

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

SAMARY DA SILVA ROSA FREIRE

ASSOCIAÇÃO ENTRE O METABOLOMA NO TERCEIRO TRIMESTRE
GESTACIONAL E O CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO INFANTIL NO
PRIMEIRO ANO DE VIDA

RIO DE JANEIRO

Fevereiro, 2024

SAMARY DA SILVA ROSA FREIRE

ASSOCIAÇÃO ENTRE O METABOLOMA DO SORO MATERNO, DURANTE O
TERCEIRO TRIMESTRE GESTACIONAL E O CRESCIMENTO E
DESENVOLVIMENTO INFANTIL AO LONGO DO PRIMEIRO ANO DE VIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição (PPGN), do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito necessário à obtenção do título de mestre em Nutrição Humana.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Kac

Coorientadora: Dra. Marina Padilha

Fevereiro | 2024

FREIRE, Samary da Silva Rosa

Associação entre o metaboloma no terceiro trimestre gestacional e o crescimento e desenvolvimento infantil no primeiro ano de vida – Rio de Janeiro: INJC/UFRJ, 2024

104 p

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Kac

Coorientadora: Dra. Marina Padilha

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de Pós-graduação em Nutrição, 2024.

1. Crescimento infantil. 2. Desenvolvimento infantil. 3. Metaboloma. - Dissertação I. Kac, Gilberto. II. Padilha, Marina. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, INJC, Programa de Pós-graduação em Nutrição. IV. Título.

Samary da Silva Rosa Freire

ASSOCIAÇÃO ENTRE O METABOLOMA DO SORO MATERNO, DURANTE O
TERCEIRO TRIMESTRE GESTACIONAL E O CRESCIMENTO E
DESENVOLVIMENTO INFANTIL AO LONGO DO PRIMEIRO ANO DE VIDA

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Nutrição
(PPGN), do Instituto de Nutrição Josué de
Castro da Universidade Federal do Rio de
Janeiro como requisito parcial à obtenção do
título de Mestre em Nutrição Humana

Aprovada em:

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

Professora Dra. Letícia Ignácio de Souza Zimmermann
Universidade Estadual de Campinas
Revisora

Professora Dra. Dayana Rodrigues Farias
Universidade Federal do Rio de Janeiro/ Instituto de Nutrição Josué de Castro
Banca examinadora

Professora Dra. Adriana Nori de Macedo
Universidade Federal de Minas Gerais
Banca examinador

Dedicatória

Dedico não apenas esta dissertação, mas toda a minha vida a Deus.

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por ter me sustentado e guiado a minha vida, sem Ti eu nada seria.

Aos meus pais, que amo imensamente, Edivard e Luzia por todo apoio, amor e incentivo. Esta conquista é nossa, porque sem vocês a caminhada teria sido bem mais difícil.

Ao meu orientador Gilberto Kac, por ter dado a oportunidade de começar na pesquisa ainda na iniciação científica e por ter sempre acreditado que eu poderia ir além.

A minha coorientadora Marina Padilha, por ter me ensinado tanto e ter atendido a todas as minhas dúvidas com muita paciência.

A Ana Lorena, que me orientou na iniciação científica, e continuou com a parceria ao longo do mestrado, por toda paciência e por ser a minha “mãe científica”.

A Raquel pelo auxílio na temida estatística, sempre que tínhamos alguma dúvida com as análises, e foi sempre solícita.

A Nathália Costa, que iniciou os meus passos na ciência lá no começo da minha iniciação científica.

A minha parceira de mestrado Letícia Ramos que me atura desde 2017.1, pela amizade e alegria. A Nath Oliveira, meu presente do mestrado e companheira de congressos.

E a todos do observatório, Geisa, Ju, Adri, Gabi, Thiago, Amandinha e Lu por deixarem a aventura da pós-graduação mais leve.

As minhas amigas da graduação Isabela, Luana, Nath, Erlaine, Manu e Thay e a todos por quem passei ao longo dos anos de UFRJ.

Ao corpo docente e funcionários do INJC e PPGN, pelos ensinamentos ao longo dos anos e a professora e coordenadora Mariana Monteiro por sempre auxiliar prontamente.

A professora Letícia Ignácio por ter prontamente aceitado ser a revisora desta dissertação. E as professoras Dayana Farias, Adriana Nori, Patrícia Padilha, Alexandra Brentani e Tatiana El-Bacha por terem aceitado fazer parte da minha banca de avaliação, seja na qualificação ou na defesa, sugerindo melhorias.

A minha família conexão, pelas orações durante todo esse período e por deixarem as minhas noites de sexta-feira muito melhores.

Samary Freire

Epígrafe

“Eu ainda não estou onde eu gostaria de estar, mas graças a Deus eu não estou mais onde eu costumava estar, eu estou bem e estou a caminho.”

Joyce Meyer

Lista de quadros

Quadro 1. Marcos do desenvolvimento do nascimento até o primeiro ano de vida.	24
Quadro 2. Descrição das classes de metabólitos que foram analisados no estudo	27
Quadro 3. Associação entre o metaboloma e crescimento e/ou desenvolvimento infantil.	30
Quadro 4. Metabólitos utilizados na análise classificados de acordo com a sua classe.....	43

Lista de tabelas

Artigo

Table 1. Descriptive maternal and child characteristics of the study participants..... 70

Table 2. Descriptive characteristics of the child's participants of the study. 71

Supplementary Table 1. Parameters from linear mixed regression models of maternal serum metabolites and the child growth trajectories throughout the first year of life..... 81

Supplementary Table 2. Parameters from linear mixed regression models of maternal serum metabolites with the child development trajectories throughout the first year of life..... 86

Lista de figuras

Figura 1. Curva do neurodesenvolvimento	23
Figura 2. Fluxograma do estudo com a descrição dos procedimentos realizados em cada entrevista.....	39
Figura 3. Fluxograma da coleta de dados do estudo.	41
Figura 4. Fluxograma do questionário de desenvolvimento infantil: <i>Ages and Stages questionnaires</i> (ASQ-BR).	46

Artigo

Figure 1. Flowchart of data collection of the studied cohort.....	73
Figure 2. Child growth trajectory throughout the first year after delivery.	74
Figure 3. Child development trajectory throughout the first year after delivery, according to the developmental domains.	75
Figure 4. Associations between the maternal serum metabolites and child growth throughout the first year of life.	76
Figure 5. Association between the maternal serum metabolites with the domain of fine motor skills throughout the first year of life.	78
Supplementary Figure 1. Directed Acyclic graphs for minimum adjustments (A) Child development; (B) Child growth.....	91

Lista de anexos

Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido	100
Anexo 2. Protocolo de coleta de sangue.....	103
Anexo 3. Protocolo de antropometria.	103
Anexo 4. Questionário de desenvolvimento infantil.....	103
Anexo 5. Questionários de estilo de vida.....	103
Anexo 6. Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro.....	104

Lista de siglas e abreviaturas

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AIC	<i>Akaike Information Criterion</i>
ASQ-3	<i>Age and Stages Questionnaire 3</i>
BH	Benjamini–Hochberg
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DAG	<i>Directed Acyclic Graphics</i>
DANT	Doenças e agravos não transmissíveis
DOHaD	<i>Developmental Origins of Health and Disease</i>
FAPERJ	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FDR	<i>False Discovery Rate</i>
FIA	Análise por injeção de fluxo
IMC	Índice de Massa Corporal
LC-MS	<i>Liquid chromatograph-mass spectrometry</i>
LPC	Lisofosfatidilcolina
MLM	Modelo de Regressão Linear Mista
MRM	Monitoramento de reações múltiplas
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	Diacil-fosfatidilcolina
PCA	<i>Principal component analysis</i>
PC-O	Acil-alquil-fosfatidilcolina
PLS-DA	<i>Partial least squares-discriminant analysis</i>
QI	Quociente de inteligência
SM	Esfingomiéline
SM(OH)	Esfingomiéline com hidroxila
SISVAN	Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
REDcap	<i>Research Electronic Data Capture</i>

Sumário

APRESENTAÇÃO.....	14
RESUMO	15
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1 Crescimento infantil	21
2.2 Desenvolvimento infantil	22
2.3 Associação da saúde materna com o crescimento e desenvolvimento infantil	25
2.4 Análise do metaboloma materno e sua influência na saúde materno-infantil.....	26
2.5 Associação do metaboloma com o crescimento e desenvolvimento infantil	28
3 JUSTIFICATIVA.....	35
4 HIPÓTESE.....	36
5 OBJETIVOS.....	37
5.1 Objetivo geral.....	37
5.2 Objetivos específicos.....	37
6 MÉTODOS.....	38
6.1 Desenho do estudo	38
6.2 Participantes do estudo.....	40
6.3 Coleta e gerenciamento de dados	41
6.4 Variáveis do estudo	42
6.4.1 Metaboloma do soro materno.....	42
6.4.2 Crescimento infantil	44
6.4.3 Desenvolvimento infantil	45
6.4.4 Outras variáveis materno-infantil (covariáveis).....	47
6.5 Questões éticas	47
6.6 Análise estatística.....	48
7 RESULTADOS.....	50
7.1 Artigo	51
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
9 REFERÊNCIAS	93
Anexos	100

APRESENTAÇÃO

O presente trabalho é parte de um estudo mais amplo denominado “Compostos bioativos do leite humano e associação com a saúde materna e o desenvolvimento infantil”. Trata-se de uma coorte com coleta de dados realizada em uma clínica da família localizada no município do Rio de Janeiro entre 2017 e 2020. A coorte acompanhou gestantes desde o terceiro trimestre gestacional e as mães e seus filhos até o 12º mês pós-parto.

O estudo recebeu financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da *University College Dublin, School of Agriculture and Food Science*, da Irlanda, a partir da parceria com a Prof. Lorraine Brennan. A aluna de mestrado recebeu apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por meio de concessão de bolsa de mestrado e da FAPERJ com bolsa de mestrado nota 10.

O objetivo do presente estudo é verificar a associação entre o metaboloma do soro de mulheres no terceiro trimestre de gestação e o crescimento e desenvolvimento de seus filhos ao longo do primeiro ano de vida. A dissertação discute sobre o papel da programação metabólica materna na gestação em desfechos infantis como o crescimento e o desenvolvimento infantil.

Essa dissertação está formatada de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e as sessões da dissertação encontram-se subdivididas em introdução, referencial teórico, justificativa, hipótese, objetivos, métodos, resultados (artigo), referências e anexos.

FREIRE, Samary da Silva Rosa. Associação entre o metaboloma no terceiro trimestre gestacional e o crescimento e desenvolvimento infantil no primeiro ano de vida. Rio de Janeiro, 2024. Dissertação (mestrado em nutrição humana) Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

RESUMO

Introdução: Ainda é incerta a influência do metaboloma desfechos de seus filhos. Assim, o presente trabalho objetiva explorar a associação entre o metaboloma materno no terceiro trimestre gestacional e o crescimento e desenvolvimento infantil durante o primeiro ano de vida. **Métodos:** Coorte prospectiva de 98 pares de mães-filhos saudáveis foram acompanhados na linha de base (28-38 semanas gestacionais), ao nascimento, 1,6 e 12 meses pós-parto. A coleta do sangue materno foi realizada durante a linha de base, e posteriormente foi realizada a análise de metaboloma do tipo *target* utilizando a Cromatografia líquida-espectrofotometria de massa ou análise por injeção de fluxo-espectrofotometria de massa, onde foram determinados 132 metabólitos incluindo acilcarnitinas, lisofosfatidilcolinas (LPC), aminoácidos, aminas biogênicas, acil-aquil-fosfatidilcolinas (PC-O), diacil-fosfatidilcolinas (PC), esfingomielinas com (SM[OH]) e sem hidroxilas (SM) e hexoses. As informações de crescimento e desenvolvimento foram coletadas ao 1,6 e 12 meses após o nascimento, tendo adicionalmente informações de peso e comprimento ao nascimento. O escore-z do peso para idade, comprimento/estatura para a idade, peso para o comprimento/estatura, IMC para idade e perímetro cefálico para idade foram calculados com base nas curvas de crescimento da OMS. O desenvolvimento foi acessado a partir do ASQ-3 de acordo com os domínios: comunicação, coordenação motora ampla, coordenação motora fina, resolução de problemas e pessoal/social. Modelos de regressão linear mista foram performados com a finalidade de testar associação entre o metaboloma materno e crescimento e desenvolvimento infantil. Todos os modelos foram ajustados para IMC pré-gestacional,

idade gestacional e peso ao nascer. Os valores de p-valor foram ajustados para correção de múltiplas comparações Benjamini-Hochberg. **Resultados:** Peso para idade, peso para comprimento e IMC para idade apresentaram associação positiva com o tempo, enquanto comprimento para idade e perímetro cefálico para idade não apresentaram. Além disso, os domínios de comunicação, resolução de problemas, habilidades motoras grossas e finas exibiram associações positivas com o tempo, enquanto as habilidades pessoais-sociais não apresentaram. Foi encontrada uma associação positiva entre espécies da classe LPC com o escore-z de peso para idade, e de algumas espécies da classe LPC e taurina com escore-z do peso para comprimento e algumas espécies da classe LPC e glicina com o IMC para idade. A leucina, metionina, triptofano e valina foram negativamente associadas com o domínio de habilidade de coordenação motora fina. **Conclusão:** Os resultados revelaram que diferenças no metaboloma ao final da gestação podem influenciar nos desfechos de crescimento e desenvolvimento de seus filhos.

Palavras chave: crescimento infantil; desenvolvimento infantil; metaboloma; epidemiologia.

FREIRE, Samary da Silva Rosa. Associação entre o metaboloma no terceiro trimestre gestacional e o crescimento e desenvolvimento infantil no primeiro ano de vida. Rio de Janeiro, 2024. Dissertação (mestrado em nutrição humana) Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

ABSTRACT

Background: The role that maternal metabolome plays in infant outcomes is still unknown. Therefore, we aimed to explore the association between the maternal metabolome in the third gestational trimester and infant growth and development during the first year of life.

Methods: A prospective cohort of 98 healthy mother-infant dyads were followed at baseline (between 28 and 35 gestational weeks), birth, 1, 6, and 12 months after birth. Maternal blood was collected at baseline, and subsequently was made a target metabolome analysis, and was measured using liquid chromatography-mass spectrometry or flow injection analysis-mass spectrometry, which allowed the determination of 132 metabolites including amino acids, biogenic amines, acylcarnitines, lysophosphatidylcholines (LPC), diacyl-phosphatidylcholines (PC), alkyl:acyl-phosphatidylcholines (PC-O), sphingomyelins [SM(OH)]with and without hydroxylation (SM), and hexoses. The infant's growth and development were assessed at 1, 6, and 12 months after birth, additionally having information on weight and length at birth. Z-scores for weight-for-age, height/length-for-age, weight-for-length, body mass index (BMI)-for-age, and head circumference-for-age were calculated based on WHO growth standards. The infant development was assessed using the ASQ-3 which has five domains: communication, gross motor skills, fine motor skills, problem-solving, and personal-social. Linear mixed-effects models were performed to explore associations between maternal metabolome and infant growth and development. All models were adjusted for maternal pre-pregnancy BMI, gestational age at birth, and infant birth weight. The results were adjusted for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg correction. **Results:** Weight-for-age,

weight-for-length, and BMI-for-age showed a positive association with time, and length-for-age and head circumference-for-age did not. Also, communication, problem-solving, gross, and fine motor skills domains exhibited positive associations with time, while personal-social skills did not. We found a positive association from some LPC classes with the weight-for-age z-score. There is a positive association between some LPC classes and taurine with a z-score of weight-for-length and a sum of LPC and glycine with the z-score of BMI-for-age. The leucine, methionine, tryptophan, and valine were negatively associated with the fine motor skills domain. **Conclusion:** The results revealed that differences in metabolome at the end of pregnancy could influence the growth and development outcomes of the offspring.

Keywords: infant growth; infant development; metabolome; epidemiology.

1 INTRODUÇÃO

A primeira infância é o período que vai até os 6 anos de idade. Esse período é considerado muito sensível para o desenvolvimento infantil já que ocorre a estrutura emocional e afetiva (Brasil, Ministério da Saúde, 2023). Este período engloba os primeiros 1000 dias que é o momento de mais rápido crescimento e desenvolvimento. Assim, é considerado como uma “janela de oportunidades” para ações em saúde e mudanças no estilo de vida da família, com um intuito de obter melhores desfechos na saúde da criança ao longo de sua vida (Darling *et al.*, 2020).

A formação do sistema nervoso se inicia no 18º dia de concepção durante a neurulação, quando se forma a placa e o tubo neural e o espessamento do tubo para formação do encéfalo e da medula espinhal (Unicef, 2019; WHO, 2020). A mielinização tem início no segundo mês de gestação na medula espinhal, e posteriormente no encéfalo, e continua durante o primeiro ano após o nascimento (Montanari, 2013). À complexidade dos processos, mostra a importância de se estabelecer cuidados apropriados incluindo nutrição, educação, segurança, proteção social e saneamento básico refletindo em um ambiente adequado e contribuindo para melhores resultados no que se refere ao crescimento e desenvolvimento infantil (Brasil, 2012b; Machel, 2017; WHO, 2020).

O monitoramento do crescimento infantil é relevante pois auxilia na identificação de alterações como o déficit do crescimento e o elevado risco de obesidade, além de auxiliar na avaliação da eficácia de intervenções (Figueroa Pedraza; Menezes, 2016b). Já o desenvolvimento integral adequado durante a primeira infância, pode se adaptar a diferentes circunstâncias e requerer maior aprendizado com o propósito de obter melhor performance escolar e habilidades sociais e profissionais ao longo da vida (NCPI, 2014).

O termo DOHaD, do inglês “*developmental origins of health and disease*”, é o conceito que trata como as condições durante os primeiros estágios da vida, podem implicar na saúde da criança. Este termo foi cunhado pela primeira vez na década de 80 por Dr. David Barker, para explicar a relação do baixo peso ao nascer com doenças cardiovasculares na vida adulta (SAP, 2020). Desde então, têm-se investigado a origem dos desfechos infantis relacionados a saúde e doença, podendo ter origem na nutrição inadequada (da mãe e/ou da criança), história familiar de Doenças e agravos não transmissíveis (DANT) como diabetes e obesidade, saúde mental materna, ambiente doméstico estressante e iniquidades sociais (Neumann *et al.*, 2019; Reynolds *et al.*, 2019; SAP, 2020).

A avaliação dos primeiros estágios da vida, que incluem a gestação, é crucial no estudo da origem dos desfechos infantis, como o crescimento e desenvolvimento, e uma forma de observar a saúde materna seria por meio do estudo do metaboloma. O metaboloma consiste no conjunto completo de moléculas de baixo peso molecular (metabólitos), as quais são produtos intermediários ou finais do metabolismo, estando presentes em células, tecidos, órgãos e fluidos biológicos (Nelson, D. L.; Cox, 2019c). O estudo do metaboloma pode contribuir para o detalhamento da regulação das vias metabólicas, logo, da interação de proteínas codificadas pelo genoma com fatores ambientais (Nelson, D. L.; Cox, 2019c; Bar *et al.*, 2020). Dado as evidências que sustentam a teoria DOHaD, o estudo do metaboloma oferece uma estratégia para quantificar as mudanças que ocorrem de acordo com as respostas metabólicas envolvendo o estilo de vida materno, e seus resultados no crescimento e desenvolvimento infantil.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Crescimento infantil

O processo de crescimento e desenvolvimento da criança após o nascimento ocorre de forma paralela, porém em ritmos diferentes. O crescimento não ocorre de forma linear, e sim em períodos saltatórios descontinuados, sendo os primeiros dois anos os de maior velocidade. Enquanto o desenvolvimento ocorre de forma contínua e gradual (Balasundaram; Avulakunta, 2023b). Existem fatores intrínsecos e extrínsecos que contribuem para o crescimento e desenvolvimento infantil (Machel, 2017; Balasundaram; Avulakunta, 2023b).

O crescimento é um processo dinâmico expresso pelo aumento do tamanho corporal, sendo considerado um indicador de saúde da criança, e é influenciado por fatores genéticos e ambientais (Araújo, 2007; Brasil, 2012a). A presença de fatores ambientais adversos pode restringir o crescimento adequado da criança. Entre esses fatores destaca-se a alimentação, higiene, saúde, e cuidados gerais com a criança (Brasil, 2012b). O monitoramento do crescimento é de grande importância, pois permite identificar alterações como déficits de crescimento e risco elevado para obesidade além de direcionar intervenções que poderão prevenir e até tratar esses problemas que potencialmente apresentam grande influência sobre a morbidade e mortalidade (Figuerola Pedraza; Menezes, 2016a).

A antropometria é o principal método para avaliação do crescimento infantil. A aferição de peso e estatura é um procedimento simples, de baixo custo e pouco invasivo de se avaliar o estado nutricional de um indivíduo (Brasil, 2011). A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica o crescimento infantil de acordo com as curvas de crescimento e usa os índices de peso para idade, comprimento/altura para idade, peso para comprimento/altura, índice de massa corporal (IMC) para idade e perímetro cefálico para idade (WHO, 2006).

A avaliação do crescimento deve ser iniciada intraútero, avaliando-se o crescimento do feto por meio da medida da altura uterina ou da ultrassonografia. Já ao nascimento se realizam três principais medidas, a saber: peso, comprimento e perímetro cefálico. Essa avaliação ao nascimento objetiva refletir complicações da gestação ao nascimento, sendo considerado o primeiro diagnóstico nutricional (Brasil, 2011; 2012a).

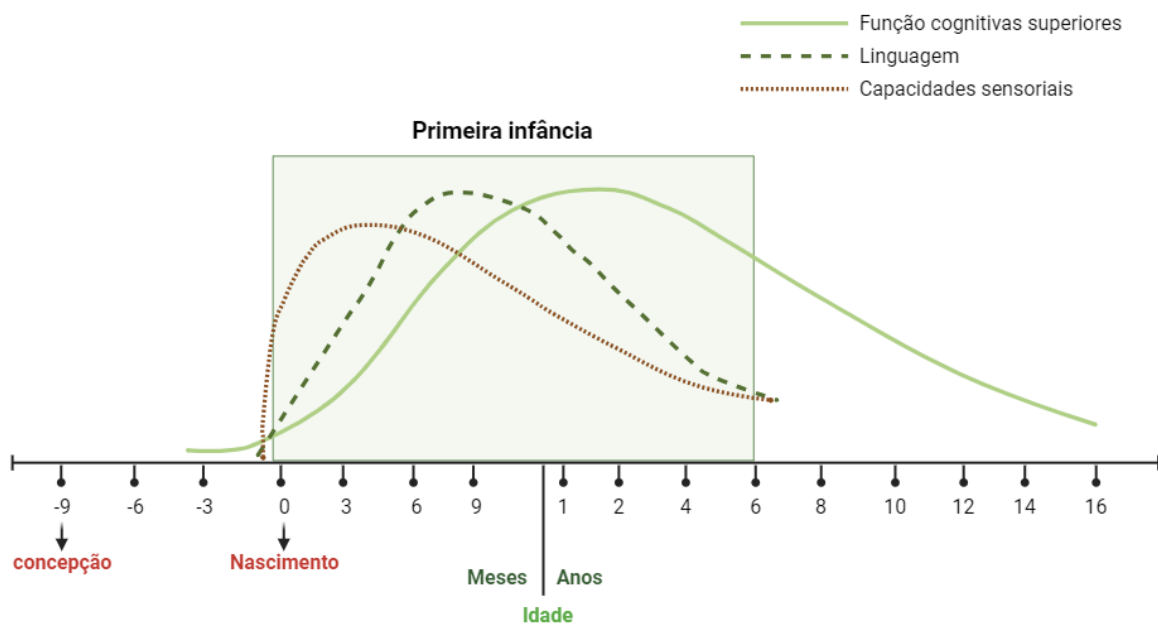
Um crescimento inadequado na primeira infância pode acarretar em consequências futuras, conforme retratado em estudos prévios, como pode ser observado por uma revisão sistemática realizada com base em estudos observacionais (6 de coorte, 10 caso-controle e 17 transversais), em que o objetivo era observar a associação do peso ao nascer com a obesidade

da infância até a fase adulta, sendo que 17 estudos diagnosticaram a obesidade por meio do IMC, enquanto 16 pelo cálculo da relação entre o peso (P) e peso ideal (PI), sendo classificada com obesidade quando o $P/PI > 1,2$, onde constatou que crianças com peso ao nascer elevado (>4000 g) estavam associadas ao maior risco de apresentarem obesidade ao longo da vida (Yu *et al.*, 2011). Outra revisão com o propósito de ver a associação do crescimento rápido com a obesidade em crianças e adolescentes, observou um total de 15 estudos de acompanhamento, e verificou que o crescimento linear acelerado do escore-z de peso para idade esteve associado com maior prevalência de obesidade ao longo da vida (Monteiro; Victora, 2005).

2.2 Desenvolvimento infantil

Um desenvolvimento adequado é caracterizado de acordo com a capacidade psicomotora, no qual a criança é capaz de pensar, relatar e articular ideias, aprender e apresentar habilidades motoras adequadas para sua idade e nível de maturidade (WHO, 2020; Balasundaram; Avulakunta, 2023b). O desenvolvimento pode ser categorizado em quatro grandes grupos: motora, cognitiva, linguagem e emocional (Brasil, Ministério da Saúde., 2023).

Sabe-se que a primeira infância é um período considerado sensível para o desenvolvimento por ser o momento em que a estrutura emocional e afetiva está sendo formada. Nessa etapa, áreas fundamentais do cérebro são desenvolvidas. Essas áreas estão relacionadas ao caráter, à individualidade, à habilidade de aprendizado e a memorização (Brasil, Ministério da Saúde., 2023). A **Figura 1** reflete a curva de um desenvolvimento adequado, demonstrando figuradamente os picos do desenvolvimento, no qual se pode observar que a primeira infância é fase predominante. Todavia, as funções iniciam antes mesmo do nascimento.



Created in BioRender.com bio

Figura 1. Curva do neurodesenvolvimento

Fonte: Adaptado de (Nelson, C. A., 2000).

O desenvolvimento pode ser avaliado por meio da observação dos cuidadores com o uso de questionários validados como, por exemplo, o *Ages and Stage Questionnaire (ASQ)*, *Survey of Well-being of Young Children (SWYC) milestones questionnaire* e *Bayley Scales of Infant and Toddler Development*, por meio da avaliação neuropsicológica por profissionais especializados e outra forma mais específica e pouco utilizada, seria por meio da ressonância magnética (Squires; Bricker, 2009; Sheldrick *et al.*, 2013; Pulli *et al.*, 2019; Schneider *et al.*, 2019; Balasundaram; Avulakunta, 2023a).

Cada etapa do desenvolvimento do indivíduo é essencial para a etapa seguinte, por esse motivo é importante que os cuidadores observem com cuidado o alcance de cada marco do desenvolvimento. Por outro lado, é necessário que haja estimulação suficiente para a obtenção de cada uma dessas etapas. É preciso ressaltar que existe uma margem de normalidade e pode haver variação inter-individual, sendo essencial o acompanhamento por um profissional da saúde especializado na identificação de possíveis atrasos. Dessa forma, o marco de desenvolvimento tem mais chance de ser atendido dentro do que se chama de janela de oportunidades (Brasil, Ministério da Saúde., 2023). No **Quadro 1** podem ser observados os marcos do desenvolvimento infantil em cada fase da criança no primeiro ano de vida.

Atingir o pleno potencial de desenvolvimento é um direito de todas as crianças, sendo parte das metas do desenvolvimento sustentável para 2030 (Brasil, 1990; ONU, 2019). Para assegurar este direito, é necessário um esforço de diversos atores como gestores, pesquisadores, governo. Ademais, é necessário assegurar investimento em saúde pública, educação, cuidado familiar e nutrição adequada (Lo; Das; Horton, 2017). Todavia, de acordo com a série sobre desenvolvimento infantil publicada pelo *The Lancet*, observou-se que aproximadamente 250 milhões das crianças menores de 5 anos (43%) que vivem em países de baixa e média renda, não conseguem atingir o seu pleno potencial (Black *et al.*, 2017; Lo; Das; Horton, 2017).

Uma revisão contendo 27 artigos observou que o diagnóstico precoce de distúrbios de aprendizagem e coordenação motora antes da idade pré-escolar, poderia auxiliar na implementação de intervenções, com o intuito de melhorar o desenvolvimento escolar e o aprendizado das crianças (McWhirter; Steel; Adams, 2022). A saúde reprodutiva e materna, cuidados nutricionais e de saúde mental do recém-nascido e cuidados relacionado a prevenção de doenças também podem estar associados com melhores desfechos no desenvolvimento infantil, por esse motivo deve-se atentar aos cuidados maternos desde a concepção (WHO, 2020).

Quadro 1. Marcos do desenvolvimento do nascimento até o primeiro ano de vida.

Faixa etária	Habilidade
Primeiro mês	<ul style="list-style-type: none"> • Postura: quando de barriga para cima, possui pernas e braços fletidos (dobrados) e cabeça lateralizada; • É capaz de observar um rosto de forma evidente; • É capaz de reagir a estímulos sonoros (com movimento dos olhos e mudança na expressão facial); • Consegue elevar a cabeça, desencostar o queixo da superfície (quando de bruços).
Segundo mês	<ul style="list-style-type: none"> • Capaz de sorrir quando estimulada; • Abre as mãos espontaneamente; • Consegue emitir pequenos sons além do choro; • Movimenta ativamente os membros superiores e inferiores.
De 3 e 4 meses	<ul style="list-style-type: none"> • Faz contato social como responder com sorrisos e balbuciar; • Consegue segurar objetos por alguns segundos; • Capaz de emitir sons (gugu, eeee, etc) e ri emitindo sons (gargalhada); • Apresenta a capacidade de levantar a cabeça e se apoiar nos antebraços de bruços.
De 5 e 6 meses	<ul style="list-style-type: none"> • Tenta buscar ativamente objetos, tenta alcançá-los; • Leva objetos a boca; • Busca sons, se movimenta quando ouve algum som diferente; • Capacidade de rolar em uma superfície plana.
De 7 a 9 meses	<ul style="list-style-type: none"> • Consegue brincar de “esconde-achou”, procura um objeto que estava na sua frente e é escondido; • Transfere um objeto de uma mão para a outra;

	<ul style="list-style-type: none"> • Duplica sílabas, por exemplo consegue dizer “papá”, “dadá”, “mamã”; • Consegue sentar-se sem apoio.
De 10 a 12 meses	<ul style="list-style-type: none"> • Consegue imitar gestos, por exemplo bater palmas ou dar tchau; • É capaz de fazer o movimento de pinça, polegar associado ao indicador; • Tem o costume de produzir conversação incompreensível consigo mesma ou com outras pessoas; • Consegue dar alguns passos sem apoio.

Fonte: Adaptado da Caderneta da criança (Brasil, Ministério da Saúde, 2022).

2.3 Associação da saúde materna com o crescimento e desenvolvimento infantil

Durante a gestação o corpo da mulher passa por mudanças fisiológicas necessárias para gerar um ambiente adequado para o crescimento e desenvolvimento do feto. Compreender tais mudanças é necessário para identificar possíveis alterações metabólicas durante o período gestacional (Gangakhedkar; Kulkarni, 2021). O cuidado materno-infantil deve ser iniciado o quanto antes, pois desde a concepção ocorrem adaptações epigenéticas, imunológicas, fisiológicas e psicológicas ao ambiente e que vão influenciar o desenvolvimento ao longo da vida (Britto *et al.*, 2017; Daelmans *et al.*, 2017).

As adaptações fisiológicas incluem modificações no útero, principalmente no terceiro trimestre, que é quando o feto apresenta crescimento mais acelerado, mudanças no sistema digestório levando ao aumento do apetite, lentificação do trânsito intestinal, picamalácia, sensação de sialorreia, pirose, náusea e constipação intestinal. Essas alterações podem modificar escolhas nutricionais, causar mudanças no aparelho cardiovascular, envolvendo variações no volume sanguíneo em 40% e 50% e na pressão arterial, que costumam ser mais baixas no segundo trimestre e mais elevadas no último. Também ocorrem mudanças no sistema hematológico aumentando a necessidade de ferro, causando alterações no sistema nervoso e podendo gerar ansiedade e distúrbio no sono, entre outras alterações (Vazques, 2013; Yamano, 2013).

Além das alterações fisiológicas, que são normais, mas que demandam assistência pré-natal adequada para acompanhamento, o organismo estar suscetível à exposição a poluentes, inatividade física, má nutrição, transtornos de saúde mental, tabagismo, etilismo e DANT prévias ou gestacionais que podem gerar resultados negativos na saúde da criança (Iglesias; Canals; Arija, 2018; Boorman *et al.*, 2019; Janbek *et al.*, 2019; Janbek; Specht; Heitmann, 2019; Burger *et al.*, 2020; Dai *et al.*, 2020; Gawlik *et al.*, 2020; Boonzaaijer *et al.*, 2021; Bemanalizadeh *et al.*, 2022).

A saúde materna demonstra ser um fator importante para alcançar resultados adequados de crescimento e desenvolvimento de seus filhos, por esse motivo, é importante manter os cuidados pré-natais adequados, e os estudos desta população podem subsidiar políticas públicas voltadas para saúde materno-infantil.

2.4 Análise do metaboloma materno e sua influência na saúde materno-infantil

O termo metaboloma foi descrito pela primeira vez em 2001 e contempla o “conjunto completo de metabólitos sintetizados por um sistema biológico”. Já a caracterização estruturada do metaboloma de uma célula ou tecido, leva o nome de metabolômica (Fiehn *et al.*, 2000; Fiehn, 2001; Nelson, D. L.; Cox, 2019c).

As ciências ômicas surgiram do conceito de se realizar uma análise integrativa e inclui a genômica (conjunto de genes), transcriptômica (conjunto de RNAs), proteômica (conjunto de proteínas) e metabolômica (conjunto de metabólitos/metaboloma) (Souza *et al.*, 2019). Antes de começar o estudo da metabolômica em humanos, primeiro foram realizados experimentos com plantas e microrganismos (Fiehn *et al.*, 2000; Fiehn, 2001). Existem diversas classes de metabólitos que podem ser encontradas no organismo humano e que desempenham diferentes funções, podendo estar em maior ou menor concentração dependendo do estado de saúde do indivíduo. O **Quadro 2** apresenta a descrição de algumas destas classes.

As análises de metabolômica podem ser do tipo *target* (direcionada) ou *untarget* (não direcionada). As do tipo *target* geralmente são aquelas que objetivam validar algo que já foi previamente medido, uma vez que visa identificar determinado grupo de metabólitos presente na amostra, enquanto a *untarget* visa encontrar um novo biomarcador ou via/mecanismo explicativo para uma condição de saúde, já que foca em buscar todo o conjunto de metabólitos presente em uma amostra (Oliver *et al.*, 1998; Fiehn *et al.*, 2000).

As técnicas geralmente usadas nas análises são ressonância magnética nuclear (do inglês, *Nuclear Magnetic Resonance - NMR*), cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (do inglês, *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry - LC/MS*) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (do inglês, *Gas Chromatography/Mass Spectrometry - GC-MS*). As amostras biológicas podem ser oriundas de amostras de sangue, urina, líquido amniótico, sangue capilar ou do cordão umbilical e outros. As amostras oriundas do soro do sangue são convencionalmente estudadas na área da saúde, mas apresentam como limitação o fato de não serem capazes de medir e avaliar a

importância metabólica de coenzimas redox e energéticas e antioxidantes, que geralmente são encontradas nos glóbulos vermelhos (Nagana Gowda; Raftery, 2021).

A metabolômica é uma ferramenta que apresenta um potencial de previsibilidade de condições relacionadas a saúde. Assim, é possível entender como está o estado metabólico do organismo naquele instante ou no passado, dependendo do tipo de amostra que está sendo avaliada. De um modo geral, o estudo do metaboloma em humanos tem por objetivo identificar biomarcadores associados a riscos em saúde, e vem sendo usado na saúde materno-infantil (Souza *et al.*, 2019).

Nesse sentido, um estudo de revisão identificou níveis alterados de carnitina em mulheres diagnosticadas com pré-eclâmpsia e também, a diferença na concentração de colina em comparação com gestantes saudáveis. O mesmo trabalho também reportou que níveis alterados de esfingolipídios e fosfolipídios no sangue materno apresentaram associação com a restrição no crescimento fetal e nascimentos de recém-nascido pequenos para a idade gestacional, e que a concentração aumentada de lisina em amostras de urina estava relacionada ao parto prematuro espontâneo (Delplancke *et al.*, 2018).

Em uma coorte, com 410 pares de mães e filhos, cujo objetivo era analisar a associação entre o perfil metabolômico do soro materno durante a gestação e o z-escore de ganho de peso ao nascer de seus filhos usando a análise de componentes principais (PCA), identificou 46 metabólitos associados com os escores de peso ao nascer, sendo que 26 apontaram uma associação positiva, dentre eles fosfatidilcolinas e outros metabólitos de via lipídica, aqueles que apresentaram relação indireta eram em sua maioria esteroides ou metabólitos presentes no metabolismo de fosfolipídios (Colicino *et al.*, 2021).

Quadro 2. Descrição das classes de metabólitos que foram analisados no estudo

Classes	Descrição
Carnitinas	A função principal é o transporte do grupamento acil do citoplasma para a mitocôndria, onde pode ser decomposto para a produção de energia, processo conhecido como beta-oxidação.
Aminoácidos	São compostos orgânicos contendo o grupamento amino (-NH ₂) e carboxil (-COOH) ao longo de uma cadeia. São unidade formadores de proteínas derivadas de intermediários da glicólise, ciclo do ácido cítrico ou via das pentoses-fosfato.
Aminas biogênicas	São produtos da descarboxilação dos aminoácidos. Muitos neurotransmissores são aminas primárias ou secundárias derivadas de aminoácidos por meio de vias simples, como a serotonina.
Lisofosfatidilcolinas	É uma classe de biomoléculas lipídicas, formada a partir da clivagem das fosfatidilcolinas por meio da ação de fosfolipases A ₂ pela transferência de ácidos graxos para colesterol livre via leticina-colesterol aciltransferase. No fígado as LPCs estão envolvidas na regulação da biossíntese do colesterol (positiva) e os genes envolvidos na oxidação hepática de ácidos graxos (negativa). No sistema vascular, induz a ativação endotelial prolongada e aterogênese.

Fosfatidilcolinas	São uma espécie de fosfatidilcolina, sendo fosfolipídios que apresentam a colina como grupo polar. São encontradas na gema do ovo. Os fosfolipídios estão presentes em abundância na natureza, e são essenciais para a formação da bicamada lipídica das células, e estão também envolvidos no metabolismo e sinalização. As fosfatidilcolinas se diferenciam de acordo com a organização das suas moléculas, podendo se diferenciar em, por exemplo, diacil-fosfatidilcolinas ou acil-alquil-fosfatidilcolinas.
Esfingomielinas	É um tipo de esfingolipídio que pode ser encontrado em membranas das células animais, sendo a principal a bainha membranosa de mielina. Estão envolvidos em alguns axônios das células nervosas.
Hexoses	Importante combustível metabólico apresenta participação no desenvolvimento do campo das proteínas de transporte de membrana.

Fonte: (Law *et al.*, 2019; Nelson, D. L.; Cox, 2019a; b; Dambrova *et al.*, 2022; Goñi, 2022; Wishart *et al.*, 2022)

2.5 Associação do metaboloma com o crescimento e desenvolvimento infantil

Existem poucos estudos que pesquisaram sobre a associação entre metaboloma da mãe no período gestacional e o desenvolvimento ou crescimento infantil de seus filhos no primeiro ano de vida. O **Quadro 3** apresenta os principais estudos que avaliaram a associação do metaboloma pré-natal e perinatal com desfechos relacionados ao crescimento e/ou desenvolvimento infantil.

A literatura revelou que os metabólitos arginina, lisina, metionina, prolina apresentaram associação inversa com o peso da criança, enquanto a carnitina e glutamina apresentaram associação direta o peso da criança e leucina, isoleucina, valina, glutamato e glutamina, serina, glicina, lisofosfatidilcolinas (LPC) e acil-carnitinas de cadeia média com o peso ao nascer. A arginina foi inversamente relacionada com percentual de gordura corporal. Além de associação direta de hidroxí-esfingomielinas e fosfatidilcolinas, treonina, triptofano e valina com escores de altura para idade (Moreau *et al.*, 2019; Isganaitis *et al.*, 2019; Kadakia *et al.*, 2019; LaBarre *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2021).

Em uma coorte composta por díades de mães e filhos, onde se analisou o metaboloma do plasma do sangue materno na 37^a a 42^a semana gestacional com o peso ao nascer de seus filhos, realizou-se uma análise multivariada usando PLS-DA e OPLS-DA, onde observou-se uma associação entre os metabólitos a L-carnitina PG(16:1/22:6) e 2-methoxy-estradiol-17b 3-glucuronide com o grupo que apresentava valores de pequeno-para-idade-gestacional (PIG) e grande-para-idade-gestacional (GIG) similares e dos metabólitos a serotonina, ácido 13S-hidroxiocetadecadienoico e MG(0;0/24:6/0:0), com o grupo com valores de PIG, GIG e adequado-para-idade-gestacional (AIG) eram proporcionais de acordo com o peso ao nascer (Zhai *et al.*, 2023).

Com relação ao desenvolvimento infantil, encontrou-se associação inversa da colina e ornitina com diagnóstico de autismo e carnitina, acetilcarnitina, colina e creatinina com diagnóstico de síndrome de Down, e associação direta da alanina, glicina e serina com diagnóstico de espectro autista (Orozco *et al.*, 2019). Os metabólitos fosfatidilcolinas e treonina apresentaram associação direta com resultados neurocognitivos de quociente de inteligência (QI) (Moreau *et al.*, 2019).

Existem poucos estudos com marcadores presentes no metabolismo materno de mulheres consideradas saudáveis, e a sua associação com desfechos relacionados ao crescimento e desenvolvimento infantil, visto a importância dos primeiros 1000 dias, torna-se relevante estudar a associação da configuração metabólica materna com o desenlace na saúde de seus filhos.

Quadro 3. Associação entre o metaboloma e crescimento e/ou desenvolvimento infantil.

Autor	Ano	Tipo de estudo	País/ Localidade	N ¹	Faixa etária	Método de avaliação	Metabólitos analisados	Análise de dados	Resultados principais
OROZCO <i>et al</i>	2019	Caso-controle	Estados Unidos/ California	442	24 a 60 meses.	Aspectro autista, Desenvolvimento típico, síndrome de down e atrasos no desenvolvimento idiopático. Diagnóstico confirmado pelo MIND ² .	Metabólito bacteriano, BCAA, metabolismo da glutatona, aminoácidos, metabolismo lipídico, corpos cetônicos, metabolismo das homocisteínas, amins biogênicas, ciclo do ácido cítrico, ciclo da ureia e xenobióticos.	Regressão linear múltipla. Foram considerados valores estatisticamente significativos p-valores < 0,05 ajustados para o método BH ³ .	Foram encontrados níveis elevados de alanina, glicina, ornitina e serina em crianças diagnosticadas no espectro autista. Para criança com atrasos no desenvolvimento idiopático, não foram encontradas associações consideradas significativas após o ajuste para BH. Os metabólitos carnitina e colina foram associados com a síndrome do Down.
ISGANAITIS <i>et al</i>	2019	Transversal	Estados Unidos/ Oklahoma	31	1 e 6 meses.	Peso e a altura aferidos. Adiposidade infantil estimada (porcentagem relativa de gordura, ou seja), massa gorda total, massa magra total e obesidade central por DXA.	Foram detectados 275 metabólitos, sendo 223, incluindo aminoácidos, lipídios, carboidratos, vitaminas, cofatores, etc.	Correlação de Pearson e regressão linear de mínimos quadrados. Correção por FDR ⁴ .	Foram encontradas associações negativas entre arginina, lisina, metionina e prolina com o peso para idade no primeiro mês. Foram encontradas associações negativas entre a glutamina e carnitina e positiva com a arginina com o percentual de gordura da criança com 1 mês.
MOREAU <i>et al</i>	2019	Coorte	Bangladesh	130	9 e 36 meses.	Foram aferidas a estatura das crianças, classificadas em comprimento para	185 metabólitos, incluindo acilcarnitinas, Aminoácidos, amins biogênicas,	Correlação de Pearson e regressão linear simples. O p-	Encontrou-se uma associação positiva entre os metabólitos PC ⁶ -32:3, PC-O30:2 e

Autor	Ano	Tipo de estudo	País/ Localidade	N ¹	Faixa etária	Método de avaliação	Metabólitos analisados	Análise de dados	Resultados principais
						idade e da trajetória do comprimento para idade (diferença das alturas nos dois momentos). Avaliou o neurodesenvolvimento através do WPPSI-III ⁵ usando subtestes de Informação, Vocabulário e Compreensão.	fosfatidilcolinas e esfingomielinas e ácidos biliares.	valor final foi ajustado pelo método correção por FDR.	PC-O34:3 e o escore de altura para idade aos 36 meses, quinurenina aos 9 meses e também da treonina em ambos os momentos. Alguns metabólitos da classe PC foram positivamente associados com o neurodesenvolvimento aos 36 meses. Assim, como SM ⁷ e treonina apresentaram associação positiva com o escore de desenvolvimento neurocognitivo aos 9 e 36 meses e a quinurenina e a relação quinurenina:triptofano apresentou associação negativa com o neurodesenvolvimento.
KADAKIA <i>et al</i>	2019	Transversal	Mulheres com as seguintes ancestralidades: Afro-Caribenha, Mexicanas, Americana, Europa Setentrional e Tailandesas.	400	Ao nascimento	Peso ao nascer	Lactato, triglicerídeos, 3-hidroxi-butarato, glicerol, ácidos graxos não esterificados, acilcarnitinas e aminoácidos	Regressão linear.	Os BCAAs ⁸ (leucina, isoleucina e valina), glutamato e glutamina e acil-carnitinas de cadeia média, foram positivamente associadas com o peso ao nascer. Porém, após os ajustes para IMC ⁹ materno, glicose em jejum materna e C-peptídeo do cordão

Autor	Ano	Tipo de estudo	País/Localidade	N ¹	Faixa etária	Método de avaliação	Metabólitos analisados	Análise de dados	Resultados principais
									umbilical, atenuou-se a associação com a valina. No modelo ajustado, observou-se também associação positiva da serina e glicina com o peso ao nascer para recém-nascidos afro-caribenhos-caribenhos e tailandeses.
LABARRE <i>et al</i>	2020	Coorte	Estados Unidos/ Michigan	106	Ao nascimento	O peso corporal e o perímetro cefálico do bebê e usou as curvas de crescimento de Fenton para peso corporal e curvas de crescimento desenvolvidas pelo Instituto Canadense de Pesquisa em Saúde para perímetro cefálico.	Foram identificados 573 lipídios biológicos, constituídos por ácidos graxos livres, ésteres de colesterol, acilcarnitinas, ceramidas, diacilgliceróis, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, ácido fosfatídico, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, plasmênil-fosfatidilcolina, plasmênil-fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilcolina, inositol, fosfatidilserina, esfingomielinas e triglicerídeos.	Regressão linear ajustada para sexo, paridade, idade materna, idade gestacional, IMC materno e ganho de peso gestacional. Foram considerados significativos resultados de p-valor < 0,1 ajustados por FDR ou p-valor < 0,05 não ajustados.	Foi encontrada associação positiva do LPC ¹⁰ do cordão umbilical com o peso ao nascer (FDR < 0.1).
QI ZHAO <i>et al</i>	2021	Coorte	Estados Unidos/ Tennessee	450	12, 24, 36 e 48 meses.	O peso e o comprimento ao nascer eram extraídos dos registros médicos,	Lipídios, ácidos orgânicos, aminoácidos, xenobióticos e cofatores e vitaminas.	(PLS-DA ¹² e LASSO ¹³ . Os modelos foram ajustados para	O modelo PLS-DA mostrou uma separação considerada estatisticamente

Autor	Ano	Tipo de estudo	País/ Localidade	N ¹	Faixa etária	Método de avaliação	Metabólitos analisados	Análise de dados	Resultados principais
						e as medidas de peso e comprimento eram aferidas a cada visita usando o protocolo NHANES e o IMC para idade calculada com base nas curvas de crescimento da OMS ¹¹ .		fatores de confusão.	significativa, dos perfis metabólicos, em crianças com diferentes trajetórias do escore de IMC. Encontrou-se associação de metabólitos pertencentes à classe lipídios, aminoácidos, com as trajetórias de IMC e risco para sobrepeso/obesidade aos 48 meses.
ZHAI <i>et al</i>	2023	Coorte	China	67	Ao nascimento	Peso ao nascer classificado como FIG ¹⁴ (< percentil 10), AIG ¹⁵ (~ percentil 50) e GIG ¹⁶ (> percentil 90) com base na idade gestacional.	Proteína C reativa hipersensível, peptídeo C, insulina, glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol de lipoproteína de alta densidade, colesterol de lipoproteína de baixa densidade, lipoproteína (a), ácidos graxos livres, homocisteína, albumina glicada, leptina.	PLS-DA e OPLS-DA ¹⁷ . Foram usados os parâmetros de R ² e Q ² para avaliar a qualidade e confiabilidade dos modelos, e os metabólitos selecionados de acordo com a importância da VIP ¹⁸ , sendo VIP >1 os selecionados e processados.	Os metabólitos foram divididos em dois grupos de acordo com a sua distribuição, o “U-shaped” quando apresentavam valores de FIG e GIG similares, ou seja, em maior menor concentração para ambos e “Line-shaped” quando os valores de FIG, GIG e AIG eram proporcionais de acordo com o peso ao nascer. Os metabólitos que eram altamente expressos em ambas as amostras e pertencentes ao grupo “U-shaped” incluíram a L-carnitina PG (16:1/22:6) e 2-methoxy-estradiol-17b

Autor	Ano	Tipo de estudo	País/ Localidade	N ¹	Faixa etária	Método de avaliação	Metabólitos analisados	Análise de dados	Resultados principais
									3-glucuronide e os pertencentes ao grupo “Line-shapped” incluíram a serotonina, ácido 13S-hidroxiotadecadienoico e MG (0;0/24:6/0:0), mostraram tendências crescentes tanto em mães quanto em bebês entre os grupos PIG, AIG e GIG. Enquanto LisoPC (p-18:1/0:0) mostrou tendência decrescente.

Nota: ¹N = tamanho amostral. ²MIND: Medical Investigation for Neurodevelopmental Disorders. ³BH: Benjamini–Hochberg. ⁴FDR: *False Discovery Rate*. ⁵WPPSI-III: *Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence*, Terceira Edição. ⁶PC: fosfatidilcolina. ⁷SM: esfingomielinas. ⁸BCAA: aminoácidos essenciais, do inglês, *branched-chain amino acids*. ⁹IMC: índice de massa corporal. ¹⁰LPC: lisofosfatidilcolina. ¹¹OMS: organização mundial da saúde. ¹²PLS-DA: Análise discriminante por mínimos quadrados parciais, do inglês, *Partial least squares-discriminant analysis*. ¹³LASSO: estatística e aprendizado de máquina, do inglês, *least absolute shrinkage and selection operator*. ¹⁴PIG: pequeno para idade gestacional. ¹⁵AIG: adequado para a idade gestacional. ¹⁶GIG: grande para idade gestacional. ¹⁷OPLS-DA: Análise discriminante por projeções ortogonais a mínimos quadrados parciais, do inglês, *Orthogonal partial least squares-discriminant analysis*. ¹⁸VIP: Variável na projeção.

3 JUSTIFICATIVA

O crescimento e desenvolvimento ocorrem de forma acelerada nos primeiros 1.000 dias da vida de uma criança, e são considerados indicadores de saúde pública e um direito da criança. Assim, é primordial redobrar a atenção e monitoramento nesta fase para redução do risco de desfechos desfavoráveis a curto e longo prazo.

Falhas no crescimento ou o rápido ganho de peso podem acarretar um estado nutricional inadequado e levar a consequências imunológicas e risco de sobrepeso e obesidade. Da mesma forma, atrasos no desenvolvimento para idade da criança podem dificultar seu aprendizado, rendimento escolar e competências comportamentais. Alcançar resultados de crescimento e desenvolvimento adequados na primeira infância é de grande importância para a manutenção de um estado de saúde ao longo da vida e prevenção de doenças nutricionais e dificuldades no desenvolvimento psicomotor.

Em paralelo, o estudo do metaboloma, vem sendo considerado uma ferramenta para se acessar as características e o perfil metabólico de humanos, que podem estar associados ao estado de saúde do indivíduo. Neste sentido, vêm sendo utilizado com o intuito de observar o sistema metabólico na saúde e na doença em humanos, podendo ser utilizado na avaliação da população materno-infantil.

Estudos que observam a associação do metaboloma materno durante a gestação e desfechos relacionados ao crescimento e desenvolvimento são escassos, sendo necessária a investigação, para compreender melhor e determinar a possível contribuição das modificações metabólicas durante o período gestacional.

Levando em consideração o conceito do DOHaD, busca-se observar se existe relação da configuração metabólica materna durante a gestação e os desfechos relacionados ao crescimento e desenvolvimento de seus filhos.

4 HIPÓTESE

- I. O metaboloma materno durante o terceiro trimestre gestacional influencia de forma positiva e/ou negativa nos desfechos relacionados ao crescimento infantil nos parâmetros de comprimento para idade, peso para idade, peso para o comprimento, IMC para idade e perímetro cefálico para a idade do nascimento ao primeiro ao de vida;
- II. O metaboloma materno durante o terceiro trimestre gestacional influencia de forma positiva e/ou negativa nos desfechos relacionados ao desenvolvimento infantil incluindo os domínios comunicação, coordenação motora ampla, coordenação motora fina, relação pessoal-social e habilidade de resolução de problemas ao longo do primeiro ano de vida.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Estimar a associação entre o metaboloma do soro materno no terceiro trimestre gestacional com o crescimento e desenvolvimento infantil ao longo do primeiro ano de vida da criança.

5.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o metaboloma do soro materno no terceiro trimestre de gestação em relação aos níveis de: Diacil-fosfatidilcolinas, Acil-aquil-fosfatidilcolinas, Lisofosfatidilcolinas, Aminas biogênicas, Esfingomielinas, Acilcarnitinas, e Aminoácidos e Hexoses;
- Descrever os escores dos 5 domínios de desenvolvimento (comunicação, coordenação motora ampla, coordenação motora fina, pessoal-social e resolução de problemas) com 1, 6 e 12 meses de vida da criança;
- Descrever o crescimento infantil de acordo com o comprimento para idade, peso para idade, peso para o comprimento, IMC para idade e perímetro cefálico para a idade ao nascimento e 1, 6 e 12 meses de vida da criança;
- Investigar a associação entre a concentração do metaboloma do soro materno no terceiro trimestre e o desenvolvimento infantil ao longo do primeiro ano de vida;
- Investigar a associação entre a concentração do metaboloma do soro materno no terceiro trimestre e o crescimento infantil ao longo dos primeiros anos de vida.

6 MÉTODOS

6.1 Desenho do estudo

Foram utilizados dados de uma coorte prospectiva realizada entre janeiro de 2017 e janeiro de 2020, composta por mulheres que estavam em acompanhamento pré-natal em uma clínica da família localizada na zona norte do município do Rio de Janeiro. As mães e seus filhos foram acompanhados desde o terceiro trimestre gestacional até os 12 meses de vida da criança.

O desenho do estudo considerou a linha de base (28-35 semanas gestacionais) e cinco ondas de seguimento após o parto que compreendia os períodos de 2-8 dias (onda 1), 28-50 dias (onda 2; ~ 1 mês), 88-119 dias (onda 3; ~ 3 meses), 180-216 dias (onda 4; ~ 6 meses) e 365-404 dias (onda 5; ~ 12 meses). Durante o acompanhamento foram coletadas informações sobre a saúde da mulher, história obstétrica, saúde infantil, dados antropométricos e de desenvolvimento infantil, coleta de amostras de sangue, de fezes e leite materno (**Figura 2**). Para o presente projeto, serão utilizados os dados da linha de base e das ondas 2, 4 e 5.

<p>Linha de base (28-35 Semana gestacional)</p>	<p>Onda 1 (2-8 dias)</p>	<p>Onda 2 (28-50 dias - ~ 1 mês)</p>	<p>Onda 3 (88-119 dias - ~3 meses)</p>	<p>Onda 4 (180-216 dias - ~ 6 meses)</p>	<p>Onda 5 (365-404 dias - ~ 12 meses)</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Mãe: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Amostra de fezes • Amostra de sangue • Questionários: <ul style="list-style-type: none"> • Socioeconômico • Demográfico • Estilo de vida • Saúde • QFA • Saúde mental • Antropometria 	<ul style="list-style-type: none"> • Mãe <ul style="list-style-type: none"> • Amostras de leite • Amostra de fezes • Amostra de sangue • Questionários: <ul style="list-style-type: none"> • Socioeconômico • Demográfico • Estilo de vida • Saúde • Antropometria • Recém-nascido <ul style="list-style-type: none"> • Amostra de fezes • Saúde • Antropometria 	<ul style="list-style-type: none"> • Mãe <ul style="list-style-type: none"> • Amostras de leite • Amostra de fezes • Amostra de sangue • Questionários: <ul style="list-style-type: none"> • Socioeconômico • Demográfico • Estilo de vida • Saúde • Antropometria • Criança <ul style="list-style-type: none"> • Amostra de fezes • Saúde • Antropometria • Desenvolvimento infantil 	<ul style="list-style-type: none"> • Mãe <ul style="list-style-type: none"> ▪ Amostras de leite ▪ Amostra de fezes ▪ Amostra de sangue • Questionários: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Socioeconômico ▪ Demográfico ▪ Estilo de vida ▪ Saúde • Saúde mental • Antropometria • Criança <ul style="list-style-type: none"> ▪ Amostra de fezes ▪ Saúde ▪ Antropometria ▪ Desenvolvimento infantil 	<ul style="list-style-type: none"> • Mãe <ul style="list-style-type: none"> • Amostra de fezes • Amostra de sangue • Questionários: <ul style="list-style-type: none"> • Socioeconômico • Demográfico • Estilo de vida • Saúde • Saúde mental • Antropometria • QFA • Criança <ul style="list-style-type: none"> • Amostra de fezes • Saúde • Antropometria • Desenvolvimento infantil • Recordatório 24 h 	<ul style="list-style-type: none"> • Mãe <ul style="list-style-type: none"> • Amostra de fezes • Amostra de sangue • Questionários: <ul style="list-style-type: none"> • Socioeconômico • Demográfico • Estilo de vida • Saúde • Saúde mental • Antropometria • QFA • Criança <ul style="list-style-type: none"> • Amostra de fezes • Saúde • Antropometria • Desenvolvimento infantil • Recordatório 24 h

Figura 2. Fluxograma do estudo com a descrição dos procedimentos realizados em cada entrevista

Nota: QFA: questionário de frequência alimentar. Os dados em negrito contemplam as variáveis que foram utilizadas no presente estudo.

6.2 Participantes do estudo

As participantes do estudo foram mulheres gestantes que realizavam acompanhamento pré-natal em uma clínica de uma unidade de saúde localizada na Zona Norte do município do Rio de Janeiro. Após esclarecimentos, as mulheres que concordaram em participar assinavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, **Anexo 1**).

Os critérios de elegibilidade foram: estar em acompanhamento pré-natal na Clínica da Família em questão, residir na área programática do estudo, ter entre 18 e 40 anos, não apresentar DANT (exceto obesidade) e doenças infecciosas e não apresentar gestação gemelar. Os critérios de exclusão foram: desenvolver alguma patologia gestacional ao longo do estudo como diabetes *mellitus* gestacional e pré-eclâmpsia, nascimento pré-termo e o recém-nascido apresentar alguma patologia, como sífilis congênita, hipóxia ou problemas no desenvolvimento infantil.

As mulheres atendidas na clínica da família foram triadas segundo critérios de elegibilidade para participação no estudo (descritos acima). Após a triagem, 176 mulheres atenderam aos critérios de elegibilidade e foram convidadas pela equipe de pesquisadores a participar do estudo, depois de receberam informações sobre o mesmo. Dentre as 176 mulheres elegíveis, 147 concordaram em participar do estudo, sendo que 120 realizaram a coleta de sangue no terceiro trimestre gestacional (entre 28 e 38 semanas), porém foram incluídas nas análises 98 mulheres que apresentavam dados de desenvolvimento e crescimento de seus filhos em pelo menos uma das ondas de seguimento (**Figura 3**).

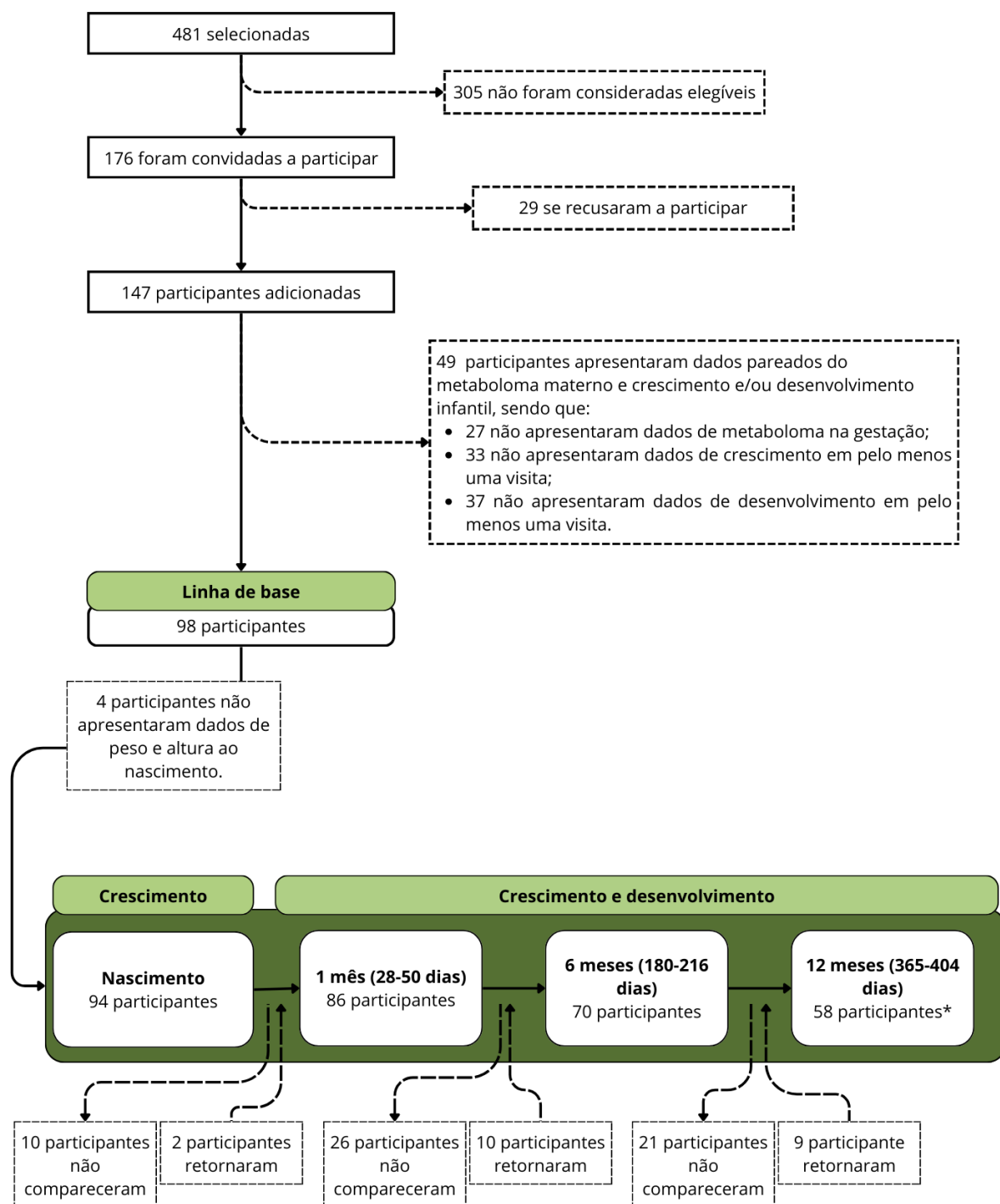


Figura 3. Fluxograma da coleta de dados do estudo.

Nota: *57 participantes possuíam dados de desenvolvimento aos 12 meses.

6.3 Coleta e gerenciamento de dados

Os dados foram armazenados no *Research Electronic Data Capture (REDCap)* que é um software que permite o armazenamento seguro dos dados (<https://projectredcap.org/>). Durante a coleta, os questionários eram realizados usando *tablets* com o aplicativo do

REDCap *offline* instalado, e posteriormente esses dados eram enviados ao sistema quinzenalmente.

6.4 Variáveis do estudo

6.4.1 Metaboloma do soro materno

A coleta de sangue materno foi realizada entre a 28^a e a 38^a semana gestacional, por uma técnica de enfermagem da equipe de pesquisa, previamente treinada. Para a coleta era necessário que as participantes estivessem em jejum por um período de 8-12h. As amostras foram homogeneizadas e mantidas em posição vertical até a completa coagulação. Após cerca de 30 minutos em temperatura ambiente (22 a 25 °C), os tubos foram centrifugados a 4 °C por 20 minutos, a 1100-1300g (RCF) para a separação do soro e do plasma (**Anexo 2**).

Após a centrifugação, as alíquotas de soro (1 mL) foram armazenadas em tubos criogênicos devidamente identificados. As amostras foram transportadas em caixas com controle de temperatura (-20 °C) e armazenadas a -80 °C. Posteriormente as amostras de soro foram enviadas, em uma temperatura de -80°C, para a *University College Dublin*, na Irlanda, onde as análises do metaboloma do soro materno foram realizadas em parceria com a Professora Lorraine Brennan do *School of Agriculture and Food Science*.

Os metabólitos foram identificados por meio de *targeted metabolomics* (metabolômica direcionada). Foram analisadas de acordo com o manual de ensaio AbsoluteIDQ p180 (*Biocrates Life Sciences*, Innsbruck, Áustria) usadas para identificar e quantificar aminoácidos, aminas biogênicas, acilcarnitinas, lisofosfatidilcolinas, diacilfosfatidilcolinas, acil-alquil-fosfatidilcolinas, esfingomielinas e a soma de hexoses. A preparação e análise das amostras e o processamento dos dados foram realizados conforme descrito previamente (Yin *et al.*, 2022).

Em resumo, as amostras de soro foram centrifugadas a 2750g por 5 minutos a 4 °C, e em seguida 10 µL do sobrenadante foram transferidos para placas de 96 poços e secados sob nitrogênio. Os aminoácidos e aminas biogênicas foram derivatizados pela adição de 50 µL de 5% de isotiocianato de fenila (PITC), mantidos em temperatura ambiente por 25 minutos. Em seguida, a placa foi seca por 1 hora e 300 µL de acetato de amônio/metanol (5 mM) foram adicionados. Os aminoácidos e as aminas biogênicas foram quantificados por Cromatografia Líquida-Espectrofotometria de Massa (do inglês, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry – LC-MS*) (AB Sciex, Darmstadt, Alemanha), enquanto a acilcarnitina e outros lipídios foram determinados por análise por injeção em fluxo (FIA).

O sistema LC-MS incluiu a série *Sciex ExionLC™* do sistema de Cromatografia Líquida de Ultra Alta Performance (do inglês, *Ultra-high-Performance Liquid Chromatography* - UHPLC) acoplado ao espectrômetro de massas QTRAP 6500+ no modo de ionização por *electrospray* (ESI). Cinco microlitros de amostra foram injetados na coluna de UHPLC provida com o ensaio p180 com 0,2% de ácido fórmico em água como solvente A e 0,2% de ácido fórmico em acetonitrila como solvente B. Durante a análise por injeção em fluxo, 15 µL das amostras foram injetadas com metanol. Todos os 6 metabólitos foram identificados no modo positivo e quantificados de acordo com o método de monitoramento de reações múltiplas (MRM).

Aminoácidos e aminas biogênicas foram quantificados baseados em padrões internos marcados isotopicamente e curvas de calibração de sete pontos. Os dados foram processados pelo programa *AB Sciex Analyst* versão 1.7.2 (AB Sciex, Darmstadt, Alemanha).

Foram analisados 132 metabólitos, incluindo acilcarnitinas, lisofosfatidilcolinas, aminoácidos, aminas biogênicas, acil-aquil-fosfatidilcolinas, diacil-fosfatidilcolinas, esfingomielinas e hexoses. As hexoses foram semi-quantificadas. As concentrações de metabólitos foram exportadas em µM, e apenas os metabólitos com concentração acima do limite de detecção em mais de 75% das amostras foram incluídos nas análises estatísticas. Os metabólitos identificados no sangue materno estão listados no **Quadro 4**.

Quadro 4. Metabólitos utilizados na análise classificados de acordo com a sua classe.

Acilcarnitinas			
Carnitina	Acetilcarnitina		
Aminoácidos			
Alanina	Glutamato	Metionina	Triptofano
Arginina	Glicina	Ornitina	Tirosina
Asparagina	Histidina	Fenilalanina	Valina
Aspartato	Isoleucina	Prolina	
Citrulina	Leucina	Serina	
Glutamina	Lisina	Treonina	
Aminas biogênicas			
Dimetilarginina	Quinurenina	Dimetilarginina simétrica	Trans-hidroxiprolina
Creatinina	Sarcosina	Serotonina	Taurina
Lisofosfatidilcolinas (LPC)			
LPC 14:0	LPC 17:0	LPC 18:2	LPC 26:0
LPC 16:0	LPC 18:0	LPC 20:3	LPC 28:1
LPC 16:1	LPC 18:1	LPC 20:4	
Diacil fosfatidilcolinas (PC)			
PC 24:0	PC 34:2	PC 36:6	PC 40:4
PC 28:1	PC 34:3	PC 38:0	PC 40:5

PC 30:0	PC 34:4	PC 38:1	PC 40:6
PC 30:2	PC 36:0	PC 38:3	PC 42:0
PC 32:0	PC 36:1	PC 38:4	PC 42:1
PC 32:1	PC 36:2	PC 38:5	PC 42:2
PC 32:2	PC 36:3	PC 38:6	PC 42:4
PC 32:3	PC 36:4	PC 40:2	PC 42:5
PC 34:1	PC 36:5	PC 40:3	PC 42:6
Acil-alquil fosfatidilcolinas (PC-O)			
PC-O30:0	PC-O36:1	PC-O38:5	PC-O42:2
PC-O30:1	PC-O36:2	PC-O38:6	PC-O42:3
PC-O30:2	PC-O36:3	PC-O40:1	PC-O42:4
PC-O32:1	PC-O36:4	PC-O40:2	PC-O42:5
PC-O32:2	PC-O36:5	PC-O40:3	PC-O44:3
PC-O34:0	PC-O38:0	PC-O40:4	PC-O44:4
PC-O34:1	PC-O38:1	PC-O40:5	PC-O44:5
PC-O34:2	PC-O38:2	PC-O40:6	PC-O44:6
PC-O34:3	PC-O38:3	PC-O42:0	
PC-O36:0	PC-O38:4	PC-O42:1	
Esfingomielinas hidroxiladas [SM(OH)] e não hidroxiladas (SM)			
SM (OH) C14:1	SM (OH) C24:1	SM 18:1	SM 24:1
SM (OH) C16:1	SM 16:0	SM 20:2	SM 26:0
SM (OH) C22:1	SM 16:1	SM 22:3	SM 26:1
SM (OH) C22:2	SM 18:0	SM 24:0	
Hexoses			
Hexose			

6.4.2 Crescimento infantil

As informações de peso (g) e comprimento (cm) ao nascer foram retiradas da caderneta da criança na primeira visita após o parto. Nas ondas 2, 4 e 5 foram coletadas as medidas antropométricas das crianças, incluindo o peso (g), comprimento (cm) e perímetro cefálico (cm). Todas as aferições foram realizadas por profissionais da área da saúde treinados (**Anexo 3**).

Para a aferição do peso foi utilizada a balança Seca 336 (Seca, Hamburg, Alemanha). Para esse procedimento, a balança era forrada com papel descartável próprio para o uso, e era solicitado que o responsável despisse a criança e a colocasse no centro da balança. A medida foi considerada após a estabilização do valor.

O comprimento foi aferido pelo infantômetro Seca 417 (Seca, Hamburg, Alemanha). Para este procedimento, a criança era posicionada horizontalmente na maca, de modo que a cabeça da criança ficasse encostada na parte fixa do infantômetro, o antropometrista deveria segurar a cabeça da criança para garantir que ficasse no plano de Frankfurt e o tronco deveria

estar encostado à superfície do equipamento, enquanto outro antropometrista deveria unir e esticar ambas as pernas e depois mover a parte móvel do infantômetro até tocar nos calcanhares da criança.

O perímetro cefálico foi aferido com fita métrica Seca modelo 211 (Seca, Hamburg, Alemanha), com a criança olhando para a frente no plano de Frankfurt. A fita era posicionada ao redor da cabeça da criança na altura superior das sobrancelhas no ponto mais posterior do occipital, para que obtivessem o maior perímetro.

Duas medidas consecutivas foram realizadas do comprimento e perímetro cefálico, e então foi calculada a média aritmética, quando a diferença máxima era de 0,5 cm para comprimento e 0,2 para perímetro cefálico. Em caso de diferenças maiores que os limites estabelecidos, uma terceira medida era realizada, então era feita a média dos valores das duas que estavam dentro do limite.

Para classificação dessas medidas, foram utilizadas as curvas de peso para idade, comprimento/estatura para a idade, peso para o comprimento/estatura, IMC para idade e perímetro cefálico para idade da OMS de 0 a 5 anos (WHO, 2006). Para classificação do escore-z foi utilizado o pacote *Anthro* disponibilizado gratuitamente pela OMS (WHO, 2007).

6.4.3 Desenvolvimento infantil

Para avaliação do desenvolvimento infantil foi utilizada a versão brasileira do *Ages and stages questionnaires 3* (ASQ-BR), aplicado nas ondas 2, 4 e 5 (**Anexo 4**). O questionário ASQ-BR foi traduzido e adaptado transculturalmente para o português, e contou com uma escala adequada para a população brasileira (Squires; Bricker, 2009). O ASQ-BR é um instrumento para acompanhamento e monitoramento do desenvolvimento da criança a partir da observação de seus cuidadores, e apresenta como diferencial o fato de realizar o monitoramento na primeira infância (Ramos; BARBA, 2021). O questionário foi desenvolvido utilizando os seguintes critérios: habilidades selecionadas que poderiam ser facilmente observadas pelos pais, habilidades selecionadas que poderiam ser facilmente observadas de ocorrerem em situações cotidianas e habilidades selecionadas que poderiam ser importantes para o marco do desenvolvimento.

O questionário apresenta 20 escalas para diferentes faixas etárias entre 1 e 66 meses. Cada escala avalia a criança em cinco domínios do desenvolvimento, sendo eles: comunicação, coordenação motora ampla, coordenação motora fina, resolução de problemas e

pessoal/social. Cada uma das categorias apresenta 6 questões relacionadas às habilidades que a criança é capaz de realizar de acordo com a sua faixa etária. As opções de resposta são “sim” que recebe pontuação 10, “às vezes” com pontuação 5 e “ainda não” com pontuação 0. O resultado dos pontos de cada questão é somado, levando a uma pontuação geral por domínio (**Figura 4**). Quanto maior a pontuação por domínio, mais próximo do satisfatório é considerado o desenvolvimento.

Para responder ao questionário não era necessário nenhum conhecimento ou habilidade específica, apenas conhecer bem e fazer parte do cotidiano da criança tendo observado as suas habilidades adquiridas com clareza (IETS, 2010).

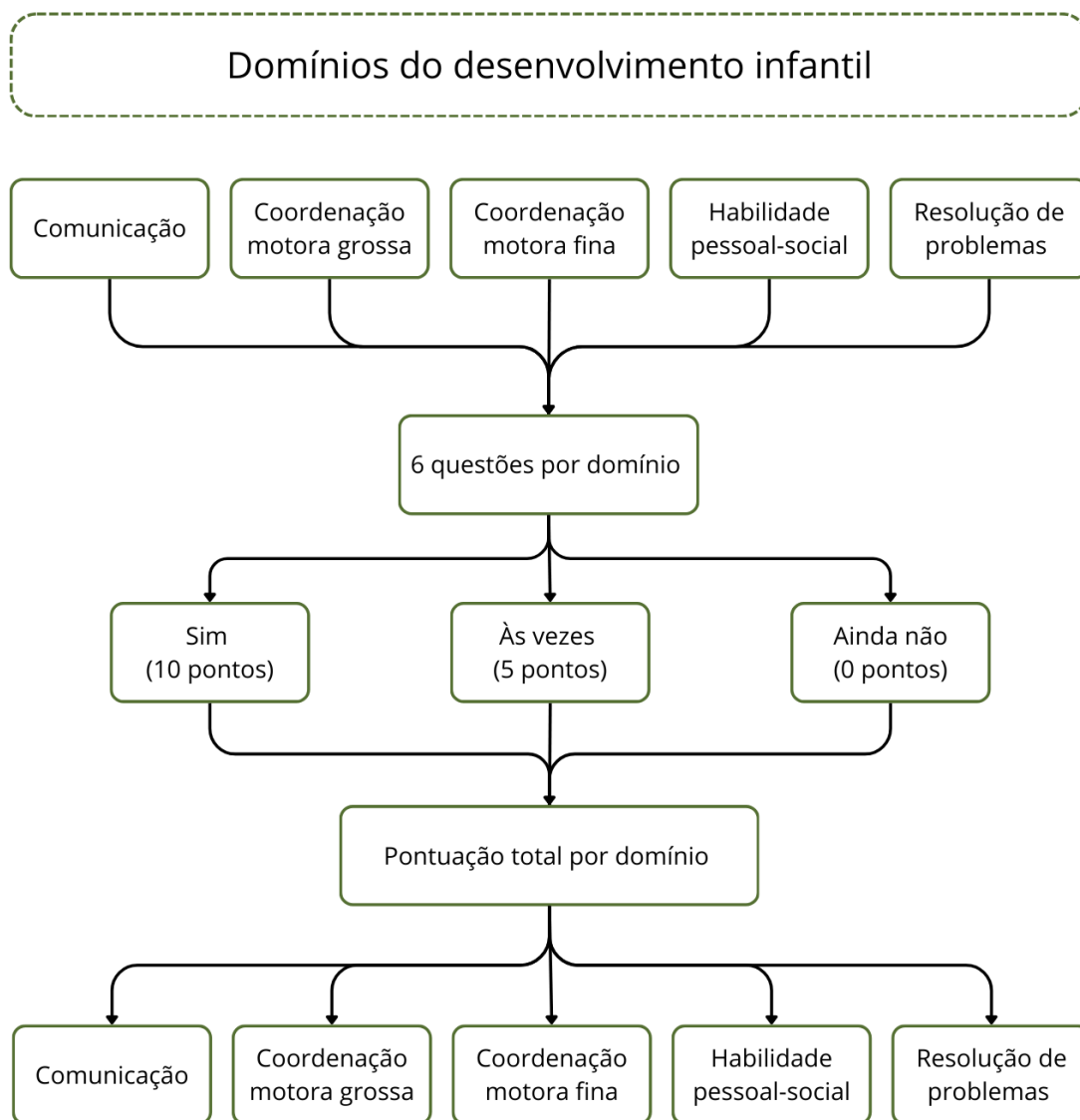


Figura 4. Fluxograma do questionário de desenvolvimento infantil: *Ages and Stages questionnaires* (ASQ-BR).

6.4.4 Outras variáveis materno-infantis (covariáveis)

Ao longo do estudo foram coletados dados da mãe e seus filhos (**Anexo 5**). Um questionário foi aplicado na linha de base, com o intuito de obter dados sobre o histórico de saúde pregressa e variáveis socioeconômicas e demográficas que incluiu: idade materna (anos), raça/cor autorreferida (preta/parda/branca/amarela), escolaridade (anos de estudo), paridade (primíparas/múltiparas), situação conjugal (vive/não vive com o companheiro), tabagismo (fumo durante a gestação), etilismo (consumo de álcool em algum trimestre gestacional), peso pré-gestacional (autorreferido).

O IMC pré-gestacional foi calculado utilizando como base o peso pré-gestacional e a estatura aferida durante a 28-50 dias pós-parto ($IMC = \text{peso pré-gestacional} / (\text{Estatura da gestante})^2$). A classificação da OMS foi utilizada com os seguintes pontos de corte: Baixo peso ($IMC \leq 18,5 \text{ kg/m}^2$), eutrofia ($IMC > 18,5 \text{ kg/m}^2$ e $\leq 24,9 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ e $\leq 29,9 \text{ kg/m}^2$) e obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Para calcular o ganho de peso gestacional, foram empregadas as medidas do peso da gestante em sua última consulta antes do parto, sendo subtraído desse valor o peso pré-gestacional.

Dados sobre o tipo de parto (vaginal/cesárea), sexo do recém-nascido (masculino/feminino), *apgar*, e idade gestacional ao nascimento foram coletados na primeira onda de seguimento. A idade gestacional foi calculada de acordo com a primeira ultrassonografia quando realizada antes da 24ª semana gestacional, ou baseada na data da última menstruação, em caso da primeira ultrassonografia ser desconsiderada. Dados sobre o tipo de aleitamento foram coletados durante as visitas de acompanhamento (aleitamento materno exclusivo/complementado/ sem aleitamento materno).

6.5 Questões éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (nº 49218115.0.3001.5279) e pelo Comitê de Ética da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (nº 49218115.0.0000.5275), e seguiu as diretrizes do Conselho Nacional de Saúde (CNS), respeitando os princípios da bioética, não maledicência, beneficência, autonomia, justiça e equidade contidas na Resolução Nº 466 de 12 de dezembro de 2012. Todas as participantes do estudo assinaram o TCLE, em que declaravam estarem de acordo com os procedimentos da pesquisa e a sua participação voluntária (**Anexo 6**).

6.6 Análise estatística

A normalidade das variáveis foi investigada usando o teste de Shapiro-Wilk. Variáveis contínuas foram apresentadas como mediana e intervalo interquartil (IIQ), já que não apresentavam normalidade na distribuição. Variáveis categóricas foram apresentadas usando frequências absolutas e relativas. Os dados analisados nessa dissertação têm caráter exploratório, por esse motivo, não foram realizados cálculos de tamanho/poder amostral.

Foi aplicada média com ± 5 desvios padrão dos valores log-transformados, sendo removidos os considerados *outliers*. A análise de *outlier* removeu um máximo de 0,16% (n=25) das medidas, de acordo com o proposto por Beuchel *et al* (Beuchel *et al.*, 2019).

A associação do tempo com as trajetórias de crescimento e desenvolvimento infantil durante o primeiro ano (em dias) foi avaliada através de um gráfico de trajetória usando um modelo de regressão linear.

Modelos linear misto (MLM) foram construídos para avaliar a associação dos metabólitos do terceiro trimestre gestacional e o crescimento e desenvolvimento ao longo do primeiro ano de vida. Os sujeitos foram considerados aleatórios no modelo. Para acessar a performance no modelo utilizando o tempo como interação (dias após o parto) e o slope randômico, foi construído um gráfico *spaghetti* e o Critério de Informação de Akaike (do inglês, *Akaike Information Criterion* - AIC) usando o ANOVA para observar a significância estatística. Todos os modelos usaram o controle 'lmerControl("bobyqa")', configuração para otimizar o ajuste do modelo.

Todos os modelos foram ajustados para variáveis de confusão, definidas com base em um *Directed Acyclic Graph* (DAG - Grafos Acíclicos Dirigidos) usando o programa DAGitty. (Textor; Hardt; Knüppel, 2011). O DAG é um gráfico de relações causais entre exposição e desfecho e as variáveis de confusão, com o intuito de gerar ajustes mínimos de acordo com as suas covariáveis, que se baseia em um modelo teórico com base na literatura disponível. As variáveis de idade gestacional do parto e índice de massa corporal pré-gestacional foram sugeridas para o mínimo ajuste dos modelos.

A qualidade do modelo foi avaliada através de histogramas e gráfico quantil-quantil (QQ) feitos baseado nos resíduos do modelo. Os resíduos mostraram valores com uma distribuição normal exceto para o desenvolvimento infantil. E por isso, os escores do

desenvolvimento infantil foram transformados por meio da distribuição de box-cox com intuito de garantir melhor distribuição dos resíduos.

The results were considered statically significant when the adjusted p-values (q-values) were < 0.1 after the Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons for models with interaction⁽³⁰⁾. For the other analyses, p-value < 0.05 was considered. Effect estimates were presented as beta coefficients (β) and 95% confidence intervals (CI 95%). All statistical analyses were performed in R 4.3.1 (R Core Team, Vienna, Austria) and STATA 15 (StataCorp, Durham University, United Kingdom).

7 RESULTADOS

A seção de resultados será apresentada no formato de um artigo científico, elaborado para a dissertação de mestrado, intitulado: *Association between the maternal serum metabolome and child growth and development through the first year of life*/Associação entre o metaboloma do soro materno e o crescimento e desenvolvimento infantil no primeiro ano de vida, que será submetido após a defesa.

7.1 Artigo

Associação entre o metaboloma do soro materno e o crescimento e desenvolvimento infantil no primeiro ano de vida.

Association between the maternal serum metabolome and child growth and development through the first year of life

1 **Abstract**

2 **Background:** The role of the maternal metabolome in child outcomes remains limited, while
3 evidence suggests a potential for this metabolome to influence child health outcomes.
4 Therefore, we aimed to explore the association between the maternal metabolome in the third
5 trimester and child growth and development during the first year of life. **Methods:** A
6 prospective cohort of 98 healthy mother-child dyads was followed during the late pregnancy
7 and at 1, 6, and 12 months postpartum. Maternal blood was collected between 28-35
8 gestational weeks for targeted metabolome analysis using Mass-Spectrometry, which
9 measured 132 metabolites. The child's growth and development were assessed at birth 1, 6,
10 and 12 months. Z-scores for weight-for-age, height/length-for-age, weight-for-length, body-
11 mass-index-(BMI)-for-age, and head-circumference-for-age were calculated based on WHO
12 growth standards. The domains of child development were assessed using the ASQ-3:
13 communication, gross motor skills, fine motor skills, problem-solving, and personal-social.
14 The associations between maternal metabolome and child growth and development were
15 assessed using linear mixed-effects models. The Benjamini-Hochberg correction was used for
16 multiple comparison adjustments. **Results:** Weight-for-age, weight-for-length, and BMI-for-
17 age showed a positive association with time, and length-for-age and head circumference-for-
18 age did not. Also, communication, problem-solving, gross, and fine motor skills domains
19 exhibited positive associations with time, while personal-social skills did not. We found a
20 positive association between lysophosphatidylcholines (14:0; 16:0; 16:1; 17:0; 18:0; 18:1;
21 18:2; 20:4) with the weight-for-age z-score. There was a positive association between some
22 lysophosphatidylcholines (14:0; 16:0; 16:1; 18:0) classes and taurine with a z-score of weight-
23 for-length and a sum of lysophosphatidylcholines (14:0; 16:0; 16:1; 17:0; 18:0; 18:1; 18:2;
24 20:4) and glycine with the z-score of BMI-for-age. The leucine, methionine, tryptophan, and

25 valine were negatively associated with the fine motor skills domain. **Conclusion:** The third
26 trimester serum metabolome seems to influence positively or negatively the child's
27 development and growth throughout the first year of life.

28 Keywords: metabolome; pregnancy; child growth; child development.

29

30 **Introduction**

31 The period between conception and the first two years of a child's life is considered a
32 "window of opportunity" for children's health. Because of this, maternal health could
33 consequently impact better outcomes for the offspring throughout their lifetime⁽¹⁾. This is
34 aligned with the concept of Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD), which
35 involves the early stages of life conditions that could impact throughout their life, such as
36 inadequate nutrition, past morbidity history, maternal mental health, and social inequities⁽²⁻⁵⁾.

37 Child growth and development are key health indicators that reflect the child's
38 environment^(6, 7). Alterations in childhood growth, such as growth deficits and a heightened
39 risk of obesity within the first two years, may significantly influence long-term child health
40 and nutritional status. Furthermore, inadequate development during early childhood can have
41 lasting effects on learning, academic skills, and socioemotional abilities throughout the life
42 course^(8, 9). Due to the importance of these indicators, the use of tools with predictive
43 characteristics is a good strategy, and a valuable tool that is currently being used in maternal
44 and child health is metabolome analysis⁽¹⁰⁾.

45 The maternal health impact on their offspring outcomes, and during the pregnancy the
46 woman's body undergoes physiological adaptations in order to provide the best environment
47 for the baby, and during the third trimester, is when the growth's fetus is more accelerated and
48 when happened changes on digestive system, cardiovascular system, and hematological
49 system that could be related to nutritional aspects^(11, 12).

50 The metabolome study is considered a valuable tool to access humans' characteristics
51 and metabolic profiles, which can be associated with health outcomes. It is a helpful tool that
52 may be used to investigate health outcomes, including adverse results^(10, 13, 14). In maternal and
53 child health, the metabolome helps to identify biomarkers related to such complications as

54 preeclampsia, gestational diabetes mellitus, preterm birth, and fetal growth restriction, and
55 understand the physiopathology^(10, 14). Besides, it is considered a vital tool for comprehending
56 metabolic adaptations, and the lifestyle may be related to different metabolic signatures⁽¹⁰⁾.

57 Previous studies observed the relation of metabolome with child growth and
58 development in different moments of life, as Isganaitis et al. (2019) who found a negative
59 association between arginine, lysine, methionine and proline with weight for age in the first
60 month and Moreau et al. (2019) which found a positive association of the phosphatidylcholine
61 class with neurodevelopment at 36 months and also of sphingomyelins and threonine with the
62 neurocognitive development score at 9 and 36 months^(15, 16).

63 The present study aimed to explore the association between the maternal metabolome
64 in the third trimester of pregnancy and child growth and development during the first year of
65 life.

66 **Methods**

67 *Study design*

68 A subset of data from a prospective cohort conducted in a public health center from
69 the Brazilian Unified Health System, in a low-income region of Rio de Janeiro, Brazil, was
70 used in this study. The study protocol was already described elsewhere^(17, 18). The study was
71 conceptualized as exploratory research.

72 A non-probabilistic sample of 147 pregnant women was recruited in the third
73 gestational trimester (28-35 weeks) during prenatal care appointments between February 2017
74 and April 2019. The participants followed on five visits postpartum that comprised the
75 periods of 2-8 days (visit 1), 28-50 days (visit 2; ~1 month), 88-119 days (visit 3; ~3 months),
76 180-216 days (visit 4; ~6 months), and 365-404 days (visit 5; ~12 months).

77 The eligibility criteria of the principal study included living in the catchment area of
78 the public health center, being between 18 and 40 years of age, not presenting infectious or
79 chronic non-communicable diseases (except obesity), and singleton pregnancy. The exclusion
80 criteria comprised the development of any gestational morbidity throughout the study, having
81 a preterm delivery or a stillbirth, and having a newborn with any disease.

82 Ninety-eight mother-child pairs were selected because they fulfilled the eligibility
83 criteria, which comprised having blood sample collection at pregnancy, data of child growth
84 and/or development during at least one visit at one (n=86), six (n=70), or 12 (n=58) months
85 postpartum, and/or presented data of weight and length at birth (n= 94) (**Figure 1**).

86 *Maternal blood sample collection*

87 The women's blood sample collection was carried out during the 28th to 38th
88 gestational weeks, in the morning, which required fasting for 8-12 hours before the blood was
89 drawn. The collection was conducted by a trained nurse affiliated with the research team.

90 Samples were homogenized after the collection and maintained in the rack until the
91 total coagulation. After 30 minutes, the samples were centrifuged (1100-1300g) for 20 min at
92 4°C to obtain aliquots of serum and plasma from tubes containing EDTA. Then, the aliquots
93 (1 mL) were stored in cryogenic tubes at -80 °C until further analysis.

94 *Metabolome analysis*

95 The serum samples were analyzed using a targeted metabolomic platform, where
96 AbsoluteID p180 assay (Biocrates Life Sciences, Innsbruck, Austria) was used to identify and
97 quantify a total of 132 metabolites, including amino acids, biogenic amines, acylcarnitines,
98 lysophosphatidylcholines (LPC), diacyl phosphatidylcholines (PC), alkyl:acyl
99 phosphatidylcholines (PC-O), sphingomyelins with [SM(OH)] and without hydroxylation
100 (SM) and the sum of hexoses (**Supplementary Table 1**).

101 The sample analysis and preparation were previously described elsewhere⁽¹⁹⁾. Briefly,
102 the serum samples were centrifuged (2750g for 5 min, at 4°C), then 10 µL of supernatant was
103 transferred to a 96-well plate and dried under nitrogen. The amino acids and biogenic amines
104 were derivatized by adding 50 µL of 5% phenyl isothiocyanate (PITC) and kept at room
105 temperature for 25 min. Afterward, the plate was dried for 1 hour, and 300 µL of 5 mM
106 ammonium acetate/methanol was added. The amino acids and biogenic amines were
107 measured using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) (AB Sciex, Darmstadt,
108 Germany). At the same time, acylcarnitines and other lipids were measure semi-quantitatively
109 using flow injection analysis-mass spectrometry (FIA-MS).

110 The LC-MS system included the Sciex ExionLseries of the UHPLC system coupled to
111 a QTRAP 6500+ on ionization mode by electrospray (ESI). Five µL of the sample were
112 injected into a UHLPC column provided with the p180 assay with 0.2% formic acid in water
113 as solvent A and 0.2% formic acid in acetonitrile as solvent B. During the FIA analysis, 15 µL
114 of the sample was injected with methanol. All metabolites were identified in positive mode
115 and quantified according to the multiple reactions monitoring (MRM) method.

116 The amino acids and biogenic amines were quantified based on their internal
117 standards, which were isotopically marked, and 7-point calibration curves and metabolome
118 data were processed by AB Sciex Analyst version 1.7.2 software. The metabolite
119 concentration was exported in µM, and only the metabolites with a concentration above the
120 detection limit in >75% serum samples were included in statistical analysis.

121 ***Child growth***

122 The childbirth weight and length were collected from the child's health handbook on
123 visit 1, and the subsequent measurements were assessed on visit 2, 4, and 5, including weight

124 (cm), length (cm), and head circumference (cm). These measurements were performed by
125 trained interviewers.

126 Childs were weighed without clothes and accessories using the Seca model 336 scale
127 (Seca, Hamburg, Germany). The length was measured using the Seca model 417 infantometer
128 (Seca, Hamburg, Germany). The head-circumference measurements were made using a
129 disposable measuring tape of Seca model 211 (Seca, Hamburg, Germany). Length and head-
130 circumference measurements were taken in duplicate. If the differences were within a range
131 of 0.5 cm for length and 0.2 cm for head-circumference, an arithmetic mean was calculated. If
132 the difference was greater than these values, it was necessary to take a third measure.

133 The indices weight-for-age, height/length-for-age, weight-for-length, body mass index
134 (BMI)-for-age and head circumference-for-age were used to evaluate child growth according
135 to the World Health Organization (WHO) growth standards⁽²⁰⁾. The package *anthro* in
136 RStudio was used to classify the z-scores of the children ^(20, 21).

137 ***Child development***

138 The Age and Stages Questionnaire version 3 (ASQ-3), translated and cross-culturally
139 adapted for the Brazilian population, was used to evaluate early childhood development⁽²²⁾.
140 This is a screening instrument, which can be used for follow-up and monitoring the child's
141 development according to age, since the first infancy⁽²³⁾. It considers the observation of their
142 caregivers.

143 This questionnaire consists of 6 questions for five developmental domains:
144 communication, gross motor skills, fine motor skills, problem-solving, and personal-social.
145 The response options for each question regarding whether the child has already performed
146 activities of each domain could be scored as follows: 'yes' receiving 10 points, 'sometimes', 5
147 points, and 'not yet' receiving 0 points. The final score was calculated by the sum of points for

148 each domain and ranges from 0 to 60. The higher the score, the closer to the development
149 expected for the child's age. No cut-off has been published for the Brazilian population yet,
150 however, the American population cut-off points are usually used to classify and describe the
151 child development status described in previous Brazilian studies⁽²²⁻²⁴⁾.

152 *Covariates*

153 A structured questionnaire was administered at the baseline to obtain data on maternal
154 age (years), self-declared skin color (white, brown/mixed color, black, yellow), education
155 (schooling years), marital status (lives with or without a partner), parity (primiparous or
156 multiparous), smoking status (smoking during pregnancy), alcohol intake (alcohol intake in
157 any gestational trimester), pre-pregnancy weight (self-reported).

158 The maternal pre-pregnancy BMI (PP-BMI, kg/m²) was calculated using the self-
159 reported pre-pregnancy weight (kg) and height measured at 28–50 days postpartum,
160 categorized as underweight (< 18.5 kg/m²), normal weight (\geq 18.5 to < 25.0 kg/m²),
161 overweight (\geq 25.0 to <30.0 kg/m²), and obese (\geq 30.0 kg/m²)⁽²⁵⁾.

162 Data on type of delivery (vaginal/cesarean), newborn's sex (male/female), and birth
163 date was collected at the first visit after birth. The gestational age at birth was calculated
164 according to the first ultrasound when it was performed at \leq 24 gestational weeks or based on
165 the date of the last menstrual period in case the first ultrasound was considered unavailable⁽²⁶⁾.
166 The breastfeeding status was collected during the follow-up visits and classified (exclusive
167 breastfeeding, complementary, no breastfeeding)⁽²⁷⁾.

168 *Statistical analysis*

169 The variables' normality was investigated using the Shapiro-Wilk test. We used
170 absolute (n) and relative frequencies (%) for categorical variables and median and
171 interquartile range (IQR) for quantitative variables. Metabolites values which presented a

172 median with ± 5 standard deviations of the log-transformed data were considered outliers⁽²⁸⁾.
173 Outlier analysis removed 0.16% (n=25) of measurements from downstream analysis.

174 A trajectory graph for growth and development parameters during the first year was
175 built to observe how these scores behave during the first year (in days), and a linear model
176 evaluated the difference in the scores' trajectories.

177 Linear mixed-effects (LME) models were employed to evaluate the association of
178 maternal third pregnancy trimester metabolites and child growth and development throughout
179 the first year after delivery. Subjects were considered as a random variable in the model. To
180 assess the performance of models with time interaction (days after delivery) and with a
181 random slope for the time, was built a spaghetti plot and the Akaike Information Criteria
182 (AIC) using the ANOVA to observe the statistical significance. All the LME models were
183 implemented using the 'lmerControl("bobyqa")' configuration to optimize model fitting.

184 Confounders were defined based on Directed Acyclic Graphics (DAG) using the
185 DAGitty software. DAGs can help to identify minimal sufficient adjustment sets of
186 confounding variables by an automated approach⁽²⁹⁾. The covariables of gestational age, and
187 PP-BMI were suggested and applied as minimum adjustments for the LME models
188 **(Supplementary Figure 1)**.

189 The model's quality was evaluated using a quantile-quantile (QQ) plot that was
190 performed based on the residuals model. The residual showed reasonably normal distribution,
191 except for child development. Scores of child development were box-cox-transformed to get
192 better residual distributions.

193 The results were considered statically significant when the adjusted p-values (q-
194 values) were < 0.1 after the Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons for
195 models with interaction⁽³⁰⁾. For the other analyses, p-value < 0.05 was considered. Effect

196 estimates were presented as beta coefficients (β) and 95% confidence intervals (CI 95%). All
197 statistical analyses were performed in R 4.3.1 (R Core Team, Vienna, Austria) and STATA 15
198 (StataCorp, Durham University, United Kingdom).

199 *Ethical aspects*

200 The study protocol followed the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki
201 and has been approved by the Ethical Committee from the Municipal Health Secretary from
202 Rio de Janeiro (No. 49218115.0.3001.5279) and the Ethical Committee from the Maternity
203 School of Federal University of Rio de Janeiro (No. 49218115.0.0000.5275). The participants
204 have freely and spontaneously signed the written informed consent.

205 **Results**

206 The mothers from the study had a median age of 27 years, 12 years of education, and
207 57% self-reported being brown. Most mothers were classified with normal PP-BMI (50.5%),
208 had a median of 40 weeks of gestational age at birth, and achieved a median gestation weight
209 gain of 12 Kg. (**Table 1**). Most of the children were of the male gender (52%), exclusively
210 breastfed in the first month (57%), were born by vaginal delivery (65%), and 78% were
211 categorized as adequate to gestational weight (**Tables 1 and 2**).

212 A positive association was observed in the z-score trajectory of weight-for-age,
213 weight-for-length, and BMI-for-age with time, whereas the length-for-age and head-
214 circumference-for-age showed no association with the time (**Figure 2**). Positive associations
215 of developmental scores of communications, gross motor skills, fine motor skills, and
216 problem-solving domains were observed, whereas personal-social skills showed no
217 association with time (**Figure 3**).

218 Regarding the growth trajectories, we did not find a statistically significant association
219 with any maternal third-trimester metabolome with the score-z of length-for-age and head-

220 circumference-for-age. Nonetheless, to the other parameters of nutritional state, we observed
221 that the LPCs (14:0, 16:0, 16:1, 17:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:4) were positively associated with
222 weight-for-age z-score, the LPCs (14:0, 16:0, 16:1, 18:0) and taurine were positively
223 associated with the z-score of weight-for-length, and the LPCs (14:0, 16:0, 16:1, 17:0, 18:0,
224 18:1, 18:2, 20:4) and glycine were positively associated with the z-score of BMI-for-age
225 **(Figure 4 and Supplementary Table 2).**

226 Regarding the development trajectories, we did not find a statistically significant
227 association between any maternal third-trimester metabolome with their children's domains of
228 communication, gross motor skill, personal-social, and problem-solving during the first years.
229 Nonetheless, the maternal third-trimester metabolites Leucine, methionine, tryptophan, and
230 valine showed a negative association with the fine motor skill domain. **(Figure 5 and**
231 **Supplementary Table 3).**

232 **Discussion**

233 This study examined the role of the maternal third pregnancy trimester metabolome in
234 98 blood samples collected from a cohort study of Brazilian mother-child dyads and the
235 association of these metabolites with growth and child development. We found a positive
236 association of several LPCs, glycine, and taurine with z-score growth trajectories. The
237 maternal metabolome was only associated with fine motor skills, i.e., we found a negative
238 association with leucine, valine, methionine, and tryptophan.

239 Previous studies observed a positive association of cord LPC with birth weight, but
240 not from maternal blood in pregnancy^(31, 32). Although these studies found no significant
241 associations with maternal blood samples, they presented a different metabolome time
242 collection. Voerme et al. (2022) measured the metabolome during early pregnancy, and
243 Labarre et al. (2020) at two moments, including the first trimester (8–14 weeks of pregnancy)

244 and at birth. In contrast, our study measured the metabolome during the third pregnancy
245 trimester, a period characterized as the most accelerated fetal growth⁽³²⁾.

246 Similarly to our findings where the glycine was positively associated with child
247 growth, a retrospective cohort, with blood spot samples collection taken between 12 h and 8
248 days after birth, found higher concentrations of child blood glycine in small for gestational
249 age newborn compared to adequate to gestational age⁽³³⁾. Nonetheless, a Chinese study also
250 has found that the abdominal skinfold thickness presented a negative association with the
251 child blood glycine over the first two years (42 days, 6 months, 1 year (10-14 months), and 2
252 years (22-26 months)⁽³⁴⁾. However, those findings differ from ours in presenting child
253 metabolome analysis, while we observed the maternal blood metabolite.

254 Taurine was positively associated with child weight for length in our study, and the
255 literature shows that this metabolite is related to the nervous system and is abundant in the
256 heart, breast, gallbladder, and kidney⁽³⁵⁾. A case-control study with mothers who had or had
257 not maternal gestational diabetes, enrolled in an antenatal care system in Tianjin, China
258 observed that the pregnancy serum taurine has been positively associated with persistent
259 obesity growth pattern in their offspring⁽³⁶⁾.

260 Interestingly, our findings revealed a negative association of some branched-chain
261 amino acids (BCAA), which include leucine and valine, with fine motor skills. BCAA are
262 known to be important in brain function and are involved in stress, energy, and muscle human
263 metabolism^(37, 38). The breakdown of leucine and valine can generate acetyl-CoA, which is an
264 essential component of the citric acid cycle, indirectly contributing to energy metabolism⁽³⁹⁾.

265 Similar results between BCAA and child development were observed in an ongoing
266 cohort of 626 mother-child dyads from Boston, United States, that started at birth, and the
267 children's development was assessed using a scale provided by electronic medical records.

268 The metabolome samples were analyzed from maternal blood samples and umbilical cord
269 blood samples collected at birth. The results showed that the levels of cord blood BCAA were
270 higher in those diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder than in children with
271 neurotypical development. The third tertile of cord blood leucine, isoleucine, and valine were
272 associated with higher odds of presenting attention deficit hyperactivity disorder⁽³⁷⁾. In
273 contrast with our findings, no statistically significant associations were found between
274 maternal blood BCAA and child development, which may be attributed to differences in the
275 period of the blood samples collection⁽³⁷⁾.

276 Our finds presented a negative association between methionine and fine motor skills,
277 which is an essential amino acid, described as a substance that is required for adequate growth
278 and development, and is presented in the single-carbon metabolism and sulfur-containing
279 amino acids^(35, 39). The methionine, was also related to the child development in a prospective
280 cohort observed the association of child urinary methionine collected at 3, 6, and 12 months,
281 with child development, and found an association of non-typical development with lower
282 methionine when compared to children with typical development⁽⁴⁰⁾.

283 In our study the tryptophan showed a negative association with fine motor skills. This
284 metabolite is presented in the aromatic amino acid metabolism, and was observed as a
285 metabolite that, when increased in cord blood, was related to an elevated risk of attention-
286 deficit hyperactivity disorder diagnosis in their offspring^(39, 41).

287 The metabolome preprocessing technique was considered adequate for epidemiologic
288 studies and presented good reproducibility, reflecting properly the concentration and the
289 measuring of risk⁽¹⁹⁾. The strengths of this study comprise a robust statistical analysis using
290 confounders' definitions based on literature through a DAG, which minimizes the risk of bias.

291 Another positive aspect of this study was the use of longitudinal data, using four points to
292 evaluate the growth and three points of development.

293 The number of studies that assessed the association between metabolome and child
294 growth and development is still scarce. Therefore, developing a discussion that incorporates
295 findings from various study designs may be necessary. To the best of our knowledge, this is
296 the first study to analyze the association between metabolome in the third trimester and child
297 trajectories of growth and development through the first year of age. As a limitation, can be
298 taken to consideration the sample size and the fact that it had just one point of metabolome
299 analysis during pregnancy.

300 In summary, we observed an association of the third trimester maternal blood
301 metabolites classes of amino acids, biogenic amines, LPC, PC, and SM with the growth and
302 development trajectory through the first year. Our findings revealed that the maternal
303 metabolic signature could influence their offspring's outcomes, illustrating the importance of
304 early health care. Thus, more studies with other population, and exploring other moments of
305 pregnancy, could be interesting to achieve a comprehensive understanding of maternal and
306 child health implications.

307 **Acknowledgments**

308 We thank all cohort participants and their children from the public health care center,
309 where the data collection happened. We also thank the financial support provided from CNPq
310 and FAPERJ. The author's contributions were: SSRF, MP and GK study conception and
311 design; ALLF, ACCF, NCFC, LB and GK carried out the research data collection and
312 transfer. MP, LB, and XY: created and managed the original metabolome database; SSRF,
313 MP, ALLF and RMS: assistance in statistical analysis decisions; SSRF: analyzed and
314 performed the statistical data analysis and written the first version of the manuscript; SSRF,

315 MP, ALLF, RMS, ACCF, NCFC, XY, LB and GK: reviewed, edited, critical evaluated, and
316 approved the final manuscript.

References

1. Darling JC, Bamidis PD, Burberry J, Rudolf MCJ. The First Thousand Days: early, integrated and evidence-based approaches to improving child health: coming to a population near you? *Archives of disease in childhood*. 2020;105(9):837-41.
2. Subcomisión DOHaD – SAP “Origen de la Salud y Enfermedad en el Curso de la Vida” – Sociedad Argentina de Pediatría. [Developmental Origins of Health and Disease Concept: The environment in the first 1000 days of life and its association with noncommunicable diseases]. *Archivos argentinos de pediatría*. 2020;118(4):S118-s29.
3. Neumann D, Herbert SE, Peterson ER, Underwood L, Morton SMB, Waldie KE. A longitudinal study of antenatal and perinatal risk factors in early childhood cognition: Evidence from Growing Up in New Zealand. *Early human development*. 2019;132:45-51.
4. Reynolds LP, Borowicz PP, Caton JS, Crouse MS, Dahlen CR, Ward AK. Developmental Programming of Fetal Growth and Development. *The Veterinary clinics of North America Food animal practice*. 2019;35(2):229-47.
5. Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *Journal of internal medicine*. 2007;261(5):412-7.
6. Brasil. Atenção ao Pré-Natal de Baixo Risco Brasília – DF: Ministério da saúde; 2012.
7. World Health Organization. Improving early childhood development: WHO guideline: World Health Organization; 2020.
8. Balasundaram P, Avulakunta ID. Bayley Scales Of Infant and Toddler Development. StatPearls. Treasure Island (FL) with ineligible companies. Disclosure: Indirapriya Darshini Avulakunta declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
9. Figueroa Pedraza D, Menezes TN. [Characterization of anthropometric assessment studies of Brazilian children attending daycare centers]. *Rev Paul Pediatr*. 2016;34(2):216-24.
10. Souza RT, Mayrink J, Leite DF, Costa ML, Calderon IM, Rocha Filho EA, et al. Metabolomics applied to maternal and perinatal health: a review of new frontiers with a translation potential. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*. 2019;74:e894.
11. Yamano LM. Adaptações locais da gravidez. In: Aldrighi JM, Hsu LdPR, Jorge SRPF, editors. *Obstetrícia fundamentos e avanços na propedêutica: Fundamentos e Avanços na Propedêutica, Diagnóstico e Tratamento*. 1 ed ed: Editora Atheneu 2013. p. 400.
12. Vazques ML. Adaptações gravídicas gerais. In: Aldrighi JM, Hsu LdPR, Jorge SRPF, editors. *Obstetrícia fundamentos e avanços na propedêutica: Fundamentos e Avanços na Propedêutica, Diagnóstico e Tratamento*. 1 ed ed: Editora Atheneu 2013. p. 400.
13. Bar N, Korem T, Weissbrod O, Zeevi D, Rothschild D, Leviatan S, et al. A reference map of potential determinants for the human serum metabolome. *Nature*. 2020;588(7836):135-40.
14. Nelson DL, Cox MM. **Fundamentos da bioquímica**. Princípios de bioquímica de Lehninger 7. Porto Alegre: Artmed Editora; 2019. p. 1278.
15. Isganaitis E, Venditti S, Matthews TJ, Lerin C, Demerath EW, Fields DA. Maternal obesity and the human milk metabolome: associations with infant body composition and postnatal weight gain. *The American journal of clinical nutrition*. 2019;110(1):111-20.
16. Moreau GB, Ramakrishnan G, Cook HL, Fox TE, Nayak U, Ma JZ, et al. Childhood growth and neurocognition are associated with distinct sets of metabolites. *EBioMedicine*. 2019;44:597-606.
17. Batalha MA, Ferreira ALL, Freitas-Costa NC, Figueiredo ACC, Carrilho TRB, Shahab-Ferdows S, et al. Factors associated with longitudinal changes in B-vitamin and choline concentrations of human milk. *The American journal of clinical nutrition*. 2021;114(4):1560-73.

18. Ferreira AL, Alves R, Figueiredo A, Alves-Santos N, Freitas-Costa N, Batalha M, et al. Human Milk Oligosaccharide Profile Variation Throughout Postpartum in Healthy Women in a Brazilian Cohort. *Nutrients*. 2020;12(3):790.
19. Yin X, Prendiville O, McNamara AE, Brennan L. Targeted Metabolomic Approach to Assess the Reproducibility of Plasma Metabolites over a Four Month Period in a Free-Living Population. *Journal of proteome research*. 2022;21(3):683-90.
20. World Health Organization. WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: methods and development: World Health Organization; 2006.
21. World Health Organization. WHO child growth standards : head circumference-for-age, arm circumference-for-age, triceps skinfold-for-age and subscapular skinfold-for-age : methods and development. Geneva: World Health Organization; 2007.
22. Squires J, Bricker DD, Twombly E. Ages & stages questionnaires: Paul H. Brookes Baltimore; 2009.
23. Ramos M, BARBA PCSD. Ages and Stages Questionnaires Brazil in monitoring development in early childhood education. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2021;93.
24. Prefeitura da cidade do Rio de Janeiro. Manual de Uso do ASQ-3: guia rápido para aplicação do ASQ-3. RJ: IETS. 2010.
25. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organization technical report series. 1995;854:1-452.
26. Committee on Obstetric Practice American Institute of Ultrasound in Medicine Society for Maternal–Fetal Medicine. Methods for Estimating the Due Date. *Obstet Gynecol*. 2017;129(5):e150-e4.
27. Ministério da Saúde. Caderno de atenção básica - Saúde da criança: Nutrição Infantil, Aleitamento Materno e Alimentação Complementar. Ministério da saúde. 2009;23.
28. Beuchel C, Becker S, Dittrich J, Kirsten H, Toenjes A, Stumvoll M, et al. Clinical and lifestyle related factors influencing whole blood metabolite levels – A comparative analysis of three large cohorts. *Molecular Metabolism*. 2019;29:76-85.
29. Textor J, Hardt J, Knüppel S. DAGitty: a graphical tool for analyzing causal diagrams. *Epidemiology (Cambridge, Mass)*. 2011;22(5):745.
30. Altman DG, Bland JM. Interaction revisited: the difference between two estimates. *BMJ (Clinical research ed)*. 2003;326(7382):219.
31. Voerman E, Jaddoe VWV, Shokry E, Ruijter GJG, Felix JF, Koletzko B, et al. Associations of maternal and infant metabolite profiles with foetal growth and the odds of adverse birth outcomes. *Pediatr Obes*. 2022;17(2):e12844.
32. LaBarre JL, Puttabyatappa M, Song PXX, Goodrich JM, Zhou L, Rajendiran TM, et al. Maternal lipid levels across pregnancy impact the umbilical cord blood lipidome and infant birth weight. *Scientific reports*. 2020;10(1):14209.
33. McCarthy ME, Oltman SP, Rogers EE, Ryckman K, Jelliffe-Pawlowski LL, Danilack VA. The independent and combined influences of small for gestational age and socioeconomic status on newborn metabolite levels. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet*. 2022;35(25):6192-8.
34. Chen Y, Cai C, Tan J, Lei X, Chen Q, Zhang J, et al. High-risk Growth Trajectory Related to Childhood Overweight/Obesity and Its Predictive Model at Birth. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2022;107(10):e4015-e26.

35. Wishart DS, Guo A, Oler E, Wang F, Anjum A, Peters H, et al. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022. *Nucleic acids research*. 2022;50(D1):D622-d31.
36. Li N, Li J, Wang H, Qiao Y, Li W, Gao M, et al. Serum Sulfur-Containing Amino Acids and Risk of Maternal Gestational Diabetes and Adverse Growth Patterns in Offspring. *Nutrients*. 2023;15(18).
37. Anand NS, Ji Y, Wang G, Hong X, van der Rijn M, Riley A, et al. Maternal and cord plasma branched-chain amino acids and child risk of attention-deficit hyperactivity disorder: a prospective birth cohort study. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*. 2021;62(7):868-75.
38. Etzel MR. Manufacture and use of dairy protein fractions. *The Journal of nutrition*. 2004;134(4):996s-1002s.
39. *Pathways of Human Metabolism*. Stanford Medicine. 2023
40. Sotelo-Orozco J, Schmidt RJ, Slupsky CM, Hertz-Picciotto I. Investigating the Urinary Metabolome in the First Year of Life and Its Association with Later Diagnosis of Autism Spectrum Disorder or Non-Typical Neurodevelopment in the MARBLES Study. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(11).
41. Raghavan R, Anand NS, Wang G, Hong X, Pearson C, Zuckerman B, et al. Association between cord blood metabolites in tryptophan pathway and childhood risk of autism spectrum disorder and attention-deficit hyperactivity disorder. *Translational psychiatry*. 2022;12(1):270.
42. Villar J, Giuliani F, Bhutta ZA, Bertino E, Ohuma EO, Ismail LC, et al. Postnatal growth standards for preterm infants: the Preterm Postnatal Follow-up Study of the INTERGROWTH-21(st) Project. *The Lancet Global health*. 2015;3(11):e681-91.

Table 1. Descriptive maternal and child characteristics of the study participants.

Variables	Overall (n=98) Median [IQR] or n (%)
Maternal variables	
Maternal age (years)	27.1 [22.6-31.6]
Self-declared skin color ¹	
White	15 (15)
Brown	55 (57)
Black	22 (23)
Asian	5 (5)
Maternal education (schooling years)	12 [9-12]
Lives with a partner ¹	
Yes	82 (85)
No	15 (15)
Parity	
Primiparous	40 (40.8)
Multiparous	58 (59.2)
Gestational age at birth (weeks) ²	40 [39-41]
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²) ^{3,4}	24.3 [21.7-29.0]
Pre-pregnancy BMI classification (kg/m ²) ^{3,4}	
Underweight (< 18.5)	3 (3.1)
Normal weight (≥ 18.5 to < 25.0)	49 (50.5)
Overweight (≥ 25.0 to < 30.0)	27 (27.8)
Obese (≥ 30.0)	18 (18.6)
Gestational weight gain (kg) ⁵	12 [9-16]
Alcohol intake during pregnancy	
Have not consumed	50 (51)
Consumed in at least one trimester only	40 (41)
Consumed in more than one trimester	8 (8)
Smoking during pregnancy ¹	
Yes	3 (3.1)
No	95 (96.9)
Child's variables	
Sex	
Female	47 (48)
Male	51 (52)
Mode of delivery ⁶	
Cesarean	33 (35)
Vaginal	60 (65)
Birth weight for gestational age categories ^{7,8}	
Adequate for gestational age	73 (78)
Large for gestational age	12 (13)
Small for gestational age	9 (9)

Note: BMI: Body mass index, ¹ 1 missing data. ² 2 missing data. ³ 3 missing data. ⁴ The pre-pregnancy BMI was based on the World Health Organization classification. ⁵ 19 missing data. ⁶ 5 missing data. ⁷ 4 missing data. ⁸ The classification of birth weight for gestational age was based on Intergrowth-21⁽⁴²⁾.

Table 2. Descriptive characteristics of the child’s participants of the study.

Child variables	Time postpartum (days)			
	Birth (n=94)	28-50 (n=86)	180-216 (n=70)	365-404 (n=58)
	Median [IQR] or n (%)			
Age (days)	-	33 [30-36] ¹	189 [184-198] ²	376 [371-384] ³
Breastfeeding status				
Exclusive breastfeeding	-	50 (58)	2 (3)	-
Complementary	-	32 (37)	49 (70)	35 (61) ⁴
No breastfeeding	-	4 (5)	19 (27)	22 (39)
Head circumference (cm)	-	38 [37-39] ⁵	43 [43-44] ²	46 [45-47] ³
Weight (g)	3,260 [3,005- 3,605] ⁶	4,375 [4,003-4,750] ⁵	7,870 [7,400-8,690] ²	9,880 [8,930-10,720] ³
Length (cm)	50 [49- 51]	54 [53-55] ⁵	67 [66-69] ²	76 [74-77] ³
Anthropometric z-scores ⁷				
Weight-for-age	-0.06 [-0.06-0.06]	-0.12 [-0.72-0.51]	0.18 [-0.40-0.86]	0.29 [-0.18-1.02]
Length-for-age	0.40 [-0.47-0.70]	-0.21 [-0.84-0.35] ⁹	-0.03 [-0.70-0.76]	-0.01 [-0.53-0.58]
BMI-for-age	-0.26 [-0.93-0.55]	0.01 [-0.66-0.45] ⁹	0.25 [-0.61-0.92]	0.50 [-0.21-0.91]
Weight-for-length	-0.20 [-0.98-0.41] ⁸	0.05 [-0.64-0.62] ⁹	0.38 [-0.53-1.03]	0.52 [-0.13-0.86]
Head-circumference-for-age	-	0.41 [-0.11-1.12] ⁹	0.27 [-0.28-0.97]	0.57 [-0.26-1.03]
Scores of child developments by domains ¹⁹				
Communication	-	40 [30-50] ⁹	53 [45-55]	55 [50-60] ⁴
Gross motor skills	-	55 [50-60] ⁹	50 [40-60]	60 [50-60] ⁴
Fine motor skills	-	45 [40-50] ⁹	55 [40-60]	60 [50-60] ⁴
Problem-solving	-	40 [25-45] ⁹	60 [50-60]	50 [40-60] ⁴
Personal-social	-	50 [40-55] ⁹	50 [40-55]	45 [40-55] ⁴

Notes: BMI: Body mass index. ¹ missing data. ² n = 67, missing data. ³ n = 55, missing data. ⁴ n = 57, missing data. ⁵ 4 missing data. ⁶ 1 missing data. ⁷ The z-score of anthropometric measurements was calculated according to the child growth standards of the World Health Organization. ⁸ 2 missing data. ⁹ 1 missing data. ¹⁰ The scores of child development were classified according to the Ages and stages of questionnaires 3 (ASQ-3).

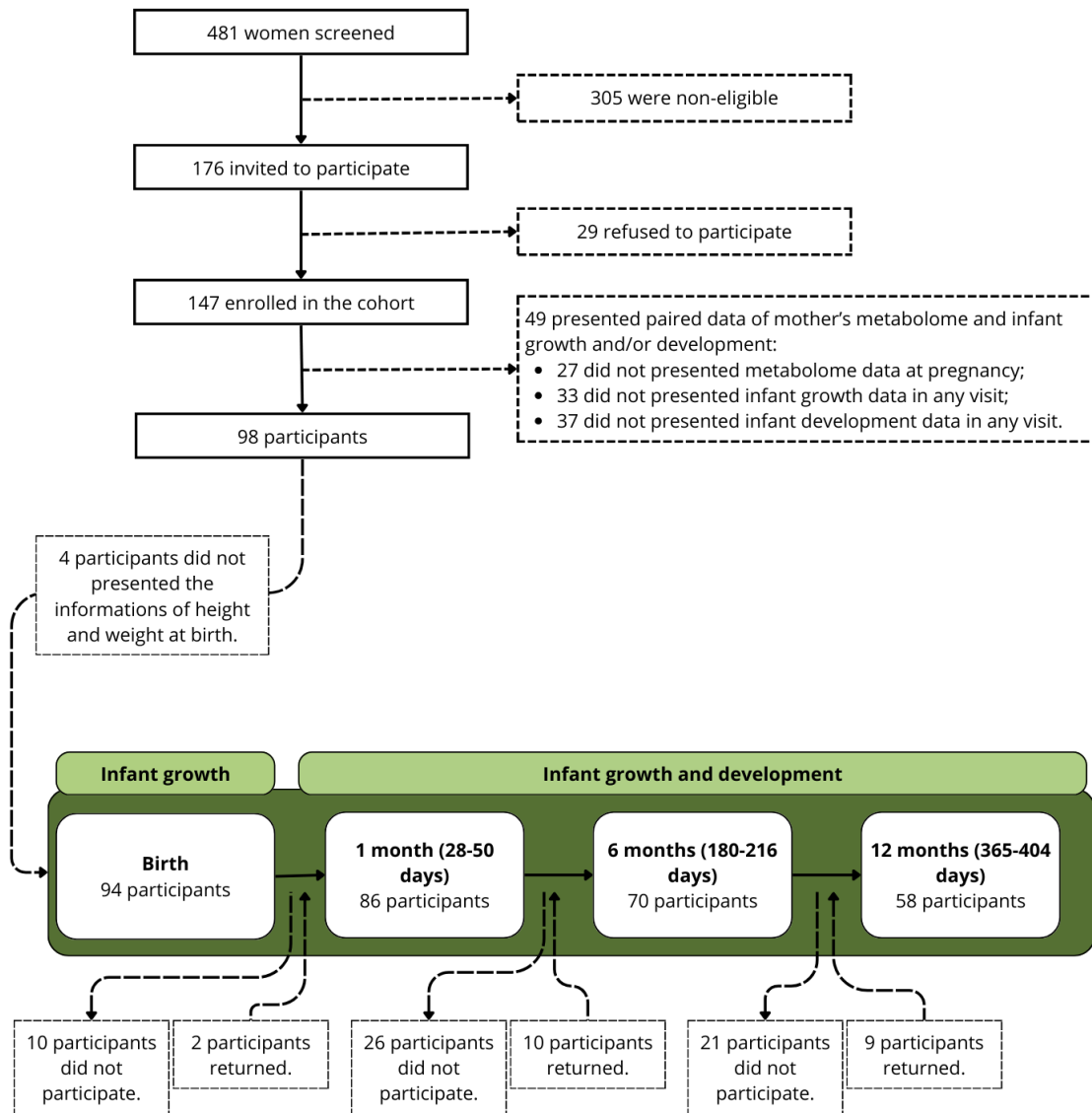


Figure 1. Flowchart of data collection of the studied cohort.

Note: The total of participants with metabolome data at pregnancy and development in at least one visit was 95, and at 12 months was 57.

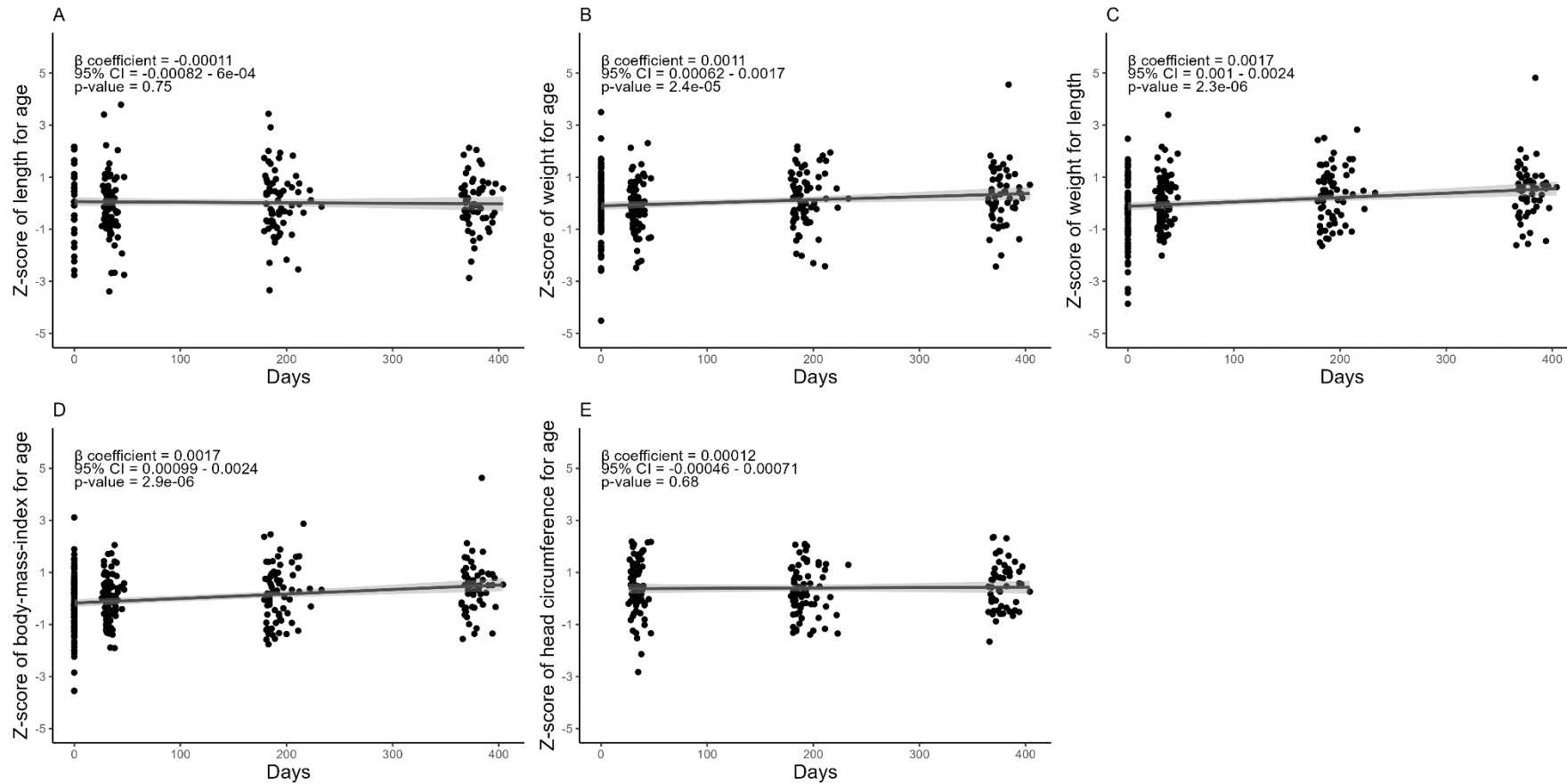


Figure 2. Child growth trajectory throughout the first year after delivery.

Note: The child anthropometric z-score was calculated according to the child growth standards of the World Health Organization (2006). Linear mixed regression models were performed to evaluate the association of child growth trajectory with time. The anthropometric measures were taken at birth (n = 94), 28-50 days (~ 1 month; n = 85), 180-216 days (~ 6 months; n = 70), and 305-404 days (~ 12 months; n = 58) after birth. β coefficients represent the effect estimates by linear mixed models. CI: Confidence interval.

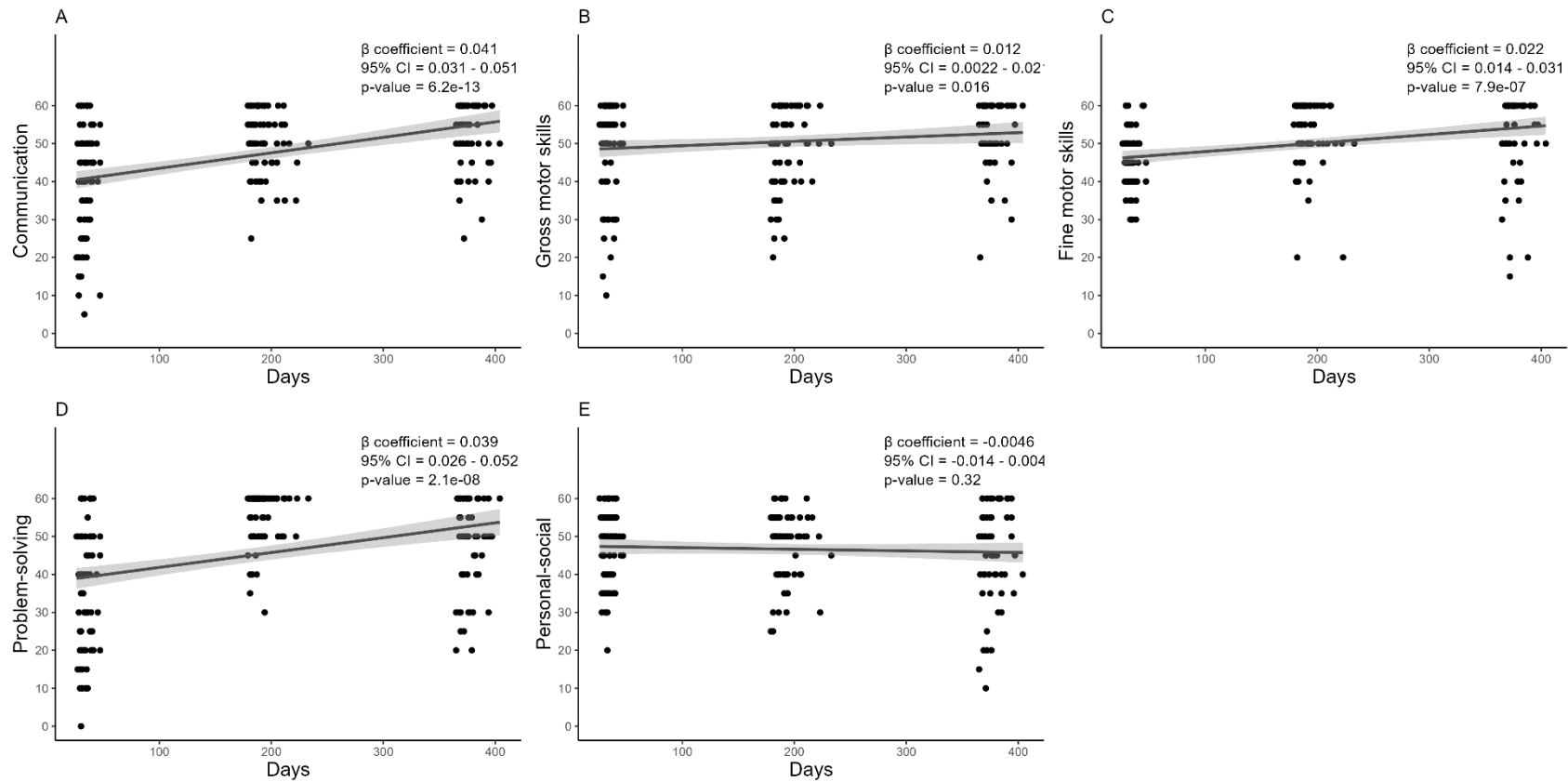


Figure 3. Child development trajectory throughout the first year after delivery, according to the developmental domains.

Note: The child development was estimated by scores of each domain, according to the Ages and Stages questionnaire version 3. Linear mixed regression models were performed to evaluate the association of child developmental trajectory with time. The questionnaire was applied in the following periods: 28-50 days (~ 1 month; n = 85), 180-216 days (~ 6 months; n = 70), and 305-404 days (~ 12 months; n = 57) after birth. β coefficients represent the effect estimates by linear mixed models. CI: Confidence interval.

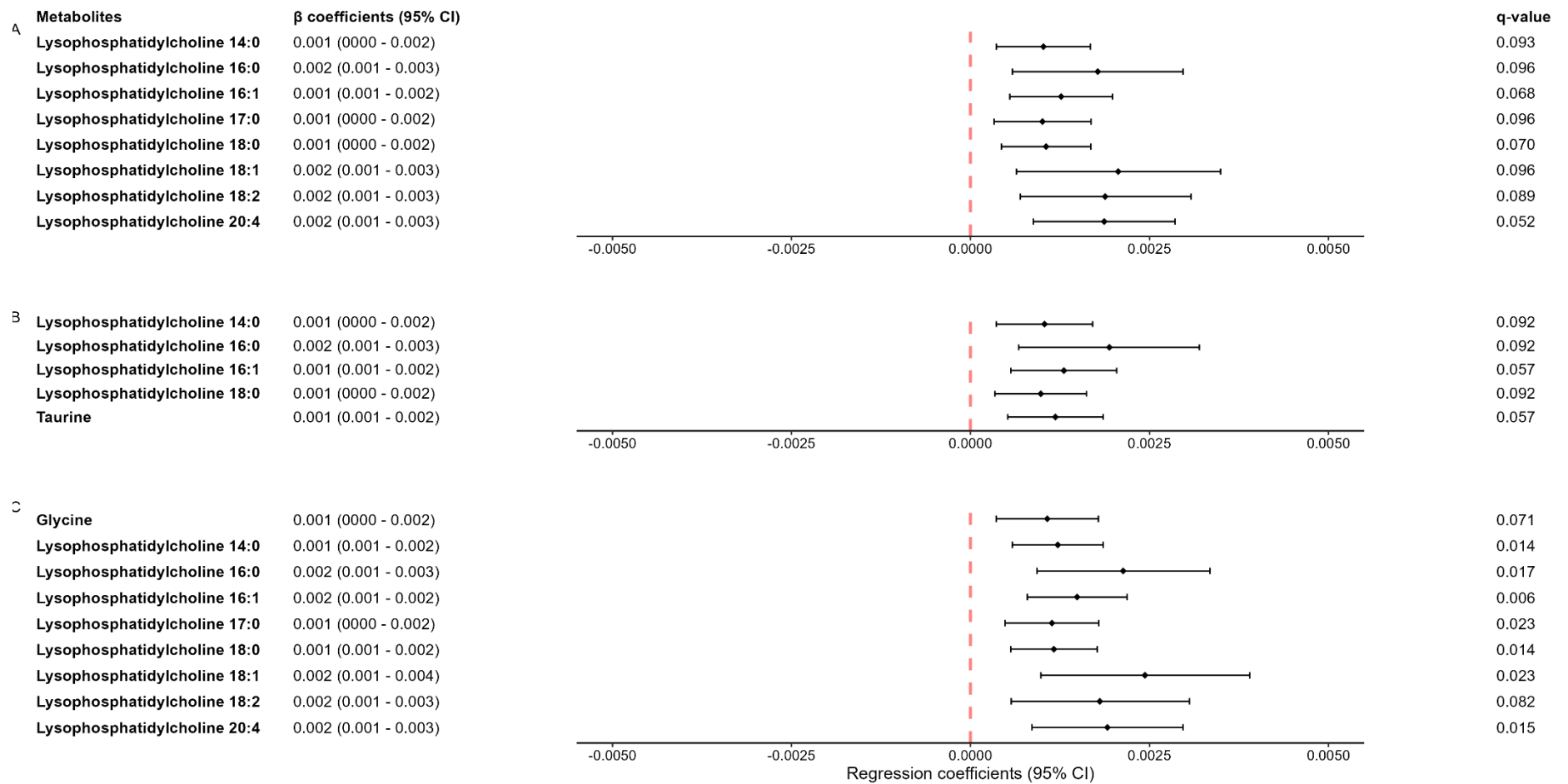


Figure 4. Associations between the maternal serum metabolites and child growth throughout the first year of life.

Notes: Adjusted linear mixed models were built having the following outcomes: weight-for-age z-score (A), weight-for-length z-score (B), and body-mass-index-for-age z-score (C) at birth (n=94), 28-50 days (~ 1 month; n = 85), 180-216 days (~ 6 months; n = 70), and 305-404 days (~ 12 months; n = 58) after birth. The concentration of metabolites was centered in the mean to be represented graphically. Only the metabolites with p-value < 0.05 after Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons (q-value) are shown. All models were adjusted for birth weight, pre-pregnancy body mass index (kg/m²), and gestational age at birth, as the minimal adjustments suggested by

the Directed Acyclic Graphics. The vertical dashed red line represents the absence of associations. The horizontal bars indicate the confidence interval of the regression with 95% confidence, and the bullet in the middle of the bar represents the coefficient. The z-score was calculated according to the child growth standards of the World Health Organization. CI: Confidence interval.

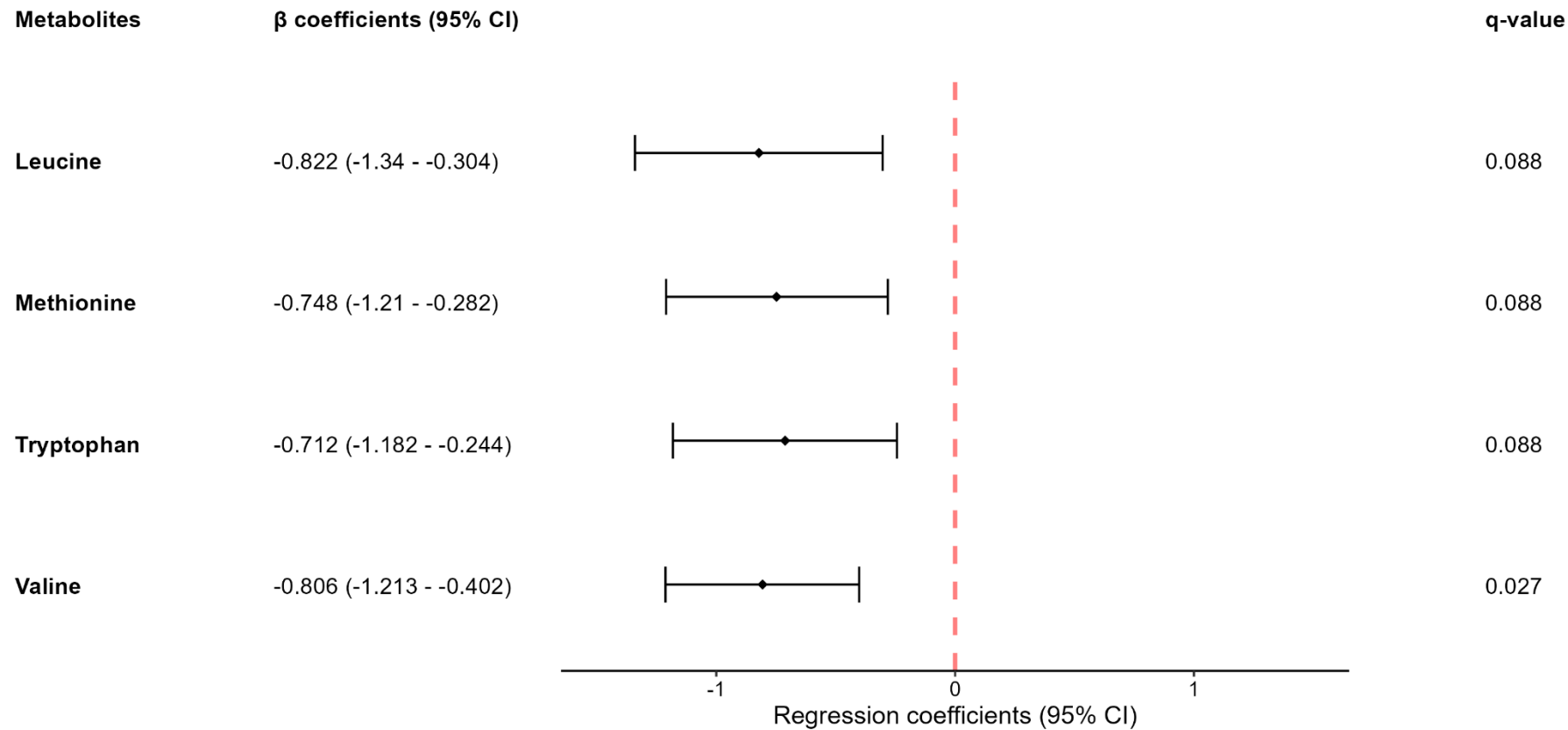


Figure 5. Association between the maternal serum metabolites with the domain of fine motor skills throughout the first year of life.

Notes: Adjusted linear mixed regression models were built having the child development scores as the outcomes evaluated in the period of 28-50 days (~ 1 month; n = 85), 180-216 days (~ 6 months; n = 70), and 305-404 days (~12 months; n = 57) after birth. The concentration of metabolites was centered in the mean to be represented graphically. Only the metabolites with p-value < 0.05 after Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons (q-value) are shown. All models were adjusted for birth weight, pre-pregnancy body mass index (kg/m²), and gestational age at birth, as the minimal adjustments suggested by the Directed Acyclic Graphics. The vertical dashed red

line represents the absence of effects. The horizontal bars indicate the confidence interval of regression with 95% confidence, and the bullet in the middle of the bar represents the coefficient. The domains and scores were accessed and classified according to Ages and Stages questionnaires 3. CI: Confidence interval.

Supplementary Table 1. List of metabolites quantified/ semi quantified by target metabolomic analysis, according to their classification.

Amino acids			
Alanine	Glutamic acid	Lysine	Serine
Arginine	Glycine	Methionine	Threonine
Asparagine	Histidine	Ornithine	Tryptophan
Aspartic acid	Isoleucine	Phenylalanine	Tyrosine
Citrulline	Leucine	Proline	Valine
Glutamine			
Acylcarnitines			
Acetylcarnitine	Free carnitine		
Biogenic amines/ amino acid-related compounds			
ADMA (asymmetric dimethylarginine)	Kynurenine	SDMA (symmetric dimethylarginine)	t4OHPro (trans-4-hydroxyproline)
Creatinine	Sarcosine	Serotonin	Taurine
Lysophosphatidylcholines (LPC)			
LPC 14:0	LPC 17:0	LPC 18:2	LPC 26:0
LPC 16:0	LPC 18:0	LPC 20:3	LPC 28:1
LPC 16:1	LPC 18:1	LPC 20:4	
Diacyl phosphatidylcholines (PC)			
PC 24:0	PC 34:2	PC 36:6	PC 40:4
PC 28:1	PC 34:3	PC 38:0	PC 40:5
PC 30:0	PC 34:4	PC 38:1	PC 40:6
PC 30:2	PC 36:0	PC 38:3	PC 42:0
PC 32:0	PC 36:1	PC 38:4	PC 42:1
PC 32:1	PC 36:2	PC 38:5	PC 42:2
PC 32:2	PC 36:3	PC 38:6	PC 42:4
PC 32:3	PC 36:4	PC 40:2	PC 42:5
PC 34:1	PC 36:5	PC 40:3	PC 42:6
Alkyl: acyl phosphatidylcholines (PC-O)			
PC-O 30:0	PC-O 36:1	PC-O 38:5	PC-O 42:2
PC-O 30:1	PC-O 36:2	PC-O 38:6	PC-O 42:3
PC-O 30:2	PC-O 36:3	PC-O 40:1	PC-O 42:4
PC-O 32:1	PC-O 36:4	PC-O 40:2	PC-O 42:5
PC-O 32:2	PC-O 36:5	PC-O 40:3	PC-O 44:3
PC-O 34:0	PC-O 38:0	PC-O 40:4	PC-O 44:4
PC-O 34:1	PC-O 38:1	PC-O 40:5	PC-O 44:5
PC-O 34:2	PC-O 38:2	PC-O 40:6	PC-O 44:6
PC-O 34:3	PC-O 38:3	PC-O 42:0	
PC-O 36:0	PC-O 38:4	PC-O 42:1	
Hydroxylated sphingomyelins [SM (OH)]			
SM (OH) 14:1	SM (OH) 22:1	SM (OH) 22:2	SM (OH) 24:1
SM (OH) 16:1			
Non-hydroxylated sphingomyelins (SM)			
SM 16:0	SM 18:1	SM 24:0	SM 26:1
SM 16:1	SM 20:2	SM 24:1	
SM 18:0	SM 22:3	SM 26:0	
Hexoses			
sum of Hexoses			

Supplementary Table 1. Parameters from linear mixed regression models of maternal serum metabolites and the child growth trajectories throughout the first year of life.

Metabolites	Length for age			Weight for age			Weight for length			BMI for age			Head circumference for age		
	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value
Acetylcarnitine	-0.001	0.285	0.817	<0.0001	0.285	0.992	<0.0001	0.285	0.965	0.001	0.285	0.656	-0.001	0.285	0.970
Carnitine	<0.0001	0.586	0.825	<0.0001	0.586	0.992	<0.0001	0.586	0.988	<0.0001	0.586	0.857	<0.0001	0.586	0.970
Alanine	<0.0001	0.793	0.910	<0.0001	0.793	0.746	<0.0001	0.793	0.206	<0.0001	0.793	0.432	<0.0001	0.793	0.970
Arginine	<0.0001	0.312	0.817	<0.0001	0.312	0.992	<0.0001	0.312	0.883	<0.0001	0.312	0.948	<0.0001	0.312	0.970
Asparagine	<0.0001	0.357	0.821	<0.0001	0.357	0.925	<0.0001	0.357	0.965	<0.0001	0.357	0.819	<0.0001	0.357	0.970
Aspartate	<0.0001	0.584	0.825	<0.0001	0.584	0.992	<0.0001	0.584	0.443	<0.0001	0.584	0.443	<0.0001	0.584	0.970
Citrulline	<0.0001	0.226	0.817	<0.0001	0.226	0.686	<0.0001	0.226	0.965	<0.0001	0.226	0.700	<0.0001	0.226	0.970
Glutamate	<0.0001	0.930	0.983	<0.0001	0.930	0.992	<0.0001	0.930	0.544	<0.0001	0.930	0.560	<0.0001	0.930	0.970
Glutamine	<0.0001	0.580	0.825	<0.0001	0.580	0.992	<0.0001	0.580	0.824	<0.0001	0.580	0.969	<0.0001	0.580	0.970
Glycine	<0.0001	0.915	0.983	<0.0001	0.915	0.616	<0.0001	0.915	0.355	<0.0001	0.915	0.071	<0.0001	0.915	0.970
Histidine	<0.0001	0.969	0.992	<0.0001	0.969	0.992	<0.0001	0.969	0.965	<0.0001	0.969	0.886	<0.0001	0.969	0.970
Isoleucine	<0.0001	0.416	0.821	<0.0001	0.416	0.992	<0.0001	0.416	0.589	<0.0001	0.416	0.560	<0.0001	0.416	0.970
Kynurenine	0.001	0.538	0.825	-0.001	0.538	0.992	-0.001	0.538	0.601	-0.001	0.538	0.723	<0.0001	0.538	0.970
Leucine	<0.0001	0.571	0.825	<0.0001	0.571	0.992	<0.0001	0.571	0.932	<0.0001	0.571	0.948	<0.0001	0.571	0.970
Lysine	<0.0001	0.994	0.994	<0.0001	0.994	0.821	<0.0001	0.994	0.544	<0.0001	0.994	0.498	<0.0001	0.994	0.980
Methionine	<0.0001	0.569	0.825	<0.0001	0.569	0.992	<0.0001	0.569	0.952	<0.0001	0.569	0.886	<0.0001	0.569	0.970
Ornithine	<0.0001	0.183	0.817	<0.0001	0.183	0.992	<0.0001	0.183	0.438	<0.0001	0.183	0.369	<0.0001	0.183	0.970
Phenylalanine	<0.0001	0.777	0.906	<0.0001	0.777	0.920	<0.0001	0.777	0.965	<0.0001	0.777	0.724	<0.0001	0.777	0.970
Proline	<0.0001	0.529	0.825	<0.0001	0.529	0.992	<0.0001	0.529	0.675	<0.0001	0.529	0.737	<0.0001	0.529	0.970
Serine	<0.0001	0.579	0.825	<0.0001	0.579	0.992	<0.0001	0.579	0.932	<0.0001	0.579	0.560	<0.0001	0.579	0.970
Serotonine	0.002	0.063	0.817	0.003	0.063	0.239	0.002	0.063	0.721	0.003	0.063	0.341	0.001	0.063	0.970
Threonine	<0.0001	0.101	0.817	<0.0001	0.101	0.686	<0.0001	0.101	0.965	<0.0001	0.101	0.700	<0.0001	0.101	0.571
Tryptophan	<0.0001	0.764	0.901	<0.0001	0.764	0.992	<0.0001	0.764	0.894	<0.0001	0.764	0.969	<0.0001	0.764	0.970
Tyrosine	<0.0001	0.896	0.977	<0.0001	0.896	0.992	<0.0001	0.896	0.965	<0.0001	0.896	0.896	<0.0001	0.896	0.970
Valine	<0.0001	0.655	0.825	<0.0001	0.655	0.992	<0.0001	0.655	0.985	<0.0001	0.655	0.891	<0.0001	0.655	0.970
Assymmetric dimethylarginine	-0.004	0.450	0.825	0.001	0.450	0.992	0.009	0.450	0.552	0.005	0.450	0.737	0.002	0.450	0.970
Creatinine	<0.0001	0.938	0.983	<0.0001	0.938	0.992	<0.0001	0.938	0.824	<0.0001	0.938	0.996	<0.0001	0.938	0.970
Sarcosine	0.006	0.026	0.817	0.003	0.026	0.961	-0.001	0.026	0.958	0.001	0.026	0.948	0.001	0.026	0.970
Serotonine	0.002	0.063	0.817	0.003	0.063	0.239	0.002	0.063	0.721	0.003	0.063	0.341	0.001	0.063	0.970

Metabolites	Length for age			Weigth for age			Weigth for length			BMI for age			Head circumference for age		
	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value
Symmetric dimethylarginine	-0.002	0.663	0.825	-0.004	0.663	0.992	-0.005	0.663	0.824	-0.003	0.663	0.857	-0.007	0.663	0.970
Taurine	<0.0001	0.716	0.851	<0.0001	0.716	0.686	<0.0001	0.716	0.057	<0.0001	0.716	0.107	<0.0001	0.716	0.970
Trans-Hydroxyproline	<0.0001	0.417	0.821	<0.0001	0.417	0.921	<0.0001	0.417	0.721	<0.0001	0.417	0.737	<0.0001	0.417	0.970
LPC 140	<0.0001	0.217	0.817	<0.0001	0.217	0.093	<0.0001	0.217	0.092	<0.0001	0.217	0.014	<0.0001	0.217	0.970
LPC 160	<0.0001	0.573	0.825	<0.0001	0.573	0.096	<0.0001	0.573	0.092	<0.0001	0.573	0.017	<0.0001	0.573	0.970
LPC 161	0.001	0.222	0.817	0.001	0.222	0.068	0.001	0.222	0.057	0.002	0.222	0.006	0.001	0.222	0.970
LPC 170	<0.0001	0.255	0.817	0.001	0.255	0.096	0.001	0.255	0.206	0.001	0.255	0.023	<0.0001	0.255	0.970
LPC 180	<0.0001	0.178	0.817	<0.0001	0.178	0.070	<0.0001	0.178	0.092	<0.0001	0.178	0.014	<0.0001	0.178	0.970
LPC 181	<0.0001	0.614	0.825	0.001	0.614	0.096	0.001	0.614	0.239	0.001	0.614	0.023	<0.0001	0.614	0.970
LPC 182	<0.0001	0.219	0.817	<0.0001	0.219	0.089	<0.0001	0.219	0.544	<0.0001	0.219	0.082	<0.0001	0.219	0.970
LPC 203	0.002	0.177	0.817	0.003	0.177	0.189	0.003	0.177	0.443	0.003	0.177	0.250	0.002	0.177	0.970
LPC 204	0.001	0.100	0.817	0.002	0.100	0.052	0.001	0.100	0.127	0.002	0.100	0.015	<0.0001	0.100	0.970
LPC 260	0.005	0.052	0.817	0.005	0.052	0.358	0.003	0.052	0.657	0.004	0.052	0.369	0.003	0.052	0.970
LPC 281	-0.006	0.369	0.821	0.004	0.369	0.992	0.005	0.369	0.824	0.008	0.369	0.560	0.002	0.369	0.970
PC 240	-0.007	0.580	0.825	0.011	0.580	0.992	0.013	0.580	0.721	0.018	0.580	0.537	-0.004	0.580	0.970
PC 281	-0.001	0.083	0.817	-0.001	0.083	0.992	<0.0001	0.083	1.000	<0.0001	0.083	0.948	0.001	0.083	0.970
PC 300	<0.0001	0.398	0.821	<0.0001	0.398	0.992	0.001	0.398	0.443	<0.0001	0.398	0.556	<0.0001	0.398	0.970
PC 302	0.008	0.117	0.817	0.007	0.117	0.920	0.001	0.117	0.965	0.004	0.117	0.737	0.011	0.117	0.970
PC 320	<0.0001	0.220	0.817	<0.0001	0.220	0.992	<0.0001	0.220	0.443	<0.0001	0.220	0.477	<0.0001	0.220	0.970
PC 321	<0.0001	0.657	0.825	<0.0001	0.657	0.992	<0.0001	0.657	0.544	<0.0001	0.657	0.560	<0.0001	0.657	0.970
PC 322	<0.0001	0.236	0.817	<0.0001	0.236	0.992	<0.0001	0.236	0.965	<0.0001	0.236	0.996	<0.0001	0.236	0.970
PC 323	-0.003	0.317	0.817	-0.001	0.317	0.992	<0.0001	0.317	0.988	<0.0001	0.317	0.948	-0.002	0.317	0.970
PC 341	<0.0001	0.380	0.821	<0.0001	0.380	0.992	<0.0001	0.380	0.721	<0.0001	0.380	0.560	<0.0001	0.380	0.970
PC 342	<0.0001	0.050	0.817	<0.0001	0.050	0.992	<0.0001	0.050	0.965	<0.0001	0.050	0.993	<0.0001	0.050	0.970
PC 343	<0.0001	0.210	0.817	<0.0001	0.210	0.992	<0.0001	0.210	0.988	<0.0001	0.210	0.948	<0.0001	0.210	0.970
PC 344	<0.0001	0.526	0.825	<0.0001	0.526	0.992	<0.0001	0.526	0.932	<0.0001	0.526	0.948	<0.0001	0.526	0.970
PC 360	<0.0001	0.829	0.928	<0.0001	0.829	0.992	<0.0001	0.829	0.965	<0.0001	0.829	0.948	<0.0001	0.829	0.970
PC 361	<0.0001	0.954	0.991	<0.0001	0.954	0.686	<0.0001	0.954	0.355	<0.0001	0.954	0.123	<0.0001	0.954	0.970
PC 362	<0.0001	0.267	0.817	<0.0001	0.267	0.992	<0.0001	0.267	0.721	<0.0001	0.267	0.537	<0.0001	0.267	0.970
PC 363	<0.0001	0.192	0.817	<0.0001	0.192	0.992	<0.0001	0.192	0.965	<0.0001	0.192	0.886	<0.0001	0.192	0.980
PC 364	<0.0001	0.262	0.817	<0.0001	0.262	0.992	<0.0001	0.262	0.824	<0.0001	0.262	0.737	<0.0001	0.262	0.970

Metabolites	Length for age			Weigth for age			Weigth for length			BMI for age			Head circumference for age		
	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value
PC 365	<0.0001	0.884	0.973	<0.0001	0.884	0.992	<0.0001	0.884	0.721	<0.0001	0.884	0.814	<0.0001	0.884	0.970
PC 366	-0.001	0.443	0.825	<0.0001	0.443	0.992	0.001	0.443	0.932	<0.0001	0.443	0.948	<0.0001	0.443	0.970
PC 380	-0.001	0.152	0.817	<0.0001	0.152	0.992	<0.0001	0.152	0.965	<0.0001	0.152	0.987	<0.0001	0.152	0.970
PC 381	0.001	0.537	0.825	0.001	0.537	0.992	-0.001	0.537	0.932	<0.0001	0.537	0.948	<0.0001	0.537	0.970
PC 383	<0.0001	0.918	0.983	<0.0001	0.918	0.992	<0.0001	0.918	0.824	<0.0001	0.918	0.833	<0.0001	0.918	0.980
PC 384	<0.0001	0.667	0.825	<0.0001	0.667	0.730	<0.0001	0.667	0.544	<0.0001	0.667	0.481	<0.0001	0.667	0.970
PC 385	<0.0001	0.644	0.825	<0.0001	0.644	0.992	<0.0001	0.644	0.721	<0.0001	0.644	0.560	<0.0001	0.644	0.970
PC 386	<0.0001	0.146	0.817	<0.0001	0.146	0.992	<0.0001	0.146	0.778	<0.0001	0.146	0.842	<0.0001	0.146	0.970
PC 402	-0.005	0.565	0.825	0.011	0.565	0.920	0.01	0.565	0.721	0.017	0.565	0.369	0.003	0.565	0.970
PC 403	-0.002	0.699	0.851	0.009	0.699	0.746	0.01	0.699	0.544	0.012	0.699	0.341	0.003	0.699	0.970
PC 404	<0.0001	0.495	0.825	0.001	0.495	0.730	0.001	0.495	0.675	0.001	0.495	0.369	<0.0001	0.495	0.970
PC 405	<0.0001	0.783	0.906	<0.0001	0.783	0.752	<0.0001	0.783	0.534	<0.0001	0.783	0.369	<0.0001	0.783	0.970
PC 406	<0.0001	0.667	0.825	<0.0001	0.667	0.992	<0.0001	0.667	0.534	<0.0001	0.667	0.537	<0.0001	0.667	0.970
PC 420	-0.001	0.545	0.825	<0.0001	0.545	0.992	0.001	0.545	0.965	0.001	0.545	0.857	<0.0001	0.545	0.970
PC 421	-0.005	0.377	0.821	<0.0001	0.377	0.992	0.004	0.377	0.925	0.004	0.377	0.832	-0.001	0.377	0.970
PC 422	-0.011	0.293	0.817	<0.0001	0.293	0.997	0.007	0.293	0.932	0.007	0.293	0.774	0.004	0.293	0.970
PC 424	-0.011	0.172	0.817	0.005	0.172	0.992	0.012	0.172	0.605	0.015	0.172	0.369	-0.004	0.172	0.970
PC 425	-0.002	0.636	0.825	0.003	0.636	0.992	0.006	0.636	0.552	0.006	0.636	0.503	0.003	0.636	0.970
PC 426	<0.0001	0.977	0.992	0.003	0.977	0.961	0.003	0.977	0.721	0.004	0.977	0.498	0.002	0.977	0.970
PC-O 300	-0.006	0.239	0.817	-0.003	0.239	0.992	0.001	0.239	0.965	0.001	0.239	0.948	0.003	0.239	0.970
PC-O 301	-0.014	0.112	0.817	-0.002	0.112	0.992	0.011	0.112	0.721	0.011	0.112	0.560	0.009	0.112	0.970
PC-O 302	-0.056	0.020	0.817	-0.015	0.020	0.992	0.012	0.020	0.954	0.019	0.020	0.757	0.008	0.020	0.970
PC-O 321	-0.001	0.553	0.825	0.001	0.553	0.920	0.002	0.553	0.490	0.002	0.553	0.285	<0.0001	0.553	0.970
PC-O 322	-0.006	0.331	0.817	-0.005	0.331	0.921	-0.005	0.331	0.786	-0.002	0.331	0.857	-0.005	0.331	0.970
PC-O 340	-0.001	0.324	0.817	-0.001	0.324	0.992	<0.0001	0.324	0.988	<0.0001	0.324	0.948	<0.0001	0.324	0.970
PC-O 341	<0.0001	0.277	0.817	<0.0001	0.277	0.997	<0.0001	0.277	0.965	<0.0001	0.277	0.737	<0.0001	0.277	0.970
PC-O 342	<0.0001	0.140	0.817	<0.0001	0.140	0.992	<0.0001	0.140	1.000	<0.0001	0.140	0.737	<0.0001	0.140	0.980
PC-O 343	<0.0001	0.566	0.825	<0.0001	0.566	0.992	<0.0001	0.566	0.932	<0.0001	0.566	0.720	<0.0001	0.566	0.970
PC-O 360	-0.001	0.708	0.851	0.006	0.708	0.730	0.006	0.708	0.534	0.009	0.708	0.119	0.002	0.708	0.970
PC-O 361	<0.0001	0.266	0.817	<0.0001	0.266	0.997	<0.0001	0.266	0.988	<0.0001	0.266	0.857	<0.0001	0.266	0.970
PC-O 362	<0.0001	0.102	0.817	<0.0001	0.102	0.992	<0.0001	0.102	0.640	<0.0001	0.102	0.857	<0.0001	0.102	0.970

Metabolites	Length for age			Weigth for age			Weigth for length			BMI for age			Head circumference for age		
	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value
PC-O 363	<0.0001	0.546	0.825	<0.0001	0.546	0.992	<0.0001	0.546	0.965	<0.0001	0.546	0.774	<0.0001	0.546	0.970
PC-O 364	<0.0001	0.549	0.825	<0.0001	0.549	0.992	<0.0001	0.549	0.965	<0.0001	0.549	0.679	<0.0001	0.549	0.970
PC-O 365	<0.0001	0.972	0.992	<0.0001	0.972	0.920	<0.0001	0.972	0.675	<0.0001	0.972	0.560	<0.0001	0.972	0.970
PC-O 380	-0.001	0.105	0.817	-0.001	0.105	0.992	<0.0001	0.105	0.988	<0.0001	0.105	0.948	-0.001	0.105	0.970
PC-O 381	0.005	0.098	0.817	0.002	0.098	0.992	-0.004	0.098	0.674	-0.001	0.098	0.948	-0.002	0.098	0.970
PC-O 382	-0.001	0.658	0.825	<0.0001	0.658	0.992	-0.001	0.658	0.932	0.001	0.658	0.886	<0.0001	0.658	0.970
PC-O 383	<0.0001	0.502	0.825	<0.0001	0.502	0.992	-0.001	0.502	0.721	-0.001	0.502	0.723	<0.0001	0.502	0.970
PC-O 384	<0.0001	0.347	0.818	<0.0001	0.347	0.992	<0.0001	0.347	0.878	<0.0001	0.347	0.996	<0.0001	0.347	0.970
PC-O 385	<0.0001	0.370	0.821	<0.0001	0.370	0.992	<0.0001	0.370	0.965	<0.0001	0.370	0.560	<0.0001	0.370	0.970
PC-O 386	<0.0001	0.399	0.821	<0.0001	0.399	0.992	<0.0001	0.399	0.900	<0.0001	0.399	0.737	<0.0001	0.399	0.970
PC-O 401	-0.001	0.492	0.825	<0.0001	0.492	0.992	<0.0001	0.492	0.965	0.001	0.492	0.948	<0.0001	0.492	0.970
PC-O 402	-0.001	0.341	0.817	<0.0001	0.341	0.992	0.001	0.341	0.954	0.001	0.341	0.857	0.001	0.341	0.970
PC-O 403	-0.001	0.621	0.825	0.001	0.621	0.992	-0.001	0.621	0.965	<0.0001	0.621	0.948	-0.001	0.621	0.970
PC-O 404	-0.001	0.435	0.825	<0.0001	0.435	0.992	<0.0001	0.435	0.965	0.001	0.435	0.737	<0.0001	0.435	0.970
PC-O 405	-0.001	0.308	0.817	<0.0001	0.308	0.992	<0.0001	0.308	0.932	<0.0001	0.308	0.948	<0.0001	0.308	0.970
PC-O 406	-0.001	0.222	0.817	<0.0001	0.222	0.992	<0.0001	0.222	0.988	<0.0001	0.222	0.948	<0.0001	0.222	0.970
PC-O 420	-0.004	0.221	0.817	0.001	0.221	0.992	0.003	0.221	0.721	0.004	0.221	0.560	0.002	0.221	0.970
PC-O 421	-0.005	0.387	0.821	0.001	0.387	0.992	0.004	0.387	0.932	0.006	0.387	0.720	<0.0001	0.387	0.980
PC-O 422	-0.002	0.668	0.825	0.002	0.668	0.992	0.003	0.668	0.894	0.003	0.668	0.757	0.001	0.668	0.970
PC-O 423	-0.003	0.283	0.817	<0.0001	0.283	0.997	<0.0001	0.283	0.988	0.001	0.283	0.886	0.001	0.283	0.970
PC-O 424	-0.001	0.715	0.851	0.001	0.715	0.992	0.001	0.715	0.965	0.002	0.715	0.720	0.001	0.715	0.970
PC-O 425	-0.001	0.607	0.825	0.001	0.607	0.992	<0.0001	0.607	0.965	0.001	0.607	0.720	<0.0001	0.607	0.980
PC-O 443	-0.015	0.499	0.825	0.012	0.499	0.992	0.013	0.499	0.932	0.026	0.499	0.607	0.006	0.499	0.970
PC-O 444	-0.001	0.826	0.928	0.001	0.826	0.992	0.001	0.826	0.965	0.002	0.826	0.857	-0.001	0.826	0.970
PC-O 445	-0.001	0.575	0.825	<0.0001	0.575	0.992	<0.0001	0.575	0.958	0.001	0.575	0.737	<0.0001	0.575	0.980
PC-O 446	<0.0001	0.875	0.970	0.001	0.875	0.920	0.002	0.875	0.544	0.002	0.875	0.341	0.001	0.875	0.970
SM 160	<0.0001	0.628	0.825	<0.0001	0.628	0.746	<0.0001	0.628	0.721	<0.0001	0.628	0.285	<0.0001	0.628	0.970
SM 161	<0.0001	0.244	0.817	<0.0001	0.244	0.992	<0.0001	0.244	0.824	<0.0001	0.244	0.530	<0.0001	0.244	0.970
SM 180	<0.0001	0.127	0.817	<0.0001	0.127	0.992	<0.0001	0.127	0.721	<0.0001	0.127	0.560	<0.0001	0.127	0.970
SM 181	<0.0001	0.058	0.817	<0.0001	0.058	0.992	<0.0001	0.058	0.965	<0.0001	0.058	0.842	<0.0001	0.058	0.970
SM 202	-0.006	0.009	0.817	-0.003	0.009	0.819	-0.002	0.009	0.894	<0.0001	0.009	0.948	-0.001	0.009	0.970

Metabolites	Length for age			Weigth for age			Weigth for length			BMI for age			Head circumference for age		
	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value	β	p-value	q-value
SM 223	-0.003	0.306	0.817	<0.0001	0.306	0.997	-0.001	0.306	0.932	0.001	0.306	0.948	-0.001	0.306	0.970
SM 240	<0.0001	0.993	0.994	<0.0001	0.993	0.484	<0.0001	0.993	0.355	<0.0001	0.993	0.119	<0.0001	0.993	0.970
SM 241	<0.0001	0.411	0.821	<0.0001	0.411	0.992	<0.0001	0.411	0.734	<0.0001	0.411	0.560	<0.0001	0.411	0.980
SM 260	-0.002	0.931	0.983	0.007	0.931	0.992	0.007	0.931	0.965	0.01	0.931	0.857	0.009	0.931	0.970
SM 261	-0.011	0.154	0.817	0.003	0.154	0.992	0.007	0.154	0.824	0.011	0.154	0.537	0.001	0.154	0.970
SM(OH) 141	<0.0001	0.291	0.817	<0.0001	0.291	0.992	<0.0001	0.291	1.000	<0.0001	0.291	0.737	<0.0001	0.291	0.970
SM(OH) 161	-0.001	0.136	0.817	<0.0001	0.136	0.992	<0.0001	0.136	1.000	<0.0001	0.136	0.774	<0.0001	0.136	0.970
SM(OH) 221	<0.0001	0.615	0.825	<0.0001	0.615	0.819	<0.0001	0.615	0.438	<0.0001	0.615	0.250	<0.0001	0.615	0.970
SM(OH) 222	<0.0001	0.227	0.817	<0.0001	0.227	0.992	<0.0001	0.227	0.952	<0.0001	0.227	0.723	<0.0001	0.227	0.970
SM(OH) 241	<0.0001	0.804	0.915	0.002	0.804	0.819	0.002	0.804	0.721	0.002	0.804	0.439	0.001	0.804	0.970
Hexoses	<0.0001	0.335	0.817	<0.0001	0.335	0.997	<0.0001	0.335	0.544	<0.0001	0.335	0.537	<0.0001	0.335	0.970

Notes: The anthropometric indices were measured in the following periods: birth (n = 94), 28-50 days (~ 1 month; n = 85), 180-216 days (~ 6 months; n = 70), and 305-404 days (~ 12 months; n = 58) after birth. Q-value: p-value after the Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons. β : Linear mixed regression coefficient. LPC: Lysophosphatidylcholine; PC: Diacyl phosphatidylcholine; PC-O: Acyl-alkyl- phosphatidylcholine; SM: non-hydroxylated sphingomyelins; SM(OH): hydroxylated sphingomyelins. All models were adjusted for birth weight, pre-pregnancy body mass index (kg/m²), and gestational age at birth, as the minimal adjustments suggested by the Directed Acyclic Graphics. Values marked in bold represent the values considered statistically significant. The z-score was calculated according to the child growth standards of the World Health Organization (2006).

Supplementary Table 2. Parameters from linear mixed regression models of maternal serum metabolites with the child development trajectories throughout the first year of life.

Metabolites	Communication			Gross motor skill			Fine motor skill			Problem-solving			Personal-social		
	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value
Acetylcarnitine	-0.068	0.845	0.940	0.525	0.845	0.979	0.088	0.845	0.984	-0.146	0.845	0.733	0.222	0.845	0.799
Carnitine	-0.024	0.778	0.940	0.023	0.778	0.979	0.028	0.778	0.984	0.016	0.778	0.933	0.063	0.778	0.791
Alanine	-0.002	0.646	0.888	0.001	0.646	0.979	-0.005	0.646	0.800	-0.001	0.646	0.873	-0.004	0.646	0.714
Arginine	-0.002	0.816	0.940	0.004	0.816	0.979	-0.009	0.816	0.800	0.003	0.816	0.716	0.003	0.816	0.884
Asparagine	-0.005	0.838	0.940	1	0.838	0.994	-0.047	0.838	0.689	0.004	0.838	0.948	0.023	0.838	0.762
Aspartate	0.003	0.876	0.940	0.022	0.876	0.979	-0.011	0.876	0.984	0.002	0.876	0.965	-0.026	0.876	0.714
Citrulline	-0.067	0.293	0.888	0.055	0.293	0.979	-0.079	0.293	0.800	0.015	0.293	0.889	0.067	0.293	0.729
Glutamate	0.004	0.662	0.888	0.002	0.662	0.979	-0.008	0.662	0.893	0.002	0.662	0.889	-0.012	0.662	0.714
Glutamine	1	0.922	0.944	0.002	0.922	0.979	-0.002	0.922	0.952	1	0.922	0.948	0.004	0.922	0.714
Glycine	-0.004	0.414	0.888	0.006	0.414	0.979	0.001	0.414	0.984	-0.004	0.414	0.578	-0.002	0.414	0.877
Histidine	0.011	0.419	0.888	0.009	0.419	0.979	-0.015	0.419	0.834	-0.007	0.419	0.721	0.015	0.419	0.729
Isoleucine	-0.016	0.372	0.888	0.019	0.372	0.979	-0.052	0.372	0.125	-0.004	0.372	0.889	0.005	0.372	0.945
Kynurenine	0.082	0.883	0.940	0.311	0.883	0.979	-1.088	0.883	0.689	0.035	0.883	0.965	-0.704	0.883	0.714
Leucine	-0.002	0.832	0.940	0.011	0.832	0.979	-0.032	0.832	0.088	1	0.832	0.968	-0.002	0.832	0.988
Lysine	-0.001	0.835	0.940	-0.002	0.835	0.979	-0.002	0.835	0.984	0.005	0.835	0.578	-0.004	0.835	0.837
Methionine	-0.044	0.332	0.888	-0.022	0.332	0.979	-0.139	0.332	0.088	-0.022	0.332	0.721	-0.041	0.332	0.762
Ornithine	0.003	0.846	0.940	1	0.846	0.994	-0.004	0.846	0.984	0.001	0.846	0.968	0.013	0.846	0.791
Phenylalanine	-0.005	0.832	0.940	0.017	0.832	0.979	-0.026	0.832	0.800	0.003	0.832	0.948	0.019	0.832	0.762
Proline	0.001	0.794	0.940	-0.002	0.794	0.979	-0.005	0.794	0.893	-0.001	0.794	0.948	0.004	0.794	0.791
Serine	-0.006	0.624	0.888	0.011	0.624	0.979	1	0.624	0.993	-0.001	0.624	0.965	-0.018	0.624	0.714
Serotonin	-0.866	0.220	0.888	-0.465	0.220	0.979	-1.153	0.220	0.800	0.265	0.220	0.787	-0.744	0.220	0.729
Threonine	-0.004	0.402	0.888	0.003	0.402	0.979	-0.012	0.402	0.474	-0.002	0.402	0.733	1	0.402	0.988
Tryptophan	-0.042	0.051	0.888	0.021	0.051	0.979	-0.066	0.051	0.106	0.003	0.051	0.948	-0.006	0.051	0.945
Tyrosine	-0.009	0.632	0.888	0.008	0.632	0.979	-0.029	0.632	0.800	0.001	0.632	0.968	0.014	0.632	0.791

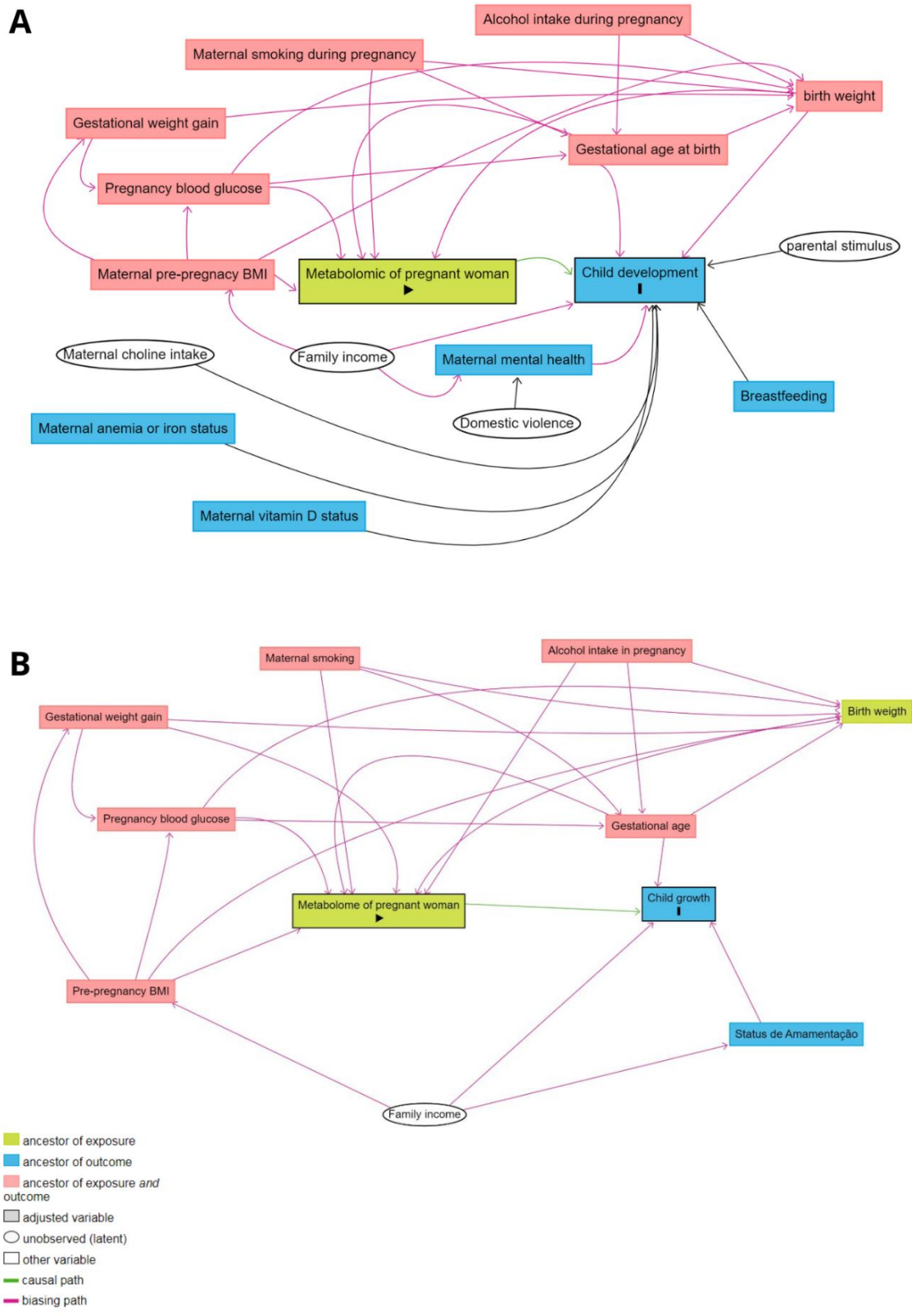
Metabolites	Communication			Gross motor skill			Fine motor skill			Problem-solving			Personal-social		
	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value
Valine	-0.005	0.445	0.888	0.005	0.445	0.979	-0.022	0.445	0.027	-0.006	0.445	0.477	-0.004	0.445	0.799
Assymmetric dimethylarginine	1.835	0.570	0.888	-1.006	0.570	0.979	-10.296	0.570	0.088	1.397	0.570	0.733	-5.165	0.570	0.714
Creatinine	-0.009	0.744	0.940	-0.007	0.744	0.979	0.035	0.744	0.800	0.008	0.744	0.883	0.032	0.744	0.729
Sarcosine	0.205	0.617	0.888	0.168	0.617	0.979	0.145	0.617	0.984	0.411	0.617	0.477	-0.601	0.617	0.714
Serotonine	-0.866	0.220	0.888	-0.465	0.220	0.979	-1.153	0.220	0.800	0.265	0.220	0.787	-0.744	0.220	0.729
Symmetric dimethylarginine	3.045	0.289	0.888	-1.417	0.289	0.979	-0.221	0.289	0.993	1.228	0.289	0.733	3.954	0.289	0.714
Taurine	-0.003	0.654	0.888	-0.01	0.654	0.979	-0.007	0.654	0.893	-0.005	0.654	0.578	-0.006	0.654	0.791
Trans-Hydroxyproline	-0.067	0.034	0.888	0.027	0.034	0.979	-0.051	0.034	0.800	-0.019	0.034	0.658	-0.008	0.034	0.945
LPC 140	0.106	0.540	0.888	-0.044	0.540	0.979	-0.042	0.540	0.984	-0.05	0.540	0.879	0.022	0.540	0.988
							<0.000								
LPC 160	0.002	0.855	0.940	-0.002	0.855	0.979	1	0.855	0.993	-0.004	0.855	0.883	0.005	0.855	0.914
LPC 161	-0.118	0.618	0.888	0.105	0.618	0.979	-0.137	0.618	0.984	-0.197	0.618	0.531	-0.368	0.618	0.714
LPC 170	-0.119	0.567	0.888	0.053	0.567	0.979	-0.05	0.567	0.984	-0.145	0.567	0.578	-0.355	0.567	0.714
LPC 180	-0.006	0.615	0.888	0.002	0.615	0.979	-0.003	0.615	0.984	-0.008	0.615	0.578	-0.018	0.615	0.714
LPC 181	-0.013	0.586	0.888	0.005	0.586	0.979	-0.006	0.586	0.984	-0.018	0.586	0.578	-0.035	0.586	0.714
LPC 182	-0.007	0.656	0.888	0.001	0.656	0.979	-0.003	0.656	0.984	-0.01	0.656	0.621	-0.022	0.656	0.714
LPC 203	-0.039	0.842	0.940	0.05	0.842	0.979	-0.081	0.842	0.984	-0.135	0.842	0.578	-0.281	0.842	0.714
LPC 204	-0.038	0.548	0.888	0.007	0.548	0.979	0.002	0.548	0.993	-0.043	0.548	0.578	-0.087	0.548	0.714
LPC 260	1.415	0.303	0.888	0.369	0.303	0.979	-1.082	0.303	0.929	-0.776	0.303	0.682	-1.271	0.303	0.758
LPC 281	6.301	0.075	0.888	-3.581	0.075	0.979	0.296	0.075	0.993	1.666	0.075	0.724	1.134	0.075	0.945
PC 240	-1.734	0.826	0.940	-6.821	0.826	0.979	9.672	0.826	0.800	0.562	0.826	0.965	5.74	0.826	0.791
PC 281	0.809	0.062	0.888	-0.266	0.062	0.979	-0.162	0.062	0.984	0.327	0.062	0.578	0.977	0.062	0.618
PC 300	0.083	0.567	0.888	0.02	0.567	0.979	-0.211	0.567	0.800	-0.081	0.567	0.682	-0.002	0.567	0.996
PC 302	7.061	0.023	0.888	-3.086	0.023	0.979	-1.558	0.023	0.984	1.535	0.023	0.721	2.208	0.023	0.791
PC 320	0.045	0.520	0.888	0.062	0.520	0.979	-0.076	0.520	0.834	-0.02	0.520	0.879	0.091	0.520	0.714
PC 321	0.024	0.330	0.888	0.031	0.330	0.979	-0.033	0.330	0.800	-0.013	0.330	0.716	-0.006	0.330	0.945
PC 322	0.074	0.508	0.888	-0.105	0.508	0.979	-0.082	0.508	0.960	0.01	0.508	0.965	0.012	0.508	0.988
PC 323	0.029	0.985	0.985	0.121	0.985	0.979	0.352	0.985	0.984	0.434	0.985	0.883	1.659	0.985	0.729
PC 341	0.002	0.726	0.940	0.005	0.726	0.979	0.001	0.726	0.984	-0.001	0.726	0.889	0.003	0.726	0.799
PC 342	0.004	0.259	0.888	-0.001	0.259	0.979	0.002	0.259	0.984	0.002	0.259	0.686	0.006	0.259	0.714
PC 343	0.024	0.592	0.888	0.003	0.592	0.979	-0.008	0.592	0.984	0.013	0.592	0.879	0.054	0.592	0.714

Metabolites	Communication			Gross motor skill			Fine motor skill			Problem-solving			Personal-social		
	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value
PC 344	-0.089	0.793	0.940	-0.168	0.793	0.979	-0.052	0.793	0.984	0.046	0.793	0.949	0.219	0.793	0.799
PC 360	-0.183	0.660	0.888	-0.459	0.660	0.979	0.304	0.660	0.960	0.027	0.660	0.965	0.616	0.660	0.714
PC 361	0.036	0.157	0.888	0.018	0.157	0.979	-0.018	0.157	0.960	0.001	0.157	0.970	-0.013	0.157	0.846
PC 362	0.01	0.088	0.888	-0.001	0.088	0.979	0.001	0.088	0.993	0.004	0.088	0.578	0.003	0.088	0.841
PC 363	0.006	0.421	0.888	0.005	0.421	0.979	-0.004	0.421	0.984	0.001	0.421	0.965	0.012	0.421	0.714
PC 364	-0.003	0.624	0.888	-0.002	0.624	0.979	0.011	0.624	0.689	0.002	0.624	0.733	0.012	0.624	0.618
PC 365	0.043	0.497	0.888	-0.02	0.497	0.979	-0.035	0.497	0.984	0.033	0.497	0.716	-0.003	0.497	0.988
PC 366	-0.477	0.436	0.888	-0.111	0.436	0.979	-0.56	0.436	0.893	0.127	0.436	0.914	0.034	0.436	0.988
PC 380	-0.265	0.486	0.888	-0.273	0.486	0.979	0.258	0.486	0.960	0.251	0.486	0.578	0.692	0.486	0.714
PC 381	-0.729	0.165	0.888	-0.282	0.165	0.979	-0.533	0.165	0.875	-0.245	0.165	0.724	-0.988	0.165	0.714
PC 383	0.021	0.339	0.888	0.024	0.339	0.979	-0.025	0.339	0.834	0.002	0.339	0.965	0.021	0.339	0.758
PC 384	-0.008	0.537	0.888	-0.006	0.537	0.979	0.016	0.537	0.800	0.006	0.537	0.721	0.013	0.537	0.729
PC 385	-0.032	0.190	0.888	0.019	0.190	0.979	0.017	0.190	0.960	0.002	0.190	0.965	0.025	0.190	0.729
PC 386	-0.018	0.106	0.888	-0.006	0.106	0.979	0.002	0.106	0.984	0.003	0.106	0.889	0.014	0.106	0.714
PC 402	3.258	0.508	0.888	-6.187	0.508	0.979	6.093	0.508	0.800	4.826	0.508	0.477	7.925	0.508	0.714
PC 403	1.967	0.545	0.888	1.841	0.545	0.979	2.926	0.545	0.893	3.213	0.545	0.477	2.285	0.545	0.799
PC 404	-0.259	0.261	0.888	0.234	0.261	0.979	0.091	0.261	0.984	-0.02	0.261	0.965	0.129	0.261	0.837
PC 405	-0.102	0.207	0.888	0.103	0.207	0.979	-0.016	0.207	0.984	-0.011	0.207	0.948	0.013	0.207	0.988
PC 406	-0.04	0.238	0.888	-0.011	0.238	0.979	-0.022	0.238	0.966	0.008	0.238	0.889	0.002	0.238	0.988
PC 420	-0.141	0.917	0.944	-1.111	0.917	0.979	-0.07	0.917	0.993	1.283	0.917	0.477	2.393	0.917	0.714
PC 421	-1.588	0.619	0.888	-1.559	0.619	0.979	-0.775	0.619	0.984	3.225	0.619	0.477	3.434	0.619	0.729
PC 422	3.238	0.539	0.888	-10.794	0.539	0.979	4.612	0.539	0.893	4.974	0.539	0.477	7.72	0.539	0.714
PC 424	-6.718	0.152	0.888	5.294	0.152	0.979	1.432	0.152	0.984	2.262	0.152	0.721	4.684	0.152	0.743
PC 425	-2.756	0.193	0.888	1.94	0.193	0.979	-3.554	0.193	0.800	0.07	0.193	0.968	-1.337	0.193	0.799
PC 426	-1.641	0.293	0.888	0.967	0.293	0.979	0.022	0.293	0.993	0.466	0.293	0.879	-0.777	0.293	0.848
PC-O 300	2.942	0.261	0.888	1.417	0.261	0.979	-2.414	0.261	0.893	0.479	0.261	0.939	-0.188	0.261	0.988
PC-O 301	7.768	0.126	0.888	-2.576	0.126	0.979	6.328	0.126	0.800	5.867	0.126	0.477	-2.19	0.126	0.884
PC-O 302	22.491	0.093	0.888	8.143	0.093	0.979	2.82	0.093	0.984	7.841	0.093	0.670	3.3	0.093	0.946
PC-O 321	0.219	0.663	0.888	-0.238	0.663	0.979	-0.088	0.663	0.984	0.132	0.663	0.883	0.549	0.663	0.729
PC-O 322	1.07	0.588	0.888	0.343	0.588	0.979	0.618	0.588	0.984	0.856	0.588	0.733	2.098	0.588	0.729
PC-O 340	0.596	0.474	0.888	1.248	0.474	0.979	-0.757	0.474	0.893	-0.057	0.474	0.965	0.757	0.474	0.762
PC-O 341	0.121	0.331	0.888	0.234	0.331	0.979	-0.131	0.331	0.834	0.02	0.331	0.948	<0.000	0.331	0.997

Metabolites	Communication			Gross motor skill			Fine motor skill			Problem-solving			Personal-social		
	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value
PC-O 342	0.056	0.471	0.888	0.039	0.471	0.979	0.066	0.471	0.893	0.056	0.471	0.578	0.093	0.471	0.714
PC-O 343	0.023	0.830	0.940	0.102	0.830	0.979	0.023	0.830	0.984	0.091	0.830	0.529	0.215	0.830	0.714
PC-O 360	0.806	0.678	0.895	0.512	0.678	0.979	2.344	0.678	0.800	-0.084	0.678	0.968	1.915	0.678	0.743
PC-O 361	0.2	0.352	0.888	0.25	0.352	0.979	-0.066	0.352	0.984	0.056	0.352	0.889	-0.025	0.352	0.988
PC-O 362	0.042	0.596	0.888	0.06	0.596	0.979	0.043	0.596	0.984	0.067	0.596	0.531	-0.007	0.596	0.988
PC-O 363	0.074	0.589	0.888	0.096	0.589	0.979	0.043	0.589	0.984	0.09	0.589	0.582	0.167	0.589	0.714
PC-O 364	0.03	0.666	0.888	0.036	0.666	0.979	0.093	0.666	0.800	0.048	0.666	0.578	0.159	0.666	0.618
PC-O 365	-0.009	0.917	0.944	-0.011	0.917	0.979	0.105	0.917	0.800	0.061	0.917	0.578	0.231	0.917	0.618
PC-O 380	-0.526	0.257	0.888	-0.116	0.257	0.979	0.219	0.257	0.984	0.224	0.257	0.721	0.437	0.257	0.758
PC-O 381	1.088	0.489	0.888	1.329	0.489	0.979	-1.834	0.489	0.808	-0.504	0.489	0.875	-4.142	0.489	0.618
PC-O 382	1.49	0.056	0.888	0.211	0.056	0.979	0.137	0.056	0.984	0.853	0.056	0.477	-0.426	0.056	0.841
PC-O 383	0.302	0.398	0.888	0.441	0.398	0.979	-0.458	0.398	0.800	0.208	0.398	0.670	0.235	0.398	0.799
PC-O 384	0.018	0.856	0.940	0.037	0.856	0.979	0.144	0.856	0.800	0.108	0.856	0.477	0.177	0.856	0.714
PC-O 385	-0.026	0.771	0.940	-0.001	0.771	0.994	0.199	0.771	0.433	0.085	0.771	0.477	0.206	0.771	0.618
PC-O 386	-0.101	0.553	0.888	-0.027	0.553	0.979	0.141	0.553	0.895	0.068	0.553	0.757	0.412	0.553	0.618
PC-O 401	0.103	0.919	0.944	-0.179	0.919	0.979	1.057	0.919	0.834	0.863	0.919	0.529	1.512	0.919	0.714
PC-O 402	1.338	0.124	0.888	0.62	0.124	0.979	0.748	0.124	0.893	0.689	0.124	0.578	-0.39	0.124	0.884
PC-O 403	1.9	0.240	0.888	0.394	0.240	0.979	-0.1	0.240	0.993	1.753	0.240	0.477	0.43	0.240	0.945
PC-O 404	0.287	0.617	0.888	0.048	0.617	0.979	0.368	0.617	0.966	0.674	0.617	0.477	0.564	0.617	0.743
PC-O 405	-0.252	0.562	0.888	-0.089	0.562	0.979	0.518	0.562	0.800	0.389	0.562	0.496	0.641	0.562	0.714
PC-O 406	-0.29	0.223	0.888	0.039	0.223	0.979	0.053	0.223	0.984	0.18	0.223	0.578	0.287	0.223	0.714
PC-O 420	-2.306	0.188	0.888	-0.822	0.188	0.979	1.174	0.188	0.960	1.589	0.188	0.496	0.208	0.188	0.988
PC-O 421	-3.483	0.305	0.888	0.938	0.305	0.979	0.717	0.305	0.984	2.66	0.305	0.578	3.547	0.305	0.729
PC-O 422	3.004	0.141	0.888	1.627	0.141	0.979	-0.293	0.141	0.984	1.322	0.141	0.593	1.08	0.141	0.845
PC-O 423	0.94	0.482	0.888	-0.28	0.482	0.979	1.127	0.482	0.893	1.27	0.482	0.477	1.109	0.482	0.791
PC-O 424	0.928	0.351	0.888	-0.322	0.351	0.979	0.084	0.351	0.993	1.237	0.351	0.477	0.289	0.351	0.945
PC-O 425	-0.157	0.777	0.940	-0.177	0.777	0.979	0.367	0.777	0.960	0.673	0.777	0.477	0.355	0.777	0.799
PC-O 443	-2.07	0.870	0.940	-4.504	0.870	0.979	2.423	0.870	0.984	12.095	0.870	0.477	-0.947	0.870	0.988
PC-O 444	2.852	0.155	0.888	0.825	0.155	0.979	-1.06	0.155	0.984	2.126	0.155	0.477	1.186	0.155	0.829
PC-O 445	0.091	0.867	0.940	-0.209	0.867	0.979	-0.013	0.867	0.993	0.491	0.867	0.496	0.401	0.867	0.791
PC-O 446	-0.016	0.975	0.983	-0.021	0.975	0.990	-0.078	0.975	0.984	0.539	0.975	0.477	0.38	0.975	0.791

Metabolites	Communication			Gross motor skill			Fine motor skill			Problem-solving			Personal-social		
	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value	β	P-value	q-value
SM 160	0.011	0.302	0.888	-0.007	0.302	0.979	0.005	0.302	0.984	0.001	0.302	0.965	0.014	0.302	0.714
SM 161	0.144	0.046	0.888	0.058	0.046	0.979	0.132	0.046	0.689	0.003	0.046	0.968	0.137	0.046	0.714
SM 180	0.052	0.182	0.888	0.03	0.182	0.979	-0.007	0.182	0.984	-0.001	0.182	0.970	-0.012	0.182	0.945
SM 181	0.104	0.177	0.888	0.116	0.177	0.979	0.094	0.177	0.800	-0.029	0.177	0.783	0.022	0.177	0.945
SM 202	2.011	0.093	0.888	0.08	0.093	0.979	1.354	0.093	0.834	0.904	0.093	0.578	2.115	0.093	0.714
SM 223	1.336	0.357	0.888	1.818	0.357	0.979	2.722	0.357	0.689	0.622	0.357	0.733	2.873	0.357	0.714
SM 240	0.04	0.330	0.888	-0.061	0.330	0.979	0.054	0.330	0.800	0.027	0.330	0.578	0.03	0.330	0.791
	<0.000														
SM 241	1	0.976	0.983	-0.013	0.976	0.979	0.046	0.976	0.125	0.006	0.976	0.740	0.026	0.976	0.714
SM 260	16.08	0.164	0.888	1.15	0.164	0.979	-12.306	0.164	0.834	15.867	0.164	0.477	-11.978	0.164	0.729
SM 261	0.914	0.838	0.940	-0.889	0.838	0.979	8.408	0.838	0.689	3.811	0.838	0.529	0.7	0.838	0.988
SM(OH) 141	0.352	0.031	0.888	0.085	0.031	0.979	-0.033	0.031	0.984	0.039	0.031	0.889	0.21	0.031	0.714
SM(OH) 161	0.459	0.138	0.888	0.366	0.138	0.979	-0.04	0.138	0.987	0.095	0.138	0.879	0.007	0.138	0.996
SM(OH) 221	0.096	0.124	0.888	-0.069	0.124	0.979	0.079	0.124	0.800	0.053	0.124	0.531	0.052	0.124	0.791
SM(OH) 222	0.105	0.220	0.888	0.006	0.220	0.979	0.201	0.220	0.367	0.044	0.220	0.716	0.173	0.220	0.714
SM(OH) 241	1.035	0.178	0.888	-0.488	0.178	0.979	1.285	0.178	0.800	1.034	0.178	0.477	-0.06	0.178	0.988
	<0.000			<0.000						<0.000			<0.000		
Hexoses	1	0.892	0.942	1	0.892	0.979	-0.001	0.892	0.800	1	0.892	0.965	1	0.892	0.791

Notes: The child development was assessed in the period of 28-50 days (~1 month; n = 85), 180-216 days (~6 months; n = 70), and 305-404 days (~12 months; n = 57) after birth. Q-value: p-value after the Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons. β : Linear mixed regression coefficient. LPC: Lysophosphatidylcholine; PC: Diacyl phosphatidylcholine; PC-O: Acyl-Acyl phosphatidylcholine; SM: Sphingomyelins; SM(OH): Sphingomyelins with hydroxyl. All models were adjusted by variables considered potential confounders (birth weight, pre-pregnancy body mass index, and gestational age of birth) identified by the Directed Acyclic Graphics (DAG) and mediated by the time in days. Values marked in bold represent the values considered statistically significant. The scores were accessed and classified according to the Ages and Stages questionnaires 3 (ASQ-3).



Supplementary Figure 1. Directed Acyclic graphs for minimum adjustments (A) Child development; (B) Child growth.

Note: BMI: body mass index. Minimum adjustments suggested: pre-pregnancy body mass index and gestational age of birth.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho investigou a associação entre o metaboloma materno no terceiro trimestre gestacional e o crescimento e desenvolvimento infantil no primeiro ano de vida. Encontramos uma associação dos metabólitos das classes de aminoácidos, aminas biogênicas e LPC presentes no soro materno no terceiro trimestre gestacional os escores de peso para idade, peso para comprimento e IMC para idade e com o domínio do desenvolvimento coordenação motora fina ao longo do primeiro ano de vida. Tais achados refletem que o estado metabólico materno no final da gestação pode trazer impactos no crescimento e desenvolvimento de seus filhos no primeiro ano, o que pode refletir em consequências futuras como risco de obesidade, DANT, atrasos no aprendizado e dificuldade nas relações sociais.

Até o alcance das informações disponíveis, o presente estudo está sendo o primeiro a tratar da análise do metaboloma no terceiro trimestre gestacional e a associação com o crescimento e desenvolvimento infantil. A análise de processamento dos dados do metaboloma foi considerada adequada para reprodução em estudos epidemiológicos, com equipamentos adequados e padrão ouro.

Pode-se considerar um diferencial deste trabalho o uso de análise robusta utilizando regressões ajustadas e variáveis consideradas confundidoras pautadas na literatura através do DAG, o que faz com que o risco de viés fosse minimizado e o uso da análise de forma longitudinal, com acompanhamento em quatro momentos do crescimento e três do desenvolvimento. Como aspecto negativo pode-se levar em consideração o tamanho amostral, a análise do metaboloma em apenas um ponto da gestação e o fato de se ter uma faixa ampla de coleta do sangue .

Na literatura há evidências que respaldam a necessidade de uma assistência pré-natal adequada com a finalidade de gerar resultados adequados na saúde de seus descendentes, no entanto o presente estudo corrobora para destacar a importância dos cuidados perinatais também na população saudável, e serve como ponto de partida para novos estudos na área.

9 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, C. L. P. Avaliação Nutricional de Crianças. In: Kac, G., Sichieri, R., *et al* (Ed.). **Epidemiologia nutricional**: Editora Fiocruz, 2007.

BALASUNDARAM, P.; AVULAKUNTA, I. D. Bayley Scales Of Infant and Toddler Development. In: (Ed.). **StatPearls**. Treasure Island (FL) with ineligible companies. Disclosure: Indirapriya Darshini Avulakunta declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC., 2023a.

BALASUNDARAM, P.; AVULAKUNTA, I. D. Human Growth and Development. In: (Ed.). **StatPearls**. Treasure Island (FL) with ineligible companies. Disclosure: Indirapriya Darshini Avulakunta declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC., 2023b.

BAR, N.; KOREM, T., *et al*. A reference map of potential determinants for the human serum metabolome. **Nature**, v. 588, n. 7836, p. 135-140, 2020.

BEMANALIZADEH, M.; KHOSHALI, M., *et al*. Parental Occupational Exposure and Neurodevelopmental Disorders in Offspring: a Systematic Review and Meta-analysis. **Curr Environ Health Rep**, v. 9, n. 3, p. 406-422, 2022.

BEUCHEL, C.; BECKER, S., *et al*. Clinical and lifestyle related factors influencing whole blood metabolite levels – A comparative analysis of three large cohorts. **Molecular Metabolism**, v. 29, n., p. 76-85, 2019.

BLACK, M. M.; WALKER, S. P., *et al*. Early childhood development coming of age: science through the life course. **Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 77-90, 2017.

BOONZAAIJER, M.; SUIR, I., *et al*. Factors associated with gross motor development from birth to independent walking: A systematic review of longitudinal research. **Child Care Health Dev**, v. 47, n. 4, p. 525-561, 2021.

BOORMAN, R. J.; CREEDY, D. K., *et al*. Empathy in pregnant women and new mothers: a systematic literature review. **J Reprod Infant Psychol**, v. 37, n. 1, p. 84-103, 2019.

BRASIL. Decreto nº 99.710, de 21 de novembro de 1990. Promulga a Convenção sobre os Direitos da Criança.: secondary title, 1990.

BRASIL. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional-SISVAN: secondary title: Ministério da Saúde Brasília, 2011.

BRASIL. **Atenção ao Pré-Natal de Baixo Risco** Brasília – DF: Ministério da saúde, 2012^a.

BRASIL. Caderno de atenção básica - Saúde da criança: crescimento e desenvolvimento. **Ministério da saúde**, v. 33, n., p., 2012b.

BRASIL, M. D. S. **Caderneta da criança: menina: passaporte da cidadania.** . Brasília, DF: Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Primária à Saúde. Departamento de Saúde Materno Infantil. Coordenação-Geral de Saúde Perinatal e Aleitamento Materno. C, 2022. 112 p.

BRASIL, M. D. S. **Guia Desenvolvimento neuropsicomotor, sinais de alerta e estimulação precoce: um guia para profissionais de saúde e educação.** Brasília, DF: Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Primária à Saúde. Departamento de Gestão do Cuidado Integral. Coordenação de Saúde da Criança e do Adolescente., 2023.

BRITTO, P. R.; LYE, S. J., *et al.* Nurturing care: promoting early childhood development. **The Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 91-102, 2017.

BURGER, M.; HOOSAIN, M., *et al.* Maternal perinatal mental health and infant and toddler neurodevelopment - Evidence from low and middle-income countries. A systematic review. **J Affect Disord**, v. 268, n., p. 158-172, 2020.

COLICINO, E.; FERRARI, F., *et al.* Non-linear and non-additive associations between the pregnancy metabolome and birthweight. **Environ Int**, v. 156, n., p. 106750, 2021.

DAELMANS, B.; DARMSTADT, G. L., *et al.* Early childhood development: the foundation of sustainable development. **The Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 9-11, 2017.

DAI, Y.; HUO, X., *et al.* Early-life exposure to widespread environmental toxicants and maternal-fetal health risk: A focus on metabolomic biomarkers. **Sci Total Environ**, v. 739, n., p. 139626, 2020.

DAMBROVA, M.; MAKRECKA-KUKA, M., *et al.* Acylcarnitines: Nomenclature, Biomarkers, Therapeutic Potential, Drug Targets, and Clinical Trials. **Pharmacol Rev**, v. 74, n. 3, p. 506-551, 2022.

DARLING, J. C.; BAMIDIS, P. D., *et al.* The First Thousand Days: early, integrated and evidence-based approaches to improving child health: coming to a population near you? **Arch Dis Child**, v. 105, n. 9, p. 837-841, 2020.

DELPLANCKE, T. D. J.; WU, Y., *et al.* Metabolomics of Pregnancy Complications: Emerging Application of Maternal Hair. **Biomed Res Int**, v. 2018, n., p. 2815439, 2018.

FIEHN, O.; KOPKA, J., *et al.* Metabolite profiling for plant functional genomics. **Nat Biotechnol**, v. 18, n. 11, p. 1157-1161, 2000.

FIEHN, O. Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modelling to understand metabolic networks. **Comp Funct Genomics**, v. 2, n. 3, p. 155-168, 2001.

FIGUEROA PEDRAZA, D.; MENEZES, T. N. [Characterization of anthropometric assessment studies of Brazilian children attending daycare centers]. **Rev Paul Pediatr**, v. 34, n. 2, p. 216-224, 2016a.

FIGUEROA PEDRAZA, D.; MENEZES, T. N. Characterization of anthropometric assessment studies of Brazilian children attending daycare centers. **Rev Paul Pediatr**, v. 34, n. 2, p. 216-224, 2016b.

GANGAKHEDKAR, G. R.; KULKARNI, A. P. Physiological Changes in Pregnancy. **Indian J Crit Care Med**, v. 25, n. Suppl 3, p. S189-s192, 2021.

GAWLIK, N. R.; ANDERSON, A. J., *et al.* The Influence of DHA on Language Development: A Review of Randomized Controlled Trials of DHA Supplementation in Pregnancy, the Neonatal Period, and Infancy. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p., 2020.

GOÑI, F. M. Sphingomyelin: What is it good for? **Biochem Biophys Res Commun**, v. 633, n., p. 23-25, 2022.

IETS, I. D. E. D. T. E. S. **Manual de Uso Do ASQ-3: Guia Rápido Para Aplicação Do ASQ-3**: secondary title: Instituto de Estudos do Trabalho e Sociedade Rio de Janeiro, Brazil, 2010.

IGLESIAS, L.; CANALS, J., *et al.* Effects of prenatal iron status on child neurodevelopment and behavior: A systematic review. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 58, n. 10, p. 1604-1614, 2018.

ISGANAITIS, E.; VENDITTI, S., *et al.* Maternal obesity and the human milk metabolome: associations with infant body composition and postnatal weight gain. **Am J Clin Nutr**, v. 110, n. 1, p. 111-120, 2019.

JANBEK, J.; SPECHT, I. O., *et al.* Associations between vitamin D status in pregnancy and offspring neurodevelopment: a systematic literature review. **Nutr Rev**, v. 77, n. 5, p. 330-349, 2019.

JANBEK, J.; SARKI, M., *et al.* A systematic literature review of the relation between iron status/anemia in pregnancy and offspring neurodevelopment. **Eur J Clin Nutr**, v. 73, n. 12, p. 1561-1578, 2019.

KADAKIA, R.; TALBOT, O., *et al.* Cord Blood Metabolomics: Association With Newborn Anthropometrics and C-Peptide Across Ancestries. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 104, n. 10, p. 4459-4472, 2019.

LABARRE, J. L.; PUTTABYATAPPA, M., *et al.* Maternal lipid levels across pregnancy impact the umbilical cord blood lipidome and infant birth weight. **Sci Rep**, v. 10, n. 1, p. 14209, 2020.

LAW, S. H.; CHAN, M. L., *et al.* An Updated Review of Lysophosphatidylcholine Metabolism in Human Diseases. **Int J Mol Sci**, v. 20, n. 5, p., 2019.

LO, S.; DAS, P., *et al.* A good start in life will ensure a sustainable future for all. **The Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 8-9, 2017.

MACHEL, G. Good early development-the right of every child. **Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 13-14, 2017.

MCWHIRTER, K.; STEEL, A., *et al.* The association between learning disorders, motor function, and primitive reflexes in pre-school children: A systematic review. **J Child Health Care**, v., n., p. 13674935221114187, 2022.

MONTANARI, T. Embriologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. v., n., p., 2013.

MONTEIRO, P. O.; VICTORA, C. G. Rapid growth in infancy and childhood and obesity in later life--a systematic review. **Obes Rev**, v. 6, n. 2, p. 143-154, 2005.

MOREAU, G. B.; RAMAKRISHNAN, G., *et al.* Childhood growth and neurocognition are associated with distinct sets of metabolites. **EBioMedicine**, v. 44, n., p. 597-606, 2019.

NAGANA GOWDA, G. A.; RAFTERY, D. NMR-Based Metabolomics. **Adv Exp Med Biol**, v. 1280, n., p. 19-37, 2021.

NELSON, C. A. The Neurobiological Bases of Early Intervention. In: Meisels, S. J. e Shonkoff, J. P. (Ed.). **Handbook of Early Childhood Intervention**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000, p.204-228.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Aminoácidos, peptídeos e proteínas. In: (Ed.). **Princípios de bioquímica de Lehninger** Porto Alegre: Artmed Editora, 2019a. v.7, p.1278.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Biossíntese de aminoácidos, nucleotídeos e moléculas relacionadas. In: (Ed.). **Princípios de bioquímica de Lehninger** Porto Alegre: Artmed Editora, 2019b. v.7, p.1278.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Fundamentos da bioquímica. In: (Ed.). **Princípios de bioquímica de Lehninger** Porto Alegre: Artmed Editora, 2019c. v.7, p.1278.

NEUMANN, D.; HERBERT, S. E., *et al.* A longitudinal study of antenatal and perinatal risk factors in early childhood cognition: Evidence from Growing Up in New Zealand. **Early Hum Dev**, v. 132, n., p. 45-51, 2019.

NCPI, C. C. D. N. C. P. I. **Estudo nº 1: O Impacto do Desenvolvimento na Primeira Infância sobre a Aprendizagem.**, 2014

OLIVER, S. G.; WINSON, M. K., *et al.* Systematic functional analysis of the yeast genome. **Trends Biotechnol**, v. 16, n. 9, p. 373-378, 1998.

ONU, O. D. N. U.-. **Objetivo 4. Assegurar a educação inclusiva e equitativa e de qualidade, e promover oportunidades de aprendizagem ao longo da vida para todas e todos:** secondary title: Instituto de pesquisa econômica aplicada, 2019. 2023.

OROZCO, J. S.; HERTZ-PICCIOTTO, I., *et al.* Metabolomics analysis of children with autism, idiopathic-developmental delays, and Down syndrome. **Transl Psychiatry**, v. 9, n. 1, p. 243, 2019.

PULLI, E. P.; KUMPULAINEN, V., *et al.* Prenatal exposures and infant brain: Review of magnetic resonance imaging studies and a population description analysis. **Hum Brain Mapp**, v. 40, n. 6, p. 1987-2000, 2019.

RAMOS, M.; BARBA, P. C. S. D. Ages and Stages Questionnaires Brazil in monitoring development in early childhood education. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n., p., 2021.

REYNOLDS, L. P.; BOROWICZ, P. P., *et al.* Developmental Programming of Fetal Growth and Development. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**, v. 35, n. 2, p. 229-247, 2019.

SAP, S. A. D. P. [Developmental Origins of Health and Disease Concept: The environment in the first 1000 days of life and its association with noncommunicable diseases]. **Arch Argent Pediatr**, v. 118, n. 4, p. S118-s129, 2020.

SCHNEIDER, N.; HAUSER, J., *et al.* Sphingomyelin in Brain and Cognitive Development: Preliminary Data. **eNeuro**, v. 6, n. 4, p., 2019.

SHELDRIK, R. C.; HENSON, B. S., *et al.* The baby pediatric symptom checklist: development and initial validation of a new social/emotional screening instrument for very young children. **Acad Pediatr**, v. 13, n. 1, p. 72-80, 2013.

SOUZA, R. T.; MAYRINK, J., *et al.* Metabolomics applied to maternal and perinatal health: a review of new frontiers with a translation potential. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 74, n., p. e894, 2019.

SQUIRES, J.; BRICKER, D. **Ages & Stages Questionnaires Third Edition (ASQ-3)**. Paul H Brookes Publishing, v., n., p., 2009.

TEXTOR, J.; HARDT, J., *et al.* DAGitty: a graphical tool for analyzing causal diagrams. **Epidemiology**, v. 22, n. 5, p. 745, 2011.

UNICEF. **Crianças, alimentação e nutrição: crescendo saudável em um mundo em transformação. Situação Mundial da Infância 2019. Sumário Executivo**. Nova Iorque: UNICEF: secondary title, 2019.

VAZQUES, M. L. Adaptações gravídicas gerais. In: Aldrighi, J. M., Hsu, L. D. P. R., *et al* (Ed.). **Obstetrícia fundamentos e avanços na propedêutica: Fundamentos e Avanços na Propedêutica, Diagnóstico e Tratamento**: Editora Atheneu 2013, p.400.

WHO, W. H. O. **WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: methods and development**: World Health Organization, 2006.

WHO, W. H. O. **WHO child growth standards : head circumference-for-age, arm circumference-for-age, triceps skinfold-for-age and subscapular skinfold-for-age : methods and development**: secondary title. Geneva: World Health Organization, 2007.

WHO, W. H. O. **Improving early childhood development: WHO guideline**: World Health Organization, 2020.

WISHART, D. S.; GUO, A., *et al.* HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022. **Nucleic Acids Res**, v. 50, n. D1, p. D622-d631, 2022.

YAMANO, L. M. Adaptações locais da gravidez. In: Aldrighi, J. M., Hsu, L. D. P. R., *et al* (Ed.). **Obstetrícia fundamentos e avanços na propedêutica: Fundamentos e Avanços na Propedêutica, Diagnóstico e Tratamento**: Editora Atheneu 2013, p.400.

YIN, X.; PRENDIVILLE, O., *et al.* Targeted Metabolomic Approach to Assess the Reproducibility of Plasma Metabolites over a Four Month Period in a Free-Living Population. **J Proteome Res**, v. 21, n. 3, p. 683-690, 2022.

YU, Z. B.; HAN, S. P., *et al.* Birth weight and subsequent risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. **Obes Rev**, v. 12, n. 7, p. 525-542, 2011.

ZHAI, X.; LIU, J., *et al.* Nontargeted metabolomics reveals the potential mechanism underlying the association between birthweight and metabolic disturbances. **BMC Pregnancy Childbirth**, v. 23, n. 1, p. 14-14, 2023.

ZHAO, Q.; HU, Z., *et al.* Associations of prenatal metabolomics profiles with early childhood growth trajectories and obesity risk in African Americans: the CANDLE study. **Int J Obes (Lond)**, v. 45, n. 7, p. 1439-1447, 2021.

Anexos

Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro
Observatório de Epidemiologia Nutricional
Amamentação: Saúde para a mãe e o bebê



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAR DA PESQUISA

Você está sendo convidada a fazer parte da pesquisa "**Compostos bioativos do leite humano e associação com a saúde materna e o desenvolvimento infantil**" desenvolvida por pesquisadores do Observatório de Epidemiologia Nutricional, do Instituto de Nutrição Josué de Castro/Universidade Federal do Rio de Janeiro (INJC/UFRJ). Este estudo tem por objetivo principal avaliar a composição imunológica do leite materno e sua relação com o peso, altura, hábitos alimentares, saúde mental e desenvolvimento infantil.

Você não é obrigada a participar e mesmo aceitando fazer parte do estudo, poderá desistir e retirar o seu consentimento a qualquer momento, sem nenhum problema. Sua recusa em participar do estudo não trará nenhum problema em sua relação com o pesquisador, com o seu médico ou com o centro de saúde ou maternidade, ou seja, você poderá seguir normalmente com o seu atendimento nesta unidade de saúde.

Como irei participar?

Você passará por avaliações do seu estado nutricional (peso e altura) e de saúde geral, totalizando **5 encontros** com nossa equipe:

- Primeiro: durante o pré-natal (entre 28 e 35 semanas de gestação);
- Segundo: até 7 dias após o parto;
- Terceiro: entre 28 e 32 dias após o parto;
- Quarto: 6 meses após o parto;
- Quinto: 12 meses após o parto;

Todas estas avaliações serão preferencialmente agendadas em dias em que você já tenha que vir a Clínica da Família Assis Valente, a fim de evitar despesas extras com transporte. Os encontros terão duração aproximada de 60 minutos.

Durante os encontros, você irá responder algumas perguntas e preencher questionários com informações sobre sua identificação e localização (endereço e telefone); dados demográficos (estado civil, idade); situação socioeconômica (escolaridade, renda); hábitos de vida (uso de álcool, fumo, prática de atividade física e alimentação), uso de medicamentos; saúde mental (perguntas sobre depressão e ansiedade) e desenvolvimento do seu bebê. Você poderá receber ligações telefônicas da equipe de pesquisa para resgatar informações, bem como para o agendamento dos encontros.

Em todos os encontros iremos avaliar seu peso e altura. Amostras de sangue serão coletadas 3 vezes (no primeiro, segundo e terceiro encontros) e serão armazenadas e utilizadas para a realização de exames como, por exemplo, hemograma, dosagem de açúcares, gorduras e hormônios. Você deverá coletar 2 vezes (no segundo e terceiro encontros) cerca de 20 ml do seu leite, de forma manual, para que possamos analisar sua composição. Você também irá coletar suas fezes 3 vezes (primeiro, segundo e terceiro encontros) e de seu bebê 2 vezes (segundo e terceiro encontros) para que possamos realizar análises laboratoriais. Para isto, forneceremos o recipiente adequado e um isopor para armazenamento durante o transporte, o qual deverá ser trazido nos dias solicitados. As fezes deverão ser coletadas no mesmo dia da avaliação e deverão ser mantidas refrigeradas até a entrega à equipe de pesquisa. Seu

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro
Observatório de Epidemiologia Nutricional
Amamentação: Saúde para a mãe e o bebê



bebê também será avaliado, sendo realizadas medidas de peso e comprimento e a partir do quarto até o sétimo encontro você irá responder perguntas relacionadas ao desenvolvimento cognitivo e motor do seu bebê.

As amostras de sangue, leite e fezes serão armazenadas no INJC/UFRJ, por um prazo de até 10 anos e ficarão sob responsabilidade institucional e gerenciamento do pesquisador responsável pela pesquisa, 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 pesquisas futuras, as quais serão avaliadas por Comitês de Ética em Pesquisa (CEP's) e outras análises não previstas neste estudo poderão ser realizadas mediante sua autorização por meio de um novo termo de consentimento livre e esclarecido.

Todos os exames laboratoriais, bem como a avaliação nutricional e do estado de saúde serão realizados sem custos para o participante da pesquisa.

Quais os benefícios?

Ao participar deste estudo, você terá a oportunidade de realizar uma avaliação sobre seu estado de saúde, que poderá auxiliar na saúde do seu bebê. Você terá acesso a todos os seus resultados se assim desejar. Os resultados desta pesquisa poderão trazer benefícios para futuras mães e seus bebês. Além disso, você será informada caso seja detectado algum problema de saúde e aconselhada a procurar o profissional adequado para o acompanhamento.

Quais os riscos?

A avaliação do estado nutricional, entrevista sobre saúde mental, coleta e utilização de amostras de sangue, leite e fezes serão realizados com todos os esforços para evitar possíveis danos, sejam de dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual decorrentes deste projeto de pesquisa, durante o período de gravidez ou no pós-parto para a mãe e/ou para a criança. Todas as coletas de sangue serão realizadas com **material descartável, a fim de evitar contaminação**. Em algumas pessoas pode aparecer um hematoma (mancha arroxeadada) no local de retirada do sangue, que desaparecerá em poucos dias e não tem necessidade de atenção ou cuidado especial.

O pesquisador se compromete a proporcionar de forma gratuita assistência imediata e integral ao participante da pesquisa (mãe ou criança durante e após a gestação) por qualquer dano decorrente imediato ou posterior, direto ou indireto do projeto de pesquisa pelo tempo que for necessário. O pesquisador responsável por este projeto se compromete a suspender a pesquisa imediatamente ao perceber que ocorreu 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 imediato, sendo comunicado ao Comitê de Ética da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, ao Comitê de Ética da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro e à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro
Observatório de Epidemiologia Nutricional
Amamentação: Saúde para a mãe e o bebê



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 a suas informações, somente os pesquisadores. Quando divulgarmos os resultados deste trabalho, seu nome e localização **NÃO serão revelados.**

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 projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.**

Uma via deste consentimento informado será arquivada no Observatório de Epidemiologia Nutricional, do INJC/UFRJ.

Meu consentimento

Li e concordo em participar desta pesquisa.

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
(INJC/UFRJ)
Telefones: 39386595 / 983587540
E-mail: gilberto.kac@gmail.com

Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil / Comitê de Ética em Pesquisa

Rua Evaristo da Veiga, 16 – Sobreloja - Centro
Cep – 20031-040
Telefone: 22151485
E-mail: cepsms@rio.rj.gov.br

Anexo 2. Protocolo de coleta de sangue.

Disponível em: https://drive.google.com/drive/folders/17zuWSn8THbbP-dUzoNIxtuKDSLWkX8V?usp=drive_link

Anexo 3. Protocolo de antropometria.

Disponível em: https://drive.google.com/drive/folders/1p2nIUKcVFoKZRMAwHITh7HF_VCUbzewJ?usp=drive_link

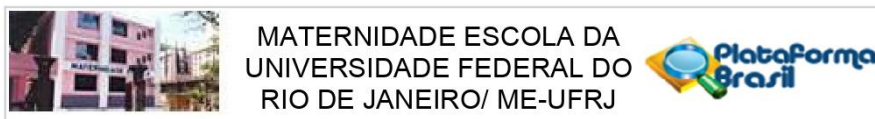
Anexo 4. Questionário de desenvolvimento infantil

Disponível em: <https://drive.google.com/drive/folders/1H0wpyupAvdq9qRs-sjqhagC4t1KQujCX?usp=sharing>

Anexo 5. Questionários de estilo de vida

Disponível em: <https://drive.google.com/drive/folders/1vnu-ZFXyDpiQmZcifoasRBigZpkoQ-D9?usp=sharing>

Anexo 6. Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Composição do leite humano e o estado nutricional materno

Pesquisador: Gilberto Kac

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 49218115.0.0000.5275

Instituição Proponente: Maternidade-Escola da UFRJ

Patrocinador Principal: FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.326.011

Apresentação do Projeto:

É um estudo longitudinal prospectivo em três etapas de seguimento: pré-natal, puerpério imediato (até sete dias de pós-parto) e no 1º mês de pós-parto.

Tem como objetivo avaliar a composição imunológica do leite humano, e sua associação com o estado nutricional e transtornos mentais entre o terceiro trimestre de gravidez e o primeiro mês de amamentação. Incluirá 80 mães e seus neonatos com as seguintes ondas de seguimento: 30-35 semanas gestacionais, entre 0-7 dias pós-parto e no primeiro mês após o nascimento. Em todos os momentos serão coletadas informações sobre o estado nutricional, a saúde mental, parâmetros clínicos (idade, pressão arterial, doenças prévias), bioquímicos (exames laboratoriais de rotina) e atividade física. As mães serão entrevistadas em 3 pontos: entre 30 e 35 semanas gestacionais, entre 0-7 dias pós-parto e no primeiro mês após o nascimento. Amostras de sangue materno serão coletadas nas três ondas de seguimento. O leite materno será coletado em dois diferentes pontos: 0-7 dias (pós-parto, colostro) e no primeiro mês (leite maduro); com determinações de alguns hormônios, citocinas, leptina, adiponectina, imunoglobulinas, complemento, moléculas de adesão e oligossacarídeos. As fezes do neonato serão coletadas na primeira semana e primeiro mês após o nascimento para a determinação da microbiota. O período de seguimento com as

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