
- STELSON, E.A. et al. Perspectives on Breastfeeding from Mothers with Postpartum Depression Symptoms: A Qualitative Assessment of Antecedents, Barriers, Facilitators, and Intervention Suggestions. **Breastfeeding Medicine**, v. 16, n. 10, p. 790-798, 2021.
- STEWART, D.E.; VIGOD, S.N. Postpartum depression: pathophysiology, treatment, and emerging therapeutics. **Annual Review of Medicine**, v. 70, n. 1, p. 183-196, 2019.
- STEWART, D.E.; VIGOD, S. Postpartum depression. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 22, p. 2177-2186, 2016.
- THEME-FILHA, M.M. et al. Factors associated with postpartum depressive symptomatology in Brazil: The Birth in Brazil National Research Study, 2011/2012. **Journal of Affective Disorders**, v. 194, p. 159-167, 2016.
- TRUCHET, S.; HONVO-HOUÉTO, E. Physiology of milk secretion. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 31, n. 4, p. 367-384, 2017.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO. **Aleitamento materno: Prevalência e práticas de aleitamento materno em crianças brasileiras menores de 2 anos 4: ENANI 2019.** - Documento eletrônico. - Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, 2021. (108 p.). Coordenador geral, Gilberto Kac. Disponível em: <https://enani.nutricao.ufrj.br/index.php/relatorios/>. Acesso em: 02.11.2023
- VAZ, J.S. et al. Omega-6 fatty acids and greater likelihood of suicide risk and major depression in early pregnancy. **Journal of Affective Disorders**, v. 152, p. 76-82, 2014.
- VICTORA, C.G. et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. **The Lancet**, v. 387, n. 10017, p. 475-490, 2016.
- VIEIRA, E. de S. et al. Breastfeeding self-efficacy and postpartum depression: a cohort study. **Revista latino-americana de enfermagem**, v. 26, p. e3035, 2018.
- WHO, W. H. O. **The optimal duration of exclusive breastfeeding report of an expert consultation.** Geneva, Switzerland, 2001.
- WHO. Depressive Disorder (Depression) World Health Organization. **Geneva, Switzerland**, 2023.
- WHO. GBD 2019 risk factors collaborators et al. The Lancet: Latest global disease estimates reveal perfect storm of rising chronic diseases and public health failures fuelling COVID-19 pandemic. **Lancet**, 2019.

WHO. **Indicators for assessing infant and young child feeding practices.** Washington D.C., USA: Conclusions of a consensus meeting held 6-8 November 2007, 2007. Disponível em:

WHO. **Infant and young child feeding: model chapter for textbooks for medical students and allied health professionals.** 2009.

WHO. UNICEF. **Capture the moment: Early initiation of breastfeeding:** The best start for every newborn. 2018.

WHO. UNICEF. **The extension of the 2025 maternal, infant and young child nutrition targets to 2030.** UNICEF DATA. 2021. Disponível em: <https://data.unicef.org/wp-content/uploads/2021/05/UNICEF-WHO-discussion-paper-extension-targets-2030.pdf>. Acesso em: 20.12.2023.

WILDE, C. J.; PRENTICE, A.; PEAKER, M. Breast-feeding: matching supply with demand in human lactation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 54, n. 2, p. 401-406, 1995.

WMA. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. **The Journal of the American Medical Association**, v. 310, n. 20, p. 2191-4, 2013.

WONG, P. D.; ANDERSON, L. N.; DAI, D. D. W.; PARKIN, P. C. et al. The Association of

WOODY, C.A. et al. A systematic review and meta-regression of the prevalence and incidence of perinatal depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 219, p. 86-92, 2017.

WOUK, K.; STUEBE, A.M.; MELTZER-BRODY, S. Postpartum mental health and breastfeeding practices: An analysis using the 2010–2011 pregnancy risk assessment monitoring system. **Maternal and Child Health Journal**, v. 21, p. 636-647, 2017.

YASUHI, I. et al. The effect of high-intensity breastfeeding on postpartum glucose tolerance in women with recent gestational diabetes. **International Breastfeeding Journal**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2017.

YOUNG, M.F. et al. Maternal nutritional status and milk volume and composition in India: an observational study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 117, n. 4, p. 830-837, 2023.

YSTROM, E. Breastfeeding cessation and symptoms of anxiety and depression: a longitudinal cohort study. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 12, p. 1-6, 2012.

YU, Xiurong et al. Association between delayed lactogenesis II and early milk volume among mothers of preterm infants. **Asian Nursing Research**, v. 13, n. 2, p. 93-98, 2019.

ZHAO, X.H; ZHANG, Z.H. Risk factors for postpartum depression: An evidence-based systematic review of systematic reviews and meta-analyses. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 53, p. 102353, 2020.



## **ANEXOS**

### **ANEXO 1. QUESTIONÁRIOS E PROTOCOLO DE ADMINISTRAÇÃO DE DEUTÉRIO**

Disponível no formato online. Acesso através do link:

[Link de acesso a pasta de formulários e protocolo](#)

## ANEXO 2. Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa - Maternidade Escola da 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



UFRJ - MATERNIDADE  
ESCOLA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO



Continuação do Parecer: 1.948.992

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_862646.pdf	13/02/2017 13:23:22		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	08/02/2017 08:10:17	Gilberto Kac	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	07/02/2017 13:03:23	Gilberto Kac	Aceito
Outros	Justificativa_de_necessidade_para_utilizacao_futura_de_amostra_armazenada_em_biorrepositorio.pdf	07/02/2017 10:55:26	Gilberto Kac	Aceito
Outros	Declaracao_de_submissao_ao_sistema_CEP_CONEP_em_caso_de_novos_estudos_com_o_material_armazenado_em_biorrepositorio.pdf	07/02/2017 10:54:59	Gilberto Kac	Aceito
Outros	Declaracao_de_acordo_entre_instituicoes_participantes.pdf	07/02/2017 10:49:03	Gilberto Kac	Aceito
Outros	Constituicao_e_participacao_em_biorrepositorio_no_exterior.pdf	07/02/2017 10:48:32	Gilberto Kac	Aceito
Outros	Carta_de_anuencia_unidade_CMSEZTJ.pdf	07/02/2017 10:47:32	Gilberto Kac	Aceito
Outros	QUESTIONARIOS.docx	07/02/2017 10:46:14	Gilberto Kac	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_MILQ.docx	07/02/2017 10:45:14	Gilberto Kac	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	07/02/2017 10:44:23	Gilberto Kac	Aceito
Declaração do Patrocinador	Award_letter.pdf	07/02/2017 10:44:10	Gilberto Kac	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_compromisso_do_pesquisador.pdf	07/02/2017 10:44:01	Gilberto Kac	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_de_formacao_de_biorrepositorio.pdf	07/02/2017 10:43:44	Gilberto Kac	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_do_Instituto_de_Nutricao_Josue_de_Castro.pdf	07/02/2017 10:43:23	Gilberto Kac	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	07/02/2017 10:43:03	Gilberto Kac	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

**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



UFRJ - MATERNIDADE  
ESCOLA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO



Continuação do Parecer: 1.948.992

Sim

RIO DE JANEIRO, 06 de Março de 2017

---

**Assinado por:**  
**Ivo Basílio da Costa Júnior**  
**(Coordenador)**

**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

Página 05 de 05

**ANEXO 3.** Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa - Secretaria Municipal de Saúde e defesa civil 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

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**CEP:** 20.031-040

**Telefone:** (21)2215-1485

**E-mail:** cepsms@rio.rj.gov.br

SECRETARIA MUNICIPAL DE  
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -  
SMS/RJ



Continuação do Parecer: 2.100.255

/ Brochura Investigador	Projeto_MILQ.docx	10:45:14	Gilberto Kac	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	07/02/2017 10:44:23	Gilberto Kac	Aceito
Declaração do Patrocinador	Award_letter.pdf	07/02/2017 10:44:10	Gilberto Kac	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_compromisso_do_pesquisador.pdf	07/02/2017 10:44:01	Gilberto Kac	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_de_formacao_de_biorrepositorio.pdf	07/02/2017 10:43:44	Gilberto Kac	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_do_Instituto_de_Nutricao_Josue_de_Castro.pdf	07/02/2017 10:43:23	Gilberto Kac	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	07/02/2017 10:43:03	Gilberto Kac	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIO DE JANEIRO, 05 de Junho de 2017

---

**Assinado por:**  
**Salesia Felipe de Oliveira**  
**(Coordenador)**

**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 4. Aprovação na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

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:** SEPN 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

COMISSÃO NACIONAL DE  
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.086.708

Biobanco	Declaracao_de_formacao_de_biorrepositorio.pdf	07/02/2017 10:43:44	Gilberto Kac	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_do_Instituto_de_Nutricao_Josue_de_Castro.pdf	07/02/2017 10:43:23	Gilberto Kac	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	07/02/2017 10:43:03	Gilberto Kac	Aceito

**Situação do Parecer:**  
Aprovado

BRASILIA, 29 de Maio de 2017

---

**Assinado por:**  
**Jorge Alves de Almeida Venancio**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.750-521  
**UF:** DF **Município:** BRASILIA  
**Telefone:** (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br



## ANEXO 5. 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 de 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 a análise completa do material genético (DNA/RNA). A partir dessa análise, será possível avaliar se diferenças genéticas podem influenciar na quantidade de nutrientes no seu organismo, na qualidade do seu leite e na quantidade de leite que você produz e de que forma isso pode influenciar 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, a qualquer momento, a destruição ou devolução das amostras fornecidas que ainda não tenham sido analisadas, ou seja, você pode retirar o consentimento de guarda e utilização das amostras armazenadas.

Você tem também o direito de solicitar a retirada da guarda dos dados genéticos humanos armazenados em bancos, onde se encontrem armazenados, que deverá ser realizada por escrito e assinada, podendo dar-se a qualquer tempo sem prejudicar você, com validade a partir da data da comunicação da sua decisão (Resolução CNS n° 340 de 2004, itens III.6 e III.7; Resolução CNS n° 441 de 2011, item 10.I). 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](mailto:cepsms@rio.rj.gov.br) / [cepsmsrj@yahoo.com.br](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto:observatorio@nutricao.ufrj.br)