



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA SOCIAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA**

**Amamentação e saúde materna: estado nutricional,
composição corporal e fatores metabólicos de risco
cardiovascular**

TESE DE DOUTORADO

Natália Peixoto Lima

**Pelotas – RS
2019**

NATÁLIA PEIXOTO LIMA

**Amamentação e saúde materna: estado nutricional,
composição corporal e fatores metabólicos de risco
cardiovascular**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Epidemiologia da
Universidade Federal de Pelotas
como requisito parcial para obtenção
do título de Doutor em Epidemiologia

Orientador: Bernardo Lessa Horta

Pelotas
2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

L732a Lima, Natália Peixoto

Amamentação e saúde materna : estado nutricional, composição corporal e fatores metabólicos de risco cardiovascular / Natália Peixoto Lima ; Bernardo Lessa Horta, orientador. — Pelotas, 2019.

175 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Epidemiologia. 2. Aleitamento materno. 3. Saúde materna. I. Horta, Bernardo Lessa, orient. II. Título.

CDD : 614.4

NATÁLIA PEIXOTO LIMA

**Amamentação e saúde materna: estado nutricional,
composição corporal e fatores metabólicos de risco
cardiovascular**

Banca examinadora

Prof. Dr. Bernardo Lessa Horta (presidente)

Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia – UFPel

Prof. Dr. Christian Loret de Mola (examinador externo)

Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública – FURG

Prof. Dra. Helen Gonçalves da Silva (examinadora interna)

Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia – UFPel

Prof. Dra. Iná da Silva dos Santos (examinadora interna)

Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia – UFPel

AGRADECIMENTOS

À minha família, por estar sempre presente dando suporte e incentivo.

Às minhas amigas Simone e Bruna, pela parceria de sempre. Agradeço também aos demais colegas pelos ensinamentos e momentos compartilhados.

À minha amiga Janaína, por sempre ter estado ao meu lado, especialmente nos momentos mais difíceis.

Ao professor Bernardo Horta, pela amizade, pelas oportunidades e pela primorosa orientação.

Ao professor Diego Bassani, meu orientador no exterior, por ter me recebido em Toronto e proporcionado uma excelente experiência profissional.

Aos membros da banca examinadora, professores Christian Loret de Mola, Helen Gonçalves da Silva e Iná da Silva dos Santos, pela disponibilidade e pelas contribuições para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos professores e funcionários do Centro de Pesquisa, pela dedicação ao programa e pela assistência diária aos alunos.

À CAPES, pelo apoio financeiro, inclusive a oportunidade de realizar um estágio de doutorado sanduíche em Toronto, Canadá.

RESUMO

LIMA, Natália Peixoto. **Amamentação e saúde materna: estado nutricional, composição corporal e fatores metabólicos de risco cardiovascular**. 2019. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. Universidade Federal de Pelotas (UFPEl).

A amamentação apresenta benefícios a curto e longo prazo. No tocante à saúde materna, as evidências apontam que o aleitamento materno reduz o risco de câncer de mama e ovário e aumenta o intervalo entre as gestações. Contudo, para outros desfechos as evidências não são claras, como por exemplo, índice de massa corporal, adiposidade, densidade mineral óssea, glicemia, pressão arterial e perfil lipídico maternos. Sendo assim, a presente tese teve como objetivo avaliar a associação da amamentação com o estado nutricional, composição corporal e fatores metabólicos de risco cardiovascular maternos, nas participantes da coorte de nascimentos de 1982, Pelotas – RS, Brasil. Três artigos compõem a tese. O primeiro artigo da tese compreendeu uma revisão sistemática e metanálise avaliando a associação entre amamentação e densidade mineral óssea materna. Nessa revisão, não foi observada associação, mas ao avaliar apenas os estudos que controlaram para fatores de confusão, a direção da associação é no sentido de proteção do aleitamento materno. Contudo, algumas limitações metodológicas nos estudos incluídos foram identificadas e devem ser levadas em consideração em novas pesquisas, tais como ajustar as estimativas para fatores socioeconômicos e não controlar para possíveis fatores de mediação. O primeiro artigo original, o segundo desta tese, investigou a associação entre amamentação e índice de massa corporal, circunferência da cintura, índice de massa gorda, índice de massa livre de gordura, razão de gordura androide/ginóide e densidade mineral óssea maternos, sendo obtidas estimativas brutas e ajustadas através de regressão linear. Foram avaliadas a duração total da amamentação - também analisada estratificando para tempo desde o último parto - e a média de amamentação por filho. Os resultados indicam que a amamentação está associada a menores

medidas de IMC, de circunferência da cintura e de índice de massa gorda, especialmente nos primeiros anos após o parto. Por fim, o terceiro artigo da tese foi um estudo original que avaliou a associação entre aleitamento materno e pressão arterial, espessura da carótida, velocidade de onda de pulso, glicemia e perfil lipídico maternos, utilizando regressão linear bruta e ajustada para possíveis fatores de confusão. A amamentação foi avaliada como duração total da amamentação e duração da amamentação do último filho, também analisadas estratificando para paridade e tempo desde o último parto, respectivamente. Os resultados sugerem que não há associação entre amamentação e os fatores de risco cardiovascular maternos avaliados.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	9
SEÇÃO I. PROJETO DE PESQUISA	10
Resumo	12
Artigos planejados	13
Lista de figuras, quadros e tabelas	14
1. Introdução.....	15
2. Revisão da literatura	16
2.1. Estratégia de busca e seleção de artigos	16
2.2. Resultados.....	18
2.2.1. Amamentação e peso/IMC.....	18
2.2.2. Amamentação e adiposidade abdominal	30
2.2.3. Amamentação e pressão arterial.....	36
2.2.4. Amamentação e perfil lipídico	42
2.2.5. Amamentação e glicemia/diabetes tipo 2.....	47
2.3. Considerações sobre a revisão	54
3. Modelo conceitual.....	55
4. Justificativa	57
5. Objetivos.....	58
5.1. Objetivo geral	58
5.2. Objetivos específicos.....	58
6. Hipóteses.....	59
7. Metodologia	59
7.1. Delineamento	59
7.2. Metodologia da coorte de 1982	59
7.2.1. Acompanhamento dos 30 anos.....	60
7.3. População alvo	60
7.4. Critérios de exclusão	60
7.5. Variáveis estudadas	61
7.5.1. Exposição principal	61
7.5.2. Variáveis dependentes.....	61
7.5.3. Possíveis fatores de confusão.....	62
7.5.4. Possível fator mediador.....	64
7.5.5. Possíveis fatores de confusão da associação entre mediador e desfecho (<i>post-confounders</i>).....	64
7.6. Cálculo de poder estatístico	64
7.7. Análise de dados	66
8. Aspectos éticos.....	68
9. Cronograma.....	69
10. Divulgação dos resultados.....	69
11. Referências.....	69
SEÇÃO II. MODIFICAÇÕES NO PROJETO.....	76
SEÇÃO III. ARTIGOS RESULTANTES DA PESQUISA	79
ARTIGO 1	80
ARTIGO 2	102
ARTIGO 3	128
SEÇÃO IV. NOTA À IMPRENSA	156
SEÇÃO V. RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO.....	158

APRESENTAÇÃO

O objetivo desta tese foi avaliar a associação entre amamentação e estado nutricional, composição corporal e fatores metabólicos de risco cardiovascular maternos, nas participantes da coorte de nascimentos de 1982, Pelotas – RS, Brasil.

Este volume está estruturado em cinco seções, a saber:

Seção I. Projeto de Pesquisa

Seção II. Modificações no projeto

Seção III. Artigos resultantes da pesquisa

Seção IV. Nota à imprensa

Seção V. Relatório do trabalho de campo

SEÇÃO I. Projeto de pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA SOCIAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA



Amamentação e saúde materna: estado nutricional, adiposidade abdominal e fatores metabólicos de risco cardiovascular

Projeto de Doutorado

Doutoranda: Natália Peixoto Lima

Orientador: Bernardo Lessa Horta

Pelotas, 2016

RESUMO

Os benefícios da amamentação a curto e longo prazo para as crianças estão bem descritos na literatura. Contudo, em relação à saúde materna, embora seja conhecido a associação entre aleitamento materno e redução no risco de câncer de mama e ovário e aumento no intervalo entre as gestações, para outros desfechos as evidências não estão estabelecidas, como por exemplo, índice de massa corporal, adiposidade abdominal, pressão arterial, perfil lipídico e glicemia maternos. O presente projeto tem como objetivo avaliar o efeito da amamentação na composição corporal materna e fatores metabólicos de risco cardiovascular, nas participantes da coorte de nascimentos de 1982, Pelotas – RS, Brasil. Para isso, se propõe a realização de três artigos: um de revisão sistemática e dois artigos originais. O artigo de revisão sistemática será sobre os efeitos da amamentação no perfil lipídico materno. O primeiro artigo original irá avaliar o efeito da amamentação no índice de massa corporal e circunferência da cintura maternos, sendo obtidas estimativas brutas e ajustadas através da abordagem *Generalized estimating equation* (GEE), enquanto o segundo artigo irá estimar o efeito na pressão arterial, perfil lipídico e glicemia maternos utilizando análise de regressão linear bruta e ajustada, e irá avaliar o quanto do efeito da amamentação é mediado pelo índice de massa corporal através do *G-computation formula*. Fornecendo novas evidências sobre os benefícios do aleitamento materno, que poderão ser utilizadas em campanhas de promoção a amamentação.

ARTIGOS PLANEJADOS

- 1.** Efeito da amamentação sobre o perfil lipídico materno: uma revisão sistemática
- 2.** Amamentação e seu efeito no estado nutricional e adiposidade abdominal maternos - um estudo prospectivo de base populacional
- 3.** Amamentação e fatores metabólicos de risco cardiovascular maternos em mulheres pertencentes à Coorte de Nascimentos de 1982 - Pelotas

LISTA DE FIGURAS, QUADROS E TABELAS

Figura 1. Fluxograma da seleção de artigos.

Figura 2. Modelo conceitual da associação entre amamentação e saúde materna.

Figura 3. Modelo de análise da associação entre amamentação e índice de massa corporal e circunferência da cintura maternos.

Figura 4. Modelo de análise da associação entre amamentação e pressão arterial, perfil lipídico e glicemia maternos.

Quadro 1. Associação entre amamentação e peso/IMC.

Quadro 2. Associação entre amamentação e adiposidade abdominal.

Quadro 3. Associação entre amamentação e pressão arterial.

Quadro 4. Associação entre amamentação e perfil lipídico materno.

Quadro 5. Associação entre amamentação e glicemia/diabetes tipo 2.

Quadro 6. Resumo da revisão de literatura.

Quadro 7. Taxas de acompanhamento da Coorte de Nascimentos de Pelotas de 1982.

Quadro 8. Cronograma de atividades.

Tabela 1. Estratégia de busca nas bases de dados.

Tabela 2. Cálculo de poder amostral para associação entre duração total da amamentação e os desfechos.

1. INTRODUÇÃO

A amamentação apresenta claros benefícios. A curto prazo, as crianças amamentadas tem menor mortalidade (SANKAR *et al.*, 2015), principalmente por doenças infecciosas, tais como diarreia e pneumonia (HORTA, B. H.; VICTORA, 2013b). Em relação aos efeitos a longo prazo, evidências sugerem redução no risco de obesidade e diabetes tipo 2 (HORTA, B. H.; VICTORA, 2013a ; HORTA, B. L.; LORET DE MOLA *et al.*, 2015b) e aumento na performance em testes de inteligência (HORTA, B. L.; LORET DE MOLA *et al.*, 2015a). A Organização Mundial da Saúde recomenda que todas as crianças sejam exclusivamente amamentadas nos primeiros seis meses, sendo a partir dessa idade indicada a introdução da alimentação complementar e a continuidade da amamentação até pelo menos os dois anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Na maioria dos países a prevalência de amamentação exclusiva em menores de seis meses de idade é baixa, sendo maior nos países de média e baixa renda, mas apenas cerca de quatro em cada dez crianças com menos de seis meses são exclusivamente amamentadas (VICTORA *et al.*, 2016). No Brasil, em 2006-7, a prevalência da amamentação exclusiva em menores de seis meses foi de 38,6% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009), porém, tem sido observado um aumento na duração da amamentação (exclusiva ou não), e a mediana da duração da amamentação aumentou de 2,5 para 14 meses entre 1970 e 2006-7 (VICTORA *et al.*, 2011). Apesar disto, estes indicadores ainda se encontram abaixo do desejado, ou seja, todas as crianças deveriam ser amamentadas até os dois anos de idade.

No que diz respeito às consequências para a saúde materna, evidências consistentes (VICTORA *et al.*, 2016) apontam que as mulheres que amamentaram têm menor risco de desenvolver câncer de mama e, em decorrência da amenorreia da amamentação, teriam aumento do intervalo interpartal (CHOWDHURY *et al.*, 2015). Além disso, a amamentação reduziria o risco de câncer de ovário (CHOWDHURY *et al.*, 2015), de diabetes tipo 2 (AUNE *et al.*, 2014), como também estaria relacionado com menor peso e índice de massa corporal materno (IMC) (NEVILLE *et al.*, 2014), mas as evidências a respeito desses desfechos não estão bem estabelecidas (VICTORA *et al.*, 2016). Alguns estudos também avaliaram o efeito na pressão arterial (SCHWARZ *et al.*,

2009 ; STUEBE, A. M. *et al.*, 2011 ; OKEN *et al.*, 2013) e no perfil lipídico materno (GUNDERSON *et al.*, 2007 ; SCHWARZ *et al.*, 2009 ; STUEBE, A. M. *et al.*, 2010).

Com o objetivo de aumentar o conhecimento sobre os efeitos da amamentação na saúde materna e com isto colaborar com novas informações que possam ser usadas para aumentar a consciência das mães sobre os seus benefícios, resolvemos avaliar o efeito da amamentação no estado nutricional, adiposidade abdominal e fatores metabólicos de risco cardiovascular maternos, nas participantes da coorte de nascimentos de 1982.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Estratégia de busca e seleção de artigos

A revisão de literatura foi realizada nas bases de dados PubMed, Web of Science e LILACS. Os termos utilizados estão descritos na Tabela 1. No total, foram identificados 15502 artigos. Após exclusão de 3350 duplicatas, usando o programa EndNote (Thomson Reuters. <http://www.endnote.com>), 11972 títulos foram lidos e aqueles claramente irrelevantes, excluídos. Após a leitura de 382 resumos, 165 artigos foram lidos na íntegra e ao final, 47 foram incluídos na revisão de literatura (Figura 1).

Critérios de inclusão

- Artigos que avaliaram a associação entre amamentação e peso, IMC, adiposidade abdominal, pressão arterial, perfil lipídico, glicemia e diabetes tipo 2.
- Artigos publicados em português, espanhol ou inglês.

Critérios de exclusão

- Estudos com animais.
- Revisões narrativas, protocolos de pesquisa, editoriais ou comentários.

Tabela 1. Estratégia de busca nas bases de dados.

Base de dados	Termos utilizados	Artigos identificados
PubMed	(breastfeeding OR breast feeding OR breastfeed OR lactation) AND (women OR maternal) AND (anthropometry OR body mass index OR weight OR overweight OR obesity OR body fat distribution OR abdominal obesity OR central obesity OR visceral obesity OR abdominal fat OR central adiposity OR blood pressure OR hypertension OR systolic blood pressure OR diastolic blood pressure OR cholesterol OR LDL OR HDL OR triglycerides OR blood lipids OR glucose OR glycemia OR glycemie OR glycaemia OR glycated hemoglobin OR glycated haemoglobin OR glycosylated hemoglobin OR glycosylated haemoglobin OR HbA1c OR glycohemoglobin OR bone mineral density)	8913
Web of Science	(breastfeeding OR breast feeding OR breastfeed OR lactation) AND (women OR maternal) AND (anthropometry OR body mass index OR weight OR overweight OR obesity OR body fat distribution OR abdominal obesity OR central obesity OR visceral obesity OR abdominal fat OR central adiposity OR blood pressure OR hypertension OR systolic blood pressure OR diastolic blood pressure OR cholesterol OR LDL OR HDL OR triglycerides OR blood lipids OR glucose OR glycemia OR glycemie OR glycaemia OR glycated hemoglobin OR glycated haemoglobin OR glycosylated hemoglobin OR glycosylated haemoglobin OR HbA1c OR glycohemoglobin OR bone mineral density)	6083
LILACS	((amamentação) OR (lactação)) AND ((mulher) OR (materna)) AND ((antropometria) OR (índice de massa corporal) OR (peso) OR (sobrepeso) OR (obesidade) OR (gordura corporal) OR (obesidade abdominal) OR (obesidade central) OR (obesidade visceral) OR (gordura abdominal) OR (adiposidade central) OR (pressão arterial) OR (hipertensão) OR (pressão sistólica) OR (pressão diastólica) OR (colesterol) OR (LDL) OR (HDL) OR (triglicéridos) OR (lipídeo) OR (glicose) OR (glicemia) OR (glicêmico) OR (hemoglobina glicada) OR (hemoglobina glicosilada) OR (HbA1c) OR (glicohemoglobina) OR (densidade mineral óssea))	506

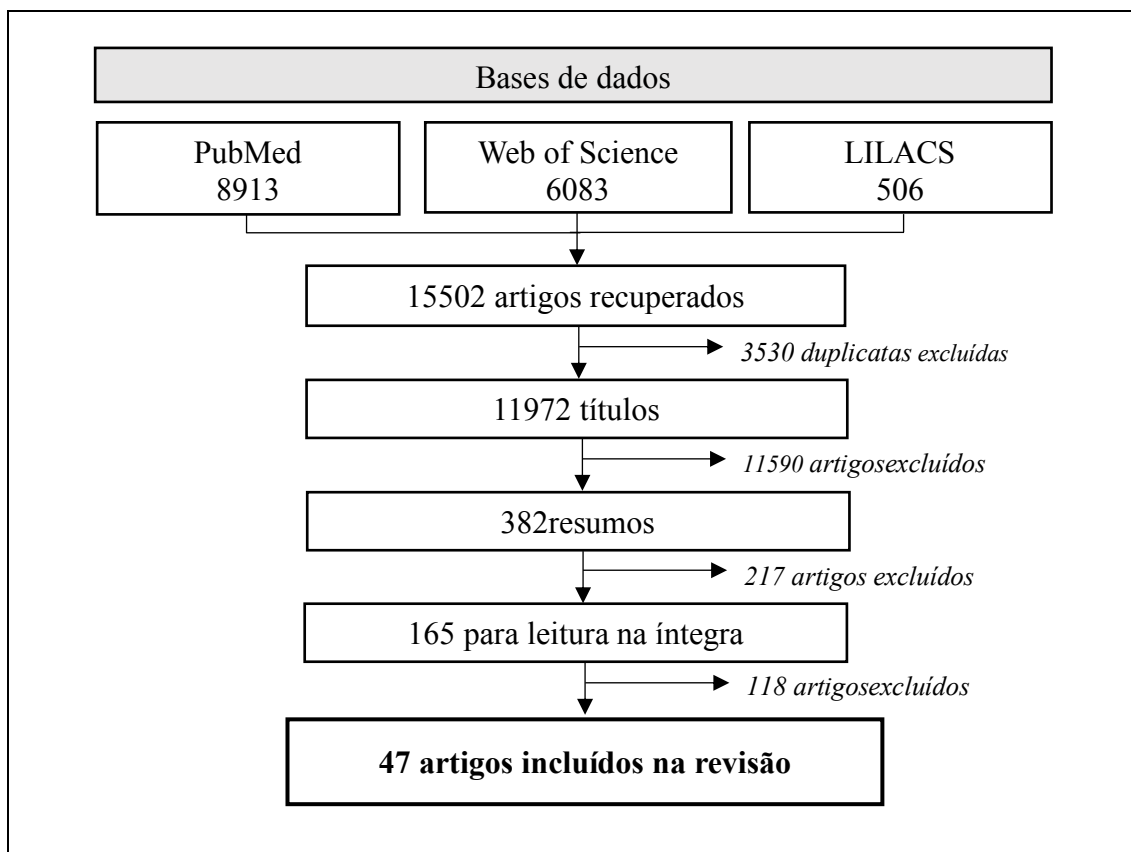


Figura 1. Fluxograma da seleção de artigos.

2.2. Resultados

2.2.1. Amamentação e peso/IMC

Foram selecionados quatro revisões sistemáticas (FRASER; GRIMES, 2003 ; KRAMER; KAKUMA, 2012 ; NEVILLE *et al.*, 2014 ; CHOWDHURY *et al.*, 2015), uma metanálise (HE *et al.*, 2015) e 17 estudos publicados recentemente e que não foram incluídos nas revisões selecionadas. Um estudo era ensaio comunitário (OKEN *et al.*, 2013), catorze coortes (BRITZ *et al.*, 2012 ; BOBROW *et al.*, 2013 ; DA SILVA *et al.*, 2013 ; GROER *et al.*, 2013 ; BRANDHAGEN *et al.*, 2014 ; JARLENSKI *et al.*, 2014 ; ARMENTA *et al.*, 2015 ; ENDRES *et al.*, 2015 ; HENRIQUES *et al.*, 2015 ; KIRKEGAARD *et al.*, 2015 ; MULLANEY *et al.*, 2015 ; PALMER *et al.*, 2015 ; ZANOTTI *et al.*, 2015 ; LOPEZ-OLMEDO *et al.*, 2016) e dois transversais (NATLAND *et al.*, 2012 ; TORRIS *et al.*, 2013). A descrição resumida dos estudos se encontra no Quadro 1.

A primeira revisão sistemática sobre o efeito da amamentação no peso materno após o parto (FRASER *et al.*, 2003), publicada em 2003, classificou os estudos

identificados de acordo com nível de evidência, usando a classificação proposta pelo *U.S. Preventive Services Task Force*. Dezesete estudos foram classificados no nível II-2 (evidência obtida de estudos de coorte e caso-controles bem delineados, preferencialmente de mais de um centro ou grupo de pesquisas) e onze no nível III (baseada em opiniões de autoridades, estudos descritivos ou *reports*). Independente da classificação, as técnicas de avaliação e definição da mudança de peso variaram entre os estudos. Enquanto alguns utilizaram a soma das dobras cutâneas para predizer a porcentagem de mudança na gordura corporal, outros avaliaram a mudança de peso em relação ao peso pré-gestacional ou durante a gestação. No tocante a exposição, a amamentação também foi categorizada de diferentes maneiras conforme a duração e intensidade. O autor concluiu que a evidência era insuficiente, que havia heterogeneidade entre as pesquisas e que as estimativas deveriam ser ajustadas para fatores de confusão, apesar de não ter especificado quais.

Em 2012, Kramer e Kakuma (KRAMER *et al.*, 2012) revisaram as evidências sobre a associação entre amamentação e saúde materno-infantil. Foi identificado um estudo que estimou o efeito da amamentação na perda de peso materno, e incluía dois ensaios comunitários. Os ensaios diferiam de acordo com os critérios de inclusão, como paridade e peso do filho ao nascer, mas ambos tiveram como intervenção o estímulo a continuidade da amamentação exclusiva dos 4 até os 6 meses de idade, enquanto o grupo controle recebeu alimentação complementar e orientação para continuar amamentação no mesmo nível anterior aos 4 meses. Apenas um deles observou maior redução no peso (-0,7 vs. -0,1kg, $P < 0,05$) e IMC (-0,5 vs. -0,1kg, $P < 0,05$) do grupo intervenção, no período de quatro a seis meses pós-parto. No outro estudo, a associação foi na mesma direção para peso (-0,3 vs. -0,1), mas a diferença não foi estatisticamente significativa, enquanto que para o IMC a redução foi similar nos dois grupos (-0,1 vs. -0,1).

A revisão sistemática publicada em 2014 por Neville e colaboradores (NEVILLE *et al.*, 2014), incluiu apenas estudos realizados em países desenvolvidos que avaliaram a associação entre duração da amamentação e retenção de peso ou mudança no peso ou composição corporal materna. Dos 47 estudos selecionados, 35 prospectivos e 8 retrospectivos avaliaram a mudança de peso como desfecho, enquanto os outros 4 avaliaram apenas a composição corporal. De maneira geral, os artigos foram heterogêneos no tocante ao intervalo de tempo entre avaliação das medidas

antropométricas e da amamentação. Entre os estudos prospectivos, 21 não observaram associação estatisticamente significativa e a revisão não apresentou informação sobre a direção das associações. Quase metade desses apresentaram pequeno tamanho da amostra (≤ 60 participantes) ou tempo de acompanhamento (≤ 3 meses). Os demais apontaram que a amamentação estava associada com redução no peso materno e as associações observadas variaram em função do período pós-parto em que o peso foi avaliado, da duração e intensidade da amamentação e IMC pré-gestacional. Segundo o autor, cinco estudos foram considerados de alta qualidade metodológica pela utilização de instrumentos mais precisos para medir o peso - como, por exemplo, balanças eletrônicas ou digitais - e controle na análise para IMC pré-gestacional, ganho de peso durante a gravidez e paridade. Em todos esses estudos o período de avaliação do peso foi igual ou superior a doze meses após o parto e quatro deles relataram associação positiva entre amamentação e redução no peso. Sugerindo, portanto, que a amamentação pode trazer benefícios para o IMC materno.

Em 2015, Chowdhury e colaboradores (CHOWDHURY *et al.*, 2015) atualizaram a revisão de Neville e incluíram cinco novos estudos: um estudo multicêntrico, um realizado em país de renda alta e três em países de média e baixa renda. O estudo multicêntrico observou que amamentação pouco explicava a variação do peso materno, dado que o modelo de regressão dessa associação, ao ajustar para idade materna, IMC aos catorze dias pós-parto, paridade, tipo de parto e peso e sexo do recém-nascido, teve coeficiente de determinação de aproximadamente 5%, mas o autor não apresentou a medida de efeito. Por outro lado, a pesquisa realizada em país de renda alta, após ter controlado para renda, verificou que as mulheres que amamentaram exclusivamente por mais de seis meses apresentaram menor IMC três anos após o parto, assim como menor retenção de peso, ao comparar com mulheres que nunca amamentaram exclusivamente. Dos três estudos realizados em países de renda média e baixa, todos relataram que a amamentação estava associada com redução do peso pós-parto e dois deles apresentaram estimativas ajustadas para fatores de confusão.

Metanálise publicada por He e colaboradores em 2015 (HE *et al.*, 2015), incluiu oito estudos de coorte e três ensaios clínicos randomizados, sendo sete conduzidos nos Estados Unidos, um no Brasil, um na França, um na Geórgia e um na Croácia. Em relação aos ensaios clínicos, em um o objetivo foi avaliar o efeito da continuidade da

amamentação exclusiva em crianças dos quatro até os seis meses no peso materno pós-parto (incluído também na revisão de Kramer e Kakuma, 2004), enquanto outro estimou o efeito da suplementação alimentar de alta densidade nutricional e energética dos quatro aos sete meses na duração da amamentação e no peso materno. O terceiro buscou avaliar se a amamentação está associada à perda de peso materno pós-parto e quanto da perda é devido à suplementação de cálcio. Para isso, o grupo intervenção recebeu suplementação de cálcio e o controle placebo. Apesar da randomização não ter sido referente à prática alimentar infantil, o autor classificou o estudo como ensaio clínico randomizado, entendendo que este estudo deveria ser considerado como coorte, pois o resultado apresentado se refere à análise observacional. A maioria dos estudos incluídos foi pareada ou ajustou para fatores de confusão como idade, peso e IMC pré-gestacional, escolaridade e paridade. Para a metanálise, a análise foi realizada para quatro períodos de avaliação do peso pós-parto, e a amamentação exclusiva está associada com maior perda de peso no período de três a seis meses pós-parto (0,87kg, IC95%: 0,57; 1,17) e de nove meses ou mais (0,37kg, IC95%: 0,14; 0,61), embora não tenha apresentado associação no período de um a três (-0,09kg, IC95%: -0,76; 0,58) e de seis a nove meses pós-parto (0,21kg, IC95%: -0,42; 0,83). Os resultados não mudaram substancialmente após análise ser realizada em subgrupos de acordo com o tipo de estudo (RCT; coorte), qualidade - segundo critérios como taxa de acompanhamento, clara definição da exposição, desfecho e apresentação de critérios de inclusão e exclusão (<5; ≥5 pontos), população (americana; não americana), e ajuste para fatores de confusão (<6 ou ≥6 variáveis).

O ensaio comunitário incluído nessa revisão, teve como intervenção a promoção do aleitamento materno através da randomização de hospitais e policlínicas para implementação da Iniciativa Hospital Amigo da Criança, que através de dez passos enfatiza os cuidados com o início e manutenção do aleitamento materno, enquanto o grupo controle continuou com as práticas usuais (OKEN *et al.*, 2013). Na análise por intenção de tratar o IMC com 11,5 anos pós-parto foi menor no grupo que recebeu a intervenção (-0,27kg/m², IC95%: -0,91; 0,37), mas o intervalo de confiança englobou a nulidade.

Em relação aos estudos transversais e de coorte, os desfechos avaliados podem ser divididos em três grupos: retenção de peso no pós-parto, avaliando a mudança no peso em determinado período pós-parto em relação ao peso pré-gestacional

(BRANDHAGEN *et al.*, 2014 ; ENDRES *et al.*, 2015 ; KIRKEGAARD *et al.*, 2015); mudança de peso após o parto (BRITZ *et al.*, 2012 ; DA SILVA *et al.*, 2013 ; JARLENSKI *et al.*, 2014 ; MULLANEY *et al.*, 2015 ; PALMER *et al.*, 2015 ; ZANOTTI *et al.*, 2015 ; LOPEZ-OLMEDO *et al.*, 2016); e IMC (NATLAND *et al.*, 2012 ; BOBROW *et al.*, 2013 ; GROER *et al.*, 2013 ; TORRIS *et al.*, 2013 ; JARLENSKI *et al.*, 2014 ; ARMENTA *et al.*, 2015 ; HENRIQUES *et al.*, 2015), sendo que a maioria avaliou a mudança de peso ou IMC. A definição da amamentação também diferiu entre os estudos e, no tocante ao controle para fatores de confusão, apenas dois estudos apresentaram resultados brutos, mas a maioria não ajustou para nível socioeconômico ou incluiu poucos fatores na análise, sendo esses tópicos abordados na seção 2.3. Em relação aos resultados encontrados, um dos dois estudos transversais (NATLAND *et al.*, 2012) e onze dos doze estudos de coorte (BOBROW *et al.*, 2013 ; DA SILVA *et al.*, 2013 ; BRANDHAGEN *et al.*, 2014 ; JARLENSKI *et al.*, 2014 ; ARMENTA *et al.*, 2015 ; ENDRES *et al.*, 2015 ; HENRIQUES *et al.*, 2015 ; KIRKEGAARD *et al.*, 2015 ; PALMER *et al.*, 2015 ; ZANOTTI *et al.*, 2015 ; LOPEZ-OLMEDO *et al.*, 2016) observaram que amamentação reduz o peso ou IMC materno. Para os que não observaram associação, a direção das associações foi no mesmo sentido, com exceção de um estudo que avaliou como exposição o aleitamento materno exclusivo e a duração da amamentação, observando as associações em sentido oposto, mas incluiu ambas variáveis no modelo, o que pode ter enviesado os resultados dada a colinearidade entre elas (MULLANEY *et al.*, 2015).

Apesar de alguns estudos sugerirem que pode haver um efeito da amamentação na diminuição no peso e IMC materno, não há um consenso na literatura. Enquanto uma revisão sistemática apontou que a maioria dos estudos não observou associações estatisticamente significativas, uma metanálise verificou efeito apenas para determinados períodos pós-parto, não apresentando um padrão claro de associação. Além disso, como dito anteriormente, existe a possibilidade de confundimento residual, pois poucas variáveis socioeconômicas foram controladas nas análises.

Quadro 1. Associação entre amamentação e peso/IMC.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Fraser 2003	Revisão sistemática	Foram incluídos 28 estudos: 15 coortes prospectivas, 1 coorte retrospectiva, 1 transversal e 11 séries de casos	-	Mudança peso materno	-	Resultados são inconsistentes devido às diferenças metodológicas entre os estudos (população, período do estudo e definição da amamentação e mudança de peso). Autor cita necessidade de controle para fatores de confusão.
Kramer 2004	Revisão sistemática	Foram incluídos 20 estudos que avaliaram o efeito da amamentação em desfechos de saúde infantil e/ou materna	-	Mudança peso materno	-	Dados de dois ensaios clínicos sugerem que amamentação exclusiva por 6 meses está associada à perda de peso materno
Britz 2012 Estados Unidos	Coorte	948 mulheres Idade mediana de 40 anos	Duração média por filho em meses contínua e categórica (<6; 6-12; >12)	Mudança peso materno pós-parto 5-10 anos após primeiro parto (kg)	-	Não houve associação entre duração da amamentação e mudança no peso materno 5-10 anos após o primeiro parto ao comparar os grupos de mulheres que amamentaram <6 e >12 meses em relação à categoria 6-12 meses.
Natland 2012 Noruega	Transversal	21368 mulheres Idade entre 20 e 85 anos	Duração total em meses (nunca; 1-6; 7-12; 13-23; ≥24)	IMC (kg/m ²) Obesidade (IMC≥30 kg/m ²)	Idade materna, escolaridade, fumo, AF, estado civil, paridade	Interação com idade. Após ajuste para as covariáveis, mulheres com 50 anos ou menos que nunca amamentaram apresentaram IMC 2,5kg/m ² (P<0,001) maior do que aquelas que amamentaram ≥24 meses, enquanto que para mulheres acima de 50 anos não houve diferença. Nunca: média=27,6 (IC95%: 27,1; 28,1) 1-6: média= 26,1 (IC95%: 25,8; 26,5) 7-12: média=25,7 (IC95%: 25,4; 26,0) 13-23: média=25,3 (IC95%: 25,0; 25,6) ≥24: média=25,1 (IC95%: 24,8; 25,5) Em mulheres ≤50 anos, duração da amamentação teve associação inversa com obesidade (P de tendência<0,001), sendo que aquelas que não amamentaram tiveram 3 vezes

Quadro 1. Associação entre amamentação e peso/IMC.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
						maior odds de obesidade do que aquelas que amamentaram ≥ 24 meses. Para maior de 50 anos não houve associação. Nunca: RO=3,37 (IC95%: 2,51; 4,51) 1-6: RO=1,68 (IC95%: 1,36; 1,06) 7-12: RO=1,46 (IC95%: 1,21; 1,77) 13-23: RO=1,02 (IC95%: 0,85; 1,23) ≥ 24 meses: ref.
Brobow 2013 Reino Unido	Coorte	740628 mulheres Idade média de 57,5 anos	Duração total em meses (0; <6; 6-9; ≥ 10)	IMC (kg/m ²)	Idade, região de residência, paridade, status socioeconômico, fumo e AF	Após ajuste, duração da amamentação esteve associada com IMC. 0: ref <6: $\beta = -0,24$ (IC95%: -0,21; -0,26) 6-9: $\beta = -0,36$ (IC95%: -0,32; -0,40) ≥ 10 : $\beta = -0,53$ (IC95%: -0,50; -0,57) Além disso, mudança de IMC por cada 6 meses de amamentação foi -0,13 (IC95%: -0,11; -0,13).
da Silva 2013 Brasil	Coorte	325 mulheres Acompanhadas no parto e 24 meses após	Escore: cada mês amamentação exclusiva e predominante (2 pontos); complementar (1,5 pontos) e mista (1 ponto). Após 12 meses pós-parto, cada mês de qualquer grupo amamentação até 24 meses (0,5 pontos)	Mudança peso materno pós-parto (kg)	Condições sanitárias da residência, participação de programas de transferência de renda, tipo de parto e IMC pré-gestacional	Aumento de 1 ponto no escore de amamentação diminuiu 70g na média de peso $\beta = -0,070$ (P=0,002).
Groer 2013	Coorte	71 mulheres Acompanhadas 1 semana após o parto e nos meses 1 a 5	Exclusiva/predominante por 5 meses; fórmula infantil no mesmo período	IMC (kg/m ²)	-	No grupo que amamentou, diminuiu de 27,7 no 1º mês para 26,8 no 5º e no grupo fórmula infantil não houve mudança, embora essa diferença entre os grupos não seja significativa.
Oken 2013 Bielorrússia	Ensaio comunitário	11867 mulheres Acompanhadas 11,5 meses após o parto	Duração exclusiva em meses (<3; ≥ 3 -<6; ≥ 6)	IMC (kg/m ²)	Local hospital/policlínica, idade materna,	Em análise por intenção de tratar, aos 11,5 anos pós-parto, as médias de IMC e peso e o odds de obesidade foram menores no grupo intervenção

Quadro 1. Associação entre amamentação e peso/IMC.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
			Efeito/mês da amamentação exclusiva Duração em meses (<3; ≥3-<6; ≥6-<9; ≥9-<12; ≥12) Efeito/mês da amamentação Exclusiva <6 meses e amamentação ≥12 meses	Mudança peso materno pós-parto (kg) Obesidade (IMC≥30kg/m ²)	escolaridade, fumo e número de filhos na casa	do que no controle, apesar de não significativas. Além disso, foram atenuadas após ajuste para variáveis do <i>baseline</i> . Ao realizar análise usando duração da amamentação para cada mulher, como em um estudo observacional, mulheres do grupo amamentação exclusiva <6 meses e qualquer amamentação ≥12 apresentaram maior IMC ($\beta=0,47$, IC95%: -0,31; 1,25), mas a associação não foi significativa. Aos 6,5 anos, também não foi observado associação para peso, IMC e obesidade.
Torris 2013 Noruega	Transversal	98 mulheres Idade entre 25 e 35 anos	Duração média por filho em meses Duração total em meses	IMC (kg/m ²)	Idade, AF, tempo desde último parto, fumo, escolaridade e estado civil (ao avaliar amamentação total por mulher, incluiu número de filhos)	Não foi observado associação entre duração da amamentação e IMC. Aumento 1 mês amamentação: $\beta=-0,051$ (IC95%: -0,202; 0,101, P=0,508)
Brandhagen 2014 Noruega	Coorte	49675 (6 meses), 27187 (18 meses) e 17343 mulheres (36 meses) Acompanhadas 13-17 semanas de gestação e 6, 18 e 36 meses após o parto	Exclusiva em meses (até 6) Parcial em meses (até 6) Parcial 6-11 meses (sim; não) Parcial 12-18 meses (sim; não)	Mudança peso materno em relação ao peso pré-gestacional (kg e kg/mês)	IMC pré-gestacional, ganho de peso gestacional, idade materna e paridade	Aos 6 meses, após ajuste para confusão, duração da amamentação exclusiva ($\beta=-0,50$ kg/mês, IC95%: -0,53; -0,47) e parcial até 6 meses ($\beta=-0,25$ kg/mês, IC95%: -0,28; -0,22) esteve associada à menor retenção de peso. Aos 18, apenas amamentação exclusiva até 6 meses ($\beta=-0,10$ kg/mês, IC95%: -0,17; -0,03) e parcial dos 12 aos 18 meses ($\beta=-0,29$ kg, IC95%: -0,42; -0,16) esteve associada ao menor peso e aos 36 meses foi observado associação apenas para exclusiva até 6 meses ($\beta=-0,14$ kg/mês, IC95%: -0,23; -0,04). Foi observado interação entre renda e amamentação exclusiva e parcial até 6 meses no acompanhamento dos 6 meses, e renda e exclusiva até 6 meses nos demais acompanhamentos (p<0,01), sendo menor

Quadro 1. Associação entre amamentação e peso/IMC.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
						retenção de peso em mulheres com menor renda (maior efeito).
Jarlenski 2014 Estados Unidos	Coorte	2102 mulheres Acompanhadas no último trimestre da gestação e 3, 6, 9 e 12 meses pós-parto	Exclusiva primeiros 3 meses; não exclusiva primeiros 3 meses ou não amamentou Não exclusiva primeiros 3 meses; não exclusiva <3 meses ou não amamentou	Mudança peso materno pós-parto em relação ao peso mais alto da gestação (lbs) IMC (kg/m ²)	Idade, raça, paridade, escolaridade, filho participa do <i>Special Supplemental Nutrition Program for Women, Infants and Children</i> , obesidade pré-gestacional, cobertura seguro pré-natal, fumo três meses pós-parto, ter tido parto cesáreo, filho na unidade de terapia intensiva neonatal por três dias ou menos após nascimento e suporte para amamentação	Ao comparar com mulheres que não amamentaram ou não amamentaram exclusivamente nos primeiros 3 meses pós-parto, amamentação exclusiva foi associada à maior perda de peso aos 6 ($\beta=1,3$ lbs, IC95%: 0,2; 2,5), 9 ($\beta=3,7$ lbs, IC95%: 2,3; 5,2) e 12 meses pós-parto ($\beta=3,2$ lbs, IC95%: 1,4; 4,7), aumento de 6,0 p.p. (IC95%: 2.3; 9.7) na probabilidade de retornar para a mesma ou menor categoria de IMC pré-gestacional aos 12 meses pós-parto, e 6,1 p.p. (IC95%: 1,0; 11,3) de retornar ao peso igual ou menor no mesmo período. Amamentação não exclusiva nos primeiros 3 meses pós-parto não foi associada com os desfechos avaliados.
Neville 2014	Revisão sistemática	Estudos observacionais (prospectivos e retrospectivos) publicados até junho de 2012 Foram incluídos 37 estudos prospectivos e 8 retrospectivos	-	Mudança peso materno pós-parto, incluindo retenção no peso, e/ou composição corporal	-	A maioria dos estudos reportaram pequena ou nenhuma associação entre amamentação e mudança no peso materno, mas esse resultado parece depender do momento em que as medidas que compõem o desfecho foram avaliadas e da intensidade da amamentação. Dos 14 estudos que mostraram associação entre amamentação e mudança no peso materno, 6 não ajustaram para fatores de confusão. Entre os 5 estudos considerados de alta qualidade metodológica, 4 apresentaram associação positiva entre amamentação e mudança no peso.
Armenta 2015	Coorte	436 mulheres	Sim; não	IMC na menopausa (kg/m ²)	Raça/etnia, idade e AF	Mulheres que amamentaram tiveram menor IMC comparado com quem não amamentou

Quadro 1. Associação entre amamentação e peso/IMC.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Estados Unidos		Idade entre 55 e 80 anos	Duração média por filho em meses (≤ 3 ; > 3)			($\beta = -1,2$, $P = 0,01$). Não foi observada associação para duração da amamentação ($\beta = -0,33$, $P = 0,60$).
Chowdhury 2015	Revisão sistemática	Atualizou revisão sistemática de Neville (2014) com publicações até fevereiro de 2015. Incluiu outras 5 publicações.	-	-	-	Conclui que o efeito da amamentação na mudança de peso pós-parto segue indefinido.
Endres 2015 Estados Unidos	Coorte	774 mulheres. Idade média de 26 anos no parto. Acompanhadas no parto e 1, 6 e 12 meses após.	Sim; não (aos 6 meses)	Mudança peso materno em relação ao peso pré-gestacional ($< 19\text{lbs}$; $\geq 20\text{lbs}$)	Idade, raça, gestação não planejada, ganho de peso durante gestação, IMC pré-gestacional, tipo de seguro, estado civil, trabalho, sono, fumo aos 6 meses, AF e contraceptivo hormonal.	Estar amamentando aos 6 meses diminuiu risco de retenção de peso excessivo ($\geq 20\text{lbs}$) um ano após o parto (RO=0,46, IC95%: 0,24; 0,87).
He 2015	Revisão sistemática e meta-análise	Estudos de coorte e ensaios clínicos randomizados publicados até outubro de 2014. Incluiu 3 ensaios clínicos randomizados e 10 estudos de coorte.	Amamentação; fórmula infantil	Mudança peso materno pós-parto (kg) nos períodos 1- ≤ 3 ; > 3 - ≤ 6 ; > 6 - ≤ 9 ; > 9 - ≤ 12 meses pós-parto.	5 estudos ajustaram para < 6 fatores de confusão e 6 para ≥ 6 .	Foram encontrados 26 estudos, 15 não cumpriam critérios de inclusão/exclusão. 9 dos 13 estudos incluídos apresentaram efeito protetor da amamentação em relação à retenção de peso pós-parto. 11 estudos foram incluídos na meta-análise. Em relação ao grupo fórmula-infantil, amamentar > 3 a ≤ 6 meses parece estar associado à perda de peso, enquanto > 6 meses apresentou pequeno ou nenhum efeito.
Henriques 2015 Portugal	Coorte	1847 mulheres. Acompanhadas no parto e 4 anos após.	Duração em semanas (nunca; ≤ 26 ; > 26)	Estado nutricional: IMC normal; excesso de peso (com perfil metabólico saudável; não	Idade, história familiar de doença cardiovascular/ fatores de risco cardiometabólicos, uso de contraceptivo hormonal e AF.	Mulheres que amamentaram o filho por > 26 semanas foram menos propensas a serem obesas com perfil metabólico não saudável (RO=0,39, IC95%: 0,23; 0,68).

Quadro 1. Associação entre amamentação e peso/IMC.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
				saudável); obesidade (com perfil metabólico saudável; não saudável)		
Kirkegaard 2015 Dinamarca	Coorte	23701 mulheres Idade média de 31,8 anos Acompanhadas durante a gestação, aos 6 e 18 meses e 7 anos após o parto	Duração em semanas (<20; 20-<40; ≥40)	Mudança peso materno em relação ao peso pré-gestacional (kg)	IMC pré-gestacional, idade, paridade, status sócio-ocupacional, dieta, AF lazer, sedentarismo no lazer e fumo	Em relação à mudança de peso entre período pré-gestacional e 7 anos após o parto, amamentar <20 semanas esteve associado com maior ganho de peso em relação à 20-<40 semanas, enquanto amamentar além de 40 semanas não pareceu diminuir o ganho de peso em relação a esse último grupo. <20: $\beta=0,44$ (IC95%: 0,20; 0,68) 20-<40: ref. ≥40: $\beta=0,12$ (IC95%: -0,07; 0,32)
Mullaney 2015 Irlanda	Coorte	470 mulheres Idade média de 30,8 anos no <i>baseline</i> Acompanhadas no primeiro trimestre da gestação e 4 meses após o parto	Exclusiva; fórmula infantil Escala (1 ponto/semana para exclusiva e 0,5 para parcial)	Mudança peso materno após <i>baseline</i> (kg)	Obesidade no início da gestação, paridade, estágio da gestação no <i>baseline</i> , peso ao nascer do filho, dieta, AF e duração da amamentação	Aos 4 meses pós-parto, após ajuste para confusão, não houve diferença na mudança de peso materno ao avaliar a escala de amamentação (RO=1,015, IC95%: 1,0; 1,11) e comparar amamentação exclusiva com o grupo fórmula infantil (RO=0,9, IC95%: 0,4; 2,2)
Palmer 2015 Estados Unidos	Coorte	3147 mulheres afro-americanas Acompanhadas no ano em que tiveram o primeiro filho e 4 e 8 anos após o parto	Sim; não Duração em meses (nunca; <3; 3-5; 6-11; ≥12)	Mudança peso materno pós-parto (kg)	Idade, ganho de peso gestacional, prematuridade, AF, padrão alimentar, escolaridade, partos e lactação durante acompanhamento	Interação para IMC≥30kg/m ² pré-gestacional. Após ajuste, em mulheres não obesas a diferença entre as médias 4 anos após o parto foi de -1,56kg (IC95%: -2,50; -0,61) para o grupo com ≥12 meses de amamentação em relação ao grupo que não amamentou e 2,33kg (IC95%: -0,35; 5,01) entre as obesas. As diferenças persistiram 8 anos após o parto.

Quadro 1. Associação entre amamentação e peso/IMC.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Zanotti 2015 Brasil	Coorte	145 mulheres Idade entre 19 e 45 anos no parto Acompanhadas no 1º dia e 1, 3 e 6 meses após parto	Sim; não (exclusiva)	Mudança peso materno pós-parto (kg)	Paridade, intervalo intergestacional, consumo calórico, IMC pré-gestacional, ganho de peso, depressão, escolaridade e estado civil	Após ajuste, mulheres que amamentaram exclusivamente tiveram maior perda de peso ($\beta=0,153$, $P=0,045$).
López-Olmedo 2016 México	Coorte (dentro de um ensaio comunitário)	314 mulheres Acompanhadas na gestação e no 1º e 3º mês pós-parto	Exclusiva; predominante; complementar; não amamentou	Mudança peso materno pós-parto (kg)	Consumo energético, AF, paridade, idade, taxa de ganho de peso gestacional, fumo durante gravidez, prematuridade, nível socioeconômico e tipo de suplemento nutricional	Análise secundária de um ensaio que randomizou suplementação nutricional em gestantes. Mulheres que amamentaram exclusivamente até 3 meses tiveram maior perda de peso, no período entre o 1º e o 3º mês após o parto, em relação às mulheres que não amamentaram ($\beta=-4,1$ kg, $P=0,04$), após controlar para possíveis fatores de confusão.

AF = atividade física; IMC = índice de massa corporal

β = coeficiente de regressão linear; RO = razão de odds; IC95% = intervalo de confiança de 95%

2.2.2. Amamentação e adiposidade abdominal

Foram identificados dez estudos de coorte (BREWER *et al.*, 1989 ; CHOU *et al.*, 1999 ; GIGANTE *et al.*, 2001 ; WOSJE; KALKWARF, 2004 ; GUNDERSON *et al.*, 2007 ; MCCLURE *et al.*, 2011 ; MCCLURE *et al.*, 2012 ; WIKLUND *et al.*, 2012 ; ARMENTA *et al.*, 2015 ; MULLANEY *et al.*, 2015) e quatro transversais (RAM *et al.*, 2008 ; KULKARNI *et al.*, 2010 ; NATLAND *et al.*, 2012 ; TORRIS *et al.*, 2013), a maioria realizado em países de alta renda, que avaliaram a relação entre amamentação e adiposidade abdominal maternal. A descrição resumida dos estudos se encontra no Quadro 2.

As técnicas utilizadas para avaliar a adiposidade abdominal variaram. A medida mais frequentemente utilizada foi a circunferência da cintura, e entre as outras podem ser citadas: razão cintura/quadril; gordura abdominal total, visceral e subcutânea; massa gorda do tronco e região androide; e dobra cutânea supriliaca. Similar ao apontado na seção anterior, os estudos também diferiram no que diz respeito à definição da amamentação. Com relação ao controle para confusão, todos os estudos transversais ajustaram as estimativas, enquanto dois dos de coorte não o fizeram (CHOU *et al.*, 1999 ; MULLANEY *et al.*, 2015). Mas, a maioria deles ou não ajustou para variáveis socioeconômicas ou o fez para poucos fatores socioeconômicos, como será discutido na seção 2.3.

A associação entre amamentação e adiposidade abdominal variou entre as diferentes técnicas utilizadas. Por exemplo, entre os estudos que avaliaram simultaneamente mais de uma medida de adiposidade abdominal, quatro encontraram resultados diferentes dependendo da técnica empregada (MCCLURE *et al.*, 2011 ; MCCLURE *et al.*, 2012 ; TORRIS *et al.*, 2013 ; ARMENTA *et al.*, 2015), mas para todos que observaram associação, essa foi na direção da proteção. Dos artigos que avaliaram a circunferência da cintura, quatro observaram um efeito protetor da amamentação (GIGANTE *et al.*, 2001 ; MCCLURE *et al.*, 2011 ; NATLAND *et al.*, 2012 ; ARMENTA *et al.*, 2015) e três não encontraram diferença estatisticamente significativa, mas em dois a direção da associação foi no mesmo sentido dos demais (GUNDERSON *et al.*, 2007 ; TORRIS *et al.*, 2013), enquanto o terceiro não apresentou um padrão claro de associação (MCCLURE *et al.*, 2012).

Embora os estudos revisados sugiram que a amamentação pode estar associada à uma redução na adiposidade abdominal materna, a evidência ainda não está estabelecida. Não foram

identificados estudos de metanálise combinando os achados, além disso, existe a possibilidade de confusão residual, já que a maior parte dos estudos foram realizados em países de alta renda e ajustaram as estimativas para poucas variáveis socioeconômicas.

Quadro 2. Associação entre amamentação e adiposidade abdominal.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Brewer 1989 Estados Unidos	Coorte	70 mulheres Acompanhadas no parto, 1-2 dias e 3 e 6 meses após	Exclusiva; fórmula infantil; amamentação/fórmula combinadas nos primeiros 6 meses	Dobra cutânea suprailíaca (mm)	Idade, paridade, IMC pré-gestacional, medida inicial do desfecho, consumo energético, gasto energético atribuído à lactação	No período de 6 meses, houve diferença na dobra suprailíaca para os três grupos de amamentação, mas aos 3 meses, não houve diferença para o grupo de amamentação mista. Dos 3 aos 6 meses, houve declínio significativo para os grupos de amamentação exclusiva e amamentação/fórmula combinadas.
Chou 1999 Estados Unidos	Coorte	20 mulheres Idade entre 17 e 35 anos Acompanhadas na primeira, 6ª e 12ª semana após o parto	Amamentação; fórmula infantil	CC (cm) Dobra cutânea suprailíaca (mm)	-	Os dois grupos apresentaram redução na CC na 12ª semana, ao comparar com a medida na semana do parto. Não houve diferença para dobra cutânea suprailíaca.
Gigante 2001 Brasil	Coorte	312 mulheres Idade média 33,5 anos Acompanhadas no momento do parto e 5 anos após	Exclusiva/predominante; parcial; cessaram amamentação Exclusiva/predominante; parcial/cessaram amamentação Duração em meses (<1; 1-2,9; 3-5,9; 6-11,9; ≥12)	CC (cm) RCQ	Renda, escolaridade, classe social, idade, paridade, cor da pele, divórcio, atividade física, peso pré-gestacional, ganho de peso gestacional, ingestão de gordura e fibra, trabalho e horas de sono	Após ajuste para fatores de confusão, não houve associação entre duração da amamentação e padrão em três categorias e CC e RCQ, mas ao avaliar padrão de amamentação de maneira dicotômica, as mulheres que amamentaram exclusivamente por 4 meses tiveram menor CC e menor RCQ do que o grupo que cessou aleitamento ou amamentou parcialmente pelo mesmo período.
Wosje 2004 Estados Unidos	Coorte (dentro de um ensaio comunitário)	168 mulheres Acompanhadas 2 semanas, 3 e 6 meses após o parto (estudo da amamentação) e 158 acompanhadas aos 6, 9 e 12 meses pós-	Estudo amamentação: grupo amamentação (intenção de amamentar por ≥6 meses e dar fórmula infantil no máximo uma vez ao dia); grupo fórmula infantil	Massa gorda do tronco (kg)	Idade, ingestão de cálcio, ganho de peso gestacional	Entre 2 semanas e 6 meses pós-parto, perda de massa gorda do tronco ocorreu em todos os grupos, independentemente do método de alimentação infantil ou grupo de alocação, mas pareceu acontecer de maneira mais rápida nos grupos de mulheres que não amamentaram.

Quadro 2. Associação entre amamentação e adiposidade abdominal.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
		parto (estudo desmame)	Estudo desmame: grupo amamentação (exclusiva aos 6 meses e desmamou durante próximos 2 meses); não amamentação (nunca amamentou ou ≤ 2 semanas)			
Gunderson 2007 Estados Unidos	Coorte	1051 mulheres Idade entre 24 e 42 anos Acompanhadas por 3 anos	Não tiveram filho no período; tiveram filho e não amamentaram; tiveram filho e amamentaram Duração em meses (<3 ; ≥ 3)	CC (cm)	Raça, idade, IMC, escolaridade, paridade, fumo, uso contraceptivo oral	A média de CC aumentou nos dois grupos que tiveram filhos (amamentaram/não amamentaram) em comparação com quem não teve filhos ($P<0,05$). O incremento foi 2,1, 5,3 e 4,9 nos grupos não teve filhos, não amamentou e amamentou, respectivamente. Não houve diferença entre quem amamentou e não amamentou.
Ram 2008 Estados Unidos	Transversal	2516 mulheres Média de idade de 46,7 anos	Sim; nunca Duração total em meses (até um ano)	Obesidade abdominal (CC >80 cm para chineses e japoneses e >88 para caucasianos, afro-americanos e hispânicos)	Idade, fumo, paridade, etnia, local do estudo, posição socioeconômica, AF, ingestão calórica e IMC no ensino médio	Após ajuste, grupo que amamentou alguma vez teve menor odds de obesidade abdominal do que o que nunca amamentou (RO=0,70, IC95%: 0,58; 0,86). Duração da amamentação também apresentou associação com o desfecho (RO=0,86, IC95%: 0,78; 0,96).
Kulkarni 2010	Transversal	278 mulheres Idade média 40,8 anos	Duração da amamentação	Massa gorda do tronco (kg)	Idade, altura, peso, período menopausa, paridade, ocupação	Após ajuste, duração da amamentação não esteve associada à massa gorda do tronco ($\beta=0,15$, $P=0,466$).
McClure 2011 Estados Unidos	Coorte	351 mulheres Idade entre 45 e 58 anos	Nunca; amamentou, mas não todos os filhos; amamentou todos os filhos por ≥ 3 meses	Gordura abdominal total (cm ²) Gordura abdominal visceral (cm ²) Gordura abdominal subcutânea (cm ²)	Idade, paridade, local do estudo, anos desde o último parto, raça, escolaridade, dificuldade financeira, fumo, álcool, AF, dieta, uso de vitaminas, estresse, sintomas	Interação para período da menopausa. Em mulheres em período pré e peri-menopausa precoce, aquelas que nunca amamentaram tiveram maior gordura visceral ($\beta=0,25$, IC95%: 0,10; 0,40), razão gordura abdominal visceral/total ($\beta=0,18$, IC95%: 0,016; 0,34), RCQ ($\beta=0,047$, IC95%: 0,019; 0,074) e CC ($\beta=6,49$, IC95%: 3,71; 9,26) do que as que amamentaram todos os filhos por ≥ 3 meses. Não foi observado associação para

Quadro 2. Associação entre amamentação e adiposidade abdominal.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
				Razão gordura abdominal visceral/total CC (cm) RCQ	depressivos, ansiedade, IMC vida adulta precoce, história familiar de diabetes, infarto e AVC, peso máximo durante gestação e IMC atual	os demais desfechos e nas mulheres em período peri-menopausa tardio e pós-menopausa.
McClure 2012 Estados Unidos	Coorte	89 mulheres Avaliadas 4 a 12 anos após o parto	Amamentou todos os filhos ≥ 3 meses; amamentou pelo menos um filho < 3 meses; nunca amamentou	Gordura abdominal total (cm ²) Gordura abdominal visceral (cm ²) Gordura abdominal subcutânea (cm ²) CC (cm)	Idade, paridade, idade gestacional, anos desde o último parto, raça, escolaridade, renda, fumo, AF, suplemento vitamínico, otimismo, ansiedade, IMC vida adulta precoce, ganho de peso gestacional máximo, história familiar de diabetes, infarto e AVC, IMC atual	Após ajuste, gordura abdominal visceral foi maior em mulheres que nunca amamentaram ($\beta = 36,96$; IC95%: 20,92; 53,01) e que amamentaram pelo menos um filho por < 3 meses ($\beta = 20,38$; IC95%: 2,70; 38,06), em relação àquelas que amamentaram todos os filhos ≥ 3 meses. Não foi observado associação para os outros desfechos.
Natland 2012 Noruega	Transversal	21368 mulheres Idade entre 20 e 85 anos	Duração total em meses (nunca; 1–6; 7–12; 13–23; ≥ 24)	CC (cm)	Idade materna, escolaridade, fumo, AF, estado civil, paridade	Interação com idade. Após ajuste para as covariáveis, mulheres com 50 anos ou menos que nunca amamentaram apresentaram CC 5,3cm maior do que aquelas que amamentaram ≥ 24 meses ($P < 0,001$), enquanto que para mulheres acima de 50 anos, a diferença foi 1,5cm ($P = 0,03$).
Wiklund 2012 Finlândia	Coorte	212 mulheres Idade entre 36 e 60 anos	Duração média por filho em meses (< 6 ; 6–10; > 10)	Massa gorda região androide (%)	Escolaridade	Mulheres que amamentaram < 6 meses tiveram maior % massa gorda na região androide (46,5%) do que as que amamentaram 6–10 (39,0%) e > 10

Quadro 2. Associação entre amamentação e adiposidade abdominal.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
						meses (38,4%) (P<0,01), e a associação se manteve após ajuste para escolaridade (P<0,05).
Torris 2013 Noruega	Transversal	98 mulheres Idade entre 25 e 35 anos	Duração média por filho em meses: contínua e dicotômica (<10 meses; ≥10) Duração total em meses	CC (cm) CC ≥80cm RCQ RCQ >0,85	Idade, AF, tempo desde último parto, fumo, escolaridade e estado civil (ao avaliar amamentação total por mulher, incluiu número de filhos)	Na análise bruta, mulheres que em média amamentaram menos de 10 meses por criança tiveram maiores níveis de RCQ e maior frequência de RCQ >0,85 do que as que amamentaram ≥10 meses, enquanto para CC não foi observada associação. Ao avaliar CC e RCQ e amamentação em meses de maneira contínua, foi observado associação inversa entre amamentação e RCQ após ajuste. Para amamentação total, ao ajustar também para número de filhos, houve associação com CC e RCQ.
Armenta 2015 Estados Unidos	Coorte	436 mulheres Idade entre 55 e 80 anos	Sim; não Duração por filho em meses (≤3; >3)	Gordura visceral (cm ³) Gordura subcutânea (cm ³) Gordura abdominal (%) CC (cm)	Raça/etnia, idade e AF	Após ajuste, não houve diferença entre o grupo que amamentou e o que não o fez. No tocante à duração da amamentação, mulheres que amamentaram >3 meses apresentaram menor CC em relação ao grupo que amamentou ≤3 (β = -3,2; P<0,01) e menor gordura abdominal visceral* (β = -8,8; P<0,01), enquanto não houve associação com demais desfechos * após ajustar também para IMC e diabetes
Mullaney 2015 Irlanda	Coorte	470 mulheres Idade média de 30,8 anos no <i>baseline</i> Acompanhadas no primeiro trimestre da gestação e 4 meses após o parto	Exclusiva, parcial ou fórmula infantil	Nível gordura visceral Massa gorda do tronco (kg e %)	-	Aos 4 meses pós-parto, não houve diferença no nível de gordura visceral e na massa gorda do tronco entre os grupos de amamentação.

AF = atividade física; IMC = índice de massa corporal; CC = circunferência da cintura; RCQ = razão cintura/quadril; AVC = acidente vascular cerebral
β = coeficiente de regressão linear; IC95% = intervalo de confiança de 95%

2.2.3. Amamentação e pressão arterial

Foram identificados treze estudos: um ensaio comunitário (OKEN *et al.*, 2013), oito coortes (LEE *et al.*, 2005 ; GUNDERSON *et al.*, 2007 ; SCHWARZ *et al.*, 2009 ; STUEBE, A. M. *et al.*, 2011 ; EBINA; KASHIWAKURA, 2012 ; WIKLUND *et al.*, 2012 ; GROER *et al.*, 2013 ; LUPTON *et al.*, 2013) e quatro transversais (RAM *et al.*, 2008 ; NATLAND *et al.*, 2012 ; TORRIS *et al.*, 2013 ; ZHANG *et al.*, 2015). A descrição resumida dos estudos se encontra no Quadro 3.

Os desfechos avaliados foram pressão arterial sistólica e diastólica e a prevalência de hipertensão. A presença de hipertensão foi avaliada das seguintes maneiras: autorrelato, relato da utilização de medicamentos, diagnóstico médico e/ou medida da pressão arterial. Além disso, também foram avaliadas médias e categorias de pressão sistólica e diastólica. De maneira semelhante às seções anteriores, a definição da amamentação variou entre os estudos (ver seção 2.3).

Oken e colaboradores (OKEN *et al.*, 2013) avaliaram o efeito da amamentação na pressão arterial em um ensaio comunitário realizado em Honduras. O grupo intervenção foi alocado para receber a intervenção Hospital Amigo da Criança, enquanto o grupo controle continuou com práticas alimentares habituais. Como resultado da análise por intenção de tratar, a pressão arterial sistólica (diferença média=-0,81, IC%: -3,33; 1,71) e diastólica (diferença média=-1,09, IC95%: -2,43; 0,25) e o odds de HAS (RO=0,79, IC95%: 0,46; 1,37) foram menores no grupo alocado para receber a intervenção, mas as diferenças não foram estatisticamente significativas. Ao fazer a análise observacional, mulheres que amamentaram pelo período de seis a nove meses apresentaram menor pressão arterial sistólica do que as que amamentaram menos de 3 meses (β =-1,19, IC95%: -2,12; -0,25). Para os demais grupos de amamentação, e para aleitamento materno exclusivo, não foi observada associação nem um padrão na direção das medidas de efeito. Em relação à pressão arterial diastólica, o autor não apresenta os resultados, mas relata que foram semelhantes aos obtidos para pressão sistólica.

Em relação aos estudos observacionais, na maioria a duração e a intensidade da amamentação se mostraram associadas a menores níveis de pressão arterial (EBINA *et al.*, 2012 ; NATLAND *et al.*, 2012 ; WIKLUND *et al.*, 2012 ; GROER *et al.*, 2013) e ocorrência de hipertensão (LEE *et al.*, 2005 ; SCHWARZ *et al.*, 2009 ; STUEBE, A. M. *et al.*, 2011 ;

NATLAND *et al.*, 2012 ; LUPTON *et al.*, 2013 ; ZHANG *et al.*, 2015). Para os que não observaram associações estatisticamente significativas, um apresentou menor aumento na pressão diastólica nas mulheres que amamentaram em relação às que não o fizeram três anos após o parto e o contrário para pressão sistólica (GUNDERSON *et al.*, 2007), enquanto o outro apresentou maior pressão arterial sistólica e diastólica de acordo com a amamentação (TORRIS *et al.*, 2013). Apesar disso, os achados devem ser avaliados com cautela, já que os estudos podem ser suscetíveis a confundimento residual, pois controlaram para nenhum ou poucos fatores socioeconômicos. Além disso, alguns estudos (SCHWARZ *et al.*, 2009 ; LUPTON *et al.*, 2013 ; ZHANG *et al.*, 2015) ajustaram de maneira inadequada para estado nutricional em período posterior à ocorrência da amamentação, que é um possível fator mediador, o que será discutido na seção 2.3.

Não foram identificados estudos de metanálise sumarizando os achados. Ademais, diante das limitações apontadas pela revisão, como ajuste para mediador (estado nutricional materno posterior à amamentação) e possibilidade de confusão residual por nível socioeconômico, o efeito da amamentação na pressão arterial materna ainda não é conclusivo.

Quadro 3. Associação entre amamentação e pressão arterial.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Lee 2005 Coréia do Sul	Coorte	177749 mulheres Idade média de 32,2 anos no <i>baseline</i> Acompanhadas por 6 anos	Duração total em meses (0; 1-6; 7-12; 13-18; 19-24; >24)	HAS (PAS/PAD $\geq 140/90$ mmHg ou uso atual de medicamentos anti-hipertensivos)	Idade, idade de menarca, número de filhos, idade na primeira gestação, uso de contraceptivos orais, fumo, exercícios e obesidade	Após ajuste, mulheres que amamentaram 1 a 6 (RR=0,90, IC95%: 0,87; 0,93), 7 a 12 (RR=0,92, IC95%: 0,87; 0,98) ou 13 a 18 meses de amamentação (RR=0,93, IC95%: 0,86; 0,99) apresentaram menor risco de HAS. Ao inserir termo de interação entre amamentação e obesidade, ser obeso e não amamentar apresentou maior risco para HAS (P de interação=0,028).
Gunderson 2007 Estados Unidos	Coorte	1051 mulheres Idade entre 24 e 42 anos Acompanhadas por 3 anos	Não tiveram filho no período; tiveram filho e não amamentaram; tiveram filho e amamentaram Duração em meses (<3; ≥ 3)	PAS e PAD (mmHg)	Raça, idade, IMC, escolaridade, paridade, fumo, uso contraceptivo oral	No período de 3 anos, não houve diferença na PAS e PAD entre os grupos de exposição, mesmo após ajuste.
Ram 2008 Estados Unidos	Transversal	2516 mulheres Média de idade de 46,7 anos	Sim; nunca Duração total em meses (até um ano)	PA elevada (PAS ≥ 130 ou PAD ≥ 85 mmHg ou uso de medicação para hipertensão)	Idade, fumo, paridade, etnia, local do estudo, posição socioeconômica, AF, ingestão calórica e IMC no ensino médio	Após ajuste, grupo que amamentou alguma vez teve menor odds de PA elevada do que o que nunca amamentou (RO=0,83, IC95%: 0,68; 1,00, P=0,048). Duração da amamentação também apresentou associação com o desfecho (RO=0,90, IC95%: 0,81; 1,00, P=0,043).
Schwarz 2009 Estados Unidos	Coorte	139681 mulheres Idade mediana 63 anos	Duração total em meses (não amamentou; 1-6; 7-12; 13-23; ≥ 24)	HAS (autorrelato de tratamento para hipertensão ou PAS/PAD $\geq 140/90$ mmHg)	Idade materna, raça, paridade, idade na menopausa, escolaridade, renda, história familiar (diabetes, infarto, AVC), AF, dieta, fumo, reposição hormonal, uso de aspirina e vitamina e IMC	Após ajustar para variáveis sociodemográficas, estilo de vida, história familiar, o aumento na duração da amamentação esteve associado com menor hipertensão (dose-resposta). Mulheres com mais de 12 meses de amamentação tiveram menor odds de hipertensão do que as que nunca amamentaram (RO=0,88, P<0,001) e, após incluir IMC no ajuste, a associação foi similar.

Quadro 3. Associação entre amamentação e pressão arterial.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Stuebe 2011 Estados Unidos	Coorte	55636 mulheres Acompanhadas de 1991 a 2005	Duração em meses para primeiro filho (nunca; >3-6; >6-9; >9-<12; ≥12) Duração em meses por filho (nunca; >3-6; >6-9; >9-<12; ≥12) Exclusiva em meses para primeiro filho (nunca; amamentou, mas não exclusivamente; >0-3; >3-<6; ≥6 exclusiva) Exclusiva em meses por filho (nunca; amamentou, mas não exclusivamente; >0-3; >3-<6; ≥6 exclusiva)	HAS autorrelatada	Idade e peso da probabilidade inversa, (derivado para a probabilidade de cada categoria de exposição em função do IMC materno aos 18 anos), história de complicação na gestação (pré-eclâmpsia, HAS e diabetes mellitus gestacional, filho pré-termo, baixo peso e natimorto) fumo, AF vigorosa, álcool, dieta para HAS, história familiar de HAS, uso de contraceptivos orais, uso de analgésicos e raça	Após ajuste, houve associação linear entre duração da amamentação e HAS. Risco de hipertensão foi maior para quem nunca amamentou em relação a quem amamentou ≥12 meses o primeiro filho (HR=1,27, IC95%: 1,18; 1,36) e após ajuste para IMC permaneceu significativo (HR=1,22, IC95%: 1,13; 1,31). Em relação à amamentação exclusiva, após ajuste, mulheres que não amamentaram tiveram risco maior de hipertensão do que as que amamentaram o primeiro filho exclusivamente por ≥6 meses (HR=1,29, IC95%: 1,20; 1,40) e essa relação foi atenuada ao ajustar também para IMC. Aquelas mulheres que nunca amamentaram tiveram maior risco de HAS do que o grupo que amamentou em média ≥ 12 meses cada filho (HR=1,22, IC95%: 1,13; 1,32).
Ebina 2012 Japão	Coorte	407 mulheres Idade média de 26,7 anos	Exclusiva; amamentação e fórmula infantil; apenas fórmula infantil (um mês pós-parto)	PAS e PAD (mmHg)	-	Média de PAS um mês pós-parto no grupo de amamentação exclusiva (118,4 ± 8,7mmHg) foi menor do que no grupo de alimentação mista (120,6 ± 9,3mmHg) e fórmula infantil (122,0 ± 9,9mmHg) (P<0,05). Nenhuma diferença foi observada para PAD.
Natland 2012 Noruega	Transversal	21368 mulheres Idade entre 20 e 85 anos	Duração total em meses (nunca; 1-6; 7-12; 13-23; ≥24)	PAS e PAD (mmHg) HAS (PAS/PAD ≥140/90mmHg ou uso atual de	Idade materna, escolaridade, fumo, AF, estado civil, paridade	Interação com idade. Em mulheres com 50 anos ou menos, duração da amamentação ao longo da vida foi inversamente associada com média de PAS e PAD (P<0,001), após ajuste. Ao comparar o grupo que nunca amamentou em relação ao que amamentou

Quadro 3. Associação entre amamentação e pressão arterial.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
				medicamentos anti-hipertensivos)		≥24 meses, a RO de hipertensão foi de 1,88 (IC95%: 1,41; 2,51). Para mulheres acima de 50 anos, não houve diferença.
Wiklund 2012 Finlândia	Coorte	212 mulheres Idade entre 36 e 60 anos	Duração média por filho em meses (<6; 6–10; >10)	PAS e PAD (mmHg)	Escolaridade	Mulheres que amamentaram <6 meses tiveram maiores médias de PAS e PAD do que as que amamentaram 6–10 e >10 meses (P<0,05), e a associação se manteve após ajuste para escolaridade.
Groer 2013	Coorte	71 mulheres Acompanhadas 1 semana após o parto e nos meses 1 a 5	Exclusiva/predominante por 5 meses; fórmula infantil no mesmo período	PAS e PAD (mmHg)	IMC	Na análise bruta e ajustada para IMC, o grupo que amamentou apresentou menor PAS no período do que o grupo fórmula infantil (P<0,05). O grupo que amamentou também teve menor PAD (P=0,03), mas após ajuste para IMC perdeu a significância (P=0,07).
Lupton 2013 Austrália	Coorte	81912 mulheres 45 anos ou mais	Não teve filhos; teve filho e amamentou; teve filho e nunca amamentou Duração total em meses (nunca; 1-<3; 3-<6; 6-<12; 12-<18; 18-<24; ≥24) Duração por filho em meses (nunca; 1-<3; 3-<6; 6-<12; 12-<18; ≥18)	HAS (tratamento para pressão alta no último mês)	Idade atual, país de origem, renda, IMC, fumo, álcool, AF, história familiar de HAS, história de uso de contraceptivo oral e terapia de reposição hormonal	Após ajuste, o grupo que teve filho e amamentou teve menor odds de hipertensão do que mulheres que não tiveram filho (RO=0,89, IC95%: 0,82; 0,97, P<0,001). Não houve diferença entre mulheres que tiveram filhos e não amamentaram e aquelas que não tiveram filhos. Mulheres que amamentaram ≥6 meses ao longo da vida ou por ≥3 meses por filho, tiveram menor odds de hipertensão do que as que tiveram filhos e não amamentaram.
Oken 2013 Bielorrússia	Ensaio comunitário	11867 mulheres Acompanhadas 11,5 meses após o parto	Duração exclusiva em meses (<3; ≥3-<6; ≥6) Efeito/mês da amamentação exclusiva Duração em meses (<3; ≥3-<6; ≥6-<9; ≥9-<12; ≥12) Efeito/mês da amamentação	PAS e PAD (mmHg) HAS (PAS ≥140 e/ou PAD ≥90mmHg) Diagnóstico de HAS	Local hospital/policlínica, idade materna, escolaridade, fumo e número de filhos na casa	Em análise por intenção de tratar, aos 11,5 anos pós-parto, as médias PAS e PAD e o odds de HAS foram menores no grupo intervenção do que no controle, apesar de não significativas. Além disso, foram atenuadas após ajuste para variáveis do <i>baseline</i> . Ao realizar análise usando

Quadro 3. Associação entre amamentação e pressão arterial.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
			Exclusiva <6 meses e amamentação ≥12 meses	(autorrelatado ou tratamento)		duração da amamentação para cada mulher, como em um estudo observacional, mulheres do grupo de amamentação não exclusiva ≥6-<9 apresentaram menor PAS ($\beta=-1,19$, IC95%: -2,12; -0,25) em relação àquelas do grupo <3 meses, e para PAD os resultados foram semelhantes.
Torris 2013 Noruega	Transversal	98 mulheres Idade entre 25 e 35 anos	Duração média por filho em meses: contínua e dicotômica (<10 meses; ≥10) Duração total em meses	PAS e PAD (mmHg)	Idade, AF, tempo desde último parto, fumo, escolaridade e estado civil (ao avaliar amamentação total por mulher, incluiu número de filhos)	Na análise bruta, não houve associação entre amamentação e PAS e PAD. PAD apresentou associação com meses de amamentação ao ajustar para idade ($\beta=0,348$, $P=0,03$), mas após ajuste para demais variáveis, não houve associação. Ao avaliar amamentação total, PAD foi associada com duração da amamentação quando ajustada para idade ($\beta=0,172$, $P=0,02$) e no modelo multivariável ($\beta=0,169$, $P=0,03$), mas ao incluir número de filhos no modelo, a associação desapareceu ($\beta=0,162$, $P=0,10$). Não houve associação com PAS.
Zhang 2015 China	Transversal	9128 mulheres Idade entre 40 e 81 anos	Sim; não Duração em meses - único filho (nunca; >0-6; >6-12; >12)	HAS (PAS ≥140, PAD ≥90mmHg, uso atual de medicamentos anti-hipertensivos ou diagnóstico médico prévio)	Idade, IMC, razão cintura/quadril, trabalho, escolaridade, fumo, álcool, histórico familiar de HAS, idade de menarca, menopausa, uso de contraceptivo oral, idade que teve filho e IMC pós-parto	Após ajuste, RO de hipertensão foi 1,18 (IC95%: 1,05; 1,32) para mulheres que nunca amamentaram, em comparação com que amamentou. Além disso, ao comparar com o grupo que não amamentou, as RO para >0-6, >6-12 e >12 meses de amamentação foram 0,87 (IC95%: 0,76; 0,99), 0,83 (IC95%: 0,68; 1,00) e 0,79 (IC95%: 0,65; 0,97), respectivamente.

PA = pressão arterial; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; HAS = hipertensão; IMC = índice de massa corporal; AF = atividade física; AVC = acidente vascular cerebral

RR = risco relativo; HR = *hazard ratio*; RO = razão de odds; β = coeficiente de regressão linear; IC95% = intervalo de confiança de 95%

2.2.4. Amamentação e perfil lipídico

Dos dez estudos selecionados, seis eram de coorte (DARMADY; POSTLE, 1982 ; KNOPP *et al.*, 1985 ; GUNDERSON *et al.*, 2007 ; SCHWARZ *et al.*, 2009 ; STUEBE, A. M. *et al.*, 2010 ; WIKLUND *et al.*, 2012), quatro transversais (WALKER *et al.*, 1982 ; RAM *et al.*, 2008 ; NATLAND *et al.*, 2012 ; TORRIS *et al.*, 2013). A descrição resumida dos estudos se encontra no Quadro 4.

A maior parte deles avaliaram como desfecho colesterol total, triglicerídeo, LDL e HDL, geralmente como variável contínua. Um estudo avaliou HDL e triglicerídeos dicotômicos de acordo com os pontos de corte que compõem o diagnóstico de síndrome metabólica (RAM *et al.*, 2008) e outro utilizou como desfecho o autorrelato do uso de medicação para controle do colesterol (SCHWARZ *et al.*, 2009). Apenas um estudo não realizou coleta sanguínea em jejum (NATLAND *et al.*, 2012). A definição da amamentação também foi diferente entre os estudos (ver seção 2.3).

Dos três estudos que não ajustaram para fatores de confusão, um não observou associação (WALKER *et al.*, 1982) e dois relataram que o aleitamento materno reduziu os triglicerídeos (DARMADY *et al.*, 1982 ; KNOPP *et al.*, 1985). Para o colesterol, dois não observaram associação (DARMADY *et al.*, 1982 ; WALKER *et al.*, 1982), enquanto que em um a amamentação aumentou os seus valores (KNOPP *et al.*, 1985). Entre os setes estudos que controlaram para confusão, quatro avaliaram como desfecho o colesterol total, triglicerídeos, LDL e HDL. Dois deles encontraram efeito benéfico do aleitamento materno em todas as medidas (NATLAND *et al.*, 2012 ; WIKLUND *et al.*, 2012) enquanto os outros dois observaram associação significativa apenas para HDL, embora um deles tenha apresentado melhores valores no perfil lipídico de acordo com a amamentação (GUNDERSON *et al.*, 2007), outro não evidenciou um padrão na associação (STUEBE, A. M. *et al.*, 2010). Em relação aos outros três estudos, um verificou associação inversa entre duração da amamentação e hiperlipidemia (SCHWARZ *et al.*, 2009), enquanto os outros dois não observaram efeito significativo, mas em um deles a direção da associação foi no sentido de proteção contra dislipidemia, aumento do HDL e diminuição dos triglicerídeos (RAM *et al.*, 2008), e no outro a amamentação diminuiu tanto os valores de triglicerídeos e colesterol quanto os de HDL (TORRIS *et al.*, 2013). Foi identificado controle incompleto para variáveis socioeconômicas e

ajuste estado nutricional em período posterior à ocorrência da amamentação, sendo suas consequências apontadas na seção 2.3.

De acordo com a revisão, não foram identificados estudos de metanálise que avaliaram as evidências sobre a associação entre amamentação e perfil lipídico. Entre os estudos incluídos, foram verificadas algumas limitações, como controle para possíveis fatores mediadores e ajuste insuficiente para fatores de confusão, principalmente os relacionados ao nível socioeconômico. Consequentemente, novos estudos que avaliem a associação entre amamentação e perfil lipídico materno são necessários. Estes estudos deveriam controlar adequadamente para confundimento, ajustando as estimativas para várias variáveis socioeconômicas e demográficas, evitando a inclusão de possíveis mediadores, como por exemplo o estado nutricional materno após a amamentação.

Quadro 4. Associação entre amamentação e perfil lipídico materno.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Darmady 1982 Inglaterra	Coorte	34 mulheres Idade entre 22 e 41 anos no parto Acompanhadas desde antes da concepção até 40 semanas pós-parto	Sim; nunca	Colesterol total de jejum (mmol/L) TGL de jejum (mmol/L)	-	Queda mais acelerada no TGL em mulheres do grupo amamentação do que as que nunca amamentaram. Para colesterol não foi significativo.
Walker 1982 África do Sul	Transversal	201 mulheres Idade entre 18 e 33 anos	Grupo I: amamentação exclusiva, 1º ou 2º filho, há 6 meses ou mais; grupo II: nulíparas; grupo III: mulheres com filhos que pararam de amamentar há 1 anos ou mais	Colesterol total de jejum (mmol/L) TGL de jejum (mmol/L)	-	Média de colesterol total e TGL não foram diferentes entre mulheres do grupo I em relação ao grupo II e III.
Knopp 1985 Estados Unidos	Coorte	72 mulheres Avaliadas 6 semanas após o parto	Sim; não	Colesterol total de jejum (mg/dL) TGL de jejum (mg/dL)	-	Média de TGL foi maior no grupo que não estava amamentando (P=0,02), enquanto colesterol total foi maior no grupo de amamentação (P=0,007).
Gunderson 2007 Estados Unidos	Coorte	1051 mulheres Idade entre 24 e 42 anos Acompanhadas por 3 anos	Não tiveram filho no período; tiveram filho e não amamentaram; tiveram filho e amamentaram Duração em meses (<3; ≥3)	Colesterol total de jejum (mg/dL) LDL de jejum (mg/dL) HDL de jejum (mg/dL) TGL jejum (mg/dL)	Raça, idade, IMC, escolaridade, paridade, fumo, uso contraceptivo oral, tempo desde último acompanhamento	No período de 3 anos, quem amamentou teve diminuição no LDL (P=0,045) em relação ao grupo que não amamentou e ao que não teve filhos, enquanto para HDL a diminuição foi maior nos dois grupos que tiveram filhos (amamentação ou não) em relação a quem não teve. Ao ajustar para tempo desde último parto, perdeu a significância. Em relação à duração, o grupo que amamentou por 3 meses ou mais esteve associado à menor diminuição de HDL em comparação com quem amamentou <3 meses (P<0,01). Mudança nos fatores de risco metabólicos foram favoráveis para grupos que amamentaram por mais tempo, mas foi significativa apenas para média de HDL (P<0,01).

Quadro 4. Associação entre amamentação e perfil lipídico materno.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Ram 2008 Estados Unidos	Transversal	2516 mulheres Média de idade de 46,7 anos	Sim; nunca Duração total em meses (até um ano)	HDL de jejum (<50 mg/dL) TGL de jejum (≥150 mg/dL)	Idade, fumo, paridade, etnia, local do estudo, posição socioeconômica, AF, ingestão calórica e IMC no ensino médio	Após ajuste, não houve associação entre amamentação e HDL e TGL.
Schwarz 2009 Estados Unidos	Coorte	139681 mulheres Idade mediana 63 anos	Duração total em meses (não; 1-6; 7-12; 13-23; ≥24)	Hiperlipidemia – autorrelato de uso de medicação para controle de colesterol	Idade materna, raça, paridade, idade na menopausa, escolaridade, renda, história familiar (diabetes, infarto, AVC), AF, dieta, fumo, reposição hormonal, uso de aspirina e vitamina e IMC	Após ajustar para variáveis sociodemográficas, estilo de vida, história familiar, o aumento na duração da amamentação esteve associado com menor hiperlipidemia (dose-resposta). Mulheres com mais de 12 meses de amamentação tiveram menor odds de hiperlipidemia do que as que nunca amamentaram (RO=0,81, P<0,001) e, após incluir IMC no ajuste, a associação foi similar.
Stuebe 2010 Estados Unidos	Coorte	175 mulheres Acompanhadas por 3 anos pós-parto	Duração em meses (0; >0-<3; 3-<6; 6-<12; ≥12) Duração exclusiva em meses (0; >0-<1; 1-<3; 3-<6; ≥6)	Colesterol total de jejum (mg/dL) LDL de jejum (mg/dL) HDL de jejum (mg/dL) TGL de jejum (mg/dL)	Idade materna, raça, paridade, ganho de peso gestacional, intolerância à glicose gestacional e histórico familiar de diabetes	Mulheres que amamentaram 3-<6 meses apresentaram melhor perfil de HDL. Não foi observada associação linear entre duração da amamentação exclusiva e perfil lipídico. Em mulheres com alto risco para diabetes (IMC≥25; intolerância à glicose gestacional e histórico familiar de diabetes), o grupo com amamentação 3-<6 meses teve maior HDL, enquanto colesterol, LDL e TGL não apresentaram associação com a exposição.
Natland 2012 Noruega	Transversal	21368 mulheres Idade entre 20 e 85 anos	Duração total em meses (nunca; 1-6; 7-12; 13-23; ≥24)	Colesterol total ao acaso (mmol/L) LDL ao acaso (mmol/L)	Idade materna, escolaridade, fumo, AF, estado civil, paridade e tempo	Interação com idade. Em mulheres com 50 anos ou menos, duração da amamentação ao longo da vida foi inversamente associada com níveis de HDL (P=0,008), colesterol, LDL e TGL (todos

Quadro 4. Associação entre amamentação e perfil lipídico materno.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
				HDL ao acaso (mmol/L) TGL ao acaso (mmol/L)	desde a última refeição	P<0,001), após ajuste. Para mulheres acima de 50 anos, não houve diferença.
Wiklund 2012 Finlândia	Coorte	212 mulheres Idade entre 36 e 60 anos	Duração média por filho em meses (<6; 6–10; >10)	Colesterol total de jejum (mmol/L) LDL de jejum (mmol/L) HDL de jejum (mmol/L) TGL de jejum (mmol/L)	Escolaridade	Mulheres que amamentaram <6 meses tiveram maior média de colesterol total, LDL e TGL do que as que amamentaram 6–10 e >10 meses (P<0,05), e menor HDL do que as mulheres do grupo de 6–10 meses (P=0,016).
Torris 2013 Noruega	Transversal	98 mulheres Idade entre 25 e 35 anos	Duração média por filho em meses: contínua e dicotômica (<10 meses; ≥10) Duração total em meses	Colesterol total de jejum (mmol/L) HDL de jejum (mmol/L) TGL de jejum (mmol/L)	Idade, AF, tempo desde último parto, fumo, escolaridade e estado civil (ao avaliar amamentação total por mulher, incluiu número de filhos)	Na análise bruta, mulheres que em média amamentaram menos de 10 meses por criança tiveram maiores níveis de colesterol total e TGL do que as que amamentaram ≥10 meses. Ao avaliar amamentação em meses de maneira contínua, após ajuste para idade, TGL foi inversamente associado com duração da amamentação ($\beta=-0,015$, P=0,03), mas após ajuste para demais variáveis, não houve associação entre amamentação e colesterol total, HDL e TGL. Para amamentação total por mulher, não houve associação com colesterol total, HDL e TGL.

TGL = triglicerídeos; LDL = *low density lipoprotein*; HDL = *high density lipoprotein*; IMC = índice de massa corporal; AVC = acidente vascular cerebral; AF = atividade física
RO = razão de odds; β = coeficiente de regressão linear

2.2.5. Amamentação e glicemia/diabetes tipo 2

Foram identificadas duas revisões sistemáticas (TAYLOR *et al.*, 2005 ; CHOWDHURY *et al.*, 2015), uma metanálise (AUNE *et al.*, 2014), um estudo caso-coorte com metanálise (JAGER *et al.*, 2014), quatro coortes (GUNDERSON *et al.*, 2007 ; SCHWARZ *et al.*, 2009 ; STUEBE, A. M. *et al.*, 2010 ; WIKLUND *et al.*, 2012), e cinco transversais (DINIZ; DA COSTA, 2004 ; RAM *et al.*, 2008 ; NATLAND *et al.*, 2012 ; TORRIS *et al.*, 2013 ; ZHANG *et al.*, 2015). A descrição resumida dos estudos se encontra no Quadro 5.

A revisão realizada por Taylor e colaboradores (TORRIS *et al.*, 2013), publicada em 2005, incluiu estudos que avaliaram a relação entre amamentação e diabetes tipo 2 ou gestacional. Dos quatro estudos que estimaram o efeito do aleitamento na glicemia ou risco de diabetes tipo 2 materna, em dois a população estudada apresentava diabetes gestacional prévia. Dois estudos observaram redução nos níveis de glicose nas mulheres que amamentaram, enquanto os outros não observaram associação estatisticamente significativa, embora em um desses o risco de diabetes tipo 2 foi menor no grupo que amamentou (RR=0,90, IC95%: 0,56; 1,46) e no outro não foi apresentada a direção da associação.

Em 2014, Aune e colaboradores (AUNE *et al.*, 2014) publicaram uma revisão sistemática e metanálise baseada em estudos prospectivos. Foram identificados nove estudos que avaliaram a associação entre aleitamento materno e diabetes, mas três foram excluídos por serem estudos transversais. Dos seis estudos incluídos, um foi em mulheres com diabetes gestacional, dois em enfermeiras americanas e três em população não específica, sendo a maioria em países de alta renda. O risco combinado de diabetes foi de 0,68 (IC95%: 0,57; 0,82) naquelas com maior duração da amamentação e diminuiu para cada aumento de doze meses na amamentação ao longo da vida (RR=0,91, IC95%: 0,86; 0,96). Dois estudos sugeriram que a proteção era maior nos estudos com menor tempo decorrido do último parto, sendo o risco de 0,86 (IC95%: 0,80; 0,92) para período menor 15 anos e 0,96 (IC95%: 0,93; 0,99) para 15 ou mais. Ao realizar a análise por subgrupos, os achados foram similares entre os estudos que controlaram ou não para os seguintes fatores de confusão: idade, ingestão de álcool, fumo, IMC, atividade física, história familiar de diabetes, renda, escolaridade e paridade. Além disso, buscou avaliar mediação por obesidade, mas os estudos utilizaram método inadequado, ajustando para o mediador (IMC). No ano seguinte, Chowdhury e colaboradores

(CHOWDHURY *et al.*, 2015) tentaram atualizar essa metanálise, mas não identificaram novas publicações.

Estudo de caso-coorte, em conjunto com uma metanálise, foi realizado na Alemanha, dentro do *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) - Potsdam Study*, a fim de examinar a associação entre amamentação e risco materno de diabetes tipo 2 (JAGER *et al.*, 2014). Foram incluídos 203 casos incidentes e um subgrupo de 1059 mulheres selecionadas aleatoriamente. Foi observado efeito protetor em mães que amamentaram alguma vez na vida, em comparação com as que nunca amamentaram (HR=0,62, IC95%: 0,43; 0,88), após ajuste para idade. No mesmo sentido, ao avaliar duração da amamentação, mulheres que amamentaram seis meses ou mais tiveram menor risco em relação as que nunca amamentaram (HR=0,46, IC95%: 0,29; 0,73) e após ajuste para estilo de vida e fatores reprodutivos, a HR foi 0,31 (IC95%: 0,18; 0,55). Para avaliar mediação por medidas antropométricas e biomarcadores, o autor controlou na análise para esses fatores, observando atenuação no efeito (ver seção 2.3). Na metanálise, o autor analisou o presente estudo em conjunto com outras três coortes, e observou efeito protetor naquelas que amamentaram de seis a onze meses em comparação com quem nunca amamentou (HR=0,89, IC95%: 0,82; 0,97).

Em relação aos demais estudos observacionais, a maioria avaliou a glicemia de jejum e, além disso, foi avaliada a hemoglobina glicada, a resistência à insulina, ou o relato de diagnóstico de diabetes. Similar aos demais desfechos, a definição da amamentação foi heterogênea entre os estudos. No que se refere ao controle para confusão, os estudos não ajustaram para variáveis socioeconômicas ou para poucas variáveis socioeconômicas (Seção 2.3). Além disso, alguns estudos controlaram para possíveis fatores mediadores, como por exemplo IMC em período posterior à ocorrência da amamentação (DINIZ *et al.*, 2004 ; SCHWARZ *et al.*, 2009 ; AUNE *et al.*, 2014 ; JAGER *et al.*, 2014 ; ZHANG *et al.*, 2015) (ver seção 2.3). Quatro estudos não relataram associação entre aleitamento materno e glicemia, sendo que em três se observou direção no sentido de proteção (DINIZ *et al.*, 2004 ; GUNDERSON *et al.*, 2007 ; TORRIS *et al.*, 2013), e no outro a glicemia não apresentou um padrão de associação com os grupos de duração da amamentação (STUEBE, A. M. *et al.*, 2010). Os demais evidenciaram que amamentação está associada a menores níveis de glicose (WIKLUND *et al.*, 2012) e menor ocorrência de glicemia de jejum alterada (RAM *et al.*, 2008) e diabetes (SCHWARZ *et al.*, 2009 ; NATLAND *et al.*, 2012 ; ZHANG *et al.*, 2015).

De acordo com a revisão, a amamentação parece estar associada à diminuição da glicemia, mas as evidências não são conclusivas. As duas metanálises identificadas, apesar de apontarem redução no risco de diabetes, englobaram poucos estudos. Além disso, foram apontadas limitações em algumas publicações, como ajuste para possíveis fatores mediadores e possibilidade de confusão residual por nível socioeconômico.

Quadro 5. Associação entre amamentação e glicemia/diabetes tipo 2.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Diniz 2004 Brasil	Transversal	67 mulheres Idade entre 18 e 42 anos Avaliadas 12 a 18 meses pós-parto	Média escore por filho: <1 mês (0 pontos); 1-5 (2 pontos/mês); 6 (3 pontos/mês); 7-9 (4 pontos/mês); 9-11 (5 pontos/mês); ≥12 (6 pontos/mês)	ASCG de jejum (mmol/L x min)	Paridade, idade, % de gordura corporal, IMC atual, circunferência da cintura, razão soma dobras cutâneas superiores/inferior e uso de contraceptivo oral.	Não apresentou associação significativa. Foi avaliada a associação em 4 subgrupos de acordo com % gordura corporal (<25 e ≥25) e escore de amamentação (<50 e ≥50). A curva de glicose estava em intervalo considerado normal nos 4 grupos.
Taylor 2005	Revisão Sistemática	Artigos selecionados no período de 1966-2003 sobre o efeito da amamentação na DMG e DM	-	TGD e DM	-	Dos estudos que avaliaram efeito da amamentação na TGD ou DM, dois foram realizados em amostra sem patologia específica e ambos sugerem que baixo nível de estrogênio em mulheres que amamentam tem efeito protetor no metabolismo da glicose.
Gunderson 2007 Estados Unidos	Coorte	1051 mulheres Idade entre 24 e 42 anos Acompanhadas por 3 anos	Não tiveram filho no período; tiveram filho e não amamentaram; tiveram filho e amamentaram Duração em meses (<3; ≥3)	Glicemia de jejum (mg/dL)	Raça, idade, IMC, escolaridade, paridade, fumo, uso contraceptivo oral	No período de 3 anos, não houve diferença no nível de glicose entre os grupos de exposição, mesmo após ajuste.
Ram 2008 Estados Unidos	Transversal	2516 mulheres Média de idade de 46,7 anos	Sim; nunca Duração total em meses (até um ano)	Glicemia (GJA: ≥110 mg/dL e ≤125 mg/dL)	Idade, fumo, paridade, etnia, local do estudo, posição socioeconômica, AF, ingestão calórica e IMC no ensino médio	Após ajuste, grupo que amamentou alguma vez teve menor odds de GJA do que o que nunca amamentou (RO=0,59, IC95%: 0,40; 0,87), enquanto não houve associação para duração da amamentação.

Quadro 5. Associação entre amamentação e glicemia/diabetes tipo 2.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
Schwarz 2009 Estados Unidos	Coorte	139681 mulheres Idade mediana 63 anos	Duração total em meses (nunca; 1-6; 7-12; 13-23; ≥ 24)	DM (autorrelato)	Idade materna, raça, paridade, idade na menopausa, escolaridade, renda, história familiar (diabetes, infarto, AVC), AF, dieta, fumo, reposição hormonal, uso de aspirina e vitamina e IMC	Após controlar para confusão, duração da amamentação foi associada à menor ocorrência de diabetes (P de tendência <0,0001). Nunca: ref. 1-6: RO=0,91 (IC95%: 0,84; 0,99) 7-12: RO=0,87 (IC95%: 0,78; 0,97) 13-23: RO=0,75 (IC95%: 0,66; 0,85) ≥ 24 : RO=0,88 (IC95%: 0,76; 1,01)
Stuebe 2010 Estados Unidos	Coorte	570 mulheres Acompanhadas por 3 anos pós-parto	Duração em meses (0; >0-<3; 3-<6; 6-<12; ≥ 12) Duração exclusiva em meses (0; >0-<1; 1-<3; 3-<6; ≥ 6)	Glicose de jejum (mg/dL)	Idade materna, raça, paridade, ganho de peso gestacional, intolerância à glicose gestacional e histórico familiar de diabetes	Não foi observada associação duração da amamentação e desfechos após ajuste.
Natland 2012 Noruega	Transversal	21368 mulheres Idade entre 20 e 85 anos	Duração total em meses (nunca; 1-6; 7-12; 13-23; ≥ 24)	Glicemia ao acaso (mmol/L) DM (autorrelato ou glicemia de jejum $\geq 11,1$ mmol/L)	Idade materna, escolaridade, fumo, AF, estado civil, paridade e tempo desde a última refeição	Interação com idade. Não houve associação entre amamentação e nível de glicose em nenhum dos grupos de idade. Em relação à prevalência de DM, entre as mulheres com 50 anos ou menos, a associação com duração da amamentação foi inversa (P tendência=0,004), sendo a ocorrência aproximadamente 5 vezes maior do que no grupo que amamentou ≥ 24 meses.
Wiklund 2012 Finlândia	Coorte	212 mulheres Idade entre 36 e 60 anos	Duração média por filho em meses (<6; 6-10; >10)	Glicemia de jejum (mm/L)	Escolaridade	Mulheres que amamentaram <6 meses tiveram maior nível de glicemia do que as mães que amamentaram 6-10 e >10 meses (P<0,05), após ajuste para escolaridade.
Torris 2013 Noruega	Transversal	98 mulheres Idade entre 25 e 35 anos	Duração média por filho em meses: contínua e	Glicemia de jejum (mm/L)	Idade, AF, tempo desde último parto, fumo, escolaridade e estado	Na análise bruta, mulheres que em média amamentaram menos de 10 meses por criança tiveram maiores níveis de glicose no sangue do

Quadro 5. Associação entre amamentação e glicemia/diabetes tipo 2.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
			dicotômica (<10 meses; ≥10) Duração total em meses		civil (ao avaliar amamentação total por mulher, incluiu número de filhos)	que as que amamentaram ≥10 meses (P=0,04). Não houve associação entre glicemia e amamentação em meses de maneira contínua após ajuste. Ao avaliar amamentação total por mulher, não houve associação com glicemia.
Aune 2014	Revisão sistemática e metanálise	Estudos prospectivos de coorte, caso-coorte ou caso-controle aninhado à coorte publicados até setembro de 2013. Foram incluídos 6 estudos de coorte	Duração da amamentação (nível mais alto; mais baixo) Dose-resposta	DM	Idade, álcool, fumo, IMC, AF, história familiar de diabetes, renda, escolaridade e paridade	A medida de efeito combinada foi 0,68 (IC95%: 0,57; 0,82, I ² =75%, P de heterogeneidade <0,001), para grupo de maior duração da amamentação em relação ao de menor duração. O RR para aumento de 3 meses na duração da amamentação por filho foi 0,89 (IC95%: 0,77; 1,04, I ² =93%, P heterogeneidade <0,0001) e para aumento de um ano foi 0,91 (IC95%: 0,86; 0,96, I ² =81%, P heterogeneidade=0,001), e a associação foi não linear. Foi observado pouca diferença quando a estimativa foi ajustada ou não para IMC.
Jager 2014 Alemanha	Caso-coorte Revisão sistemática e metanálise	1262 mulheres Idade entre 35 e 64 anos no <i>baseline</i> Acompanhadas a cada 2-3 anos por aproximadamente 10 anos Revisão sistemática e metanálise: Estudos prospectivos publicados até março de 2014 Incluiu o presente estudo e outros três	Sim; nunca Duração total (nenhum; amamentação ≤3 semanas; >3 semanas a <2 meses; ≥2 a <6 meses; ≥6 meses) Metanálise: Sim; não >0-3 meses; não >3-6 meses; não >6-11 meses; não >11-23 meses; não Por ano adicional de amamentação	DM (diagnóstico médico)	Idade, estado civil, escolaridade, ocupação, fumo, AF, álcool, consumo café, ingestão de carne vermelha, ingestão de pão integral, idade nascimento do último filho, número de filhos, duração uso contraceptivo oral, IMC aos 25 anos, IMC e circunferência da cintura no <i>baseline</i> e biomarcadores	Ao ajustar para idade, mães que amamentaram alguma vez na vida tiveram menor risco de DM do que aquelas que nunca amamentaram (HR=0,62, IC95%: 0,43; 0,88). Associação no mesmo sentido foi verificada em relação à duração da amamentação, em que mulheres que amamentaram ≥6 meses tiveram menor risco ao comparar com mulheres que nunca amamentaram (HR=0,46, IC95%: 0,29; 0,73). Após ajustar para estilo de vida e fatores reprodutivos, a HR passou para 0,31 (IC95%: 0,18; 0,55). Ao incluir medidas antropométricas e biomarcadores no modelo para avaliar mediação, o efeito foi atenuado. Metanálise: entre o presente estudo e outros três selecionados, a associação entre duração da

Quadro 5. Associação entre amamentação e glicemia/diabetes tipo 2.

Autor/ano/país	Delineamento	Amostra/período avaliação	Exposição	Desfecho	Variáveis consideradas como fatores de confusão	Principais resultados
		encontrados na literatura				amamentação e risco de DM foi de proteção comparando 6 a 11 meses de amamentação com grupo que nunca amamentou (HR=0,89, IC95%: 0,82; 0,97).
Chowdhury 2015	Revisão sistemática	Atualizou revisão sistemática de Aune (2014) e não encontrou novas publicações até fevereiro de 2015	-	-	-	Não encontrou estudos recentes na literatura.
Zhang 2015 China	Transversal	9128 mulheres Idade entre 40 e 81 anos	Sim; não Duração em meses – único filho (nunca; >0-6; >6-12; >12)	DM (nível de glicemia de jejum de $\geq 7,0$ mmol/L ou TOTG com valor $\geq 11,1$ mmol/L, diagnóstico médico prévio confirmado, ou uso de medicação para DM)	Idade, IMC, razão cintura/quadril, trabalho, escolaridade, fumo, álcool, histórico familiar de HAS, idade de menarca, menopausa, uso de contraceptivo oral, idade que teve filho e IMC pós-parto	Após ajuste, mulheres que não amamentaram tiveram odds maior de DM (RO=1,30, IC95%: 1,11; 1,53) comparado com mulheres que o fizeram. Mulheres que amamentaram >0 a 6 meses (RO=0,81, IC95%: 0,67; 0,98) e >6 a 12 meses (RO=0,46, IC95%: 0,26; 0,84) tiveram menor odds de diabetes do que as que nunca amamentaram.

ASCG = área sob a curva de glicose; DM = diabetes mellitus tipo 2; TOTG = teste oral de tolerância à glicose; TGD: tolerância à glicose diminuída; GJA = glicemia de jejum alterada; AF = atividade física; IMC = índice de massa corporal; HAS = hipertensão; AVC = acidente vascular cerebral
RO = razão de odds; HR: *hazard ratio*; IC95% = intervalo de confiança de 95%

2.3. Considerações sobre a revisão

- Os estudos foram heterogêneos no tocante à definição dos desfechos e as categorias de duração da amamentação comparadas (amamentou/não amamentou, diferentes categorias em meses ou semanas, etc.) e intensidade (amamentação, amamentação exclusiva, predominante, parcial), o que dificulta a comparabilidade.

- A maioria dos estudos ajustou as estimativas para possíveis fatores de confusão, mas falharam ao controlar para nenhum ou poucos fatores socioeconômicos. Como a maioria dos estudos foi conduzida em países de alta renda, onde a amamentação apresenta associação positiva com nível socioeconômico (BRION *et al.*, 2011), não podemos descartar a possibilidade de confusão residual, uma vez que o nível socioeconômico está positivamente associado com a maioria dos desfechos estudados (WINKLEBY *et al.*, 1992 ; WINKLEBY *et al.*, 1998).

- Alguns estudos ajustaram para possíveis fatores mediadores, como por exemplo, estado nutricional após a amamentação, o que pode distorcer a associação ao criar dependência condicional espúria entre variáveis independentes, quando existem fatores confundidores da associação entre mediador e desfecho (HERNAN *et al.*, 2004 ; RICHIARDI *et al.*, 2013).

- Em relação aos resultados observados (Quadro 6), embora parte dos artigos revisados sugira efeito benéfico da amamentação no estado nutricional, adiposidade abdominal, pressão arterial, perfil lipídico e glicemia, os achados não são conclusivos. Diante disso, a fim de esclarecer essas associações, é necessária a realização de novos estudos que controlem na análise para um conjunto apropriado de fatores de confusão, incluindo variáveis socioeconômicas, demográficas e comportamentais, e utilizem métodos estatísticos adequados para avaliação de possíveis fatores mediadores.

Quadro 6. Resumo da revisão de literatura

	Peso/IMC	Adiposidade abdominal	Pressão arterial	Perfil lipídico	Diabetes
Estudos incluídos	1 metanálise 4 revisões sistemáticas 1 ensaio comunitário 14 coortes 2 transversais	10 coortes 4 transversais	1 ensaio comunitário 8 coortes 4 transversais	6 coortes 4 transversais	1 metanálise 2 revisões sistemáticas 1 caso-coorte e metanálise 4 coortes 5 transversais
Resultados	Diminuição no peso e IMC	Diminuição da adiposidade abdominal	Diminuição da pressão arterial	Melhor perfil lipídico	Diminuição da glicemia e risco de diabetes

3. MODELO CONCEITUAL

Com base na literatura, foi proposto um modelo conceitual da associação entre amamentação e saúde materna (Figura 2), sendo apresentados como fatores de confusão nessa relação a ancestralidade/etnia, fatores socioeconômicos, demográficos e comportamentais, índice de massa corporal antes da gestação e paridade, dado que esses são associados com amamentação e os desfechos em saúde que serão avaliados.

Dependendo do contexto, a amamentação apresenta diferentes padrões em relação ao nível socioeconômico. Em países de renda alta, a renda, classe social e escolaridade materna estão associadas positivamente com a amamentação, enquanto em países de renda média e baixa parece não haver um padrão (BRION *et al.*, 2011). No tocante às características demográficas, a frequência da iniciação e a duração da amamentação se mostram maiores em mães com maior idade (MCDOWELL *et al.*, 2008 ; SOUZA *et al.*, 2012) e de cor da pele branca (MEREWOOD *et al.*, 2006 ; PETROVA *et al.*, 2007). Dependendo do contexto, pode ocorrer erro de classificação na cor da pele, por isto o ajuste para ancestralidade genômica, diminuiria o erro de classificação, e a chance de ocorrência de confundimento residual.

O ato de amamentar está relacionado a um perfil comportamental saudável materno. Nesse sentido, menor consumo de álcool (GIGLIA *et al.*, 2008), maior consumo de frutas e vegetais (PESA; SHELTON, 1999) e menor número de cigarros (LIU *et al.*,

2006) se mostram associados ao ato de amamentar. Em relação à paridade, tem sido evidenciado que a menor paridade (FORDE; MILLER, 2010 ; SOUZA *et al.*, 2012 ; KITANO *et al.*, 2015) estaria associada a menor amamentação. Para o índice de massa corporal existe uma bidirecionalidade na associação, sendo que a obesidade estaria relacionada com redução na iniciação e duração da amamentação (LI *et al.*, 2003 ; TURCK SIN *et al.*, 2014), enquanto maior duração da amamentação ocasionaria uma redução no índice de massa corporal materno (NEVILLE *et al.*, 2014).

A lactação é um processo fisiológico natural, que seria responsável por restabelecer o organismo materno após alterações metabólicas promovidas pela gestação, diminuindo as reservas de gordura corporal, aumentando a sensibilidade à insulina e promovendo modificações favoráveis no perfil lipídico, sendo assim, tais alterações persistiriam nas mulheres que não amamentam, aumentando o risco de doenças cardiometabólicas (STUEBE, A. M.; RICH-EDWARDS, 2009). Alguns mecanismos têm sido propostos para explicar a associação entre amamentação e o metabolismo materno, como o gasto energético decorrente da lactação, o possível efeito benéfico da lactação na função das células- β do pâncreas, e o efeito supressor no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal através da oxitocina, diminuindo o estresse cardiovascular em situações de ameaça (STUEBE, A., 2015).

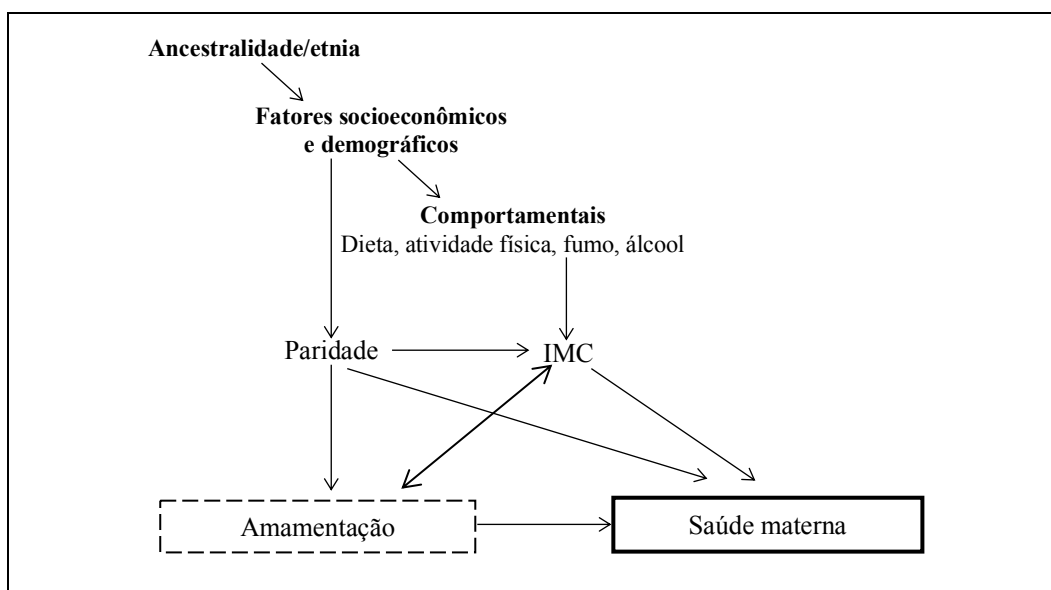


Figura 2. Modelo conceitual da associação entre amamentação e saúde materna.

4. JUSTIFICATIVA

Como mencionado na introdução, apesar dos benefícios do aleitamento materno na saúde das crianças estarem bem descritos na literatura (HORTA, B. H. *et al.*, 2013a;2013b ; HORTA, B. L.; LORET DE MOLA *et al.*, 2015b;2015a ; SANKAR *et al.*, 2015), a duração e intensidade são consideradas baixas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009 ; VICTORA *et al.*, 2016). Nesse sentido, a avaliação dos benefícios do aleitamento, tanto para a saúde infantil como para a materna, é importante, pois pode fornecer subsídios para as campanhas de incentivo à amamentação.

Estudos têm apontado efeitos positivos na saúde das mães que amamentam, como a redução do risco de câncer de mama e ovário e aumento no período interpartal decorrente da amenorreia da lactação (CHOWDHURY *et al.*, 2015), mas os efeitos no índice de massa corporal, adiposidade abdominal, pressão arterial, perfil lipídico e glicemia ainda não estão estabelecidos. A melhor compreensão dessas associações, além de servir para a promoção do aleitamento materno, pode colaborar com informações para a manutenção desses desfechos em saúde, que são importantes fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009), identificadas como a principal causa de mortalidade e carga de doença no Brasil (SCHMIDT *et al.*, 2011).

De acordo com a revisão de literatura, os estudos publicados nessa temática, além de não apresentarem evidências suficientes para suportar as associações, apresentam algumas limitações. Foi identificado que os estudos controlaram para nenhum ou poucos fatores de confusão socioeconômicos, e uma vez que a maior parte foi conduzida em países de alta renda, onde a amamentação está fortemente associada ao nível socioeconômico, surge a possibilidade de confusão residual e a necessidade da realização de pesquisas em locais onde essa associação não esteja presente e que ajustem para um conjunto integral de possíveis fatores de confusão socioeconômicos, demográficos e comportamentais. Além disso, alguns estudos controlaram para possíveis fatores de mediação, como estado nutricional em períodos após a amamentação, o que pode ter subestimado ou enviesado as estimativas apresentadas.

Nesse contexto, justifica-se a realização do presente trabalho, que irá avaliar o efeito da amamentação no estado nutricional, adiposidade abdominal e fatores de risco cardiometabólicos em mulheres que tiveram filhos, utilizando dados da coorte de nascimentos de Pelotas de 1982, onde a amamentação não está associada com nível socioeconômico (BRION *et al.*, 2011) e apresenta uma série de informações coletadas longitudinalmente, que permitem controle para importantes fatores de confusão e a avaliação de possíveis fatores de mediação.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da amamentação na saúde materna, em mulheres com 30 anos, que tiveram filhos e são participantes da coorte de nascimentos de 1982 - Pelotas, RS, Brasil.

5.2. Objetivos específicos

- Revisar a literatura a respeito da associação entre amamentação e perfil lipídico materno.
- Avaliar o efeito da duração da amamentação no índice de massa corporal e adiposidade abdominal maternos.
- Avaliar o efeito da duração da amamentação na pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total, triglicerídeos, LDL, HDL e glicemia maternos.
- Avaliar o possível efeito mediador do índice de massa corporal na relação entre amamentação e pressão arterial, perfil lipídico e glicemia.

6. HIPÓTESES

- A duração da amamentação estará inversamente associada com o índice de massa corporal e adiposidade abdominal maternos.
- A maior duração da amamentação estará associada a menores valores de pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total, triglicerídeos, LDL e glicemia e a maiores valores de HDL.
- Parte do efeito da amamentação na pressão arterial, perfil lipídico e glicemia maternos será mediado pelo índice de massa corporal.

7. METODOLOGIA

7.1. Delineamento

O presente estudo terá delineamento longitudinal, utilizando dados da coorte de nascimentos de 1982 – Pelotas, RS, Brasil.

7.2. Metodologia da coorte de 1982

Em 1982, todos os nascimentos que ocorreram nas maternidades de Pelotas foram identificados e os nascidos vivos cuja família residia na zona urbana da cidade foram examinados e as suas mães entrevistadas. Estes indivíduos tem sido prospectivamente acompanhamentos em diferentes momentos do ciclo vital. O Quadro 7 apresenta a população alvo e o percentual de entrevistas realizadas em cada acompanhamento.

Quadro 7. Taxas de acompanhamento da Coorte de Nascimentos de Pelotas de 1982.

Ano	População avaliada	População alvo	Taxa de acompanhamento (%)
1982	Todas as crianças (estudo perinatal)	5914	-
1983	1/3 da coorte (nascidos entre janeiro e abril)	1916	79,3
1984	Todas as crianças (2 anos)	5914	87,2
1986	Todas as crianças (4 anos)	5914	84,1
1995	20% da coorte (13 anos)	1100	69,9
1997	27% dos setores censitários da cidade (15 anos)	1597	71,8
2000	Todos os homens (18 anos)	3037	78,9
2001	27% dos setores censitários da cidade (19 anos)	1597	69,0
2004-5	Todos os participantes (23 anos)	5914	77,4
2012	Todos os participantes (30 anos)	5914	68,1

7.2.1. Acompanhamento dos 30 anos

Em 2012, quando os membros da coorte estavam com 30 anos de idade, se realizou um novo acompanhamento, que tentou avaliar todos os participantes da coorte. Essa etapa ocorreu na clínica do Centro de Pesquisas Epidemiológicas da Universidade Federal de Pelotas, onde foram aplicados questionários sobre questões socioeconômicas, demográficas e de saúde, e realizados exames como: pletismografia (BOD POD®), densitometria (DXA), avaliação das dimensões corporais (photonic scanner), espirometria, ultrassom de carótidas e abdominal, coleta de sangue, antropometria (pregas cutâneas subescapular e tricipital; circunferência da cintura; perímetro braquial; altura e altura sentado), dinamometria, velocidade da onda de pulso (VOP) e pressão arterial (HORTA, B. L.; GIGANTE *et al.*, 2015).

7.3. População alvo

Todas as mulheres participantes da coorte de 1982 que tiveram filhos.

7.4. Critérios de exclusão

Serão excluídas as mulheres gestantes, além daquelas que cumpriam os critérios de exclusão para avaliação antropométrica e coleta de amostra de sangue.

7.5. Variáveis estudadas

7.5.1. Exposição principal

A informação sobre a amamentação foi coletada no acompanhamento dos 30 anos, através de questionário. Inicialmente, as mulheres foram questionadas sobre a paridade e a seguir para cada gestação, se obteve informação sobre a duração da amamentação, utilizando a pergunta “*Até que idade ele/a mamou no peito?*”. No presente estudo, a amamentação será avaliada da seguinte maneira:

- Alguma vez na vida vs. nunca – dicotômica
- Duração da amamentação total em meses, construída a partir da soma da duração da amamentação de cada filho – contínua e categórica
- Duração média da amamentação por filho, correspondendo à razão entre a duração da amamentação total em meses e o número de filhos – contínua e categórica

7.5.2. Variáveis dependentes

As variáveis dependentes abordadas no presente estudo foram todas coletadas em 2012, no acompanhamento dos 30 anos.

Antropométricas

- Índice de massa corporal (kg/m^2): calculado através da razão entre peso e altura ao quadrado – contínua e dicotômica (sobrepeso $\geq 25,0\text{kg}/\text{m}^2$ e obesidade $\geq 30,0\text{kg}/\text{m}^2$).
- Circunferência da cintura (cm): contínua

Instrumento e coleta de dados: foi utilizado estadiômetro desmontável com capacidade de 2m (alumínio e madeira) e precisão 0,1cm para obtenção da altura, o peso foi aferido através de balança acoplada ao BODPOD® com capacidade para 150kg e precisão de 0,1kg, e o perímetro da cintura foi medido com uma fita métrica inextensível com precisão de 0,1cm. Todas as medidas antropométricas eram coletadas duas vezes e quando essas apresentavam diferença acima do erro aceitável, uma terceira medida era realizada.

Critérios de exclusão: a aferição do peso e da estatura não foi realizada em mulheres grávidas e em período pós-parto até três meses; deficientes físicos e/ou mentais que não

entendessem as orientações para a realização das medidas; aqueles que não conseguissem ficar em posição ereta. Além disso, indivíduos que cuja medida de peso ou altura excederam os valores máximos dos aparelhos também foram excluídos.

Pressão arterial

- Pressão arterial sistólica (mmHg): contínua
- Pressão arterial diastólica: contínua

Instrumento e coleta de dados: para avaliação da pressão arterial, foi utilizado aparelho automático, modelo HEM-705CPINT com manguitos de braço da marca Omron®, sendo um para pessoas de peso normal e outro para obesos. Eram obtidas duas medidas de pressão arterial, uma no início e outra no final da antropometria.

Sanguíneas

- Colesterol total (mg/dL): contínua
- Triglicerídeos (mg/dL): contínua
- LDL (mg/dL): contínua
- HDL (mg/dL): contínua
- Glicemia (mg/dL): contínua

Instrumento e coleta de dados: a coleta de amostra de sangue ao acaso, foi feita através de sistema fechado (a vácuo) e com o indivíduo deitado em uma maca. Eram coletados cinco tubos totalizando 20 mL de sangue. A ordem de coleta era: 1 – Tubo com gel e ativador de coágulo: 5 mL; 2 – Tubo com citrato de sódio: 2 mL; 3 – Tubo com EDTA: 4 mL; 4 – Tubo com gel e ativador de coágulo: 5 mL; e – Tubo com EDTA: 4 mL. Após a coleta, o sangue era levado para o laboratório de processamento no andar acima da clínica do Centro de Pesquisas Epidemiológicas.

Critério de exclusão: mulheres grávidas.

7.5.3. Possíveis fatores de confusão

A seguir, estão descritos os possíveis fatores de confusão a serem avaliados:

Perinatal

- Renda familiar ao nascer: variável ordinal, categorizada em salários mínimos

- Escolaridade materna: variável discreta, número de anos completos no momento do nascimento
- Cor da pele materna autorreferida: variável categórica

Acompanhamento de 1984

- Índice de bens: construído com base nas informações do domicílio a respeito do tipo de construção, água encanada, água em casa, tipo de vaso sanitário, fogão a gás ou lenha e número de quartos, usando análise de componentes principais.

Acompanhamento de 2004-5

- Cor da pele autorreferida: variável categórica
- Ancestralidade genética: baseado em 370000 SNP que estavam disponíveis para a coorte de Pelotas e para os painéis de referência do HapMap e o Human Genome Diversity (HGDP) (ancestralidade africana, europeia e nativo americana)
- Renda familiar: variável contínua em reais
- Escolaridade: variável discreta, número de anos completos
- Valor calórico total: obtido através de questionário de frequência alimentar contendo 70 alimentos e a frequência do consumo, ou seja, quantas vezes consumia o alimento por dia, semana, mês ou ano e a quantidade em medidas caseiras
- Atividade física no lazer: avaliada através de questionário - minutos/semana de AF no lazer, contínua e categórica (≥ 150 min/sem – sim/não)
- Fumo: variável categórica (sim/não), definida pela informação obtida do participante sobre fumo atual
- Álcool: consumo na última semana (sim/não) e gramas de etanol por dia (soma do consumo diário de cerveja, vinho e cachaça obtido por questionário de frequência alimentar)
- Índice de massa corporal (kg/m^2): variável contínua, calculada através da razão entre peso e altura ao quadrado

Acompanhamento de 2012

- Paridade: variável discreta, número de filhos

7.5.4. Possível fator mediador

Acompanhamento de 2012

- Índice de massa corporal (kg/m^2): variável contínua, calculada através da razão entre peso e altura ao quadrado

7.5.5. Possíveis fatores de confusão da associação entre mediador e desfecho (*Post-confounders*)

Acompanhamento de 2012

- Valor calórico total: obtido através de questionário de frequência alimentar contendo 88 alimentos e a frequência do consumo, ou seja, quantas vezes consumia o alimento por dia, semana, mês ou ano e a quantidade em medidas caseiras, obtida no acompanhamento de 2012
- Atividade física no lazer: avaliada através de questionário – minutos/semana de AF no lazer, contínua e categórica (≥ 150 min/sem – sim/não)

7.6. Cálculo de poder estatístico

Aos 30 anos, 1187 (64,0%) das mulheres acompanhadas em 2012 relataram ter tido filhos nascidos vivos. Após exclusão das gestantes, informação sobre amamentação está disponível para 1146 (61,8%), sendo que dessas, 933 (81,4%) relataram que amamentaram por três meses ou mais. A partir de dados da coorte de 1982 (média e desvios-padrão dos desfechos e duração da amamentação total na coorte de 1982), estimativas das diferenças baseadas na literatura e um valor alfa de 5%, foi realizado o cálculo de poder amostral para a associação entre a duração da amamentação e os desfechos, uma vez que os dados a serem utilizados já foram coletados. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Cálculo de poder amostral para associação entre duração total da amamentação e os desfechos.

Desfechos	Média (DP)	n1	n2	Diferença esperada	M1	M2	Poder (%)
Índice de massa corporal (kg/m ²)	26,7 (6,0)	213	933	0,5	27,0	26,5	19,5
	26,7 (6,0)	213	933	1,0	27,2	26,2	59,3
	26,7 (6,0)	213	933	2,0	27,7	25,7	99,2
	26,7 (6,0)	213	933	3,0	28,2	25,2	100,0
Circunferência da cintura (cm)	80,6 (12,0)	213	933	1,0	81,1	80,1	19,5
	80,6 (12,0)	213	933	2,0	81,6	79,6	59,3
	80,6 (12,0)	213	933	3,0	82,1	79,1	90,9
	80,6 (12,0)	213	933	4,0	82,6	78,6	99,2
Pressão arterial sistólica (mmHg)	114,5 (11,9)	213	933	0,5	114,8	114,3	8,6
	114,5 (11,9)	213	933	1,0	115,0	114,0	19,8
	114,5 (11,9)	213	933	2,0	115,5	113,5	60,0
	114,5 (11,9)	213	933	3,0	116,0	113,0	91,3
Pressão arterial diastólica (mmHg)	73,9 (9,1)	213	933	0,5	74,2	73,7	11,2
	73,9 (9,1)	213	933	1,0	74,4	73,4	30,4
	73,9 (9,1)	213	933	2,0	74,9	72,9	82,5
	73,9 (9,1)	213	933	3,0	75,4	72,4	99,1
Colesterol total (mg/dL)	189,3 (35,4)	213	933	1,0	189,8	188,8	6,6
	189,3 (35,4)	213	933	4,0	191,3	187,3	31,9
	189,3 (35,4)	213	933	7,0	192,8	185,8	74,0
	189,3 (35,4)	213	933	10,0	194,3	184,3	96,1
Triglicerídeos (mg/dL)	102,4 (61,3)	213	933	1,0	102,9	101,9	5,5
	102,4 (61,3)	213	933	4,0	104,4	100,4	13,8
	102,4 (61,3)	213	933	7,0	105,9	98,9	32,4
	102,4 (61,3)	213	933	10,0	107,4	97,4	57,5
LDL (mg/dL)	106,6 (28,4)	213	933	1,0	107,1	106,1	7,5
	106,6 (28,4)	213	933	4,0	108,6	104,6	45,8
	106,6 (28,4)	213	933	7,0	110,1	103,1	90,1
	106,6 (28,4)	213	933	10,0	111,6	101,6	99,6
HDL (mg/dL)	63,4 (13,7)	213	933	0,5	63,1	63,6	7,7
	63,4 (13,7)	213	933	1,0	62,9	63,9	16,1
	63,4 (13,7)	213	933	2,0	62,4	64,4	48,5
	63,4 (13,7)	213	933	3,0	61,9	64,9	82,2
Glicemia (mg/dL)	86,7 (20,5)	213	933	1,0	87,2	86,2	9,8
	86,7 (20,5)	213	933	2,0	87,7	85,7	25,0
	86,7 (20,5)	213	933	3,0	88,2	85,2	48,7
	86,7 (20,5)	213	933	4,0	88,7	84,7	72,9

Média (DP): média e desvio-padrão na coorte de 1982

n1: tamanho amostral do grupo não exposto na coorte de 1982 (amamentação <3 meses)

n2: tamanho amostral do grupo exposto na coorte de 1982 (amamentação ≥3 meses)

M1: estimativa da média no grupo não exposto (amamentação <3 meses)

M2: estimativa da média no grupo exposto (amamentação ≥3 meses)

7.7. Análise de dados

Artigo 1 – Revisão sistemática

Para a revisão sistemática sobre o efeito da amamentação no perfil lipídico materno, após a definição das estratégias de busca, a seleção dos artigos será realizada por dois pesquisadores de forma independente, através de critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos, enquanto para os artigos discordantes o julgamento será feito por um terceiro avaliador. A seguir, serão discutidos os aspectos metodológicos e os resultados encontrados. Havendo possibilidade da realização de metanálise, as estimativas serão combinadas usando modelos fixos e aleatórios. A heterogeneidade será avaliada através do teste de qui-quadrado para heterogeneidade (Cochrane *Q-test*) e da estatística I^2 , sendo utilizados modelos aleatórios, caso os testes sugiram heterogeneidade entre os estudos além do esperado pelo acaso. Gráfico de funil e teste de Egger serão utilizados para avaliar viés de publicação.

Artigo 2

Exposição principal: duração da amamentação total em meses, duração média da amamentação por filho

Desfecho: índice de massa corporal e circunferência da cintura

Para a realização do artigo 2, foi proposto o modelo de análise apresentado na Figura 3. Nesse modelo, a exposição principal é a duração da amamentação nos momentos t1 (anterior aos 23 anos) e t2 (após os 23 anos), os desfechos são o índice de massa corporal e a circunferência da cintura (coletados aos 23 e 30 anos) e os fatores de confusão são a ancestralidade/etnia, fatores socioeconômicos, demográficos e comportamentais e paridade. Como não há informação sobre alguns fatores de confusão para momentos anteriores à ocorrência da exposição, serão utilizadas como proxy variáveis socioeconômicas e comportamentais coletadas em momentos posteriores (2004-5), assumindo que essas não são determinadas pela amamentação e logo, não são possíveis mediadores.

Serão realizadas análises descritivas dos desfechos, da exposição principal e dos possíveis fatores de confusão. Para as variáveis categóricas, serão apresentadas as frequências absolutas e relativas, enquanto para as contínuas, serão exibidas as medidas de tendência central e dispersão adequadas, de acordo com a distribuição dos dados. Para

a análise do efeito da amamentação no índice de massa corporal e circunferência da cintura, serão obtidas estimativas brutas e ajustadas e seus respectivos intervalos de confiança através da abordagem *Generalized estimating equation (GEE)*, que ao levar em consideração a não independência dos dados permite a utilização de medidas repetidas.

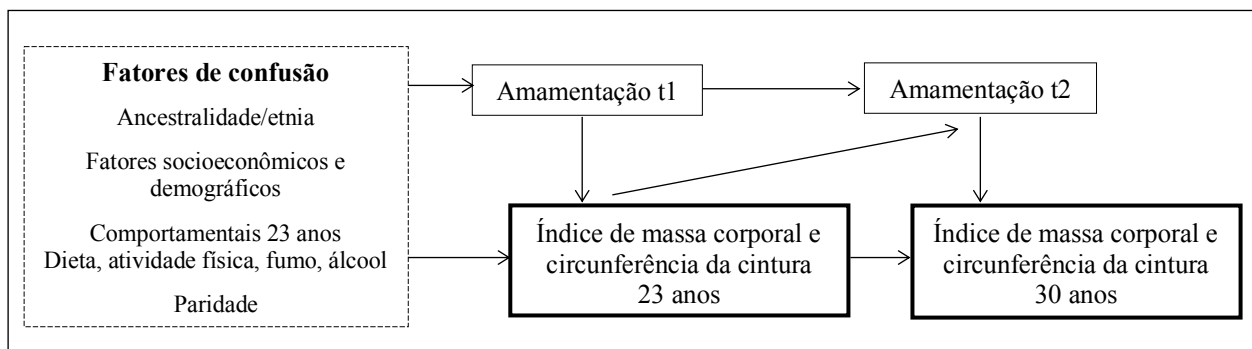


Figura 3. Modelo de análise da associação entre amamentação e índice de massa corporal e circunferência da cintura maternos.

Artigo 3

Exposição principal: alguma vez na vida vs. nunca; duração da amamentação total em meses, duração média da amamentação por filho

Desfecho: pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total, triglicerídeos, LDL, HDL e glicemia aos 30 anos

Fator mediador: índice de massa corporal aos 30 anos

Na Figura 4 está apresentado o modelo de análise, em que a associação entre a amamentação e pressão arterial, perfil lipídico e glicemia maternos seria mediado pelo índice de massa corporal aos 30 anos, tendo como confundidores da associação entre mediador e desfecho, a dieta e atividade física aos 30 anos.

Inicialmente serão realizadas análises descritivas dos desfechos, da exposição principal, dos fatores de confusão e do fator mediador. O efeito da amamentação sobre os desfechos será avaliado através de regressão linear, sendo obtidas estimativas brutas e ajustadas e seus respectivos intervalos de confiança. O controle para confusão será realizado para ancestralidade/etnia, fatores socioeconômicos, demográficos e comportamentais e paridade. Do mesmo modo que no artigo 2, serão utilizadas variáveis coletadas em momentos posteriores (2004-5) como proxy de fatores de confusão para

momentos anteriores à ocorrência da exposição. A seguir, será realizada análise de mediação, sendo avaliado o efeito natural direto (NDE) e indireto (NIE) da amamentação nos desfechos através do *G-computation formula*. A partir desses efeitos, será estimado o efeito total da amamentação (NDE+NIE = efeito total) e o quanto do efeito é capturado pelo índice de massa corporal aos 30 anos (NIE/efeito total). A análise será estratificada para tempo desde o último parto.

A análise será realizada para todas as participantes que tiveram filhos e para o subgrupo de mulheres que tiveram filhos apenas no período entre o acompanhamento de 2004-5 e 2012, tendo essa última análise o objetivo respeitar a temporalidade no controle para confusão e a inclusão do índice de massa corporal anterior à gestação (23 anos) como fator de confusão.

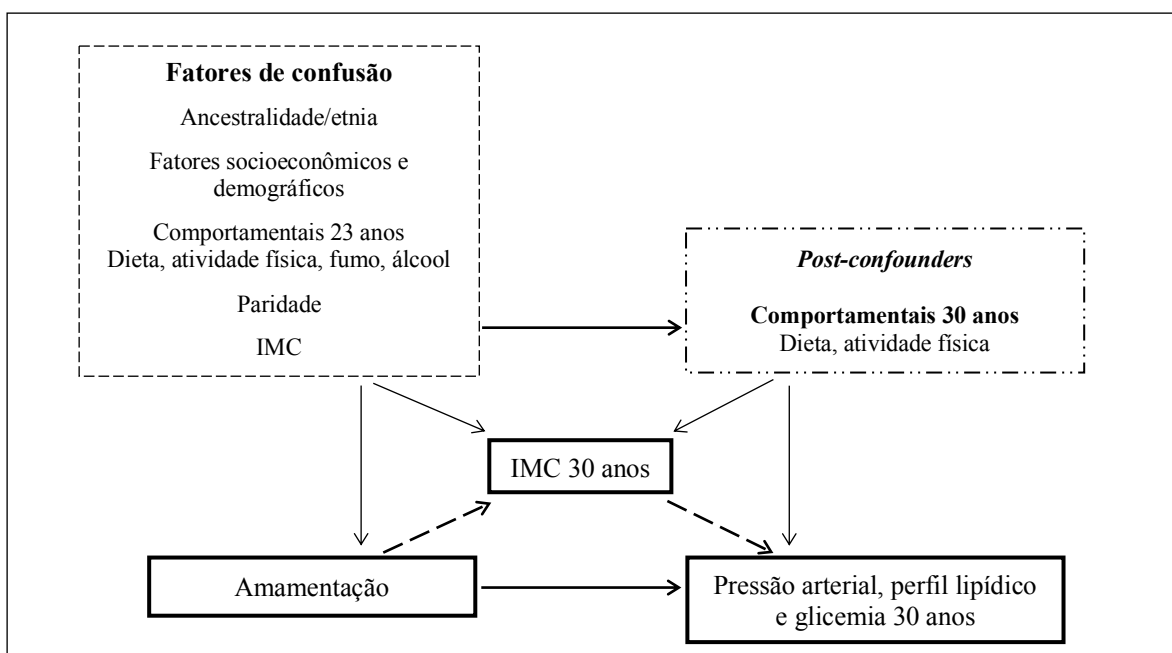


Figura 4. Modelo de análise da associação entre amamentação e pressão arterial, perfil lipídico e glicemia maternos.

8. ASPECTOS ÉTICOS

Todos os acompanhamentos da coorte de 1982 tiveram seus projetos aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de

Pelotas. Nas visitas iniciais do estudo, foi obtido consentimento verbal, enquanto nas demais etapas foi solicitado consentimento por escrito dos participantes ou responsáveis.

9. CRONOGRAMA

No cronograma apresentado no Quadro 8, estão listadas as atividades a serem desenvolvidas ao longo do doutorado.

Quadro 8. Cronograma de atividades.

Atividades	2015				2016				2017				2018			
	1º	2º	3º	4º	1º	2º	3º	4º	1º	2º	3º	4º	1º	2º	3º	4º
Revisão de literatura																
Elaboração do projeto																
Defesa do projeto																
Análise dos dados																
Redação dos artigos																
Defesa da tese																

10. DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados do presente estudo serão publicados em revistas nacionais e/ou internacionais indexadas e serão apresentados em congressos e eventos científicos. Ademais, será divulgada uma nota para a imprensa local.

11. REFERÊNCIAS

ARMENTA, R. F., *et al.* Association of Breastfeeding with Postmenopausal Visceral Adiposity Among Three Racial/Ethnic Groups. **Obesity**, v.23, n.2, p.475-480, Feb. 2015.

AUNE, D., *et al.* Breastfeeding and the maternal risk of type 2 diabetes: A systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v.24, n.2, p.107-115, Feb. 2014.

BOBROW, K. L., *et al.* Persistent effects of women's parity and breastfeeding patterns on their body mass index: results from the Million Women Study. **International Journal of Obesity**, v.37, n.5, p.712-717, May. 2013.

BRANDHAGEN, M., *et al.* Breast-feeding in relation to weight retention up to 36 months postpartum in the Norwegian Mother and Child Cohort Study: modification by socio-economic status? **Public Health Nutrition**, v.17, n.7, p.1514-1523, Jul. 2014.

BREWER, M. M., *et al.* Postpartum changes in maternal weight and body fat depots in lactating vs nonlactating women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.49, n.2, p.259-65, Feb. 1989.

BRION, M. J., *et al.* What are the causal effects of breastfeeding on IQ, obesity and blood pressure? Evidence from comparing high-income with middle-income cohorts. **International Journal of Epidemiology**, v.40, n.3, p.670-80, Jun. 2011.

BRITZ, S. E., *et al.* Changes in maternal weight 5-10 years after a first delivery. **Womens Health (Lond Engl)**, v.8, n.5, p.513-9, Sep. 2012.

CHOU, T. W., *et al.* Postpartum body composition changes in lactating and non-lactating primiparas. **Nutrition**, v.15, n.6, p.481-484, Jun. 1999.

CHOWDHURY, R., *et al.* Breastfeeding and maternal health outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica**, v.104, p.96-113, Dec. 2015.

DA SILVA, M. D. M., *et al.* Determinants of postpartum weight variation in a cohort of adult women: a hierarchical approach. **Nutricion Hospitalaria**, v.28, n.3, p.660-670, May-Jun. 2013.

DARMADY, J. M.; POSTLE, A. D. Lipid metabolism in pregnancy. **British Journal of Obstetrics Gynaecology**, v.89, n.3, p.211-5, Mar. 1982.

DINIZ, J. M. M.; DA COSTA, T. H. M. Independent of body adiposity, breast-feeding has a protective effect on glucose metabolism in young adult women. **British Journal of Nutrition**, v.92, n.6, p.905-912, Dec. 2004.

EBINA, S.; KASHIWAKURA, I. Influence of breastfeeding on maternal blood pressure at one month postpartum. **International Journal of Womens Health**, v.4, p.333-9. 2012.
ENDRES, L. K., *et al.* Postpartum Weight Retention Risk Factors and Relationship to Obesity at 1 Year. **Obstetrics and Gynecology**, v.125, n.1, p.144-152, Jan. 2015.

FORDE, K. A.; MILLER, L. J. 2006-07 north metropolitan Perth breastfeeding cohort study: how long are mothers breastfeeding? **Breastfeed Review**, v.18, n.2, p.14-24, Jul. 2010.

FRASER, A. B.; GRIMES, D. A. Effect of lactation on maternal body weight: A systematic review. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v.58, n.4, p.265-269, Apr. 2003.

GIGANTE, D. P., *et al.* Breast-feeding has a limited long-term effect on anthropometry and body composition of Brazilian mothers. **Journal of Nutrition**, v.131, n.1, p.78-84, Jan. 2001.

GIGLIA, R. C., *et al.* The effect of alcohol intake on breastfeeding duration in Australian women. **Acta Paediatrica**, v.97, n.5, p.624-9, May. 2008.

GROER, M. W., *et al.* Breastfeeding Status and Maternal Cardiovascular Variables Across the Postpartum. **Journal of Womens Health**, v.22, n.5, p.453-459, May. 2013.

GUNDERSON, E. P., *et al.* Lactation and changes in maternal metabolic risk factors. **Obstetrics and Gynecology**, v.109, n.3, p.729-738, Mar. 2007.

HE, X. J., *et al.* Breast-feeding and postpartum weight retention: a systematic review and meta-analysis. **Public Health Nutrition**, v.18, n.18, p.3308-3316, Dec. 2015.

HENRIQUES, A., *et al.* Healthy excessive weight in Portuguese women 4 years after delivery of a liveborn. **Preventive Medicine**, v.75, p.49-55, Jun. 2015.

HERNAN, M. A., *et al.* A structural approach to selection bias. **Epidemiology**, v.15, n.5, p.615-25, Sep. 2004.

HORTA, B. H.; VICTORA, C. G. **Long-term effects of breastfeeding: a systematic review**. World Health Organization. Geneva. 2013a

HORTA, B. H.; VICTORA, C. G. **Short-term effects of breastfeeding: : a systematic review on the benefits of breastfeeding on diarrhoea and pneumonia mortality**. World Health Organization. Geneva. 2013b

HORTA, B. L., *et al.* Cohort Profile Update: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. **International Journal of Epidemiology**, v.44, n.2, p.441, 441a-441e, Apr. 2015.

HORTA, B. L., *et al.* Breastfeeding and intelligence: a systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica**, v.104, n.467, p.14-9, Dec. 2015a.

HORTA, B. L., *et al.* Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica**, v.104, n.467, p.30-7, Dec. 2015b.

JAGER, S., *et al.* Breast-feeding and maternal risk of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis. **Diabetologia**, v.57, n.7, p.1355-1365, Jul. 2014.

JARLENSKI, M. P., *et al.* Effects of breastfeeding on postpartum weight loss among US women. **Preventive Medicine**, v.69, p.146-150, Dec. 2014.

KIRKEGAARD, H., *et al.* Maternal weight change from pre-pregnancy to 7 years postpartum--the influence of behavioral factors. **Obesity (Silver Spring)**, v.23, n.4, p.870-8, Apr. 2015.

- KITANO, N., *et al.* Combined effects of maternal age and parity on successful initiation of exclusive breastfeeding. **Preventive Medicine Reports**, v.3, p.121-6, Jun. 2015.
- KNOPP, R. H., *et al.* Effect of postpartum lactation on lipoprotein lipids and apoproteins. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.60, n.3, p.542-7, Mar. 1985.
- KRAMER, M. S.; KAKUMA, R. Optimal duration of exclusive breastfeeding. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n.8. 2012.
- KULKARNI, B., *et al.* Regional Body Composition of Indian Women from a Low-Income Group and Its Association with Anthropometric Indices and Reproductive Events. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.56, n.3, p.182-189, Apr. 2010.
- LEE, S. Y., *et al.* Does long-term lactation protect premenopausal women against hypertension risk? a Korean women's cohort study. **Preventive Medicine**, v.41, n.2, p.433-438, Aug. 2005.
- LI, R., *et al.* Maternal obesity and breast-feeding practices. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, n.4, p.931-6, Apr. 2003.
- LIU, J., *et al.* Breastfeeding duration and perinatal cigarette smoking in a population-based cohort. **American Journal of Public Health**, v.96, n.2, p.309-14, Feb. 2006.
- LOPEZ-OLMEDO, N., *et al.* The Associations of Maternal Weight Change with Breastfeeding, Diet and Physical Activity During the Postpartum Period. **Maternal and Child Health Journal**, v.20, n.2, p.270-80, Feb. 2016.
- LUPTON, S. J., *et al.* Association between parity and breastfeeding with maternal high blood pressure. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.208, n.6, Jun. 2013.
- MCCLURE, C. K., *et al.* Maternal Visceral Adiposity by Consistency of Lactation. **Maternal and Child Health Journal**, v.16, n.2, p.316-321, Feb. 2012.
- MCCLURE, C. K., *et al.* Breastfeeding and Subsequent Maternal Visceral Adiposity. **Obesity**, v.19, n.11, p.2205-2213, Nov. 2011.
- MCDOWELL, M. M., *et al.* Breastfeeding in the United States: findings from the national health and nutrition examination surveys, 1999-2006. **NCHS Data Brief**, n.5, p.1-8, Apr. 2008.
- MEREWOOD, A., *et al.* Maternal birthplace and breastfeeding initiation among term and preterm infants: a statewide assessment for Massachusetts. **Pediatrics**, v.118, n.4, p.e1048-54, Oct. 2006.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – PNDS 2006 : dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança.** Ministério da Saúde. Brasília. 2009

MULLANEY, L., *et al.* Breast-feeding and postpartum maternal weight trajectories. **Public Health Nutrition**, p.1-8, Oct 15. 2015.

NATLAND, S. T., *et al.* Lactation and cardiovascular risk factors in mothers in a population-based study: the HUNT-study. **International Breastfeeding Journal**, v.7, n.1, p.8. 2012.

NEVILLE, C. E., *et al.* The relationship between breastfeeding and postpartum weight change-a systematic review and critical evaluation. **International Journal of Obesity**, v.38, n.4, p.577-590, Apr. 2014.

OKEN, E., *et al.* Effects of an intervention to promote breastfeeding on maternal adiposity and blood pressure at 11.5 y postpartum: results from the Promotion of Breastfeeding Intervention Trial, a cluster-randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.98, n.4, p.1048-1056, Oct. 2013.

PALMER, J. R., *et al.* Lactation in Relation to Long-Term Maternal Weight Gain in African-American Women. **American Journal of Epidemiology**, v.181, n.12, p.932-939, Jun. 2015.

PESA, J. A.; SHELTON, M. M. Health-enhancing behaviors correlated with breastfeeding among a national sample of mothers. **Public Health Nursing**, v.16, n.2, p.120-4, Apr. 1999.

PETROVA, A., *et al.* Maternal race/ethnicity and one-month exclusive breastfeeding in association with the in-hospital feeding modality. **Breastfeeding Medicine**, v.2, n.2, p.92-8, Jun. 2007.

RAM, K. T., *et al.* Duration of lactation is associated with lower prevalence of the metabolic syndrome in midlife - SWAN, the study of women's health across the nation. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.198, n.3, Mar. 2008.

RICHIARDI, L., *et al.* Mediation analysis in epidemiology: methods, interpretation and bias. **International Journal of Epidemiology**, v.42, n.5, p.1511-9, Oct. 2013.

SANKAR, M. J., *et al.* Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: a systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica**, v.104, n.467, p.3-13, Dec. 2015.

SCHMIDT, M. I., *et al.* Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **The Lancet**, v.377, n.9781, p.1949-61, Jun 4. 2011.

SCHWARZ, E. B., *et al.* Duration of Lactation and Risk Factors for Maternal Cardiovascular Disease. **Obstetrics and Gynecology**, v.113, n.5, p.974-982, May. 2009.

SOUZA, S. N. D. H., *et al.* Prevalência de aleitamento materno e fatores associados no município de Londrina-PR. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.25, n.1, p.29-35. 2012.

STUEBE, A. Associations Among Lactation, Maternal Carbohydrate Metabolism, and Cardiovascular Health. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v.58, n.4, p.827-839, Dec. 2015.

STUEBE, A. M., *et al.* Duration of Lactation and Maternal Metabolism at 3 Years Postpartum. **Journal of Womens Health**, v.19, n.5, p.941-950, May. 2010.

STUEBE, A. M.; RICH-EDWARDS, J. W. The Reset Hypothesis: Lactation and Maternal Metabolism. **American Journal of Perinatology**, v.26, n.1, p.81-88, Jan. 2009.

STUEBE, A. M., *et al.* Duration of Lactation and Incidence of Maternal Hypertension: A Longitudinal Cohort Study. **American Journal of Epidemiology**, v.174, n.10, p.1147-1158, Nov. 2011.

TAYLOR, J. S., *et al.* A systematic review of the literature associating breastfeeding with type 2 diabetes and gestational diabetes. **Journal of the American College of Nutrition**, v.24, n.5, p.320-326, Oct. 2005.

TORRIS, C., *et al.* Duration of Lactation, Maternal Metabolic Profile, and Body Composition in the Norwegian EBBA I-Study. **Breastfeeding Medicine**, v.8, n.1, p.8-15, Feb. 2013.

TURCK SIN, R., *et al.* Maternal obesity and breastfeeding intention, initiation, intensity and duration: a systematic review. **Maternal & Child Nutrition**, v.10, n.2, p.166-83, Apr. 2014.

VICTORA, C. G., *et al.* Maternal and child health in Brazil: progress and challenges. **The Lancet**, v.377, n.9780, p.1863-76, May 28. 2011.

VICTORA, C. G., *et al.* Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. **The Lancet**, v.387, n.10017, p.475-90, Jan 30. 2016.

WALKER, A. R., *et al.* Serum lipids in long-lactating African mothers habituated to a low-fat intake. **Atherosclerosis**, v.44, n.2, p.175-9, Aug. 1982.

WIKLUND, P., *et al.* Prolonged breast-feeding protects mothers from later-life obesity and related cardio-metabolic disorders. **Public Health Nutrition**, v.15, n.1, p.67-74, Jan. 2012.

WINKLEBY, M. A., *et al.* Socioeconomic status and health: how education, income, and occupation contribute to risk factors for cardiovascular disease. **American Journal of Public Health**, v.82, n.6, p.816-20, Jun. 1992.

WINKLEBY, M. A., *et al.* Ethnic and socioeconomic differences in cardiovascular disease risk factors: findings for women from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. **The Journal of the American Medical Association**, v.280, n.4, p.356-62, Jul 22-29. 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global strategy for infant and young child feeding. The optimal duration of exclusive breastfeeding.** World Health Organization. Geneva. 2001

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Health Risks: Mortality and Burden of Disease Attributable to Selected Major Risks.** World Health Organization. Geneva. 2009

WOSJE, K. S.; KALKWARF, H. J. Lactation, weaning, and calcium supplementation: effects on body composition in postpartum women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, n.2, p.423-429, Aug. 2004.

ZANOTTI, J., *et al.* Factors associated with postpartum weight retention in a Brazilian cohort. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.37, n.4, p.164-71, Apr. 2015.

ZHANG, B. Z., *et al.* Breastfeeding and Maternal Hypertension and Diabetes: A Population-Based Cross-Sectional Study. **Breastfeeding Medicine**, v.10, n.3, p.163-167, Apr. 2015.

SEÇÃO II. Modificações no projeto

MODIFICAÇÕES NO PROJETO

Após a defesa do projeto de pesquisa, algumas modificações foram realizadas. Abaixo, estão detalhadas as alterações feitas no título e em cada artigo.

Título

O título da tese foi modificado para “Amamentação e saúde materna: estado nutricional, composição corporal e fatores metabólicos de risco cardiovascular”, com o intuito de melhor compreender os temas abordados nos artigos da tese.

Artigo 1. Efeito da amamentação sobre o perfil lipídico materno: uma revisão sistemática

O tema original desse artigo de revisão seria a associação entre a amamentação e perfil lipídico materno. Entretanto, verificou-se uma lacuna na literatura em relação a estudos sobre o efeito da lactação na densidade mineral óssea materna. Apenas um estudo sobre o tema havia estimado o efeito combinado através de metanálise, sendo que esse compreendeu estudos que incluíram mulheres nulíparas no grupo de comparação que não amamentou. Como estamos interessados em avaliar mulheres elegíveis para a amamentação, aquelas que nunca tiveram filho devem ser excluídas da análise. Além disso, não foram discutidas questões metodológicas importantes, como controle adequado para fatores de confusão. Sendo assim, o tema do artigo foi alterado para a associação entre amamentação e densidade mineral óssea materna, sendo o novo título “*Breastfeeding and maternal bone mineral density: a systematic review and meta-analysis*”.

Artigo 2. Amamentação e seu efeito no estado nutricional e adiposidade abdominal maternos - um estudo prospectivo de base populacional

Além de avaliar a associação entre amamentação e IMC e circunferência da cintura, optamos por também incluir medidas de composição corporal, como índice de massa gorda e de massa livre de gordura (estimado pelo BodPod), razão de gordura androide/ginoide e densidade mineral óssea (estimados pelo DXA). Como essas não apresentavam avaliações em diferentes acompanhamentos da coorte, não seria possível utilizar a abordagem

Generalized estimating equation (GEE), baseada em análise de medidas repetidas, como havia sido proposto. Desse modo, decidimos avaliar a associação entre amamentação e os desfechos de saúde materna através de regressão linear bruta e ajustada para fatores de confusão. O artigo foi intitulado “*Association of breastfeeding, maternal anthropometry and body composition in women at 30 years of age*”.

Artigo 3. Amamentação e fatores metabólicos de risco cardiovascular maternos em mulheres pertencentes à Coorte de Nascimentos de 1982 - Pelotas

Em relação à proposta original, foram incluídos dois novos desfechos: espessura da carótida e velocidade de onda de pulso. Não foi realizada a análise de mediação prevista, dado que não foi observada associação entre amamentação e os desfechos avaliados. Ademais, optou-se por não efetuar a análise para o subgrupo de mulheres que tiveram filhos apenas no período entre o acompanhamento de 2004-5 e 2012 devido ao pequeno tamanho na amostra. O artigo tem como título “*Breastfeeding and maternal cardiovascular risk factors: 1982 Pelotas Birth Cohort*”.

SEÇÃO III. Artigos resultantes da pesquisa

Breastfeeding and maternal bone mineral density: a systematic review and meta-analysis

Formatado de acordo com as normas da revista *Scientific Reports*

Breastfeeding and maternal bone mineral density: a systematic review and meta-analysis

Authors

Natália P. Lima, MSc^{1*}

Simone Farías Antúnez, PhD¹

Elma Izze da Silva Magalhães, MSc¹

Bernardo L. Horta, PhD¹

¹ Postgraduate Program in Epidemiology, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil.

***Correspondence to:**

Natália Peixoto Lima

Universidade Federal de Pelotas

Rua Marechal Deodoro, 1160 (3° andar), CEP: 96020-220, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil. Tel/fax: +55 (53) 3284-1300

E-mail: natyplima@hotmail.com

Abstract

Breastfeeding would have benefits to maternal health. Concerning the association of lactation with maternal bone mineral density (BMD), evidence is not clear. This study was aimed at systematically review the evidence on the association between breastfeeding and maternal BMD among studies that evaluated parous women. In October 2018, we searched the following databases: MEDLINE, Web of Science, and LILACS. Twelve studies met the inclusion criteria, of which 10 evaluated lumbar spine (LS) and 8 femoral neck (FN) BMD. The pooled mean differences suggest no association of breastfeeding with LS (-0.03, 95%CI: -0.09; 0.03) and FN BMD (-0.01, 95%CI: -0.03; 0.03). For LS BMD, the funnel plot was asymmetrical, suggesting that small studies showing protective effect were missing. High heterogeneity was observed, which resulted in part from differences due to age, sample size, study design, and control for confounding. When assessing only studies that controlled for confounding, breastfeeding seems to have a protection effect (LS: 0.02, 95%CI: -0.09; 0.13 and FN: 0.02, 95%CI: -0.02; 0.07). Besides, the estimates were adjusted for possible mediator factors, which may have underestimated the association. New studies are needed and they should control the estimates for confounding by socioeconomic status and avoid controlling for mediator variables.

Introduction

Breastfeeding has short-term benefits, reducing infant morbidity and mortality, mainly due to diarrhea and pneumonia^{1,2}. Furthermore, it would also have long-term benefits. It has been reported that those subjects who have been breastfed have a lower risk of type 2 diabetes³ and obesity⁴ and an improved performance in intelligence tests^{5,6}. Lactation would also have benefits to maternal health, women who breastfed have lower risk of ovarian and breast cancer⁷, type 2 diabetes^{8,9}, postpartum weight retention¹⁰, and high blood pressure^{11,12-20}, as well as improved lipid profile^{15,17,20,21}.

Concerning the impact of breastfeeding on maternal bone mineral density (BMD), during the lactation, there is a decline in estrogen level, which is associated with an increase in parathyroid hormone-related protein, possibly having an effect on calcium and bone homeostasis²². The evidences from epidemiological studies are conflicting. A systematic review and meta-analysis carried out by Chowdhury *et al.* reported that breastfeeding was not associated with BMD on distal radius (pooled standardized mean difference: -0.490, CI95%: -1.357 to 0.376) and femoral neck (pooled standardized mean difference: -0.142, CI95%: -0.426 to 0.142)⁷. Conversely, another systematic review and meta-analysis reported that breastfeeding would reduce BMD on women's lumbar spine and femoral neck, but the authors pooled the mean of different studies in the categories of breastfeeding, as some of those do not have a comparison group²³. Therefore, the categories comprised different studied populations. Furthermore, the previous published meta-analyses included studies that did not exclude nulliparous women from the reference category. Because we are interested in assessing the association between breastfeeding and maternal BMD, nulliparous women should have been excluded, because they are not eligible to receive the benefits of lactation since they have never experienced pregnancy and maternity. Moreover, some studies adjusted

the estimates to body mass index (BMI) assessed after the lactation period, which could be on the causal pathway for the association between breastfeeding and BMD, *i.e.* it is a possible mediator factor, because breastfeeding is inversely associated with BMI^{24,25}, which in turn is related with BMD²⁶. According to the structure of a directed acyclic graph, by adjusting for a mediator, a causal path is blocked, and the total effect of the exposure on the outcome is underestimated²⁷. Moreover, adjustment for a mediator may also introduce a collider bias by creating a spurious conditional dependence among independent variables, since there are confounding factors on the association between mediator and outcome²⁷. Thus, these strategies in data analysis should be considered in the evaluation of the evidence on the association of breastfeeding with BMD.

This systematic review and meta-analysis was aimed at examining the association between breastfeeding and maternal BMD, among studies that assessed lumbar spine and femoral neck BMD through DXA and evaluated only parous women.

Results

Figure 1 shows the study selection flow chart. After excluding duplicates, 1963 titles and abstracts were perused, and 168 manuscripts were assessed for eligibility. And, 12 studies were included in the meta-analysis. After reviewing the references of included studies, no additional manuscripts were identified. Table 1 shows a description of the included studies.

Lumbar spine BMD

We identified 10 studies, which provided 11 estimates on the association of breastfeeding with maternal lumbar spine BMD. Figure 2a shows that nine of the eleven studies observed that breastfeeding reduced the mean BMD, but in four the confidence

interval included the reference. On the other hand, two studies reported the opposite, and for one the difference was statistically significant. Using random-effects models, the pooled mean difference was -0.03 (95%CI: -0.09; 0.03).

Table 2 shows that age at bone mass assessment, sample size, and study design did not modify the association between breastfeeding and maternal BMD. Studies that did not adjust for possible confounders observed that BMD was lower among those women who breastfed [pooled mean difference (PMD: -0.049, 95%CI: -0.090; -0.008)], while those that controlled showed the opposite (PMD: 0.020, 95%CI: -0.087; 0.127), but in the last the confidence interval included the reference. Control for confounding explained 44.8% of the heterogeneity among the studies.

The funnel plot (Figure 3a) was asymmetric, suggesting that small studies reporting a protective effect of breastfeeding on lumbar spine BMD were lacking (Egger test p-value=0.01).

Femoral neck BMD

Among the eight studies identified, 10 estimates were obtained, with five reporting that breastfeeding increased mean femoral neck BMD, and for one the confidence interval did not include the reference; the same was observed for the five studies showing a decrease in BMD. Using random-effects models, the pooled mean difference was -0.01 (95%CI: -0.03; 0.03). (Figure 2b)

Among women aged less than 40 years, femoral neck BMD was higher among women who breastfed (PMD: 0.016, 95%CI: -0.026; 0.058), while among those with ≥ 40 years the association was in the opposite direction (PMD: -0.018, 95%CI: -0.048; 0.012).

Because the confidence intervals included the reference, we cannot exclude that these differences were observed due to random variation. Sample size also modified the

association; in studies with sample size <500 participants the pooled effect was 0.012 (95%CI: -0.025; 0.049), whereas among those with \geq 500 participants, it was -0.019 (95%CI: -0.057; 0.020). Retrospective studies reported that BMD was lower among women who breastfed (PMD: -0.036, 95%CI: -0.072; 0.001), whereas for cross-sectional studies the association was in the opposite direction (PMD: 0.014, 95%CI: -0.028; 0.056) and for prospective studies the pooled mean difference was 0.001 (95%CI: -0.044; 0.046); but these differences were not statistically significant ($p=0.34$). Studies that controlled for confounding showed a protective effect of breastfeeding (PMD: 0.024, 95%CI: -0.024; 0.071), whereas among those that did not control for confounding the association was in the opposite direction (PMD: -0.018, 95%CI: -0.048; 0.011), but the confidence intervals included the reference. Age, sample size, study design and control for confounding explained 52.6%, 40.8%, 21.7% and 47.7% of the heterogeneity among the studies, respectively. (Table 2)

The funnel plot and Egger test ($p=0.97$) showed no evidence of publication bias. (Figure 3b)

Discussion

In this systematic review and meta-analysis, we evaluated the association between breastfeeding and maternal BMD among studies that evaluated parous women. We did not observe an association of breastfeeding with maternal lumbar spine and femoral neck BMD. For lumbar spine BMD, the funnel plot was asymmetrical, suggesting that small studies showing a protective effect were missing. We also observed a high heterogeneity among studies, and part of this heterogeneity resulted from differences regarding mean age at assessment, sample size, study design, and control for confounding.

The stratified analysis showed that among the studies that controlled for confounding, the direction of the association suggested a protective effect of breastfeeding on both lumbar spine and femoral neck BMD, in the opposite direction of those studies that reported crude estimates.

Furthermore, most of the studies were carried out in high-income countries, where socioeconomic status is positively associated with breastfeeding²⁸. As socioeconomic status is also positively associated with BMD^{29,30}, and the majority of the studies failed to adjust for socioeconomic variables, the pooled estimates on the associations of breastfeeding and BMD may be affected by residual confounding. As in other studies, our meta-analysis reinforces the importance of appropriately controlling for confounding when evaluating the long-term effect of breastfeeding on maternal health. However, all studies that controlled for confounding seem to have included possible mediators in the model (e.g. body mass index). Therefore, we were not able to carry out a stratified analysis taking this strategy into account. As mentioned before, adjustment for a mediator may underestimate the magnitude of the association and/or introduce a collider bias. Hence, it is clear that new studies should use an adequate conceptual framework when analyzing the association of breastfeeding with maternal BMD.

With respect to the age at assessment of BMD, for femoral neck, although not significant, the pooled difference BMD was lower in those with higher breastfeeding studies in studies with women aged 40 years or over, while for the group <40 years it was in the direction of protection. In this aspect, breastfeeding may interact with other variables over time, such as BMI, and show a different effect on BMD regarding age or time.

In relation to the publication bias, the funnel plot showed that small studies reporting a positive effect of breastfeeding in maternal lumbar spine BMD were lacking, but the

missing studies were in the non-expected direction if publication bias was present. Besides, sample size did not modify this association, given that the pooled mean difference on studies with sample size <500 participants and equal or ≥500 were similar. Thus, it is not likely that publication bias has influenced the pooled effect. In conclusion, our systematic review and meta-analysis did not observe an association between breastfeeding and maternal BMD, but when assessing only the studies that controlled for confounding it seems to have a protection effect; therefore, new studies are needed. In this way, some methodological limitations identified in the included studies should be taken into account. Because clinical trials randomizing breastfeeding are complex and difficult to conduct, we recommend that new studies should have prospective design, control the estimates for confounding by socioeconomic status and avoid controlling for mediators.

Methods

The study protocol was registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) - [CRD42018107578]. The review was carried out following the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)³¹.

Search and Selection of Studies

Potentially relevant papers were identified by searching the electronic databases MEDLINE, Web of Science, and LILACS from the start up to October 2018 (Figure 1). The literature search used the following terms: "breastfeeding" OR "breast feeding" OR "breastfeed" OR "breastfed" OR "lactation" OR "human milk" OR "breast milk" and "bone density" OR "bone mineral density" OR "bone content" OR "bone mineral

content" OR "osteoporosis". Additional search was made by scanning the reference lists of the identified articles and the previously published systematic reviews.

Two independent reviewers (N.P.L. and S.F.A.) excluded duplicates and screened the titles and abstracts to remove clearly irrelevant studies. After, full texts of the relevant studies were assessed for inclusion. Disagreements were solved by consensus or by a third reviewer.

Selection criteria

We included observational and randomized studies that evaluated the association between breastfeeding and BMD among parous women. Studies should have evaluated lumbar spine or femoral neck BMD using DXA, have an internal comparison group, and present mean difference (g/cm^2) or regression coefficients with their 95% confidence interval or provide sufficient information to estimate it. We excluded those studies that included nulliparous women in the non-breastfeeding group. If necessary, we contacted the corresponding authors to clarify any query on the studies.

Data extraction

Two reviewers extracted the following information from each manuscript: publication year; country of data collection; study design; sample size; age; age at BMD assessment; categorization of breastfeeding; study setting; control for confounding; and main results. Any disagreement was solved by consensus.

Data analysis

For each study, we extracted the result comparing the BMD from the highest vs. the lowest breastfeeding duration group. The meta-analysis was performed using STATA

software (version 15; Statacorp, TX, USA). Because the studies differ from each other in terms of study setting, studied population and design, a common effect size should not be assumed. Therefore, the pooled mean differences were estimated using random-effects models³². We also stratified the analysis according to the covariates (age, sample size, study design, and control for confounding) to assess whether they were modifying the association between breastfeeding and maternal BMD. Meta-regression was used to assess the contribution of each covariate to the heterogeneity among studies. Funnel plot and Egger test were used to examine publication bias.

References

1. Sankar, M. J. *et al.* Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 3-13 (2015).
2. Horta, B. L. & Victora, C. G. *Short-term effects of breastfeeding: a systematic review on the benefits of breastfeeding on diarrhoea and pneumonia mortality.* (World Health organization, 2013).
3. Horta, B. L. & de Lima, N. P. Breastfeeding and Type 2 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr Diab Rep* **19**, (2019).
4. Horta, B. L., Loret de Mola, C. & Victora, C. G. Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 30-37 (2015).
5. Horta, B. L., Loret de Mola C & Victora, C. G. Breastfeeding and intelligence: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 14-19 (2015).
6. Victora, C. G. *et al.* Association between breastfeeding and intelligence, educational attainment, and income at 30 years of age: a prospective birth cohort study from Brazil. *Lancet Glob Heal* **3**, e199-e205 (2015).

7. Chowdhury, R. *et al.* Breastfeeding and maternal health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 96-113 (2015).
8. Aune, D., Norat, T., Romundstad, P. & Vatten, L. J. Breastfeeding and the maternal risk of type 2 diabetes: A systematic review and dose response meta-analysis of cohort studies. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **24**, 107-115 (2014).
9. Jager, S. *et al.* Breast-feeding and maternal risk of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis. *Diabetologia* **57**, 1355-1365 (2014).
10. Jiang, M. *et al.* Association between breastfeeding duration and postpartum weight retention of lactating mothers: A meta-analysis of cohort studies. *Clin Nutr* **37**, 1224-1231 (2017).
11. Groer, M. W., Jevitt, C. M., Sahebzamani, F., Beckstead, J. W. & Keefe, D. L. Breastfeeding Status and Maternal Cardiovascular Variables Across the Postpartum. *J Womens Health (Larchmt)* **22**, 453-459 (2013).
12. Ebina, S. & Kashiwakura, I. Influence of breastfeeding on maternal blood pressure at one month postpartum. *Int J Womens Health* **4**, 333-339 (2012).
13. Lee, S. Y., Kim, M. T., Jee, S. H. & Yang, H. P. Does long-term lactation protect premenopausal women against hypertension risk? a Korean women's cohort study. *Prev Med* **41**, 433-438 (2005).
14. Lupton, S. J., Chiu, C. L., Lujic, S., Hennessy, A. & Lind, J. M. Association between parity and breastfeeding with maternal high blood pressure. *Am J Obstet Gynecol* **208**, 454.e1-454.e7 (2013).
15. Natland, S. T., Nilsen, T. I., Midthjell, K., Andersen, L. F. & Forsmo, S. Lactation and cardiovascular risk factors in mothers in a population-based study: the HUNT-study. *Int Breastfeed J* **7**, 8 (2012).

16. Ram, K. T. *et al.* Duration of lactation is associated with lower prevalence of the metabolic syndrome in midlife - SWAN, the study of women's health across the nation. *Am J Obstet Gynecol* **198**, 268.e1-268.e6 (2008).
17. Schwarz, E. B. *et al.* Duration of Lactation and Risk Factors for Maternal Cardiovascular Disease. *Obstet Gynecol* **113**, 974-982 (2009).
18. Stuebe, A. M. *et al.* Duration of Lactation and Incidence of Maternal Hypertension: A Longitudinal Cohort Study. *Am J Epidemiol* **174**, 1147-1158 (2011).
19. Zhang, B. Z., Zhang, H. Y., Liu, H. H., Li, H. J. & Wang, J. S. Breastfeeding and Maternal Hypertension and Diabetes: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Breastfeed Med* **10**, 163-167 (2015).
20. Wiklund, P. *et al.* Prolonged breast-feeding protects mothers from later-life obesity and related cardio-metabolic disorders. *Public Health Nutr* **15**, 67-74 (2012).
21. Gunderson, E. P. *et al.* Lactation and changes in maternal metabolic risk factors. *Obstet Gynecol* **109**, 729-738 (2007).
22. Kovacs, C. S. Maternal Mineral and Bone Metabolism During Pregnancy, Lactation, and Post-Weaning Recovery. *Physiol Rev* **96**, 449-547 (2016).
23. Naz, M. S. G., Ghasemiorcid, V., Kianiorcid, Z., Fakariorcid, F. R. & Ozgoli, G. The Effect of Breastfeeding Duration on Bone Mineral Density (BMD): A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Pediatr* **7**, 8831-8843 (2019).
24. Bobrow, K. L. *et al.* Persistent effects of women's parity and breastfeeding patterns on their body mass index: results from the Million Women Study. *Int J Obes* **37**, 712-717 (2013).
25. Lima, N. P. *et al.* Association of breastfeeding, maternal anthropometry and body composition in women at 30 years of age. *Cad Saude Pública* **35**, e00122018 (2019).

26. Palermo, A. *et al.* BMI and BMD: The Potential Interplay between Obesity and Bone Fragility. *Int J Environ Res Public Health* **28**, pii: E544 (2016).
27. Richiardi, L., Bellocco, R. & Zugna, D. Mediation analysis in epidemiology: methods, interpretation and bias. *Int J Epidemiol* **42**, 1511-9 (2013).
28. Victora, C. G. *et al.* Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* **387**, 475-490 (2016).
29. Brennan, S. L. *et al.* Association between socioeconomic status and bone mineral density in adults: a systematic review. *Osteoporos Int* **22**, 517-27 (2011).
30. Du, Y., Zhao, L. J., Xu, Q., Wu, K. H. & Deng, H. W. Socioeconomic status and bone mineral density in adults by race/ethnicity and gender: the Louisiana osteoporosis study. *Osteoporos Int* **28**, 1699-1709 (2017).
31. Liberati, A. *et al.* The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *PLoS Med* **6**, e1000100 (2009).
32. Borenstein, M., Hedges, L. V., Higgins, J. P. & Rothstein, H. R. A basic introduction to fixed-effect and random-effects models for meta-analysis. *Res Synth Methods* **1**, 97-111 (2010).
33. Sowers, M. *et al.* Changes in bone density with lactation. *JAMA* **269**, 3130-5 (1993).
34. Sinigaglia, L. *et al.* Effect of lactation on postmenopausal bone mineral density of the lumbar spine. *J Reprod Med* **41**, 439-43 (1996).
35. Karlsson, C., Obrant, K. J. & Karlsson, M. Pregnancy and lactation confer reversible bone loss in humans. *Osteoporos Int* **12**, 828-34 (2001).
36. More, C., Bettembuk, P., Bhattoa, H. P. & Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on bone mineral density. *Osteoporos Int* **12**, 732-7 (2001).

37. Carranza-Lira, S. & Mera, J. P. Influence of number of pregnancies and total breast-feeding time on bone mineral density. *Int J Fertil Womens Med* **47**, 169-71 (2002).
38. Pearson, D. *et al.* Recovery of pregnancy mediated bone loss during lactation. *Bone* **34**, 570-8 (2004).
39. Chantry, C. J., Auinger, P. & Byrd, R. S. Lactation among adolescent mothers and subsequent bone mineral density. *Arch Pediatr Adolesc Med* **158**, 650-6 (2004).
40. Chan, S. M., Nelson, E. A., Leung, S. S. & Cheng, J. C. Bone mineral density and calcium metabolism of Hong Kong Chinese postpartum women--a 1-y longitudinal study. *Eur J Clin Nutr* **59**, 868-76 (2005).
41. Samano, R. *et al.* Adolescents do not lose bone mineral density postpartum: comparative study with adult women. *Salud Públ Méx* **53**, 2-10 (2011).
42. Wiklund, P. K. *et al.* Lactation is associated with greater maternal bone size and bone strength later in life. *Osteoporos Int* **23**, 1939-45 (2012).
43. Yeo, U. H., Choi, C. J., Choi, W. S. & Kim, K. S. Relationship between breast-feeding and bone mineral density among Korean women in the 2010 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *J Bone Miner Metab* **34**, 109-17 (2016).
44. Derakhshan, S., Mahmoudi, M. & Shahsawari, S. Effects of multiparity and duration of breast-feeding on maternal bone mineral density in post-menopausal Kurdish women: A retrospective study. *Iran J Nucl Med* **25**, 43-50 (2017).

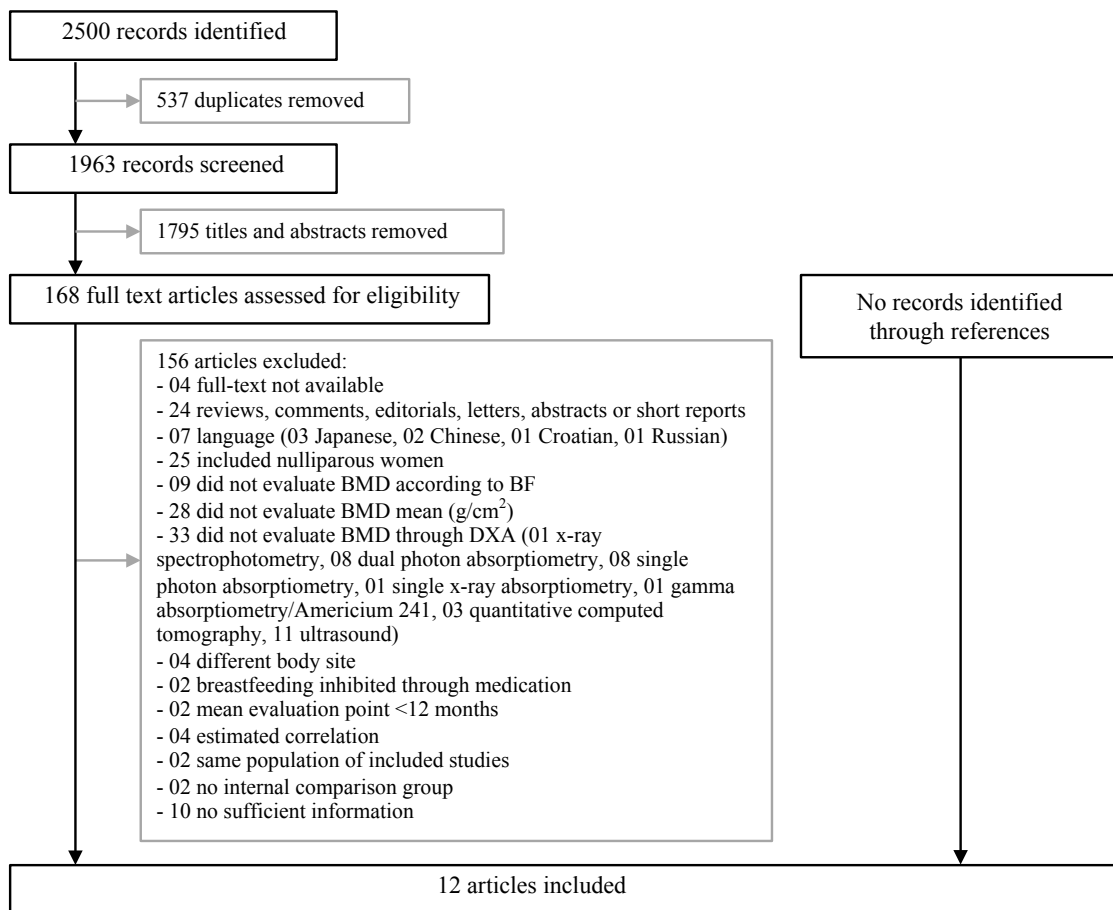


Figure 1. Flow chart of the studies selection.

Table 1. Characteristics of studies included in meta-analyses

Author Country Year	Study setting	Study design	N	Mean age (years)	Breastfeeding categorization	Control for confounding	Control for SES	Control for mediator	Mean difference LS in g/cm ² (95%CI)	Mean difference FN in g/cm ² (95%CI)
Sowers ³³ USA 1993	High- income	Prospective	98	30 and 28 for the BF ≥ 6 months and BF ≤ 1 month groups, respectively	Breastfed ≥6 months vs. Bottle-fed or breastfed ≤1 month	No	No	No	-0.029 (-0.095; 0.037)	-
Sinigaglia ³⁴ Italy 1996	High- income	Retrospective	540	57.3 and 56.7 for the BF >12 months and never BF groups, respectively	Breastfed >12 months vs. Never breastfed	No	No	No	-0.001 (-0.028; 0.026)	-
Karlsson ³⁵ Sweden 2001	High- income	Prospective	65	31.2 and 31.3 for the BF >6 months and BF <1 month groups, respectively	Breastfed >6 months vs. Breastfed <1 month	No	No	No	-0.020 (-0.110; 0.070)	0.020 (-0.087; 0.127)
More ³⁶ Hungary 2001	High- income	Prospective	38	27	Breastfed >6 months vs. Breastfed <1 month	No	No	No	-0.148 (-0.219; -0.077)	-
Carranza- Lira ³⁷ Mexico 2002	Upper- middle- income	Cross- sectional	50	37.7	Ever breastfed vs. Never breastfed	No	No	No	-0.019 (-0.116; 0.078)	-0.104 (-0.230; 0.022)
Pearson ³⁸ UK 2004	High- income	Prospective	60	32.7	Breastfed vs. Bottlefed	No	No	No	0.026 (-0.070; 0.122)	0.019 (-0.059; 0.907)

Chantry ³⁹ USA 2004	High-income	Cross-sectional	245	22.6 and 22.5 for the ever BF and never BF groups, respectively	Ever breastfed vs. Never breastfed	Yes (exercise; race/ ethnicity; age; poverty; smoking; alcohol; milk; dietary intake of calcium, protein, potassium, vitamin D, and calcium-phosphorous ratio; postpartum years; weight; height; parity; oral contraceptive use; age at menarche)	Yes	Yes	-	0.063 (0.034; 0.092)
			156	23.3 and 23.1 for the ever BF and never BF groups, respectively	Ever breastfed vs. Never breastfed	No	No	No	-	0.030 (-0.040; 0.100)
Chan ⁴⁰ Hong Kong 2005	High-income	Prospective	23	32.8 and 29.9 for the BF and formula-fed groups, respectively	Exclusively breastfed vs. Formula-fed	No	No	No	-0.126 (-0.223; -0.029)	-0.018 (-0.081; 0.046)
Samano ⁴¹ Mexico 2011	Upper-middle-income	Prospective	72	16.6 and 23.7 for the adolescent and adult groups, respectively	Exclusively breastfed vs. non-exclusively breastfed	Yes (calcium and energy intake; BMI; estradiol; physical activity; age; and fat mass and physical activity at 3 months postpartum)	No	Yes	0.109 (0.095; 0.123)	-
Wiklund ⁴² Finland 2012	High-income	Retrospective	145	48	Breastfed \geq 33 months vs. Breastfed \leq 12 months	No	No	No	-	-0.010 (-0.061; 0.041)

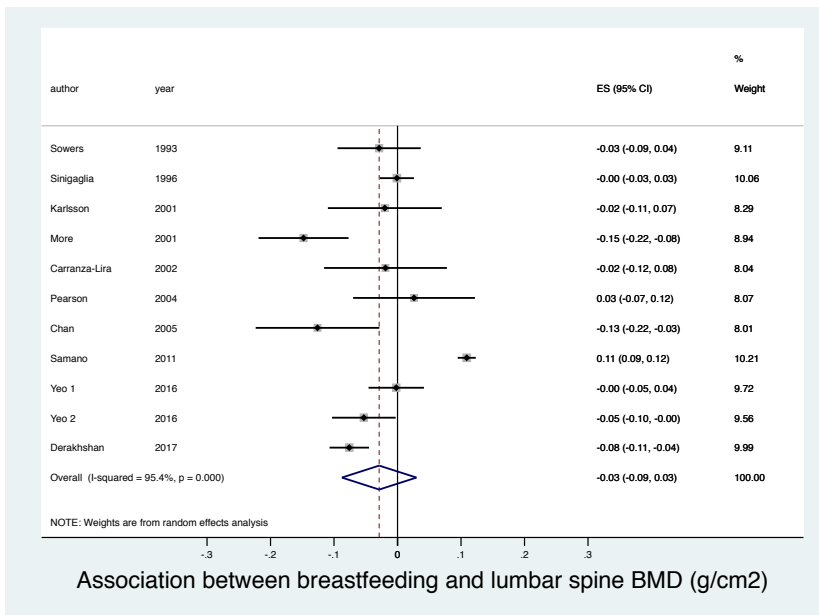
Yeo ⁴³ South Korea 2016	High- income	Cross- sectional	754	41.0 and 41.3 for the BF and never BF groups, respectively	Breastfed \geq 18 months vs. Never breastfed	Yes (age; BMI; smoking; alcohol consumption; physical activity; serum 25- hydroxyvitamin D levels along; calcium consumption and caloric intake)	No	Yes	-0.002 (-0.046; 0.042)	-0.013 (-0.052; 0.026)
			588	64.0 and 55.8 for the BF and never BF groups, respectively	Breastfed \geq 18 months vs. Never breastfed	Yes (age; BMI; smoking; alcohol consumption; physical activity; serum 25- hydroxyvitamin D levels along; calcium consumption and caloric intake)	No	Yes	-0.053 (-0.103; -0.003)	0.016 (-0.028; 0.060)
Derakhshan ⁴⁴ Iran 2017	Upper- middle- income	Retrospective	991	58.9	Breastfed $>$ 96 months vs. Breastfed \leq 24 months	No	No	No	-0.076 (-0.107; -0.045)	-0.049 (-0.075; -0.023)

SES: socioeconomic status; LS: lumbar spine; FN: femoral neck; 95%CI: 95% confidence interval; BF: breastfeeding; BMI: body mass index

Table 2. Breastfeeding and the mean of maternal bone mineral density: random-effects meta-analyses by subgroup.

Subgroup analysis	Lumbar spine BMD (g/cm ²)			Femoral neck BMD (g/cm ²)		
	Number of estimates	Pooled mean difference (95%CI)	Heterogeneity explained (%)	Number of estimates	Pooled mean difference (95% CI)	Heterogeneity explained (%)
Mean age						
< 40 years	7	-0.028 (-0.121; 0.066)	24.4	6	0.016 (-0.026; 0.058)	52.6
≥ 40 years	4	-0.033 (-0.074; 0.008)		4	-0.018 (-0.048; 0.012)	
Sample size						
< 500 participants	7	-0.028 (-0.121; 0.066)	24.4	7	0.012 (-0.025; 0.049)	40.8
≥ 500 participants	4	-0.033 (-0.074; 0.008)		3	-0.019 (-0.057; 0.020)	
Study design						
Retrospective	2	-0.038 (-0.112; 0.035)	20.1	2	-0.036 (-0.072; 0.001)	21.7
Cross-sectional	3	-0.024 (-0.058; 0.010)		5	0.014 (-0.028; 0.056)	
Prospective	6	-0.029 (-0.133; 0.075)		3	0.001 (-0.044; 0.046)	
Control for confounding						
No	8	-0.049 (-0.090; -0.008)	44.8	7	-0.018 (-0.048; 0.011)	47.7
Yes	3	0.020 (-0.087; 0.127)		3	0.024 (-0.024; 0.071)	
Total	11	-0.029 (-0.088; 0.030)		10	-0.001 (-0.033; 0.032)	

2a)



2b)

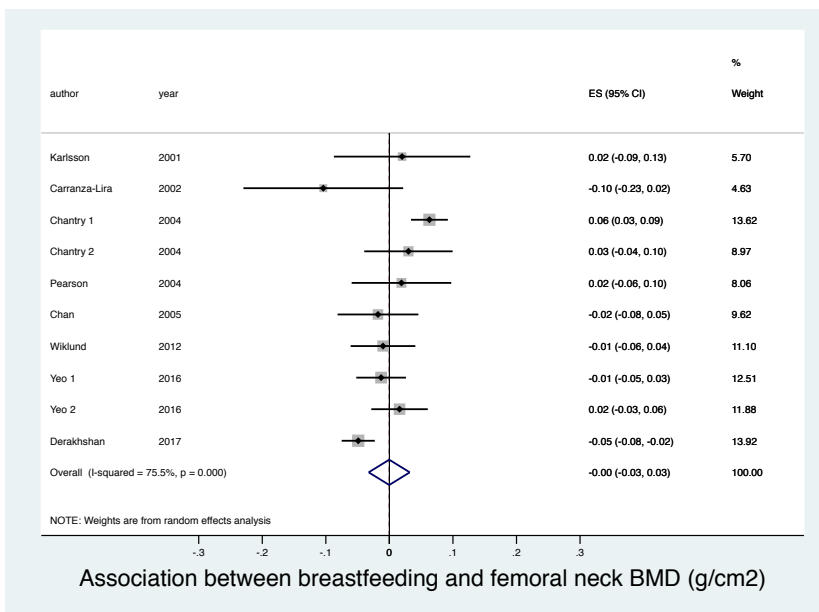
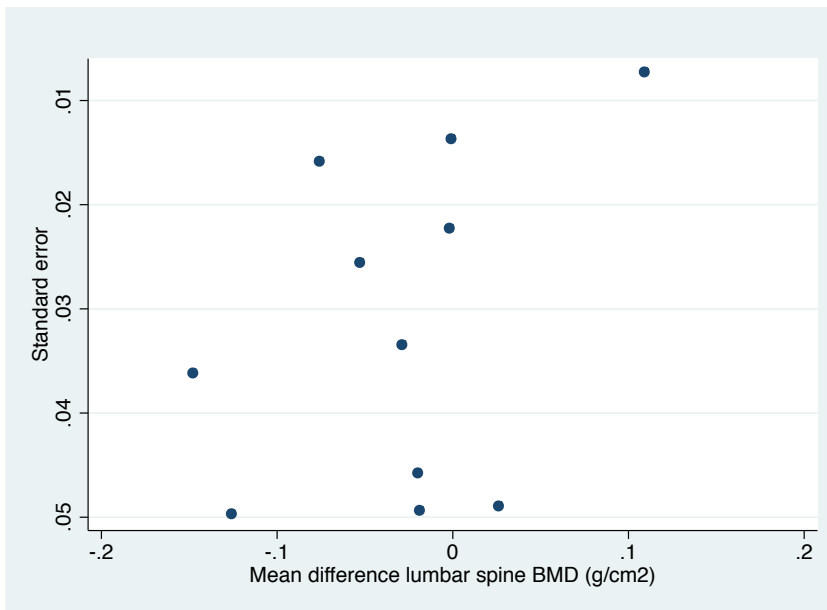


Figure 2. (a) Random-effects meta-analysis of studies assessing breastfeeding and lumbar spine BMD; (b) Random-effects meta-analysis of studies assessing breastfeeding and femoral neck BMD.

3a)



3b)

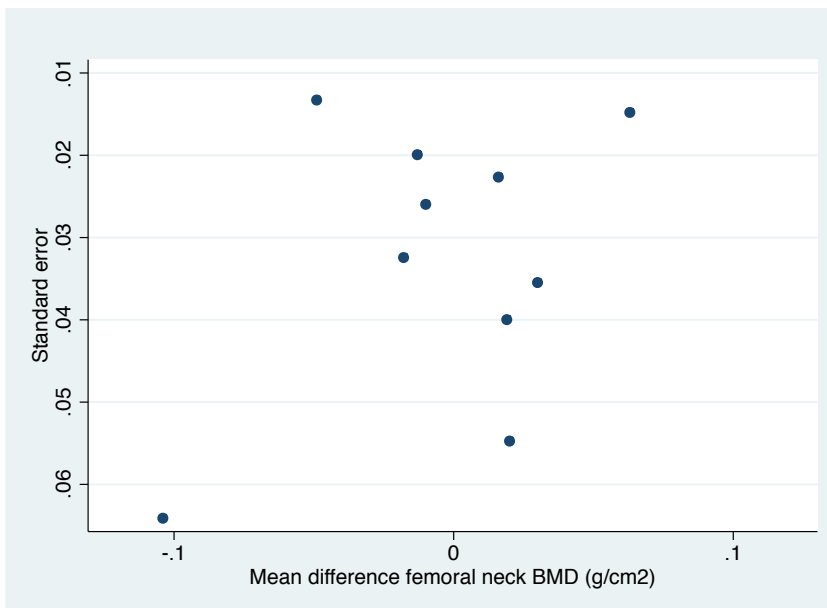


Figure 3. Funnel plots: (a) estimates from studies assessing breastfeeding and lumbar spine BMD; (b) estimates from studies assessing breastfeeding and femoral neck BMD.

**Association of breastfeeding, maternal
anthropometry and body composition in women
at 30 years of age**

Artigo aceito no periódico Cadernos de Saúde Pública

Formatado de acordo com as normas da revista

Title: Association of breastfeeding, maternal anthropometry and body composition in women at 30 years of age

Short title: Breastfeeding and maternal anthropometry and body composition

Authors

Natália P. Lima^{1*}

Diego G. Bassani²

Bruna G. C. da Silva¹

Janaína V. S. Motta³

Elma Izze S. Magalhães¹

Fernando C. Barros³

Bernardo L. Horta¹

¹ Postgraduate Program in Epidemiology, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil.

Address: Marechal Deodoro, 1160 - 3º andar. CEP: 96020-220. Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

²Centre for Global Child Health, Hospital for Sick Children & Department of Paediatrics, University of Toronto, Toronto, ON, Canada.

Address: 686 Bay Street, 11th Floor, Suite 11.9805. Postal Code: M5G 0A4. Toronto, Ontario, Canada.

³ Postgraduate Program in Health and Behavior, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

Address: Gonçalves Chaves, 373 - sala 411, prédio C. CEP: 96015-560. Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

***Correspondence to:**

Natália Peixoto Lima

Universidade Federal de Pelotas

Rua Marechal Deodoro, 1160 (3º andar), CEP: 96020-220, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil. Tel/fax: +55 (53) 3284-1300

E-mail: natyplima@hotmail.com

Abstract

This study was aimed at assessing the association of breastfeeding with maternal body mass index, waist circumference, fat mass index, fat free mass index, android/gynoid fat ratio and bone mineral density. In 1982, the maternity hospitals in Pelotas, Brazil, were daily visited and all live births were identified and examined. These subjects have been follow-up for several times. At 30 years of age, the participants were interviewed and examined. Parous women provided information on parity and duration of breastfeeding. Multiple linear regression was used in the multivariate analysis, controlling for genomic ancestry, family income, schooling and smoking at 2004-5. After controlling for confounding factors, breastfeeding was inversely associated with BMI and fat mass index, whereas breastfeeding per livebirth was negatively associated with BMI, waist circumference and fat mass index. Women who had had a child in the last 5 years and had ever breastfed, showed lower BMI (β : -2.12, CI95%: -4.2; -0.1), waist circumference (β : -4.46, CI95%: -8.3; -0.6) and fat mass index (β : -1.79, CI95%: -3.3; -0.3), whereas no association was observed among those whose last childbirth was > 5 years, but the p-value for the tests of interaction were > 0.05. Our findings suggest that breastfeeding is associated with lower BMI and other adiposity measures, mostly in the first years after delivery. Besides that, it has no negative impact on bone mineral density.

Key words: Women; Breast Feeding; Lactation; Anthropometry; Body Composition

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação entre amamentação e índice de massa corporal, circunferência da cintura, índice de massa gorda, índice de massa livre de gordura, razão de gordura andróide/ginóide e densidade mineral óssea maternas. Em 1982, todas as maternidades da cidade de Pelotas, Brasil, foram visitadas diariamente e os nascidos vivos foram identificados e examinados e têm sido prospectivamente acompanhados em diferentes idades. Aos 30 anos, todos os participantes da coorte foram entrevistados e examinados. As mulheres que já haviam tido filho forneceram informações sobre paridade e duração da amamentação. Regressão linear múltipla foi utilizada na análise multivariada, e o controle para confusão foi feito para ancestralidade genética, renda familiar, escolaridade e fumo em 2004-5. Após ajuste, a duração da amamentação foi inversamente associada com IMC e índice de massa gorda, enquanto amamentação por nascido vivo foi negativamente associada com IMC, circunferência da cintura e índice de massa gorda. As mulheres que tiveram filhos nos últimos 5 anos e amamentaram apresentaram menor IMC (β : -2,12, IC95%: -4,2; -0,1), circunferência da cintura (β : -4,46, IC95%: -8,3; -0,6) e índice de massa gorda (β : -1,79, IC95%: -3,3; -0,3), enquanto não foi observada associação entre as que tiveram filho > 5 anos, mas o valor-p dos testes de interação foram > 0,05. Nossos achados sugerem que amamentação está associada com menor IMC e outras medidas de adiposidade, especialmente nos primeiros anos após o parto. Além disso, não tem impacto negativo na densidade mineral óssea.

Resumen

El objetivo fue evaluar la asociación entre lactancia y índice de masa corporal, circunferencia de la cintura, índice de masa grasa, índice de masa libre de grasa, razón de grasa androide / ginoide y densidad mineral ósea maternos. En 1982, todas las maternidades de la ciudad de Pelotas, Brasil, fueron visitadas diariamente y todos los nacidos vivos fueron identificados y examinados. A los 30 años, todos los participantes de la cohorte fueron entrevistados y examinados y han sido prospectivamente acompañados en diferentes edades. Las mujeres que ya habían tenido hijos proporcionaron información sobre la paridad y la duración de la lactancia. La regresión lineal múltiple fue utilizada en el análisis multivariante, controlando para ancestralidad genética, renta familiar, escolaridad y tabaco en 2004-5. Después de controlar la confusión, la duración de la lactancia fue inversamente asociada con IMC e índice de masa grasa, mientras que la lactancia por nacido vivo fue negativamente asociada con IMC, circunferencia de la cintura y índice de masa grasa. Las mujeres que tuvieron hijos en los últimos 5 años y amamantaron presentaron un menor IMC (β : -2.12, IC95%: -4.2, -0.1), circunferencia de la cintura (β : -4.46, IC95%: -8.3, -0.6) e índice de la masa grasa (β : -1.79, IC95%: -3.3, -0.3), mientras que no se observó asociación entre las que tuvieron hijo > 5 años, pero el valor p de las pruebas de interacción fueron > 0, 05. Nuestros hallazgos sugieren que la lactancia está asociada con el menor IMC y otras medidas de adiposidad, especialmente en los primeros años después del parto. Además, no tiene impacto negativo en la densidad mineral ósea.

Introduction

Breastfeeding has clear short-term benefits, decreasing mortality and morbidity from infectious disease in childhood^{1,2}. Additionally, breastfeeding protects against type 2 diabetes and obesity³, and is positively associated with human capital^{4,5}. Beyond the benefits of breastfeeding to those who have been breastfed, it has also been reported that women who breastfed would have lower risk of breast and ovarian cancer, and larger birth spacing⁶.

A recently published meta-analysis reported that breastfeeding mothers have lower postpartum weight retention of 380 g (95% CI: -640; -110) than those that bottle-fed their child⁷. Furthermore, it has also been suggested that breastfeeding would also be associated with maternal body composition, such as skinfold thickness, fat free mass and fat mass, but most of the studies presents failed to observe an association or observed weak associations⁸. During lactation, women have a fetal demand for calcium⁹, but the evidences regarding the association between breastfeeding and bone mineral density show conflicting results and are inconclusive^{6,10}. Most of the studies were conducted in high income countries, where there is a positive association between socioeconomic status and breastfeeding¹¹. Because socioeconomic status is negatively associated with obesity in these settings¹²⁻¹⁴, the observed associations could be to residual confounding.

The present study was aimed at assessing the association between breastfeeding and body mass index (BMI), waist circumference, fat mass index, fat free mass index, android/gynoid fat ratio and bone mineral density in parous women enrolled in the 1982 Pelotas Birth Cohort Study, a setting where duration of breastfeeding is not associated with socioeconomic status¹⁵. Therefore, the present study should not be susceptible to residual confounding by socioeconomic status.

Methods

In 1982, all maternity hospitals in Pelotas, a southern Brazilian city, were daily visited and those livebirths whose family lived in the urban area of the city were examined and their mothers interviewed (n=5914). These subjects have been prospectively followed for several times, and further details on the methodology of the study have been previously published^{16,17}.

From June 2012 to February 2013, the cohort was invited to a new follow-up study using different strategies to locate the cohort members. The subjects were invited to the research clinic, where they were interviewed and examined by a trained team¹⁸, at a mean age of 30.2 years. In the present study, we included those women who had had at least one livebirth and were not pregnant at the time of interview.

In the 2012-13 visit, we collected information on socioeconomic conditions, such as skin color (white; black; brown/indigenous/asian), years of schooling (0-4; 5-8; 9-11; ≥ 12), and asset index according to the Brazilian Research Association Institute criterion (A/B; C; D/E). Besides, women were asked about their parity and the duration of breastfeeding of each child. Total duration of breastfeeding was obtained by summing the duration of lactation of all children (in months). Women who breastfed < 1 month was classified as never breastfeeding. Weight was measured using a scale coupled to a BodPod equipment with a capacity up to 150kg, and height was measured using a portable stadiometer (aluminum and wood). BMI was calculated dividing weight by squared height (kg/m^2). Individuals were classified as overweight if BMI was $\geq 25.0\text{kg}/\text{m}^2$. Waist circumference was measured with an inextensible tape with an accuracy of 0,1cm. This measure was collected twice during the same visit, if the difference between the two measures was above 1 cm, a third measurement was performed. Total fat mass and free fat mass were evaluated by air displacement plethysmography (BodPod). Fat mass index and fat free mass index were assessed dividing the total fat and fat free mass by the squared height (kg/m^2). Android/gynoid fat ratio was calculated dividing the fat mass in the android region by the gynoid region, which were measured using dual-energy x-ray absorptiometry (DXA). Femoral neck bone mineral density was also measured by DXA. Individuals with metal body parts in the femoral neck (plates, pins) and those whose surgical intervention altered the anatomic structure of that segment of the skeleton were excluded from bone mineral density analysis.

The analyses were carried out using Stata, version 14.0 (StataCorp, College Station, TX). We used chi-square test and ANOVA to compare proportions and means, respectively. Data distribution was assessed, and all outcomes were normally distributed. Multiple linear regression analysis included confounding factors with a p-value < 0.20 for the association with both the body composition outcomes and breastfeeding variables. The

following potential confounding variables were collected during the 2004-5 visit: European genomic ancestry (based on approximately 370,000 SNPs mutually available for the Pelotas cohort and selected samples of the HapMap and Human Genome Diversity - ADMIXTURE was used to estimate the genomic ancestry of each subject)¹⁹, family income (in Brazilian reais), years of schooling (0-4; 5-8; 9-11; ≥ 12), leisure time physical activity assessed through the International Physical Activity Questionnaire (min/week)²⁰, and self-reported tobacco smoking (reported as yes or no). Statistical comparisons were based on tests of heterogeneity and linear trend, and the one with the lower p-value was presented. Analysis was also performed stratifying for time since last birth (<5; ≥ 5 years) and interaction was tested fitting a linear regression model with an interaction term.

This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects were approved by the Research Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Federal University of Pelotas (protocol number: Of.16/12). Written informed consent was obtained from all subjects.

Results

In 2012-13, we interviewed 3701 individuals from the cohort, that added to 325 known deaths, represented a follow-up rate of 68.1%. With respect to women, 1914 were interviewed and 130 had died, corresponding to 71.1% of the original cohort. Of those interviewed, 1147 met the eligibility criteria. Information on breastfeeding was available for 1146 women, while complete data on breastfeeding and at least one of the maternal body composition measures were available for 1126 women.

Among the subjects included in this analysis, 73.6% were white, 34.4% had completed between 9 and 11 years of schooling, and mean proportion of European ancestry was 75.0%. Most of the women was primiparous (52.6%) and 27.4% had breastfed for at least 24 months. The prevalence of overweight was 59.0%. (Table 1)

With respect to the confounding variables, breastfeeding was higher in women with lower socioeconomic status in 2004-5 (Supplementary Table S1), but no association was observed after taking parity into account (Supplementary Table S2). Fat free mass index and bone mineral density were slightly higher in women with lower family income and

schooling in 2004-5, whereas body mass index and fat mass index were only associated with income, but these associations did not show a clear pattern (Supplementary Table S3 and S4).

Tables 2 and 3 show the association of breastfeeding with maternal anthropometry and body composition. Even after controlling for possible confounding variables, women who had ever breastfed showed lower BMI (β : -1.57, CI95%: -2.8; -0.4), waist circumference (β : -3.41, CI95%: -5.8; -1.0) and fat mass index (β : -1.32, CI95%: -2.2; -0.4). In addition, total duration of breastfeeding was inversely associated with BMI and fat mass index. For waist circumference, we observed reduction in all categories of total breastfeeding. For android to gynoid ratio, adjustment for confounding variables slightly decreased the magnitude of the associations and most of the confidence intervals included the reference. Duration of breastfeeding per livebirth was negatively associated with BMI, waist circumference and fat mass index. For android to gynoid ratio, the association was not linear, but those who had breastfed for longer durations showed lower values. On the other hand, bone mineral density was not associated with breastfeeding.

Tables 4 and 5 show the analyses stratified for time since last birth. After controlling for confounding variables, those women who had had a child in the last 5 years and had ever breastfed, showed lower BMI (β : -2.12, CI95%: -4.2; -0.1), waist circumference (β : -4.46, CI95%: -8.3; -0.6) and fat mass index (β : -1.79, CI95%: -3.3; -0.3), compared to the never breastfeeding group. Among those whose last childbirth was > 5 years, the associations were weaker and the confidence intervals included the reference, but the tests for interaction were not statistically significant (p-value for interaction > 0.05).

Discussion

In this cohort that has been prospectively followed since birth, breastfeeding was associated with lower fat mass, whereas there was no association with bone mineral density. We observed a trend toward weaker associations among those who had the last birth > 5 years before the interview, but the formal tests for interaction were not statistically significant. Therefore, we cannot exclude that these differences were due to random variation.

With respect to adiposity, the association of breastfeeding with BMI²¹⁻²⁷ and abdominal adiposity measures^{22,24,28-32} have been reported by some studies, whereas others have failed to describe such associations³³⁻³⁶. A systematic review observed that most of the studies reported little or no association between breastfeeding and body composition⁸, but the authors did not estimate the pooled effect. In the same token, a lower total fat mass^{28,37} has been reported among women who breastfed, but others failed to observe such association^{32,38,39}. Concerning bone mineral density, two systematic reviews described that the evidence of an association with breastfeeding was not clear because of the high heterogeneity among the studies^{6,10}. As most of the studies were conducted in high income countries, where socioeconomic status is positively associated with breastfeeding¹¹ and inversely associated with obesity¹²⁻¹⁴, these results might be due to residual confounding. In our study, when evaluating the duration of breastfeeding per livebirth, with the intention of taking parity into account, we did not observe any association between breastfeeding and socioeconomic variables. Therefore, the lower adiposity among women with longer duration of breastfeeding should not be attributed to residual confusion by socioeconomic status.

The Promotion of Breastfeeding Intervention Trial (PROBIT) evaluated the effect of breastfeeding on BMI, fat mass index and fat free mass index⁴⁰. In an intention-to-treat analysis, those mothers who had been allocated to the breastfeeding promotion arm showed, at 11.5 years postpartum, lower BMI (-0.27kg/m², 95% CI: -0.91, 0.37), fat mass index (-0.23kg/m², 95%CI: -0.64, 0.17) and fat free mass index (-0.05kg/m², 95%CI: -0.27, 0.16) than those in the control group, but the confidence intervals included the nullity. In that trial, the intervention showed a higher duration of breastfeeding⁴¹, but at six months only 49.8% of the mothers in the intervention group were still breastfeeding, as well as 36.1% in the control group. Due to low compliance to study protocol there is a decrease in the statistical power⁴², and therefore the non-significant association observed in this study should not be considered as an indication that there are no associations.

Concerning the possible mechanisms for the observed association between breastfeeding and maternal adiposity, it has been suggested that lactation may mobilize accumulated fat stores, “resetting” maternal metabolism after pregnancy⁴³. Lactation would improve beta-cell function, reducing insulin secretion, and suppress hypothalamic-pituitary-adrenal

axis activity through the action of oxytocin and other lactogenic hormones, lowering cortisol levels⁴⁴. Beside this, it has been estimated that exclusive breastfeeding in the first six months of life require additional energy of approximately 500 kcal/day⁴⁵. Therefore, lactation may have an effect on maternal adiposity. Our findings suggest that the benefits of breastfeeding on maternal fatness decrease with time since last birth. This moderation on the effect might be due to the concept of energy balance, i.e., there is a wane on the effect because of the cessation of the energy demand after stop breastfeeding. Similarly with our results, previous studies also reported that the effect of breastfeeding on maternal metabolic outcomes reduces as women age^{7, 23, 24, 46, 47} and with time since last birth⁴⁸⁻⁵¹.

As strengths of the study, we assessed the association between breastfeeding and maternal anthropometry and body composition using information from a large birth cohort in which all the data was prospectively collected by a trained research team. In 2012-13, we followed-up 71.1% of women from the original cohort, representing a high follow-up rate. The attrition rate was slightly higher among the poorer and the richest women, but was similar for several other baseline characteristics, as genome ancestry and maternal schooling and skin color. Thus, we believe that our results are unlikely to be due to selection bias. However, some limitations should be pointed. In our analysis, we were not able to adjust for some confounding factors, as pre-gestational BMI and weight gain during pregnancy, because information on these variables was not available. Besides, we did not have data on patterns and daily frequency of breastfeeding. The latter might have led to a misclassification in the breastfeeding status, but this is a limitation in most of the studies evaluating breastfeeding and maternal health. Further, the breastfeeding measure was collected retrospectively, but we believe that a possible error in the information on the duration of breastfeeding is independent of the outcomes evaluated, so this classification error would be non-differential. It is also important to mention that, because we tested multiple outcomes, some of the associations could have been statistically significant due to inflation of the type 1 error. However, we observed more significant associations than it would be expected by error. In addition, the outcomes are correlated measures, being unlikely that the results are due to type 1 error.

Because postpartum weight retention is associated with the development of overweight and obesity^{52, 53}, which increases the risk of chronic non-communicable diseases^{54, 55}, the global leading cause of morbidity and mortality⁵⁶, the present study brings further

evidence on the beneficial effect of breastfeeding to the mother. These evidence should be taken into consideration, when estimating the consequences of breastfeeding on maternal health.

Concluding, our results suggest that recent breastfeeding is associated with lower BMI and other adiposity measures. And, at the same time, it has no negative impact on bone mineral density. These findings suggest that breastfeeding may also have a positive consequence on maternal health. Reinforcing, the relevance of interventions aimed at increasing breastfeeding duration.

References

1. Sankar MJ, Sinha B, Chowdhury R, Bhandari N, Taneja S, Martines J, *et al.* Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* 2015; 104(467):3-13.
2. Horta BL, Victora CG. Short-term effects of breastfeeding: a systematic review on the benefits of breastfeeding on diarrhoea and pneumonia mortality. Geneva: World Health organization; 2013.
3. Horta BL, Loret de Mola C, Victora CG. Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* 2015; 104(467):30-37.
4. Horta BL, Loret de Mola C, Victora CG. Breastfeeding and intelligence: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* 2015; 104(467):14-19.
5. Victora CG, Horta BL, Loret de Mola C, Quevedo L, Pinheiro RT, Gigante DP, *et al.* Association between breastfeeding and intelligence, educational attainment, and income at 30 years of age: a prospective birth cohort study from Brazil. *Lancet Glob Health* 2015; 3(4):e199-e205.
6. Chowdhury R, Sinha B, Sankar MJ, Taneja S, Bhandari N, Rollins N, *et al.* Breastfeeding and maternal health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* 2015; 104(467):96-113.
7. Jiang M, Gao H, Vinyes-Pares G, Yu K, Ma D, Qin X, *et al.* Association between breastfeeding duration and postpartum weight retention of lactating mothers: A meta-analysis of cohort studies. *Clin Nutr* 2017; 37(4):1224-1231.

8. Neville CE, McKinley MC, Holmes VA, Spence D, Woodside JV. The relationship between breastfeeding and postpartum weight change-a systematic review and critical evaluation. *Int J Obes* 2014; 38(4):577-590.
9. Kovacs CS, Kronenberg HM. Maternal-fetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium, and lactation. *Endocr Rev* 1997; 18(6):832-72.
10. Gonçalves ACS, Ferreira MF, Hasselmann MH, Faerstein E. O efeito da amamentação na massa óssea de mulheres na pós-menopausa: revisão sistemática de estudos observacionais. *Rev Bras Saude Mater Infant* 2015; 15(3):265-278.
11. Victora CG, Bahl R, Barros AJ, França GV, Horton S, Krasevec J, *et al.* Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* 2016; 387(10017):475-490.
12. McLaren L. Socioeconomic Status and Obesity. *Epidemiol Rev* 2007; 29:29-48.
13. Ogden CL, Lamb MM, Carroll MD, Flegal KM. Obesity and Socioeconomic Status in Adults: United States, 2005–2008. *NCHS Data Brief* 2010 2010; (50):1-8.
14. Newton S, Braithwaite D, Akinyemiju TF. Socio-economic status over the life course and obesity: Systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2017; 12(5):e0177151.
15. Victora CG, Matijasevich A, Santos IS, Barros AJ, Horta BL, Barros FC. Breastfeeding and feeding patterns in three birth cohorts in Southern Brazil: trends and differentials. *Cad Saude Publica* 2008; 24Suppl 3:s409–s416.
16. Victora CG, Barros FC. Cohort Profile: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol* 2006; 35(2):237-242.
17. Barros FC1, Victora CG, Horta BL, Gigante DP. Methodology of the Pelotas birth cohort study from 1982 to 2004-5, Southern Brazil. *Rev Saude Publica* 2008; 42 Suppl 2:7-15.
18. Horta BL, Gigante DP, Gonçalves H, dos Santos Motta J, Loret de Mola C, Oliveira IO, *et al.* Cohort Profile Update: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol* 2015; 44(2):441a-441e.
19. Kehdy FS, Gouveia MH, Machado M, Magalhães WC, Horimoto AR, Horta BL, *et al.* Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. *Proc Natl Acad Sci* 2015; 112(28):8696-8701.
20. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, *et al.* International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35(8):1381-1395.

21. Sarkar NR, Taylor R. Weight loss during prolonged lactation in rural Bangladeshi mothers. *J Health Popul Nutr* 2005; 23(2):177–83.
22. Gunderson EP, Lewis CE, Wei GS, Whitmer RA, Quesenberry CP, Sidney S. Lactation and changes in maternal metabolic risk factors. *Obstet Gynecol* 2007; 109(3):729-738.
23. Cohen SS, Larson CO, Matthews CE, Buchowski MS, Signorello LB, Hargreaves MK, *et al.* Parity and breastfeeding in relation to obesity among black and white women in the southern community cohort study. *J Womens Health (Larchmt)* 2009; 18(9):1323-32.
24. Natland ST, Nilsen TI, Midthjell K, Andersen LF, Forsmo S. Lactation and cardiovascular risk factors in mothers in a population-based study: the HUNT-study. *Int Breastfeed J* 2012; 7(1):8.
25. Bobrow KL, Quigley MA, Green J, Reeves GK, Beral V, Million Women Study Collaborators. Persistent effects of women's parity and breastfeeding patterns on their body mass index: results from the Million Women Study. *Int J Obes* 2013; 37(5):712-717.
26. Jarlenski MP, Bennett WL, Bleich SN, Barry CL, Stuart EA. Effects of breastfeeding on postpartum weight loss among US women. *Prev Med* 2014; 69:146-150.
27. Mastroeni MF, Mastroeni SSBS, Czarnobay SA, Ekwaru JP, Loehr SA, Veugelers PJ. Breast-feeding duration for the prevention of excess body weight of mother-child pairs concurrently: a 2-year cohort study. *Public Health Nutr* 2017; 20(14):2537-2548.
28. Gigante DP, Victora CG, Barros FC. Breast-feeding has a limited long-term effect on anthropometry and body composition of Brazilian mothers. *J Nutr* 2001; 131(1):78-84.
29. Ram KT, Bobby P, Hailpern SM, Lo JC, Schocken M, Skurnick J, *et al.* Duration of lactation is associated with lower prevalence of the metabolic syndrome in midlife - SWAN, the study of women's health across the nation. *Am J Obstet Gynecol.* 2008; 198(3):268.e1-6.
30. McClure CK, Schwarz EB, Conroy MB, Tepper PG, Janssen I, Sutton-Tyrrell KC. Breastfeeding and Subsequent Maternal Visceral Adiposity. *Obesity* 2011; 19(11):2205-2213.
31. McClure CK, Catov J, Ness R, Schwarz EB. Maternal Visceral Adiposity by Consistency of Lactation. *Matern Child Health J* 2012; 16(2):316-321.

32. Armenta RF, Kritz-Silverstein D, Wingard D, Laughlin GA, Wooten W, Barrett-Connor E, *et al.* Association of Breastfeeding with Postmenopausal Visceral Adiposity Among Three Racial/Ethnic Groups. *Obesity* 2015; 23(2):475-480.
33. Stuebe AM, Kleinman K, Gillman MW, Rifas-Shiman SL, Gunderson EP, Rich-Edwards J. Duration of lactation and maternal metabolism at 3 years postpartum. *J Womens Health* 2010; 19(5):941–50.
34. Tørris C, Thune I, Emaus A, Finstad SE, Bye A, Furberg AS, *et al.* Duration of Lactation, Maternal Metabolic Profile, and Body Composition in the Norwegian EBBA I-Study. *Breastfeed Med* 2013; 8(1):8-15.
35. Groer MW, Jevitt CM, Sahebzamani F, Beckstead JW, Keefe DL. Breastfeeding Status and Maternal Cardiovascular Variables Across the Postpartum. *J Womens Health* 2013; 22(5):453-459.
36. Yang L, Li L, Millwood IY, Lewington S, Guo Y, Sherliker P, *et al.* Adiposity in relation to age at menarche and other reproductive factors among 300 000 Chinese women: findings from China Kadoorie Biobank study. *Int J Epidemiol* 2017; 46(2):502-512.
37. Wiklund P, Xu L, Lyytikäinen A, Saltevo J, Wang Q, Völgyi E, *et al.* Prolonged breast-feeding protects mothers from later-life obesity and related cardio-metabolic disorders. *Public Health Nutr* 2012; 15(1):67-74.
38. Kulkarni B, Shatrugna V, Nagalla B, Rani KU. Regional Body Composition of Indian Women from a Low-Income Group and Its Association with Anthropometric Indices and Reproductive Events. *Ann Nutr Metab* 2010; 56(3):182-189.
39. Mullaney L, O'Higgins AC, Cawley S, Kennedy R, McCartney D, Turner MJ. Breast-feeding and postpartum maternal weight trajectories. *Public Health Nutr* 2015; 19(8):1397–1404.
40. Oken E, Patel R, Guthrie LB, Vilchuck K, Bogdanovich N, Sergeichick N, *et al.* Effects of an intervention to promote breastfeeding on maternal adiposity and blood pressure at 11.5 y postpartum: results from the Promotion of Breastfeeding Intervention Trial, a cluster-randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2013; 98(4):1048-1056.
41. Kramer MS, Chalmers B, Hodnett ED, Sevkovskaya Z, Dzikovich I, Shapiro S, *et al.* Promotion of Breastfeeding Intervention Trial (PROBIT): a randomized trial in the Republic of Belarus. *JAMA* 2001; 285(4):413-20.
42. Jo, B. Statistical power in randomized intervention studies with noncompliance. *Psychol Methods* 2002; 7(2):178-193.

43. Stuebe AM, Rich-Edwards JW. The Reset Hypothesis: Lactation and Maternal Metabolism. *Am J Perinatol* 2009; 26(1):81-88.
44. Stuebe A. Associations Among Lactation, Maternal Carbohydrate Metabolism, and Cardiovascular Health. *Clin Obstet Gynecol* 2015; 58(4):827-839.
45. Human energy requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Food Nutrition Technical Report Series no. 1. Rome: Food and Agriculture Organization; 2001.
46. Schwarz EB, Ray RM, Stuebe AM, Allison MA, Ness RB, Freiberg MS, *et al.* Duration of Lactation and Risk Factors for Maternal Cardiovascular Disease. *Obstet Gynecol* 2009; 113(5):974-982.
47. Lupton SJ, Chiu CL, Lujic S, Hennessy A, Lind JM. Association between parity and breastfeeding with maternal high blood pressure. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 208(6):454.e1-454.e7.
48. Stuebe AM, Rich-Edwards JW, Willett WC, Manson JE, Michels KB. Duration of lactation and incidence of type 2 diabetes. *JAMA* 2005; 294(20):2601-2610.
49. Villegas R, Gao YT, Yang G, Li HL, Elasy T, Zheng W, *et al.* Duration of breastfeeding and the incidence of type 2 diabetes mellitus in the Shanghai Women's Health Study. *Diabetologia* 2008; 51(2):258-266.
50. Jager S, Jacobs S, Kröger J, Fritsche A, Schienkiewitz A, Rubin D, *et al.* Breastfeeding and maternal risk of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis. *Diabetologia* 2014; 57(7):1355-1365.
51. Gunderson EP, Quesenberry CP Jr, Ning X, Jacobs DR Jr, Gross M, Goff DC Jr, *et al.* Lactation Duration and Midlife Atherosclerosis. *Obstet Gynecol* 2015; 126(2):381-390.
52. Linné Y, Dye L, Barkeling B, Rössner S. Long-term weight development in women: a 15-year follow-up of the effects of pregnancy. *Obes Res* 2004; 12(7):1166-78.
53. Endres LK, Straub H, McKinney C, Plunkett B, Minkovitz CS, Schetter CD, *et al.* Postpartum weight retention risk factors and relationship to obesity at 1 year. *Obstet Gynecol* 2015; 125(1):144-52.
54. Field AE, Coakley EH, Must A, Spadano JL, Laird N, Dietz WH, *et al.* Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. *Arch Intern Med* 2001; 161(13):1581-6.

55. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983; 67(5):968-77.
56. World Health Organization. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva: World Health Organization; 2018.

Table 1. Characteristics of the studied population (n=1126). Pelotas, 2012.

	N	%	Mean	(SD)
Skin color				
White	829	73.6	-	
Black	197	17.5	-	
Brown/Indigenous/Asian	100	8.9	-	
Schooling (completed years)				
0 – 4	92	8.2	-	
5 – 8	278	24.7	-	
9 – 11	387	34.4	-	
≥12	367	32.7	-	
Asset index*				
D/E (poorest)	57	6.5	-	
C	328	37.3	-	
A/B (richest)	495	56.2	-	
Proportion of European ancestry	961	-	0.75	(0.20)
Total duration of breastfeeding (months)				
<1	122	10.8	-	
1 – <6	229	20.3	-	
6 – <12	260	23.1	-	
12 – <24	207	18.4	-	
≥24	308	27.4	-	
Parity				
1	593	52.6	-	
2	334	29.7	-	
≥3	199	17.7	-	
BMI (kg/m ²)	1104	-	27.32	(6.10)
Overweight prevalence	651	59.0	-	
Waist circumference (cm)	1126	-	82.04	(12.08)
Fat mass index (kg/m ²)	1111	-	10.75	(4.68)
Free fat mass index (kg/m ²)	1111	-	16.53	(1.82)
Android/gynoid fat ratio	1105	-	0.46	(0.12)
Femoral neck BMD (g/cm ²)	1102	-	1.02	(0.12)

BMD: bone mineral density. *Brazilian Association of Research Companies.

Table 2. Maternal anthropometry according to total sum of breastfeeding (n=1126). Pelotas, 2012.

	N	Regression coefficient (95% confidence interval)			
		Body mass index (kg/m ²)		Waist circumference (cm)	
		Crude	Adjusted*	Crude	Adjusted*
Total duration of breastfeeding		P<0.01†	P=0.01†	P<0.01†	P<0.01†
Never	122	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Ever	1004	-1.54 (-2.7; -0.4)	-1.57 (-2.8; -0.4)	-3.27 (-5.5; -1.0)	-3.41 (-5.8; -1.0)
Total duration of breastfeeding		P=0.06‡	P=0.03‡	P=0.08†	P=0.09†
Never	122	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
1 – <6	229	-1.38 (-2.7; -0.1)	-1.33 (-2.8; 0.1)	-3.55 (-6.2; -0.9)	-3.55 (-6.4; -0.7)
6 – <12	260	-1.57 (-2.9; -0.2)	-1.59 (-3.0; -0.2)	-3.40 (-6.0; -0.8)	-3.47 (-6.2; -0.7)
12 – <24	207	-1.52 (-2.9; -0.1)	-1.47 (-2.9; -0.1)	-2.99 (-5.7; -0.3)	-3.02 (-5.9; -0.1)
≥24	308	-1.64 (-2.9; -0.4)	-1.80 (-3.2; -0.4)	-3.14 (-5.7; -0.6)	-3.51 (-6.2; -0.8)
Breastfeeding per livebirth		P=0.02‡	P=0.01‡	P=0.04‡	P=0.04‡
<1	133	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
1 – <3	133	-0.84 (-2.3; 0.7)	-0.97 (-2.6; 0.6)	-2.29 (-5.2; 0.6)	-2.77 (-5.9; 0.3)
3 – <6	229	-1.86 (-3.2; -0.6)	-1.70 (-3.1; -0.3)	-3.51 (-6.1; -0.9)	-3.37 (-6.1; -0.6)
6 – <12	278	-1.34 (-2.6; -0.1)	-1.52 (-2.9; -0.2)	-2.63 (-5.1; -0.1)	-2.94 (-5.6; -0.3)
≥12	353	-1.62 (-2.8; -0.4)	-1.74 (-3.0; -0.4)	-3.14 (-5.5; -0.7)	-3.39 (-5.9; -0.8)

BMD: bone mineral density. *Adjusted for genomic ancestry and family income, schooling and smoking at 2004-5 (P<0.2). †Test for heterogeneity. ‡Test for linear trend.

Table 3. Maternal body composition according to total sum of breastfeeding (n=1126). Pelotas, 2012.

	N	Regression coefficient (95% confidence interval)							
		Fat mass index (kg/m ²)		Fat free mass index (kg/m ²)		Android/gynoid fat ratio		Femoral neck BMD (g/cm ²)	
		Crude	Adjusted*	Crude	Adjusted*	Crude	Adjusted*	Crude	Adjusted*
Total duration of breastfeeding		P<0.01†	P<0.01†	P=0.30†	P=0.33†	P=0.01†	P=0.06†	P=0.39†	P=0.39†
Never	122	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Ever	1004	-1.32 (-2.2; -0.4)	-1.32 (-2.2; -0.4)	-0.18 (-0.5; 0.2)	-0.18 (-0.5; 0.2)	-0.029 (-0.05; -0.01)	-0.022 (-0.05; 0.01)	-0.010 (-0.03; 0.01)	-0.011 (-0.04; 0.01)
Total duration of breastfeeding		P<0.01‡	P<0.01‡	P=0.34†	P=0.71‡	P=0.13†	P=0.30†	P=0.24†	P=0.56†
Never	122	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
1 – <6	229	-1.12 (-2.1; -0.1)	-1.05 (-2.1; 0.1)	-0.23 (-0.6; 0.2)	-0.20 (-0.6; 0.2)	-0.033 (-0.06; -0.01)	-0.028 (-0.06; -0.01)	-0.011 (-0.04; 0.02)	-0.007 (-0.04; 0.02)
6 – <12	260	-1.17 (-2.2; -0.2)	-1.25 (-2.3; -0.2)	-0.28 (-0.7; 0.1)	-0.17 (-0.6; 0.2)	-0.031 (-0.06; -0.01)	-0.026 (-0.05; 0.01)	-0.015 (-0.04; 0.01)	-0.016 (-0.04; 0.01)
12 – <24	207	-1.31 (-2.4; -0.3)	-1.28 (-2.4; -0.2)	-0.24 (-0.7; 0.2)	-0.22 (-0.7; 0.2)	-0.026 (-0.05; 0.01)	-0.015 (-0.04; 0.01)	-0.021 (-0.05; 0.01)	-0.020 (-0.05; 0.01)
≥24	308	-1.62 (-2.6; -0.6)	-1.60 (-2.6; -0.6)	-0.02 (-0.4; 0.4)	-0.14 (-0.5; 0.3)	-0.025 (-0.05; -0.01)	-0.020 (-0.05; 0.01)	0.002 (-0.02; 0.03)	-0.004 (-0.03; 0.02)
Breastfeeding per livebirth		P=0.01‡	P<0.01‡	P=0.32†	P=0.42‡	P=0.10†	P=0.23†	P=0.36†	P=0.32‡
<1	133	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
1 – <3	133	-0.79 (-1.9; 0.3)	-0.82 (-2.0; 0.4)	-0.04 (-0.5; 0.4)	-0.07 (-0.5; 0.4)	-0.019 (-0.05; 0.01)	-0.020 (-0.05; 0.01)	-0.001 (-0.03; 0.03)	0.001 (-0.03; 0.03)
3 – <6	229	-1.42 (-2.4; -0.4)	-1.29 (-2.4; -0.2)	-0.33 (-0.7; 0.1)	-0.25 (-0.7; 0.2)	-0.031 (-0.06; -0.01)	-0.030 (-0.06; -0.01)	-0.024 (-0.05; 0.01)	-0.022 (-0.05; 0.01)
6 – <12	278	-0.95 (-1.9; 0.1)	-1.15 (-2.2; -0.1)	-0.28 (-0.7; 0.1)	-0.22 (-0.6; 0.2)	-0.031 (-0.06; -0.01)	-0.024 (-0.05; 0.01)	-0.014 (-0.04; 0.01)	-0.018 (-0.05; 0.01)
≥12	353	-1.42 (-2.4; -0.5)	-1.48 (-2.5; -0.5)	-0.12 (-0.5; 0.2)	-0.16 (-0.5; 0.2)	-0.021 (-0.04; 0.01)	-0.015 (-0.04; 0.01)	-0.010 (-0.03; 0.01)	-0.012 (-0.04; 0.01)

BMD: bone mineral density. *Adjusted for genomic ancestry and family income, schooling and smoking at 2004-5 (P<0.2). †Test for heterogeneity. ‡Test for linear trend.

Table 4. Maternal anthropometry according to total sum of breastfeeding stratified for time since last birth (n=1 123[#]). Pelotas, 2012.

		Regression coefficient (95% confidence interval)			
		Body mass index (kg/m ²)		Waist circumference (cm)	
N		Crude	Adjusted*	Crude	Adjusted*
Total breastfeeding					
<i>Time since last birth</i>		P=0.50 [†]		P=0.56 [†]	
<i><5 years</i>		P=0.03 [‡]	P=0.04 [‡]	P=0.03 [‡]	P=0.02 [‡]
Never	49	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Ever	503	-2.19 (-4.1; -0.2)	-2.12 (-4.2; -0.1)	-4.24 (-8.0; -0.5)	-4.46 (-8.3; -0.6)
<i>≥5 years</i>		P=0.08 [‡]	P=0.09 [‡]	P=0.04 [‡]	P=0.05 [‡]
Never	72	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Ever	499	-1.24 (-2.6; 0.1)	-1.26 (-2.7; 0.2)	-3.01 (-5.8; -0.2)	-2.95 (-5.9; 0.1)

[#]3 missing values for time since last birth. *Adjusted for genomic ancestry and family income, schooling and smoking at 2004-5 (P<0.2). [†]P-value for interaction. [‡]Test for heterogeneity.

Table 5. Maternal body composition according to total sum of breastfeeding stratified for time since last birth (n=1123[#]). Pelotas, 2012.

N		Regression coefficient (95% confidence interval)							
		Fat mass index (kg/m ²)		Fat free mass index (kg/m ²)		Android/gynoid fat ratio		Femoral neck BMD (g/cm ²)	
		Crude	Adjusted*	Crude	Adjusted*	Crude	Adjusted*	Crude	Adjusted*
Total breastfeeding		P=0.46†		P=0.72†		P=0.82†		P=0.05†	
<i>Time since last birth</i>		P=0.01‡		P=0.02‡		P=0.60‡		P=0.73‡	
<5 years		P=0.01‡		P=0.02‡		P=0.60‡		P=0.73‡	
Never	49	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Ever	503	-1.88 (-3.3; -0.4)	-1.79 (-3.3; -0.3)	-0.16 (-0.7; 0.4)	-0.11 (-0.7; 0.5)	-0.019 (-0.05; 0.02)	-0.021 (-0.06; 0.01)	0.019 (-0.02; 0.06)	0.020 (-0.02; 0.06)
≥5 years		P=0.05‡		P=0.30‡		P<0.01‡		P=0.11‡	
Never	72	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Ever	499	-1.08 (-2.2; -0.1)	-1.08 (-2.2; 0.1)	-0.22 (-0.6; 0.2)	-0.24 (-0.7; 0.2)	-0.038 (-0.07; -0.01)	-0.025 (-0.06; 0.01)	-0.029 (-0.06; 0.01)	-0.032 (-0.06; 0.01)

[#]3 missing values for time since last birth. BMD: bone mineral density. *Adjusted for genomic ancestry and family income, schooling and smoking at 2004-5 (P<0.2). †P-value for interaction. ‡Test for heterogeneity.

Supplementary Table S1. Total duration of breastfeeding according to possible confounding variables. Pelotas, Brazil, 1982-2012 (n=1126).

	Total breastfeeding (months)				
	<1 N (%)	1 – <6 N (%)	6 – <12 N (%)	12 – <24 N (%)	≥24 N (%)
2004-5					
European ancestry (quintiles)			P=0.033†		
First	23 (11.9)	31 (16.1)	44 (22.8)	32 (16.6)	63 (32.6)
Second	16 (8.3)	34 (17.7)	41 (21.4)	33 (17.2)	68 (35.4)
Third	20 (10.4)	37 (19.3)	46 (24.0)	32 (16.7)	57 (29.6)
Fourth	27 (14.1)	42 (21.9)	40 (20.8)	34 (17.7)	49 (25.5)
Fifth	26 (13.5)	50 (26.1)	47 (24.5)	39 (20.3)	30 (15.6)
Family income quintiles*			P<0.001†		
First (poorest)	19 (8.8)	36 (16.7)	37 (17.1)	42 (19.4)	82 (38.0)
Second	20 (10.0)	36 (17.9)	45 (22.4)	32 (15.9)	68 (33.8)
Third	20 (9.5)	52 (24.6)	48 (22.8)	32 (15.2)	59 (27.9)
Fourth	32 (15.0)	47 (22.0)	50 (23.3)	37 (17.3)	48 (22.4)
Fifth (richest)	23 (11.5)	43 (21.5)	58 (29.0)	45 (22.5)	31 (15.5)
Schooling (completed years)			P<0.001†		
0-4	10 (10.8)	11 (11.8)	15 (16.1)	13 (14.0)	44 (47.3)
5-8	34 (10.0)	63 (18.5)	62 (18.2)	67 (19.7)	114 (33.6)
9-11	58 (11.0)	117 (22.2)	138 (26.3)	88 (16.7)	125 (23.8)
≥12	12 (14.5)	23 (27.7)	23 (27.7)	20 (24.1)	5 (6.0)
Leisure physical activity (≥150min)			P=0.734†		
No	98 (11.0)	186 (20.9)	197 (22.1)	161 (18.1)	249 (27.9)
Yes	16 (10.6)	28 (18.5)	41 (27.2)	27 (17.9)	39 (25.8)
Current smoking			P=0.968†		
No	80 (10.8)	155 (20.8)	172 (23.1)	131 (17.6)	206 (27.7)
Yes	34 (11.4)	59 (19.8)	66 (22.2)	57 (19.1)	82 (27.5)

*Minimum wage. †Chi-square test.

Supplementary Table S2. Breastfeeding per livebirth according to possible confounding variables. Pelotas, Brazil, 1982-2012 (n=1126).

	Total breastfeeding/livebirth‡				
	<1 N (%)	1 – <3 N (%)	3 – <6 N (%)	6 – <12 N (%)	≥12 N (%)
2004-5					
European ancestry (quintiles)			P=0.080†		
First	26 (13.5)	17 (8.8)	40 (20.7)	49 (25.4)	61 (31.6)
Second	17 (8.9)	24 (12.5)	27 (14.1)	53 (27.5)	71 (37.0)
Third	22 (11.5)	19 (9.9)	50 (26.0)	35 (18.2)	66 (34.4)
Fourth	28 (14.6)	26 (13.5)	37 (19.3)	43 (22.4)	58 (30.2)
Fifth	28 (14.6)	27 (14.1)	43 (22.4)	48 (24.9)	46 (24.0)
Family income quintiles*			P=0.380†		
First (poorest)	22 (10.2)	26 (12.0)	51 (23.6)	47 (21.8)	70 (32.4)
Second	20 (10.0)	26 (12.9)	41 (20.4)	49 (24.4)	65 (32.3)
Third	24 (11.4)	28 (13.3)	49 (23.2)	41 (19.4)	69 (32.7)
Fourth	35 (16.4)	24 (11.2)	40 (18.7)	49 (22.9)	66 (30.8)
Fifth (richest)	23 (11.5)	21 (10.5)	37 (18.5)	64 (32.0)	55 (27.5)
Schooling (completed years)			P=0.708†		
0-4	14 (15.1)	11 (11.8)	15 (16.1)	19 (20.4)	34 (36.6)
5-8	35 (10.3)	45 (13.2)	77 (22.7)	85 (25.0)	98 (28.8)
9-11	63 (12.0)	58 (11.0)	109 (20.7)	123 (23.4)	173 (32.9)
≥12	12 (14.5)	11 (13.3)	17 (20.5)	23 (27.6)	20 (24.1)
Leisure physical activity (≥150min)			P=0.725†		
No	108 (12.1)	111 (12.5)	187 (21.0)	212 (23.8)	273 (30.6)
Yes	16 (10.6)	14 (9.3)	31 (20.5)	38 (25.2)	52 (34.4)
Current smoking			P=0.015†		
No	87 (11.7)	84 (11.3)	139 (18.7)	191 (25.7)	243 (32.6)
Yes	37 (12.4)	41 (13.8)	79 (26.5)	59 (19.8)	82 (27.5)

‡Duration of breastfeeding divided by number of livebirths. *Minimum wage. †Chi-square test.

Supplementary Table S3. Maternal anthropometry according to possible confounding variables. Pelotas, Brazil, 1982-2012 (n=1126).

	Body mass index (kg/m ²)	Waist circumference (cm)
	Mean (95%CI)	Mean (95%CI)
2004-5		
European ancestry (quintiles)	P=0.408†	P=0.354†
First	27.97 (27.01; 28.94)	83.39 (81.57; 85.21)
Second	27.39 (26.57; 28.22)	82.01 (80.33; 83.68)
Third	27.41 (26.46; 28.36)	81.99 (80.16; 83.82)
Fourth	26.78 (25.93; 27.62)	80.79 (79.13; 82.46)
Fifth	27.05 (26.21; 27.89)	81.97 (80.33; 83.62)
Family income quintiles*	P=0.037†	P=0.088†
First (poorest)	26.77 (25.92; 27.62)	81.24 (79.63; 82.84)
Second	27.42 (26.58; 28.26)	82.04 (80.41; 83.67)
Third	28.21 (27.37; 29.05)	83.65 (81.97; 85.32)
Fourth	27.76 (26.85; 28.67)	82.93 (81.11; 84.75)
Fifth (richest)	26.56 (25.80; 27.32)	80.73 (79.23; 82.22)
Schooling (completed years)	P=0.529†	P=0.213†
0-4	27.46 (26.20; 28.72)	82.27 (79.87; 84.66)
5-8	27.42 (26.67; 28.17)	82.61 (81.17; 84.05)
9-11	27.44 (26.95; 27.93)	82.21 (81.24; 83.18)
≥12	26.37 (25.06; 27.68)	79.49 (77.00; 81.99)
Leisure physical activity (≥150min)	P=0.290†	P=0.316†
No	27.27 (26.87; 27.67)	81.97 (81.19; 82.76)
Yes	27.85 (26.75; 28.95)	83.04 (80.89; 85.20)
Current smoking	P<0.001†	P=0.005†
No	27.78 (27.33; 28.24)	82.79 (81.90; 83.69)
Yes	26.23 (25.57; 26.90)	80.46 (79.19; 81.74)

*Minimum wage. †ANOVA.

Supplementary Table S4. Maternal body composition according to possible confounding variables. Pelotas, Brazil, 1982-2012 (n=1126).

	Fat mass index (kg/m ²)	Fat free mass index (kg/m ²)	Android/gynoid fat ratio	Femoral neck BMD (g/cm ²)
	Mean (95%CI)	Mean (95%CI)	Mean (95%CI)	Mean (95%CI)
2004-5				
European ancestry (quintiles)	P=0.926†	P<0.001†	P=0.457†	P<0.001†
First	10.86 (10.11; 11.60)	17.04 (16.78; 17.31)	0.45 (0.43; 0.47)	1.06 (1.04; 1.08)
Second	10.75 (10.11; 11.39)	16.64 (16.39; 16.89)	0.47 (0.45; 0.48)	1.03 (1.01; 1.04)
Third	10.85 (10.14; 11.55)	16.52 (16.23; 16.81)	0.47 (0.45; 0.48)	1.02 (1.00; 1.04)
Fourth	10.46 (9.80; 11.13)	16.30 (16.07; 16.54)	0.46 (0.44; 0.47)	1.00 (0.99; 1.02)
Fifth	10.81 (10.17; 11.45)	16.27 (16.02; 16.52)	0.45 (0.44; 0.47)	1.00 (0.98; 1.01)
Family income quintiles*	P=0.009†	P<0.001†	P=0.287†	P=0.035†
First (poorest)	9.96 (9.34; 10.59)	16.67 (16.41; 16.93)	0.45 (0.44; 0.47)	1.03 (1.02; 1.05)
Second	10.73 (10.08; 11.38)	16.70 (16.45; 16.95)	0.46 (0.45; 0.48)	1.02 (1.00; 1.04)
Third	11.44 (10.79; 12.09)	16.81 (16.56; 17.06)	0.46 (0.45; 0.48)	1.03 (1.02; 1.05)
Fourth	11.24 (10.55; 11.92)	16.54 (16.27; 16.81)	0.47 (0.45; 0.48)	1.02 (1.00; 1.04)
Fifth (richest)	10.45 (9.84; 11.05)	16.05 (15.84; 16.25)	0.44 (0.43; 0.46)	1.00 (0.99; 1.02)
Schooling (completed years)	P=0.475†	P<0.001†	P=0.192†	P=0.062†
0-4	10.30 (9.33; 11.27)	17.07 (16.69; 17.46)	0.46 (0.43; 0.49)	1.05 (1.02; 1.08)
5-8	10.72 (10.16; 11.28)	16.70 (16.48; 16.92)	0.46 (0.45; 0.48)	1.02 (1.01; 1.04)
9-11	10.95 (10.57; 11.33)	16.46 (16.31; 16.60)	0.46 (0.45; 0.47)	1.02 (1.01; 1.03)
≥12	10.31 (9.29; 11.32)	16.03 (15.71; 16.35)	0.43 (0.41; 0.45)	1.00 (0.98; 1.02)
Leisure physical activity (≥150min)	P=0.168†	P=0.657†	P=0.984†	P=0.695†
No	10.68 (10.38; 10.99)	16.55 (16.42; 16.67)	0.46 (0.45; 0.47)	1.02 (1.01; 1.03)
Yes	11.26 (10.39; 12.12)	16.62 (16.32; 16.92)	0.46 (0.44; 0.48)	1.03 (1.00; 1.05)
Current smoking	P<0.001†	P=0.484†	P=0.060†	P=0.687†
No	11.18 (10.84; 11.52)	16.58 (16.44; 16.72)	0.46 (0.45; 0.47)	1.02 (1.01; 1.03)
Yes	9.72 (9.20; 10.24)	16.49 (16.30; 16.69)	0.45 (0.43; 0.46)	1.02 (1.01; 1.03)

BMD: bone mineral density. *Minimum wage. †ANOVA.

**Breastfeeding and maternal cardiovascular risk
factors: 1982 Pelotas Birth Cohort**

Artigo submetido ao periódico *Scientific Reports*
Formatado de acordo com as normas da revista

Breastfeeding and maternal cardiovascular risk factors: 1982 Pelotas Birth Cohort

Authors

Natália P. Lima, MSc^{1*}

Diego G. Bassani, PhD^{2,3}

Elma Izze S. Magalhães, MSc¹

Fernando C. Barros, PhD⁴

Bernardo L. Horta, PhD¹

¹ Postgraduate Program in Epidemiology, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil.

² Centre for Global Child Health, The Hospital for Sick Children, Toronto, Canada.

³ Department of Paediatrics and Dalla Lana School of Public Health, University of Toronto, Toronto, Canada.

⁴ Postgraduate Program in Health and Behavior, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

***Correspondence to:**

Natália Peixoto Lima

Universidade Federal de Pelotas

Rua Marechal Deodoro, 1160 (3º andar), CEP: 96020-220, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil. Tel/fax: +55 (53) 3284-1300

E-mail: natyplima@hotmail.com

Abstract

This study evaluated the association of breastfeeding duration with maternal metabolic cardiovascular risk factors among women who have been prospectively followed since birth in a southern Brazilian city. In the unadjusted analysis, total cholesterol was higher among women who never breastfed in relation to those who breastfed ≥ 12 months.

Among women with one livebirth, a shorter duration of breastfeeding was associated with lower HDL, while those with two or more livebirths and that breastfed for shorter time presented lower pulse wave velocity, glycaemia and non-HDL measures. After controlling for confounding variables, the magnitude of these associations decreased and the confidence intervals included the reference. Concerning the duration of breastfeeding of the last child, the analysis was stratified by time since last birth.

Systolic blood pressure was lower among women who breastfed 3 to <6 months and had a child within the last five years in relation to those who breastfed ≥ 6 . But, after controlling for confounders, no association was observed. In conclusion, our findings suggest that there is no association between lactation and maternal cardiometabolic risk factors.

Introduction

Breastfeeding has clear short-term benefits, breastfed children have lower mortality from infectious diseases¹. Regarding its long-term benefits, lower risk of type 2 diabetes and obesity have been reported among subjects who were breastfed². Moreover, breastfeeding is also positively associated with performance in intelligence tests, schooling achievement and income in adulthood³. It has also been reported that breastfeeding would be associated with maternal health, women who breastfeed have lower risk of breast cancer and higher birth spacing due to lactational amenorrhea⁴. It has been estimated that breastfeeding prevents about 20,000 deaths from breast cancer every year⁵.

Lactation is associated with better beta cell function and, consequently, with glucose levels maintenance^{6,7}. Also, lactation hormones might suppress the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity, leading to a decrease in cortisol and stress levels⁶, thus having an effect on maternal metabolism. In this sense, epidemiological studies have shown that long duration of breastfeeding reduces the risk of coronary heart disease^{8,9} and type 2 diabetes^{4,10-12}, whereas the evidence supporting the association with blood pressure¹³⁻²⁴ and lipid profile^{14,18,20,21,24,25} are not clear. Most of the studies on the long-term consequences of breastfeeding on maternal health have been carried out in high-income countries, where breastfeeding is positively associated with socioeconomic status⁵. Because cardiovascular risk factors are also associated with socioeconomic status²⁶⁻²⁹ and most studies adjusted the estimates for few socioeconomic confounders (*e.g.* only for schooling), perhaps not capturing its entire dimension, the possibility of residual confounding by socioeconomic status must be considered.

In the present study, we aimed at assessing the association of breastfeeding duration with maternal metabolic risk factors for cardiovascular disease among parous women who have been prospectively followed since birth in a southern Brazilian city, a setting where no strong social patterning of breastfeeding exists³⁰.

Results

In 2012-13, when the participants were 29-31 years of age, we interviewed 1914 of the 2876 women born in 1982, which after taking into account the deaths identified among the cohort members, represented a follow-up rate of 71.0%. And 1147 had delivered at least one live birth and were not pregnant when interviewed, meeting the eligibility criteria. Information on breastfeeding duration and at least one of the metabolic cardiovascular risk factors was available for 1136 of the women eligible to enter the study.

Table 1 shows that 73.7% of the women included in the present study were white, mean proportion of European ancestry was 75%, and mean achieved schooling was 10.3 years. Over half of the women (52.7%) were primiparous and 45.6% had breastfed for at least 12 months (total number of months breastfeeding).

Regarding the confounding variables, breastfeeding was higher in women with lower socioeconomic status in 2004-5. Systolic and diastolic blood pressure were negatively associated with family income in 2004-5, whereas carotid intima-media thickness was inversely associated with schooling (Supplementary Table S1). HDL cholesterol was directly associated with socioeconomic status (Supplementary Table S2).

The association between total duration of breastfeeding and blood pressure measures, carotid intima media-thickness and pulse wave velocity is presented in Table 2. In the analysis stratified by parity, in the crude analysis, women who breastfed 3 to <6 months

and had had two or more livebirths showed lower pulse wave velocity than those who breastfed ≥ 12 months ($\beta = -0.79$, 95%CI: -1.4; -0.2, $p = 0.04$), but there was no clear pattern of association. After adjustment for the confounders, the magnitude of the estimative barely changed, but the confidence interval included the reference ($\beta = -0.80$, 95%CI: -1.7; 0.1, $p\text{-trend} = 0.23$). Blood pressure measures and carotid intima-media thickness did not present an association with breastfeeding. Additionally, no interaction between parity and breastfeeding was verified.

Table 3 shows the association between total duration of breastfeeding and glycaemia and blood lipids. In the unadjusted analysis, total cholesterol was higher among women who never breastfed when comparing with those who breastfed for 12 months or longer ($\beta = 7.17$, 95%CI: 0.2; 14.2), but we did not observe a clear trend toward increasing total cholesterol, as duration of breastfeeding decreased ($p\text{-trend} = 0.13$). Furthermore, after controlling for confounders, the regression coefficient among those who never breastfed decreased from 7.17 to 2.27 (95%CI: -6.8; 11.3). Glycaemia and cholesterol fractions were not associated with breastfeeding and the magnitude of the regression coefficients decreased after controlling for confounding variables. On the other hand, when the analyses were stratified for parity, in the crude analysis, women who had had one livebirth and breastfed for 3- <6 showed lower HDL than those who breastfed ≥ 12 months ($\beta = -3.16$; 95%CI: -6.1; -0.2), although no linear association was observed ($p = 0.11$). But in the adjusted analysis, the regression coefficient reduced to -0.44 (95%CI: -4.1; 3.2). Among those women who had had two or more livebirths, glycaemia and non-HDL were lower in women with shorter duration of breastfeeding, than in those who breastfed 12 months or longer, but the associations did not show a clear pattern. After adjustment, the measure of glycaemia was lower in the group who breastfed for 6 to <12 months ($\beta = -5.47$, 95%CI: -10.4; -0.5, $p = 0.15$), whereas for non-

HDL, the crude analysis shown lower measure among those with 1 to <3 months of breastfeeding ($\beta=-17.3$, 95%CI: -33.5; -1.2), but the confidence interval included the reference after adjustment and no association was observed ($p=0.12$). Also, there was no significant interaction between breastfeeding and parity.

Tables 4 and 5 show the results of the analyses restricted to duration of breastfeeding of the last child, after adjusting for confounders. These analyses were stratified for time since last birth. Systolic blood pressure was lower among women who breastfed 3 to <6 months and had a child within the last five years when compared with those who breastfed ≥ 6 ($\beta=-3.36$, 95%CI: -6.7; -0.5), though no clear trend was observed ($p=0.17$). We did not observe association in those whose last childbirth was ≥ 5 years and there was no interaction (p -interaction=0.13). Regarding the other cardiovascular risk factors, we did not observe association with the last child breastfeeding.

Discussion

In a population that has been prospectively followed since birth, after controlling for biological, socioeconomic and behavioral variables, no association between breastfeeding and maternal cardiometabolic risk factors was observed.

Observational studies evaluating the association of breastfeeding with maternal health outcomes have reported benefits on metabolic risk factors, such as blood pressure^{13,15-18,20-24}, glucose^{11,12,18,21,24,31-33} and lipids^{14,18,21,24}, whereas others have not observed such associations^{14,20,25}. Concerning the carotid intima-media thickness, one study showed a positive association³⁴ and two others did not observe such association^{35,36}, while for pulse wave velocity one study did not find an association³⁵. As mentioned before, most of the published studies have been carried out in high income countries, where breastfeeding is positively associated with socioeconomic status⁵, and adjusted for few

socioeconomic variables. In this context, the estimates could be biased by residual confounding by socioeconomic status. In our study, breastfeeding was inversely associated with socioeconomic status, and we adjusted the estimates for several socioeconomic factors to minimize the possibility of residual confounding. Therefore, our results were probably not due to residual confounding. However, considering the natural history of the risk factors evaluated, our studied population is young and these morbidities may not yet be clinically detectable, which may explain in part our negative findings.

Studies have evaluated whether time since last childbirth modifies the association of breastfeeding with cardiovascular risk factors. Gunderson *et al.*, using data from the cohort Coronary Artery Risk Development in Young Adults, assessed the effect of breastfeeding on subclinical atherosclerosis and observed no interaction ($p \geq 0.1$)³⁴. Stuebe *et al.* also reported a non-significant interaction with time since last birth when evaluating parous women from the Nurses' Health Study (NHS) and Nurses' Health Study II (NHS II) (NHS: $p=0.32$; NHS II: $p=0.54$), despite having observed association between breastfeeding and type II diabetes in women who gave birth in the past 15 years in both NHS and NHSII and no association in those with time higher than 15 in the NHS II and a reduced association in the NHS³². When assessing the association of breastfeeding and maternal cardiovascular disease in postmenopausal women from the Women's Health Initiative, Schwarz *et al.* verified a significant interaction with age ($p=0.02$), but not with age at last lactation ($p=0.58$)²¹. In addition, other studies showed that the association of breastfeeding with metabolic risk factors was weaker in women with longer time since last birth^{11,33} and declined as age increased^{17,18,37,38}; but in the latter the effect modification may be due to time since last birth, and not properly due to age.

One limitation of observational studies is that residual confounding may bias the estimates. In contrast, exchangeability between the comparison groups is expected in experimental studies. Oken *et al.*¹⁹ evaluated the effect of breastfeeding on maternal blood pressure using data from the Promotion of Breastfeeding Intervention Trial (PROBIT), in which hospitals and polyclinics from Belarus were randomized to implement the Baby-Friendly Hospital Initiative. On intention-to-treat analysis, they observed lower levels of systolic (mean difference: -0.81, 95%CI: -3.33; 1.71) and diastolic blood pressure (mean difference: -1.09, 95%CI: -2.43; 0.25) and odds of hypertension (OR: 0.85, 95%CI: 0.64; 1.12) in the intervention arm compared to the control, but these associations were not statistically significant. However, one limitation of this study is that the compliance was low, that is women from the intervention group did not breastfeed their child while some from the control group breastfed, which reduced the power to detect differences between the groups. Therefore, the non-statistically significant association may not be due to the nonexistence of an association. Our study has several strengths. It was based on information from a large birth cohort with a high follow-up rate. We were able to evaluate the association of breastfeeding with several metabolic risk factors using high quality data; all measures were obtained by trained interviewers. Also, the information on confounding factors was collected prospectively, reducing the chance of residual confounding. Although the attrition rate was slightly higher among those in the extreme socioeconomic categories, breastfeeding per livebirth was independent of socioeconomic status, so this small difference is unlikely of having introduced a selection bias.

However, some limitations must be considered. We were not able to adjust for some possible confounding factors, such as pre-gestational body mass index and weight gain during pregnancy, because we did not collect information on these variables. We also

do not have data on patterns of breastfeeding, so we were not able to evaluate the association of intensity of breastfeeding with maternal metabolic profile. Furthermore, we were not able to evaluate daily frequency of breastfeeding, but this is a limitation in most of the literature assessing the relationship of breastfeeding with maternal health. Additionally, glycaemia was evaluated using non-fasting blood glucose measure. Even having adjusted for time since last meal, it may have introduced a non-differential misclassification, but the magnitude of the association was small. Therefore, it is unlikely that this negative result was due to the misclassification.

In conclusion, our findings suggest that there is no association between lactation and maternal cardiometabolic risk factors.

Materials and Methods

Participants

This study is based on data from the 1982 Pelotas Birth Cohort Study. In 1982, all the maternity hospitals located in Pelotas, a southern Brazilian city, were visited daily and all births identified (n=7392). Based on data from birth registration and a city census, we estimated that our hospital sample accounts for 99.2% of all births in the city. Those live births whose family lived in the urban area of the city were examined and their mothers interviewed soon after delivery (n=5914). These subjects have been prospectively followed at different ages. Further details on the study methodology have been published elsewhere^{39,40}. From June 2012 to February 2013, we tried to follow the whole cohort. Multiple strategies were used to locate the study participants, who were invited to attend the research clinic to be interviewed, examined, and provided a blood sample⁴¹. Of the 5914 members of the 1982 Cohort, 3701 agreed to participate, which added to the 325 deaths identified among the cohort participants, represented a follow-

up rate of 68.1%. In the present study, we included only women evaluated in 2012-13, who had a previous delivery, and were not pregnant when interviewed (n=1147).

Exposure

In 2012-13 visit, the subjects provided the following information on each offspring: birthweight, type of delivery and duration of breastfeeding. Total duration of breastfeeding (in months) was obtained by summing the duration of lactation of all offspring. We also analyzed the last child duration of breastfeeding in months.

Outcomes

In the present study, we evaluated the following outcomes that were evaluated in the 2012-13 visit:

- Blood pressure was measured twice, at the beginning and at the end of the anthropometrical assessment, on the left arm, using an automatic digital sphygmomanometer, model Omron HEM 705CPINT, with a specific cuff for obese individuals. The mean of the measurements was used in the analysis.
- Carotid intima-media thickness of the posterior wall of right and left carotid arteries was evaluated in longitudinal planes using a Toshiba Xario ultrasound⁴². A 10 mm-long section of the common carotid artery was imaged proximal to carotid bulb using the Carotid Analyzer for Research, Medical Imaging Application-LLC, that evaluated the arithmetic mean of 90 frames. The mean of the measurements was used in the analysis.
- Pulse wave velocity was assessed using a portable ultrasound, Sphygmocor® (AtCor Medical, Version 9.0, Sydney, Australia) in supine position, after resting for 5 minutes. Pulse wave velocity was estimated by dividing the

distance between carotid and femoral sites by the transit time between the carotid and femoral pulse wave.

- Random blood glucose was measured using an automatic enzymatic colorimetric method, BS-380, Mindray (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China). Because glucose levels vary according to fasting time, estimates were adjusted for time since the last meal⁴³.
- HDL, LDL, total cholesterol and triglycerides were measured using an enzymatic assay (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China). Non-HDL was obtained by subtracting HDL from total cholesterol.

Confounders

The following variables were considered as possible confounders. Family income in minimum wages and maternal schooling (in complete years of schooling) at birth were provided by the mother in the perinatal study. A household asset index in childhood was estimated using principal component analysis and based on household characteristics, such as type of building, piped water in the household, type of lavatory, presence of a gas stove at home, wood stove at home and number of bedrooms. Other variables collected during the 2004-5 follow-up visits were used in the analysis, such as family income (in Brazilian reais), schooling, asset index according to criteria of the Brazilian Association of Research Companies, European genomic ancestry (based on approximately 370,000 SNPs mutually available for the Pelotas cohort and selected samples of the HapMap and Human Genome Diversity - ADMIXTURE was used to estimate the genomic ancestry of each subject)⁴⁴, daily energy intake based on a food frequency questionnaire with recall period of 12 months, leisure time physical activity assessed through the International Physical Activity Questionnaire (minutes/week)⁴⁵,

alcohol consumption in the last week, self-reported tobacco smoking and body mass index. When evaluating systolic and diastolic blood pressure and glycaemia, we also adjusted for treatment with antihypertensive and hypoglycemic drugs, respectively.

Statistical Analyses

Analysis of variance (ANOVA) and chi-square test were used to assess differences between means and proportions, respectively. Because all the outcomes were continuous, linear regression was used to evaluate the association of breastfeeding duration with maternal metabolic cardiovascular risk factors. Triglycerides were log-transformed because its distribution was asymmetric. Statistical comparisons between groups were based on tests of heterogeneity and linear trend, and the one with the lower p-value was presented. In the multivariable analysis, estimates were adjusted for biological, socioeconomic and behavioral variables. The analysis was also stratified for parity. When evaluating the last child breastfeeding, we adjusted for parity and stratified the analysis by time since last birth. We used Stata 13.0 for the analyses.

Ethics Statement

All participants signed a written informed consent and the Research Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Federal University of Pelotas, approved the study protocol (protocol number: Of.16/12). All methods were performed in accordance with relevant guidelines and regulations.

Data availability

The dataset is available from the corresponding author on reasonable request.

References

1. Sankar, M. J. *et al.* Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 3-13 (2015).
2. Horta, B. L., de Mola, C. L. & Victora, C. G. Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 30-37 (2015).
3. Horta, B. L., de Mola, C. L. & Victora, C. G. Breastfeeding and intelligence: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 14-19 (2015).
4. Chowdhury, R. *et al.* Breastfeeding and maternal health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr* **104**, 96-113 (2015).
5. Victora, C. G. *et al.* Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* **387**, 475-490 (2016).
6. Stuebe, A. Associations Among Lactation, Maternal Carbohydrate Metabolism, and Cardiovascular Health. *Clin Obstet Gynecol* **58**, 827-839 (2015).
7. Harreiter, J. *et al* (in press). Decreased beta-cell function in breastfeeding obese and non-obese women: A prospective observational study. *Clin Nutr* 10.1016/j.clnu.2018.11.035 (2018).
8. Stuebe, A. M. *et al.* Duration of lactation and incidence of myocardial infarction in middle to late adulthood. *Am J Obstet Gynecol* **200**, 138.e1-8 (2009).
9. Peters, S. A. E. *et al.* Breastfeeding and the Risk of Maternal Cardiovascular Disease: A Prospective Study of 300 000 Chinese Women. *J Am Heart Assoc* **6**, pii: e006081 (2017).
10. Aune, D., Norat, T., Romundstad, P. & Vatten, L. J. Breastfeeding and the maternal risk of type 2 diabetes: A systematic review and dose response meta-analysis of cohort studies. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **24**, 107-115 (2014).

11. Jager, S. *et al.* Breast-feeding and maternal risk of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis. *Diabetologia* **57**, 1355-1365 (2014).
12. Gunderson, E. P. *et al.* Lactation Duration and Progression to Diabetes in Women Across the Childbearing Years: The 30-Year CARDIA Study. *JAMA Intern Med* **178**, 328-337 (2018).
13. Groer, M. W., Jevitt, C. M., Sahebzamani, F., Beckstead, J. W. & Keefe, D. L. Breastfeeding Status and Maternal Cardiovascular Variables Across the Postpartum. *J Womens Health (Larchmt)* **22**, 453-459 (2013).
14. Gunderson, E. P. *et al.* Lactation and changes in maternal metabolic risk factors. *Obstet Gynecol* **109**, 729-738 (2007).
15. Ebina, S. & Kashiwakura, I. Influence of breastfeeding on maternal blood pressure at one month postpartum. *Int J Womens Health* **4**, 333-339 (2012).
16. Lee, S. Y., Kim, M. T., Jee, S. H. & Yang, H. P. Does long-term lactation protect premenopausal women against hypertension risk? a Korean women's cohort study. *Prev Med* **41**, 433-438 (2005).
17. Lupton, S. J., Chiu, C. L., Lujic, S., Hennessy, A. & Lind, J. M. Association between parity and breastfeeding with maternal high blood pressure. *Am J Obstet Gynecol* **208**, 454.e1-454.e7 (2013).
18. Natland, S. T., Nilsen, T. I., Midthjell, K., Andersen, L. F. & Forsmo, S. Lactation and cardiovascular risk factors in mothers in a population-based study: the HUNT-study. *Int Breastfeed J* **7**, 8 (2012).
19. Oken, E. *et al.* Effects of an intervention to promote breastfeeding on maternal adiposity and blood pressure at 11.5 y postpartum: results from the Promotion of Breastfeeding Intervention Trial, a cluster-randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* **98**, 1048-1056 (2013).

20. Ram, K. T. *et al.* Duration of lactation is associated with lower prevalence of the metabolic syndrome in midlife - SWAN, the study of women's health across the nation. *Am J Obstet Gynecol* **198**, 268.e1-268.e6 (2008).
21. Schwarz, E. B. *et al.* Duration of Lactation and Risk Factors for Maternal Cardiovascular Disease. *Obstet Gynecol* **113**, 974-982 (2009).
22. Stuebe, A. M. *et al.* Duration of Lactation and Incidence of Maternal Hypertension: A Longitudinal Cohort Study. *Am J Epidemiol* **174**, 1147-1158 (2011).
23. Zhang, B. Z., Zhang, H. Y., Liu, H. H., Li, H. J. & Wang, J. S. Breastfeeding and Maternal Hypertension and Diabetes: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Breastfeed Med* **10**, 163-167 (2015).
24. Wiklund, P. *et al.* Prolonged breast-feeding protects mothers from later-life obesity and related cardio-metabolic disorders. *Public Health Nutr* **15**, 67-74 (2012).
25. Stuebe, A. M., *et al.* Duration of Lactation and Maternal Metabolism at 3 Years Postpartum. *J Womens Health (Larchmt)* **19**, 941-950 (2010).
26. Pollitt, R. A., Rose, K. M. & Kaufman, J. S. Evaluating the evidence for models of life course socioeconomic factors and cardiovascular outcomes: a systematic review. *BMC Public Health* **5**, 1-13 (2005).
27. Murray, E. T. *et al.* Life course models of socioeconomic position and cardiovascular risk factors: 1946 birth cohort. *Ann Epidemiol* **21**, 589-597 (2011).
28. Winkleby, M. A., Jatulis, D. E., Frank, E. & Fortmann, S. P. Socioeconomic status and health: how education, income, and occupation contribute to risk factors for cardiovascular disease. *Am J Public Health* **82**, 816-820 (1992).
29. Winkleby, M. A., Kraemer, H. C., Ahn, D. K. & Varady, A. N. Ethnic and socioeconomic differences in cardiovascular disease risk factors: findings for women

- from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *JAMA* **280**, 356-362 (1998).
30. Santos, I. S. *et al.* Breastfeeding exclusivity and duration: trends and inequalities in four population-based birth cohorts in Pelotas, Brazil, 1982–2015. *Int J Epidemiol* **48**, i72-i79 (2019).
31. Schwarz, E. B. *et al.* Lactation and maternal risk of type 2 diabetes: a population-based study. *Am J Med* **123**, 863.e1-863e.6 (2010).
32. Stuebe, A. M., Rich-Edwards, J. W., Willett, W. C., Manson, J. E. & Michels, K. B. Duration of lactation and incidence of type 2 diabetes. *JAMA* **294**, 2601-2610 (2005).
33. Villegas, R. *et al.* Duration of breast-feeding and the incidence of type 2 diabetes mellitus in the Shanghai Women's Health Study. *Diabetologia* **51**, 258-266 (2008).
34. Gunderson, E. P. *et al.* Lactation Duration and Midlife Atherosclerosis. *Obstet Gynecol* **126**, 381-390 (2015).
35. McClure, C. K., Catov, J. M., Ness, R. B. & Schwarz, E. B. Lactation and maternal subclinical cardiovascular disease among premenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* **207**, 46.e1-46.e8 (2012).
36. Schwarz, E. B. *et al.* Lactation and Maternal Measures of Subclinical Cardiovascular Disease. *Obstet Gynecol* **115**, 41-48 (2010).
37. Cohen, S. S. *et al.* Parity and breastfeeding in relation to obesity among black and white women in the southern community cohort study. *J Womens Health (Larchmt)* **18**, 1323- 32 (2009).
38. Jiang, M. *et al.* Association between breastfeeding duration and postpartum weight retention of lactating mothers: A meta-analysis of cohort studies. *Clin Nutr* **37**, 1224-1231 (2017).

39. Victora, C. G. & Barros, F. C. Cohort Profile: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol* **35**, 237-242 (2006).
40. Barros, F. C., Victora, C. G., Horta, B. L. & Gigante, D. P. Methodology of the Pelotas birth cohort study from 1982 to 2004-5, Southern Brazil. *Rev Saude Publica* **42**,7-15 (2008).
41. Horta, B. L. *et al.* Cohort Profile Update: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol* **44**, 441a-441e (2015).
42. Touboul, P. J. *et al.* Mannheim Carotid Intima- Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011). *Cerebrovasc Dis* **34**, 290-296 (2012).
43. Horta, B. L. *et al.* Early determinants of random blood glucose among adults of the 1982 birth cohort, Pelotas, Southern Brazil. *Rev Saude Publica* **42**, 93-100 (2008).
44. Kehdy, F. S. *et al.* Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. *Proc Natl Acad Sci* **112**, 8696-8701 (2015).
45. Craig, C. L. *et al.* International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 1381-1395 (2003).

Acknowledgements

This article is based on data from the study "Pelotas Birth Cohort, 1982" conducted by Postgraduate Program in Epidemiology at Universidade Federal de Pelotas with the collaboration of the Brazilian Public Health Association (ABRASCO). From 2004 to 2013, the Wellcome Trust supported the 1982 birth cohort study. The International Development Research Center, World Health Organization, Overseas Development Administration, European Union, National Support Program for Centers of Excellence (PRONEX), the Brazilian National Research Council (CNPq), and the Brazilian Ministry of Health supported previous phases of the study. This study was financed in

part by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil* (CAPES) - Finance Code 001. The funding organizations did not influence the study design, the data collection, the data analysis, the data interpretation, or the writing of the manuscript.

Author contributions

N.P.L collaborated in the data collection, conceived and performed the data analysis and wrote the manuscript. D.G.B collaborated in the data analysis and in the writing of the manuscript. E.I.S.M participated in the writing of the manuscript. F.C.B designed the cohort study and collaborated in the writing of the manuscript. B.L.H coordinated the 2012–13 follow-up visit of the cohort, conceived and planned the data analysis and collaborated in the writing of the manuscript. All authors reviewed the manuscript and approved the final version.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Table 1. Biological, socioeconomic, behavioral and health characteristics of the studied population (n=1136). Pelotas, 2012.

Characteristics	N	%	Mean (SD)
Skin color			
White	837	73.7	-
Black	197	17.3	-
Brown/Indigenous/Asian	102	9.0	-
European ancestry	970	-	0.75±0.20
Asset index¥			
D/E (poorest)	57	6.4	-
C	334	37.5	-
A/B (richest)	499	56.1	-
Years of schooling	1134	-	10.29±3.96
Total duration of breastfeeding (months)*			
<1	124	10.9	-
1 – <3	88	7.8	-
3 – <6	142	12.5	-
6 – <12	263	23.2	-
≥12	519	45.6	-
Parity			
1	599	52.7	-
2	336	29.6	-
≥3	201	17.7	-
Systolic blood pressure (mmHg)	1133	-	114.17±12.13
Diastolic blood pressure (mmHg)	1133	-	73.44±9.14
Carotid intima-media thickness (µm)	983	-	580.40±16.22
Pulse wave velocity (m/s)	496	-	6.41±1.05
Glycaemia (mg/dl)	1122	-	87.34±22.91
Cholesterol (mg/dl)	1122	-	187.12±35.39
LDL (mg/dl)	1122	-	107.03±28.49
HDL (mg/dl)	1122	-	60.53±12.74
Non-HDL (mg/dl)	1122	-	126.59±32.83
Triglycerides (mg/dl)#	1122	-	90.13±1.65

¥Brazilian Association of Research Companies. *Accumulated months of breastfeeding across all pregnancies resulting in ≥ 1 livebirth. #Geometric mean.

Table 2. Blood pressure, carotid intima-media thickness and pulse wave velocity according to total breastfeeding (n=1136). Pelotas, 2012.

		Regression coefficient (95% confidence interval)							
		Systolic blood pressure (mmHg)		Diastolic blood pressure (mmHg)		Intima-Media Thickness (µm)		Pulse wave velocity (m/s)	
N		Crude	Adjusted†‡	Crude	Adjusted†‡	Crude	Adjusted†	Crude	Adjusted†
Breastfeeding		p=0.66*	p=0.97*	p=0.36*	p=0.80*	p=0.40*	p=0.80*	p=0.28*	p=0.71*
Never	124	0.51 (-1.8; 2.8)	-0.05 (-2.8; 2.7)	0.80 (-0.9; 2.5)	0.27 (-1.8; 2.3)	1.41 (-1.9; 4.7)	-0.51 (-4.4; 3.4)	0.16 (-0.1; 0.5)	0.07 (-0.3; 0.5)
Ever	1012	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)
Total sum of breastfeeding		p=0.96**	p=0.81**	p=0.73**	p=0.90*	p=0.82**	P=0.43*	p=0.33*	p=0.69*
Never	124	0.28 (-2.1; 2.7)	-0.28 (-3.2; 2.7)	0.64 (-1.2; 2.4)	0.10 (-2.0; 2.2)	1.23 (-2.2; 4.7)	-0.81 (-4.9; 3.3)	0.16 (-0.2; 0.5)	0.04 (-0.4; 0.5)
1 – <3	88	-0.41 (-3.2; 2.3)	-0.17 (-4.0; 3.7)	-0.77 (-2.8; 1.3)	-0.71 (-3.5; 2.1)	-0.67 (-4.7; 3.3)	3.64 (-1.7; 9.0)	-0.06 (-0.4; 0.3)	-0.02 (-0.6; 0.5)
3 – <6	142	-0.65 (-2.9; 1.6)	-0.50 (-3.3; 2.2)	0.21 (-1.5; 1.9)	0.28 (-1.7; 2.3)	-1.08 (-4.3; 2.2)	-0.73 (-4.5; 3.0)	-0.20 (-0.5; 0.1)	-0.24 (-0.6; 0.1)
6 – <12	263	-0.40 (-2.2; 1.4)	-0.53 (-2.8; 1.8)	-0.48 (-1.8; 0.9)	-0.64 (-2.3; 1.0)	0.13 (-2.5; 2.7)	-1.72 (-4.9; 1.5)	0.11 (-0.1; 0.4)	0.06 (-0.3; 0.4)
≥12	519	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)
Parity=1		P=0.91‡		P=0.95‡		P=0.42‡		P=0.70‡	
Total sum of breastfeeding		P=0.41*	p=0.68*	P=0.36*	p=0.64**	P=0.08**	P=0.47**	P=0.12**	P=0.28**
Never	97	1.52 (-1.2; 4.2)	0.11 (-3.1; 3.4)	0.92 (-1.3; 3.1)	-0.19 (-2.7; 2.4)	3.40 (-0.6; 7.4)	0.79 (-4.2; 5.8)	0.35 (-0.1; 0.7)	0.28 (-0.2; 0.7)
1 – <3	71	-1.65 (-4.7; 1.4)	-1.52 (-5.4; 2.4)	-1.83 (-4.3; 0.6)	-1.53 (-4.6; 1.5)	1.36 (-3.1; 5.8)	3.89 (-2.2; 9.9)	0.24 (-0.2; 0.7)	0.24 (-0.4; 0.8)
3 – <6	108	-0.71 (-3.3; 1.9)	-1.94 (-5.0; 1.1)	-0.50 (-2.6; 1.6)	-1.10 (-3.5; 1.3)	-0.27 (-4.1; 3.5)	-1.46 (-6.1; 3.1)	0.21 (-0.2; 0.6)	0.08 (-0.4; 0.5)
6 – <12	152	-0.18 (-2.6; 2.2)	-0.20 (-3.0; 2.6)	-0.55 (-2.5; 1.4)	-0.46 (-2.7; 1.7)	-0.71 (-4.1; 2.7)	-0.96 (-5.2; 3.3)	0.33 (-0.1; 0.7)	0.24 (-0.2; 0.6)
≥12	171	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)
Parity>1		P=0.25*		P=0.56*		P=0.48*		P=0.04*	
Total sum of breastfeeding		P=0.25*	p=0.21**	P=0.56*	p=0.34**	P=0.48*	P=0.41**	P=0.04*	P=0.23**
Never	27	-4.92 (-10.2; 0.3)	-4.05 (-10.6; 2.5)	-1.76 (-5.5; 2.0)	-1.95 (-6.4; 2.5)	-2.32 (-9.8; 5.2)	-4.92 (-13.7; 3.8)	0.55 (-0.3; 1.4)	-0.27 (-1.5; 1.0)
1 – <3	17	3.94 (-2.6; 10.5)	-2.78 (-13.9; 8.3)	2.00 (-2.6; 6.6)	-3.33 (-11.0; 4.3)	-4.22 (-13.7; 5.3)	-1.01 (-16.9; 14.9)	-0.39 (-1.6; 0.8)	-0.35 (-2.8; 2.1)
3 – <6	34	-1.08 (-5.9; 3.7)	0.19 (-5.9; 6.3)	1.31 (-2.1; 4.7)	1.44 (-2.8; 5.6)	0.24 (-6.7; 7.2)	3.46 (-4.7; 11.6)	-0.79 (-1.4; -0.2)	-0.80 (-1.7; 0.1)
6 – <12	111	-0.90 (-3.8; 2.0)	-1.89 (-5.9; 2.1)	-0.77 (-2.8; 1.3)	-1.78 (-4.5; 0.9)	2.98 (-1.3; 7.2)	-2.33 (-7.5; 2.9)	0.07 (-0.3; 0.4)	0.04 (-0.6; 0.7)
≥12	348	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)

†Adjusted for genomic ancestry, family income and maternal schooling at birth; asset index at childhood; and family income, schooling, asset index, energy intake, physical activity, alcohol consumption, current smoking and BMI at 2004-5. ‡Systolic and diastolic blood pressure were also adjusted for use of hypertensive drugs. *Test for heterogeneity. **Test for linear trend. ‡‡p-value for interaction.

Table 3. Glycaemia and lipid profile according to total breastfeeding (n=1136). Pelotas, 2012.

	N	Regression coefficient (95% confidence interval)											
		Glycaemia (mg/dl)		Cholesterol (mg/dl)		LDL (mg/dl)		HDL (mg/dl)		Non-HDL (mg/dl)		Triglycerides [#] (mg/dl)	
		Crude	Adjusted ^{†‡}	Crude	Adjusted [†]	Crude	Adjusted [†]	Crude	Adjusted [†]	Crude	Adjusted [†]	Crude	Adjusted [†]
Breastfeeding		p=0.50*	p=0.95*	p=0.07*	p=0.96*	p=0.13*	p=0.83*	p=0.09*	p=0.24*	p=0.19*	p=0.70*	p=0.59*	p=0.42*
Never	124	-1.48 (-5.8; 2.8)	-0.15 (-4.8; 4.5)	6.18 (-0.5; 12.8)	0.20 (-8.4; 8.8)	4.17 (-1.2; 9.5)	-0.78 (-7.8; 6.3)	2.06 (-0.3; 4.5)	1.73 (-1.2; 4.6)	4.12 (-2.1; 10.3)	-1.53 (-9.4; 6.4)	1.03 (0.9; 1.1)	0.95 (0.8; 1.1)
Ever	1012	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (1)	Ref (1)
Total sum of breastfeeding		p=0.56*	p=0.92**	p=0.13**	p=0.45**	p=0.22*	p=0.53*	p=0.04**	p=0.11**	p=0.21*	P=0.66*	p=0.45**	p=0.53*
Never	124	-1.10 (-5.6; 3.4)	-0.40 (-5.3; 4.5)	7.17 (0.2; 14.2)	2.27 (-6.8; 11.3)	4.66 (-1.0; 10.3)	0.83 (-6.6; 8.3)	2.41 (-0.1; 4.9)	2.08 (-1.0; 5.2)	4.76 (-1.7; 11.2)	0.19 (-8.1; 8.5)	1.04 (0.9; 1.1)	0.98 (0.9; 1.1)
1 – <3	88	0.64 (-4.6; 5.9)	0.50 (-5.8; 6.8)	-2.08 (-10.1; 6.0)	2.58 (-9.1; 14.2)	-3.66 (-10.1; 2.8)	-1.60 (-11.1; 7.9)	2.56 (-0.3; 5.5)	2.85 (-1.1; 6.8)	-4.64 (-12.1; 2.8)	-0.26 (-11.0; 10.4)	0.99 (0.9; 1.1)	1.10 (0.9; 1.3)
3 – <6	142	3.15 (-1.1; 7.4)	-0.60 (-5.2; 4.0)	3.35 (-3.3; 10.0)	5.02 (-3.4; 13.4)	3.01 (-2.3; 8.3)	3.98 (-2.9; 10.9)	-0.32 (-2.7; 2.1)	0.27 (-2.6; 3.1)	3.67 (-2.4; 9.8)	4.75 (-3.0; 12.5)	1.04 (0.9; 1.1)	1.07 (0.9; 1.2)
6 – <12	263	-0.43 (-3.9; 3.0)	-0.76 (-4.6; 3.1)	2.69 (-2.6; 8.0)	4.04 (-3.0; 11.1)	1.45 (-2.8; 5.7)	4.13 (-1.7; 9.9)	0.67 (-1.2; 2.6)	0.37 (-2.0; 2.8)	2.02 (-2.9; 6.9)	3.67 (-2.8; 10.2)	1.03 (0.9; 1.1)	1.01 (0.9; 1.1)
≥12	519	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (1)	Ref (1)
Parity=1		P=0.91‡		P=0.61‡		P=0.85‡		P=0.52‡		P=0.82‡		P=0.31‡	
Total sum of breastfeeding		P=0.60*	p=0.73*	P=0.34*	P=0.46**	P=0.47**	P=0.87*	P=0.11*	P=0.28**	P=0.35**	P=0.68**	P=0.18**	P=0.25*
Never	97	0.06 (-6.2; 6.3)	1.03 (-4.8; 6.9)	6.62 (-2.1; 15.3)	5.64 (-6.1; 17.4)	4.87 (-2.3; 12.0)	1.98 (-7.6; 11.6)	0.52 (-2.6; 3.6)	2.47 (-1.5; 6.4)	6.10 (-2.1; 14.3)	3.17 (-7.7; 14.0)	1.08 (0.9; 1.2)	1.03 (0.9; 1.2)
1 – <3	71	2.05 (-4.9; 9.0)	2.56 (-4.4; 9.5)	-3.08 (-12.7; 6.6)	5.36 (-8.6; 19.3)	-2.94 (-10.9; 5.0)	-0.10 (-11.5; 11.3)	-0.85 (-4.3; 2.6)	2.08 (-2.6; 6.8)	-2.23 (-11.3; 6.8)	3.28 (-9.6; 16.1)	1.08 (0.9; 1.2)	1.20 (0.9; 1.5)
3 – <6	108	4.70 (-1.3; 10.7)	-0.44 (-5.9; 5.0)	-1.23 (-9.6; 7.2)	2.05 (-8.9; 13.0)	0.56 (-6.3; 7.4)	1.16 (-7.8; 10.1)	-3.16 (-6.1; -0.2)	-0.44 (-4.1; 3.2)	1.93 (-5.9; 9.8)	2.48 (-7.6; 12.6)	1.08 (0.9; 1.2)	1.12 (0.9; 1.3)
6 – <12	152	1.23 (-4.2; 6.7)	2.81 (-2.1; 7.8)	2.91 (-4.7; 10.5)	7.68 (-2.3; 17.6)	1.35 (-4.9; 7.6)	4.22 (-3.9; 12.4)	0.71 (-2.0; 3.4)	1.73 (-1.6; 5.1)	2.20 (-4.9; 9.3)	5.95 (-3.2; 15.1)	1.06 (0.9; 1.2)	1.12 (0.9; 1.3)
≥12	171	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (1)	Ref (1)
Parity>1													
Total sum of breastfeeding		P=0.32**	p=0.15*	P=0.43*	P=0.18**	P=0.29*	P=0.20*	P=0.23*	P=0.73*	P=0.17*	P=0.12*	P=0.34**	P=0.42**
Never	27	-3.31 (-11.4; 4.7)	-2.64 (-10.7; 5.4)	-3.66 (-17.7; 10.4)	-15.83 (-33.0; 1.4)	-0.63 (-11.8; 10.6)	-11.34 (-25.6; 3.0)	-1.43 (-6.4; 3.5)	-0.96 (-6.9; 5.0)	-2.23 (-15.2; 10.8)	-14.87 (-30.7; 1.0)	0.97 (0.8; 1.2)	0.90 (0.7; 1.1)
1 – <3	17	-2.95 (-12.9; 7.0)	-7.55 (-21.2; 6.1)	-13.27 (-30.7; 4.2)	-13.80 (-43.1; 15.5)	-12.10 (-26.0; 1.8)	-14.17 (-38.5; 10.2)	4.03 (-2.1; 10.2)	4.04 (-6.0; 14.1)	-17.3 (-33.5; -1.2)	-17.84 (-44.8; 9.1)	0.80 (0.6; 1.0)	0.94 (0.6; 1.4)
3 – <6	34	-0.10 (-7.3; 7.1)	2.29 (-5.4; 10.0)	6.56 (-6.1; 19.2)	10.17 (-6.0; 26.3)	6.72 (-3.3; 16.8)	7.27 (-6.1; 20.7)	-0.61 (-5.1; 3.8)	0.39 (-5.2; 5.9)	7.17 (-4.5; 18.9)	9.78 (-5.1; 24.6)	0.99 (0.8; 1.2)	1.08 (0.9; 1.3)
6 – <12	111	-2.20 (-6.6; 2.2)	-5.47 (-10.4; -0.5)	-1.40 (-9.1; 6.3)	-1.33 (-11.9; 9.2)	0.24 (-5.9; 6.4)	3.48 (-5.3; 12.2)	-2.51 (-5.2; 0.2)	-1.93 (-5.6; 1.7)	1.10 (-6.0; 8.3)	0.60 (-9.1; 10.3)	0.99 (0.9; 1.1)	0.91 (0.8; 1.1)
≥12	348	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (1)	Ref (1)

#Log-transformed data (multiplicative effect). †Adjusted for genomic ancestry, family income and maternal schooling at birth; asset index at childhood; and family income, schooling, asset index, energy intake, physical activity, alcohol consumption, current smoking and BMI at 2004-5. ‡Glycaemia was also adjusted for use of hypoglycemic drugs. *Test for heterogeneity. **Test for linear trend. ‡p-value for interaction.

Table 4. Blood pressure, carotid intima-media thickness and pulse wave velocity according to last child breastfeeding and stratified to time since last birth (n=1133). Pelotas, 2012.

	N	Adjusted regression coefficient (95% confidence interval)†			
		Systolic blood pressure¥ (mmHg)	Diastolic blood pressure (mmHg)	Intima-Media Thickness (µm)	Pulse wave velocity (m/s)
Last child breastfeeding					
<i>Time since last birth</i>					
P=0.21‡					
P=0.07‡					
P=0.25‡					
P=0.86‡					
<i><5 years</i>					
p=0.34*					
p=0.09*					
P=0.10*					
P=0.25*					
Never	68	1.82 (-1.9; 5.5)	2.26 (-0.4; 4.9)	-3.90 (-8.6; 0.8)	0.32 (-0.2; 0.9)
Ever	489	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)
<i>≥5 years</i>					
p=0.59*					
p=0.55*					
P=0.86*					
P=0.79*					
Never	84	-1.04 (-4.8; 2.7)	-0.86 (-3.7; 1.9)	0.53 (-5.3; 6.4)	0.07 (-0.4; 0.6)
Ever	492	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)
Total last child breastfeeding (months)					
<i>Time since last birth</i>					
P=0.13‡					
P=0.15‡					
P=0.24‡					
P=0.95‡					
<i><5 years</i>					
p=0.17*					
p=0.21*					
P=0.16*					
P=0.47**					
Never	68	1.02 (-2.8; 4.8)	1.88 (-0.8; 4.6)	-3.51 (-8.3; 1.3)	0.28 (-0.3; 0.9)
1 – <3	66	-1.44 (-5.5; 2.6)	-1.68 (-4.6; 1.2)	4.16 (-1.2; 9.5)	-0.08 (-0.8; 0.7)
3 – <6	95	-3.36 (-6.7; -0.5)	-1.06 (-3.4; 1.3)	-0.17 (-4.4; 4.0)	-0.15 (-0.7; 0.4)
≥6	328	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)
<i>≥5 years</i>					
P=0.28**					
p=0.28**					
P=0.57*					
P=0.64**					
Never	84	-1.87 (-5.8; 2.1)	-1.37 (-4.3; 1.6)	0.65 (-5.4; 6.7)	0.07 (-0.5; 0.6)
1 – <3	80	-1.48 (-5.8; 2.9)	-1.10 (-4.3; 2.1)	3.68 (-2.8; 10.2)	0.22 (-0.4; 0.8)
3 – <6	106	-2.41 (-5.9; 1.1)	-1.41 (-4.0; 1.2)	-1.57 (-6.8; 3.6)	-0.09 (-0.5; 0.3)
≥6	306	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)

†Adjusted for genomic ancestry, family income and maternal schooling at birth; asset index at childhood; family income, schooling, asset index, energy intake, physical activity, alcohol consumption, current smoking and BMI at 2004-5; and parity. ¥Systolic and diastolic blood pressure were also adjusted for use of hypertensive drugs. ‡p-value for interaction. *Test for heterogeneity. **Test for linear trend.

Table 5. Glycaemia and lipid profile according to last child breastfeeding and stratified to time since last birth (n=1133). Pelotas, 2012.

	N	Adjusted regression coefficient (95% confidence interval)†					Triglycerides# (mg/dl)
		Glycaemia‡ (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Non-HDL (mg/dl)	
Last child breastfeeding							
<i>Time since last birth</i>		P=0.75‡	P=0.67‡	P=0.44‡	P=0.77‡	P=0.57‡	P=0.86‡
<5 years		p=0.66*	P=0.88*	P=0.82*	P=0.65*	P=0.99*	P=0.73*
Never	68	-1.37 (-7.4; 4.7)	0.88 (-10.7; 12.5)	1.14 (-8.6; 10.8)	0.89 (-2.9; 4.7)	-0.01 (-10.9; 10.9)	0.97 (0.8; 1.2)
Ever	489	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (1)
≥5 years		p=0.66*	P=0.87*	P=0.53*	P=0.19*	P=0.49*	P=0.40*
Never	84	-1.20 (-6.5; 4.1)	-0.91 (-12.2; 10.4)	-2.87 (-11.9; 6.2)	2.64 (-1.3; 6.6)	-3.55 (-13.6; 6.5)	0.94 (0.8; 1.1)
Ever	492	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (1)
Total last child breastfeeding (months)							
<i>Time since last birth</i>		P=0.67‡	P=0.51‡	P=0.83‡	P=0.19‡	P=0.83‡	P=0.74‡
<5 years		p=0.34**	P=0.32**	P=0.52**	P=0.15**	P=0.58**	P=0.73*
Never	68	-2.11 (-8.4; 4.1)	2.77 (-9.1; 14.7)	1.98 (-8.0; 12.0)	1.84 (-2.1; 5.7)	0.94 (-10.3; 12.2)	0.98 (0.8; 1.2)
1 – <3	66	-2.89 (-9.7; 3.9)	8.45 (-4.5; 21.4)	3.66 (-7.2; 14.5)	2.51 (-1.7; 6.7)	5.93 (-6.3; 18.1)	1.11 (0.9; 1.3)
3 – <6	95	-2.17 (-7.7; 3.4)	4.76 (-5.8; 15.3)	2.15 (-6.7; 11.0)	3.46 (0.1; 6.9)	1.30 (-8.7; 11.3)	1.00 (0.9; 1.2)
≥6	328	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (1)
≥5 years		p=0.70**	P=0.92**	P=0.70*	P=0.33*	P=0.81*	P=0.18*
Never	84	-1.36 (-6.9; 4.2)	-0.38 (-12.2; 11.4)	-1.87 (-11.4; 7.6)	2.12 (-2.0; 6.2)	-2.50 (-13.0; 8.1)	0.95 (0.8; 1.1)
1 – <3	80	0.23 (-5.9; 6.3)	2.44 (-10.5; 15.3)	-0.38 (-10.7; 10.0)	0.27 (-4.2; 4.7)	2.18 (-9.4; 13.7)	1.17 (0.9; 1.4)
3 – <6	106	-0.72 (-5.6; 4.1)	0.83 (-9.4; 11.1)	4.11 (-4.1; 12.4)	-2.21 (-5.8; 1.3)	3.04 (-6.1; 12.2)	0.97 (0.9; 1.1)
≥6	306	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (0)	Ref (1)

#Log-transformed data (multiplicative effect). †Adjusted for genomic ancestry, family income and maternal schooling at birth; asset index at childhood; family income, schooling, asset index, energy intake, physical activity, alcohol consumption, current smoking and BMI at 2004-5; and parity. ‡Glycaemia was also adjusted for use of hypoglycemic drugs. ‡p-value for interaction. *Test for heterogeneity. **Test for linear trend.

Supplementary Table S1. Duration of breastfeeding, blood pressure, carotid intima-media thickness and pulse wave velocity according to biological, socioeconomic and behavioral variables (n=1136). Pelotas, 1982-2012.

Variables	Total sum of breastfeeding (months)					Systolic blood pressure (mmHg) Mean (CI95%)	Diastolic blood pressure (mmHg) Mean (CI95%)	Carotid intima-media thickness (µm) Mean (CI95%)	Pulse wave velocity (m/s) Mean (CI95%)
	Never N (%)	1 - <3 N (%)	3 - <6 N (%)	6 - <12 N (%)	≥12 N (%)				
Birth									
European ancestry (quintiles)			p=0.16*			p<0.01**	p<0.01**	p=0.15**	p=0.73**
First	23 (11.9)	13 (6.7)	18 (9.3)	44 (22.7)	96 (49.4)	117.8 (115.9; 119.8)	75.9 (74.5; 77.4)	582.6 (579.8; 585.4)	6.5 (6.3; 6.7)
Second	16 (8.3)	15 (7.7)	19 (9.8)	43 (22.2)	101 (52.0)	112.7 (110.8; 114.6)	72.4 (71.1; 73.7)	580.7 (577.6; 583.8)	6.5 (6.2; 6.7)
Third	22 (11.3)	12 (6.2)	25 (12.9)	45 (23.2)	90 (46.4)	113.6 (112.0; 115.2)	73.3 (72.1; 74.6)	580.8 (578.6; 583.1)	6.5 (6.2; 6.7)
Fourth	27 (13.9)	20 (10.3)	22 (11.3)	42 (21.7)	83 (42.8)	113.8 (112.2; 115.4)	73.3 (72.0; 74.6)	580.2 (577.7; 582.8)	6.4 (6.1; 6.6)
Fifth	26 (13.4)	15 (7.7)	36 (18.6)	47 (24.2)	70 (36.1)	114.2 (112.6; 115.9)	73.2 (71.9; 74.5)	577.9 (575.9; 580.0)	6.3 (6.1; 6.5)
Family income ^l			p=0.08*			p=0.27**	p=0.49**	p=0.86**	p=0.17**
≤1	28 (9.9)	21 (7.4)	22 (7.8)	62 (21.9)	150 (53.0)	114.7 (113.0; 116.4)	74.1 (72.9; 75.3)	580.8 (578.7; 582.8)	6.4 (6.2; 6.6)
1.1-3	69 (11.0)	45 (7.2)	93 (14.9)	137 (21.9)	281 (45.0)	114.4 (113.5; 115.3)	73.3 (72.6; 74.0)	580.5 (579.1; 582.0)	6.4 (6.3; 6.5)
3.1-6	19 (11.5)	15 (9.0)	21 (12.7)	43 (25.9)	68 (40.9)	113.1 (111.6; 114.7)	73.2 (72.0; 74.4)	579.9 (577.1; 582.7)	6.5 (6.3; 6.8)
6.1-10	4 (10.3)	3 (7.7)	3 (7.7)	15 (38.5)	14 (35.8)	113.2 (109.3; 117.2)	72.1 (69.2; 75.1)	577.7 (574.8; 580.7)	6.4 (5.9; 6.9)
>10	4 (23.5)	2 (11.8)	2 (11.8)	5 (29.4)	4 (23.5)	109.1 (104.7; 113.4)	71.3 (67.6; 75.1)	580.1 (577.0; 583.2)	5.6 (4.2; 7.0)
Maternal schooling			p=0.35*			p=0.05**	p=0.42**	p=0.56**	p=0.25**
0-4	40 (9.0)	37 (8.3)	54 (12.1)	100 (22.4)	216 (48.2)	114.1 (112.9; 115.3)	73.4 (72.6; 74.3)	581.1 (579.2; 582.9)	6.4 (6.3; 6.6)
5-8	65 (12.8)	39 (7.7)	70 (13.7)	110 (21.6)	226 (44.2)	114.4 (113.4; 115.4)	73.4 (72.7; 74.2)	580.4 (578.9; 581.9)	6.4 (6.3; 6.6)
9-11	13 (12.8)	6 (5.9)	11 (10.8)	27 (26.5)	45 (44.0)	115.6 (113.1; 118.0)	74.4 (72.3; 76.5)	579.2 (577.3; 581.0)	6.4 (6.1; 6.8)
≥12	6 (7.9)	6 (7.9)	6 (7.9)	26 (34.2)	32 (42.1)	110.8 (108.5; 113.0)	72.1 (70.2; 73.9)	578.6 (576.3; 580.8)	6.0 (5.5; 6.6)
2004-5									
Family income ^l			p<0.01*			p=0.02**	p=0.02**	p=0.51**	p=0.61**
≤1	9 (10.1)	6 (6.7)	7 (7.9)	18 (20.2)	49 (55.1)	112.6 (110.3; 114.9)	72.1 (70.3; 73.9)	580.6 (576.8; 584.4)	6.4 (6.0; 6.8)
1.1-3	43 (9.8)	25 (5.7)	61 (13.9)	82 (18.6)	229 (52.0)	115.6 (114.3; 116.9)	74.5 (73.5; 75.5)	581.3 (579.6; 583.1)	6.5 (6.3; 6.6)
3.1-6	42 (12.8)	34 (10.3)	40 (12.2)	85 (25.8)	128 (38.9)	114.4 (113.3; 115.6)	73.7 (72.8; 74.6)	580.1 (578.1; 582.2)	6.4 (6.2; 6.6)
6.1-10	17 (13.6)	12 (9.6)	20 (16.0)	35 (28.0)	41 (32.8)	112.5 (110.7; 114.3)	72.4 (71.0; 73.8)	579.9 (576.9; 583.0)	6.3 (6.1; 6.5)
>10	5 (7.4)	5 (7.4)	5 (7.4)	21 (30.9)	32 (46.9)	111.9 (109.2; 114.5)	71.6 (69.6; 73.7)	577.5 (575.6; 579.4)	6.6 (6.2; 7.0)
Schooling			p<0.01*			p=0.56**	p=0.44**	p=0.01**	p=0.47**
0-4	10 (10.6)	8 (8.5)	3 (3.2)	16 (17.0)	57 (60.7)	114.3 (112.1; 116.6)	72.8 (71.1; 74.4)	581.3 (576.5; 586.2)	6.3 (6.0; 6.6)
5-8	35 (10.2)	21 (6.1)	42 (12.2)	63 (18.4)	182 (53.1)	114.9 (113.4; 116.4)	73.8 (72.7; 74.9)	582.6 (580.5; 584.6)	6.5 (6.4; 6.7)
9-11	59 (11.1)	42 (7.9)	75 (14.2)	139 (26.2)	215 (40.6)	114.3 (113.3; 115.2)	73.8 (73.1; 74.6)	579.7 (578.2; 581.1)	6.4 (6.3; 6.5)
≥12	12 (14.3)	11 (13.1)	13 (15.5)	23 (27.4)	25 (29.7)	112.8 (110.3; 115.3)	72.4 (70.5; 74.4)	576.4 (574.2; 578.5)	6.4 (6.0; 6.7)

Asset index [¶]			p=0.02*			p=0.49**	p=0.77**	p=0.18**	p=0.92**
D/E (poorest)	28 (8.4)	25 (7.5)	44 (13.2)	60 (18.0)	176 (52.9)	114.5 (113.2; 115.9)	73.8 (72.8; 74.8)	581.0 (579.2; 582.8)	6.4 (6.2; 6.5)
C	52 (13.4)	25 (6.4)	46 (11.8)	100 (25.7)	166 (42.7)	114.7 (113.4; 116.0)	73.7 (72.7; 74.6)	579.9 (578.2; 581.7)	6.4 (6.3; 6.6)
A/B (richest)	13 (7.9)	13 (7.9)	26 (15.8)	45 (27.3)	68 (41.1)	113.4 (111.8; 115.0)	73.1 (71.9; 74.4)	578.2 (576.7; 579.8)	6.4 (6.2; 6.7)
Energy intake (quintiles)			p=0.47*			p=0.31**	p=0.29**	p=0.20**	p=0.80**
First	32 (15.2)	13 (6.2)	25 (11.9)	47 (22.3)	94 (44.4)	115.2 (113.6; 116.9)	74.6 (73.4; 75.8)	580.7 (579.0; 582.5)	6.5 (6.3; 6.8)
Second	23 (11.0)	16 (7.6)	31 (14.8)	42 (20.0)	98 (46.6)	114.2 (112.6; 115.8)	73.7 (72.5; 74.9)	579.0 (577.0; 581.1)	6.4 (6.2; 6.6)
Third	21 (10.0)	17 (8.1)	35 (16.7)	51 (24.3)	86 (40.9)	113.4 (111.8; 115.0)	72.7 (71.4; 74.0)	579.0 (576.7; 581.2)	6.4 (6.2; 6.6)
Fourth	19 (9.1)	18 (8.6)	21 (10.0)	56 (26.7)	96 (45.6)	113.6 (112.1; 115.0)	73.2 (72.0; 74.3)	581.3 (578.1; 584.5)	6.4 (6.1; 6.6)
Fifth	21 (10.0)	18 (8.6)	21 (10.0)	45 (21.4)	105 (50.0)	115.4 (113.4; 117.4)	73.9 (72.5; 75.2)	582.5 (579.7; 585.4)	6.4 (6.2; 6.6)
Leisure physical activity (≥150min)			p=0.68*			p=0.32**	p=0.94**	p=0.74**	p=0.87**
No	100 (11.1)	73 (8.1)	114 (12.7)	200 (22.2)	413 (45.9)	114.2 (113.4; 115.0)	73.6 (73.0; 74.2)	580.5 (579.3; 581.8)	6.4 (6.3; 6.5)
Yes	16 (10.6)	9 (6.0)	19 (12.6)	41 (27.2)	66 (43.6)	115.3 (113.6; 116.9)	73.7 (72.3; 75.1)	580.0 (578.2; 581.9)	6.4 (6.2; 6.7)
Alcohol consumption			p=0.23*			p=0.80**	p=0.49**	p=0.44**	p=0.59**
No	43 (9.9)	26 (6.0)	54 (12.5)	110 (25.4)	200 (46.2)	114.2 (113.0; 115.4)	75.3 (74.7; 75.8)	580.0 (578.5; 581.5)	6.5 (6.3; 6.6)
Yes	72 (11.9)	54 (8.9)	77 (12.7)	129 (21.3)	274 (45.2)	114.4 (113.5; 115.3)	75.5 (75.1; 75.9)	580.9 (579.3; 582.4)	6.4 (6.3; 6.5)
Current smoking			p=0.82*			p<0.01**	p<0.01**	p=0.41**	p=0.61**
No	81 (10.8)	56 (7.5)	100 (13.4)	173 (23.1)	339 (45.2)	115.0 (114.1; 115.9)	75.7 (75.4; 76.1)	580.2 (579.0; 581.4)	6.4 (6.3; 6.5)
Yes	35 (11.6)	26 (8.6)	33 (10.9)	68 (22.5)	140 (46.4)	112.8 (111.4; 114.1)	74.5 (73.8; 75.1)	581.2 (578.8; 583.6)	6.5 (6.3; 6.6)
Body mass index (kg/m ²)			p=0.65*			p<0.01**	p<0.01**	p<0.01	p<0.01
<25.0	71 (10.6)	59 (8.8)	89 (13.3)	151 (22.6)	298 (44.6)	112.3 (111.5; 113.1)	72.0 (71.3; 72.6)	578.2 (577.2; 579.3)	6.3 (6.2; 6.4)
25.0-29.9	20 (10.6)	10 (5.3)	25 (13.3)	46 (24.5)	87 (46.3)	116.5 (115.0; 118.0)	75.9 (74.8; 77.0)	584.9 (581.2; 588.5)	6.7 (6.4; 6.9)
≥30.0	16 (16.5)	8 (8.3)	14 (14.4)	20 (20.6)	39 (40.2)	124.9 (121.2; 128.6)	80.7 (78.3; 83.2)	591.2 (585.9; 596.4)	6.9 (6.5; 7.3)

¶Minimum wages. ¶Brazilian Association of Research Companies. *Chi-square. **Analysis of variance.

Supplementary Table S2. Glycaemia and lipid profile according to biological, socioeconomic and behavioral variables (n=1136). Pelotas, 1982-2012.

Variables	Glycaemia (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Non-HDL (mg/dl)	Triglycerides# (mg/dl)
	Mean (CI95%)	Mean (CI95%)	Mean (CI95%)	Mean (CI95%)	Mean (CI95%)	Mean (CI95%)
Birth						
European ancestry (quintiles)	p=0.845	p=0.108	p=0.091	p=0.888	p=0.038	p<0.001
First	85.8 (82.1–89.4)	181.8 (176.7–186.9)	103.3 (99.1–107.4)	61.0 (59.3–62.7)	120.8 (116.2–125.4)	78.0 (73.4–83.0)
Second	87.4 (85.2–89.6)	191.3 (185.8–196.8)	111.3 (106.6–115.9)	60.5 (58.7–62.4)	130.8 (125.6–135.9)	92.1 (85.6–99.1)
Third	87.8 (84.9–90.7)	189.1 (184.1–194.1)	108.0 (104.1–111.9)	60.2 (58.4–62.0)	128.9 (124.0–133.8)	96.6 (89.5–104.3)
Fourth	88.3 (84.3–92.3)	186.2 (181.3–191.2)	106.0 (102.2–109.8)	60.6 (58.6–62.5)	125.7 (121.5–129.9)	91.7 (85.5–98.4)
Fifth	86.9 (84.1–89.6)	187.5 (182.7–192.4)	106.3 (102.5–110.2)	61.5 (59.6–63.3)	126.1 (121.6–120.6)	92.5 (86.0–99.4)
Family income	p=0.378	p=0.155	p=0.103	p=0.065	p=0.111	p=0.044
≤1	88.4 (85.3–91.5)	184.5 (180.5–188.6)	104.7 (101.5–107.9)	60.3 (58.8–61.9)	124.2 (120.3–128.1)	87.3 (82.1–92.7)
1.1-3	86.5 (85.2–87.9)	187.4 (184.6–190.2)	107.9 (105.7–110.2)	59.8 (58.8–60.8)	127.6 (125.0–130.1)	91.6 (88.1–95.2)
3.1-6	89.6 (84.1–95.0)	191.3 (185.4–197.3)	108.8 (104.1–113.4)	62.9 (60.9–64.9)	128.4 (123.2–133.7)	93.4 (86.5–100.9)
6.1-10	84.2 (80.2–88.1)	185.6 (174.1–197.2)	105.6 (96.7–114.5)	61.5 (57.4–65.6)	124.1 (113.5–134.7)	84.0 (71.2–99.3)
>10	83.2 (77.6–88.9)	172.9 (160.1–185.6)	92.4 (80.7–104.0)	63.6 (58.3–69.0)	109.2 (96.5–121.9)	66.6 (54.7–80.9)
Maternal schooling	p=0.304	p=0.267	p=0.238	p<0.001	p=0.325	p=0.467
0-4	87.1 (85.1–89.1)	184.6 (181.5–187.8)	105.9 (103.3–108.4)	59.5 (58.4–60.7)	125.1 (122.1–128.1)	88.3 (84.3–92.4)
5-8	88.5 (86.1–90.8)	188.5 (185.2–191.7)	108.6 (106.0–111.2)	60.3 (59.2–61.4)	128.2 (125.3–131.1)	91.4 (87.4–95.5)
9-11	84.8 (82.8–86.9)	190.3 (182.9–197.8)	107.8 (102.0–113.7)	62.0 (59.5–64.4)	128.4 (121.7–135.0)	94.8 (86.5–104.0)
≥12	84.5 (81.6–87.3)	189.0 (181.3–196.8)	102.5 (96.5–108.5)	66.3 (63.0–69.7)	122.7 (115.3–130.0)	86.9 (76.9–98.4)
2004-5						
Family income	p=0.964	p=0.441	p=0.885	p<0.001	p=0.971	p=0.911
≤1	87.9 (84.2–91.7)	183.3 (175.9–190.6)	104.7 (99.4–109.9)	57.0 (54.4–59.7)	126.2 (118.6–133.8)	90.1 (80.0–101.5)
1.1-3	87.5 (85.0–90.0)	185.1 (181.7–188.5)	106.6 (104.0–109.3)	59.1 (57.9–60.3)	126.0 (122.9–129.1)	89.1 (85.0–93.4)
3.1-6	87.3 (84.9–89.6)	188.8 (184.9–192.8)	108.0 (104.7–111.4)	61.5 (60.1–62.9)	127.3 (123.7–131.0)	90.5 (85.7–95.6)
6.1-10	86.2 (82.8–89.7)	188.8 (182.7–194.9)	106.4 (101.3–111.6)	62.8 (60.6–65.1)	126.0 (120.3–131.7)	93.2 (85.5–101.5)
>10	85.9 (83.1–88.7)	189.8 (181.3–198.4)	106.1 (99.3–112.9)	65.1 (62.3–68.0)	124.7 (117.0–132.4)	87.5 (78.2–97.9)
Schooling	p=0.558	p=0.009	p=0.056	p<0.001	p=0.148	p=0.558
0-4	87.8 (82.4–93.2)	180.0 (173.3–186.7)	106.5 (100.9–112.1)	55.3 (53.0–57.7)	124.7 (118.6–130.7)	84.6 (77.1–92.9)
5-8	87.8 (85.5–90.1)	183.6 (179.7–187.5)	105.4 (102.3–108.5)	58.1 (56.7–59.4)	125.5 (121.8–129.2)	91.6 (86.5–97.0)
9-11	87.2 (85.2–89.3)	190.4 (187.4–193.4)	108.9 (106.4–111.4)	62.2 (61.1–63.3)	128.2 (125.4–131.0)	90.4 (86.7–94.2)
≥12	83.9 (81.6–86.2)	185.4 (178.0–192.8)	100.5 (94.7–106.2)	65.6 (62.6–68.5)	119.8 (113.2–126.5)	87.5 (78.3–97.8)

Asset index¶	p=0.791	p=0.007	p=0.066	p<0.001	p=0.045	p=0.084
D/E (poorest)	87.2 (84.6–89.8)	181.5 (178.0–185.1)	104.4 (101.5–107.3)	58.2 (57.0–59.5)	123.3 (119.9–126.7)	86.7 (82.4–91.3)
C	87.8 (85.2–90.5)	189.9 (186.2–193.6)	109.1 (106.1–112.2)	60.8 (59.5–62.1)	129.1 (125.6–132.5)	93.3 (88.6–98.3)
A/B (richest)	86.3 (84.3–88.3)	187.0 (181.4–192.7)	105.0 (100.4–109.6)	63.3 (61.4–65.3)	123.7 (118.6–128.8)	86.1 (79.9–92.8)
Energy intake (quintiles)	p=0.988	p=0.553	p=0.334	p=0.093	p=0.527	p=0.582
First	87.1 (84.5–89.7)	187.1 (181.9–192.3)	106.8 (102.8–110.8)	59.6 (57.9–61.4)	127.5 (122.5–132.4)	92.7 (86.0–100.0)
Second	87.1 (83.4–90.8)	188.1 (183.4–192.8)	106.0 (102.4–109.6)	62.4 (60.5–64.2)	125.7 (121.6–129.9)	90.5 (84.5–96.8)
Third	87.7 (83.8–91.5)	187.7 (182.7–192.7)	107.1 (102.8–111.3)	61.3 (59.6–63.0)	126.4 (121.8–131.0)	91.4 (85.7–97.5)
Fourth	87.6 (84.9–90.3)	188.3 (183.5–193.0)	110.1 (106.1–114.1)	59.5 (57.9–61.2)	128.8 (124.3–133.2)	89.8 (84.1–95.9)
Fifth	86.5 (84.2–88.9)	183.1 (178.5–187.7)	104.2 (100.5–108.0)	59.8 (58.1–61.5)	123.3 (118.9–127.7)	85.8 (80.0–92.0)
Leisure physical activity (≥150min)	p=0.974	p=0.930	p=0.767	p=0.242	p=0.583	p=0.486
No	87.2 (85.7–88.8)	186.9 (184.5–189.3)	107.0 (105.0–108.9)	60.3 (59.5–61.2)	126.6 (124.4–128.8)	90.4 (87.4–93.5)
Yes	87.1 (84.1–90.2)	186.6 (181.5–191.8)	106.2 (102.0–110.4)	61.7 (59.6–63.8)	125.0 (120.3–129.7)	87.7 (81.5–94.3)
Current smoking	p=0.060	p=0.165	p=0.513	p>0.001	p=0.635	p=0.692
No	88.0 (86.3–89.8)	187.8 (185.3–190.4)	106.5 (104.5–108.5)	61.8 (60.9–62.7)	126.0 (123.7–128.4)	90.4 (87.2–93.7)
Yes	85.1 (82.9–87.3)	184.4 (180.2–188.6)	107.8 (104.2–111.3)	57.3 (55.8–58.8)	127.1 (123.1–131.1)	89.1 (84.1–94.3)

#Geometric mean. ||Minimum wages. ¶Brazilian Association of Research Companies. Analysis of variance.

SEÇÃO IV. Nota à imprensa

NOTA À IMPRENSA

Estudo avalia a relação entre amamentação e saúde materna

Estudos sugerem que a lactação teria o papel de restabelecer o metabolismo materno através diminuição do acúmulo de gordura corporal após a gestação, estando relacionada à diminuição no risco de doenças cardiovasculares.

Pesquisa realizada pela Universidade Federal de Pelotas, utilizando dados das mulheres participantes da Coorte de Nascimentos de 1982 que tiveram filhos, avaliou o efeito da amamentação no estado nutricional, composição corporal e fatores metabólicos de risco cardiovascular. Nesse estudo, foi observado que a amamentação está associada a uma redução no índice de massa corporal, na circunferência da cintura e no índice de massa gorda maternos, sobretudo nos primeiros anos após o parto. Contudo, não foi observada associação com índice de massa livre de gordura. A pesquisa também avaliou se a amamentação teria efeito protetor em relação a densidade mineral óssea, pressão arterial, espessura da carótida, velocidade de onda de pulso, perfil lipídico e glicemia maternos, mas os resultados sugeriram que a lactação não está relacionada com tais fatores.

O estudo foi conduzido pela doutoranda Natália Peixoto Lima, sob orientação do professor Bernardo L. Horta, do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, da Universidade Federal de Pelotas, e em colaboração com o professor Diego G. Bassani, da Dalla Lana School of Public Health, da Universidade de Toronto. A publicação completa do estudo pode ser encontrada na página do Programa (<http://www.epidemiologia-ufpel.org.br>).

SEÇÃO V. Relatório do trabalho de campo



**Universidade Federal de Pelotas
Faculdade de Medicina
Departamento de Medicina-Social
Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia**

**COORTE DE NASCIMENTOS DE 1982 DE PELOTAS-RS:
ACOMPANHAMENTO DOS 30 ANOS**

Relatório do Trabalho de Campo

**Pelotas - RS - Brasil
2012**

HISTÓRICO DA COORTE 82

Todas as crianças nascidas em 1982 na cidade de Pelotas, cujas mães residiam na zona urbana do município no momento do parto, foram elegíveis para um estudo longitudinal sobre saúde. Entre todas as crianças nascidas vivas, menos de 1% foram perdidas e em menos de 1% dos casos as mães se recusaram a participar do estudo. Ao longo de todos esses anos vários estudos foram conduzidos com os indivíduos deste grupo. No período de outubro de 2004 a agosto de 2005 todos os membros da coorte foram procurados para um novo acompanhamento. O esquema apresentado abaixo descreve os acompanhamentos realizados com a coorte de 1982.

Tabela 1. Descrição dos acompanhamentos da Coorte de 1982.

ANO	ACOMPANHAMENTO
1982	Todas as crianças (estudo perinatal)
1983	1/3 da coorte (nascidos entre os meses de janeiro e abril)
1984	Todas as crianças
1986	Todas as crianças
1997	27% dos setores censitários da cidade
2000	Todos os homens
2001	Os mesmos de 1997
2004-2005	Todas as crianças
2012	Todas as crianças

ACOMPANHAMENTO DOS 30 ANOS

Em 2012, quando os membros da coorte de 82 completariam 30 anos, realizou-se um novo acompanhamento, o qual incluiu todos os indivíduos da coorte. O projeto intitulou-se “Acompanhamento aos 30 anos de idade dos adultos jovens pertencentes à coorte de nascimentos de 1982: Influências precoces e contemporâneas sobre a composição corporal, capital humano, saúde mental e precursores de doenças crônicas complexas. Pelotas, RS” já recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina, da UFPel (Of.16/12).

Neste relatório serão descritas as etapas do estudo, incluindo atividades que antecederam o trabalho de campo, o campo e algumas atividades posteriores ao campo como banco de dados, análises e alguns resultados.

ATIVIDADES ANTERIORES AO TRABALHO DE CAMPO

Localização dos participantes

Para localizar os participantes foram utilizadas algumas estratégias entre elas a atualização de endereços, que ocorreu através do envio de rastreadores (motoboys) aos endereços registrados no último acompanhamento, em 2004. Os participantes, quando localizados, eram informados sobre uma futura visita e recebiam um folder com informações sobre a pesquisa e alguns resultados. Além disso, também foi realizada a divulgação nos meios de comunicação local.

Atualização de endereços e distribuição de folders

No último acompanhamento em 2004, dados de identificação, como: número e nome do participante, nome da mãe e do pai, endereço e telefone foram registrados para posterior contato. Com essas informações foi gerada uma lista com o nome, endereço e telefone do participante.

Primeiramente, realizaram-se ligações para estes telefones com o objetivo de obter informações atualizadas, porém essa estratégia não foi satisfatória. Então se decidiu enviar rastreadores aos endereços registrados no acompanhamento em 2004. Para essa tarefa foram selecionados quatro motoboys, eles deveriam ir ao endereço e obter informações atualizadas do participante.

Quatro meses antes do início do trabalho de campo os rastreadores começaram as buscas. Quando o participante era encontrado ele era informado sobre o novo acompanhamento e recebia um folder com informações sobre a pesquisa, alguns resultados dos acompanhamentos anteriores e contatos. Duas bolsistas ficaram responsáveis pelas estratégias de busca.

Com a lista atualizada dos endereços e telefones foi possível dar início aos agendamentos, que começaram uma semana antes do trabalho de campo.

Divulgação nos meios de comunicação

Com o objetivo de divulgar o acompanhamento da coorte 82 e trazer mais participantes da corte a clinica no Centro de Pesquisas foram divulgadas matérias nas rádios e TVs locais.

Organização e planejamento do acompanhamento da C82 aos 30 anos

O trabalho de organização e planejamento do acompanhamento dos 30 anos da C82 iniciou em julho de 2011 e contava com a participação de pesquisadores e doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. A equipe fazia reuniões semanais para discutir a cerca dos instrumentos de coleta dos dados, as variáveis a serem coletadas e a logística do trabalho de campo.

Testagem dos equipamentos

No mês de abril de 2012 realizou-se um treinamento com os cinco candidatos a ocupar o posto de técnico do Three Dimensional Photonic Scanner (3DPS), com o intuito de selecionar dois desses candidatos para trabalhar no acompanhamento dos 30 anos da coorte de 1982.

O primeiro treinamento teve início com uma apresentação teórica conduzida no turno da manhã pelo doutorando Leonardo Pozza dos Santos, que explicou a origem, a utilidade e o funcionamento do aparelho. Logo após, no período da tarde, deu-se início ao treinamento prático, que teve a participação de dez voluntários para terem suas medidas aferidas no aparelho, que foi manuseado pelos candidatos. Os candidatos tiveram um tempo para conhecer a máquina e entender seu funcionamento e, em seguida, começaram os testes.

A avaliação prática funcionou da seguinte maneira: as medidas obtidas pelo doutorando Leonardo serviram como padrão-ouro e cada candidato fez duas medidas de cada voluntário. Os dois candidatos que tiveram as medidas mais próximas do padrão-ouro foram selecionados para trabalhar no acompanhamento da coorte de 1982.

Uma semana após a avaliação e seleção dos candidatos, houve mais um treinamento com os selecionados, com o intuito de tirar as dúvidas dos mesmos, bem como deixá-los mais acostumados ao manuseio do aparelho.

Confeção de roupas especiais para os equipamentos

Para a realização dos exames de composição corporal (Bod Pod e Photonic) foi necessária a confecção de roupas justas especiais. Como um dos equipamentos o Bod Pod exigia o uso de roupas e toucas justas e o outro o Photonic não aceitava o uso de roupas de cor preta, decidiu-se por confeccionar bermuda e blusa regata de elastano (tamanhos P, M, G e EXG) na cor cinza, além de touca de borracha tipo natação, um par de protetores de pés em TNT e um roupão descartável em TNT.

Recrutamento de pessoal

No mês de maio e abril de 2012 ocorreu o recrutamento do pessoal. Os candidatos deveriam entregar o currículo no Centro de Pesquisas em Saúde, estes currículos foram analisados e selecionados pelas coordenadoras do estudo. Era exigido que o candidato fosse maior de 18 anos, tivesse ensino médio completo e disponibilidade de tempo. Aqueles que preencheram os critérios foram chamados para realizarem os treinamentos de alguns aparelhos, além do treinamento das entrevistas.

Treinamentos, padronização e seleção

Os treinamentos ocorreram em abril e maio de 2012 e serviam para capacitar o pessoal. Abaixo será descrito com detalhes cada um dos treinamentos.

Treinamento do Questionário Geral

O treinamento teórico-prático do questionário geral ocorreu entre os dias 23 e 29 de maio de 2012 nos turnos manhã e tarde, sob a responsabilidade dos pesquisadores e doutorandos envolvidos. O treinamento incluiu: (a) leitura de cada bloco do questionário geral e do manual de instruções; (b) aplicações simuladas entre as próprias candidatas. Participaram deste treinamento os 28 candidatos às seis vagas para entrevista (4), entretenimento (1) e recepção (1) e outras seis pessoas que já estavam selecionadas por terem trabalhado no acompanhamento da C93. Estas participaram com a finalidade de receberem um retreinamento.

Durante o treinamento eram realizadas dramatizações para que o grupo de pesquisadores, supervisora e doutorandos pudessem avaliar o desempenho de cada um.

Era sempre ressaltada a importância de recorrer o manual de instruções em casos de dúvidas. A seleção ocorreu simultaneamente ao treinamento, as candidatas eram avaliadas durante as dramatizações considerando a postura, entonação da voz e desenvoltura. Elas ainda foram submetidas a uma prova escrita sobre os conteúdos repassados durante o treinamento. Elas foram classificadas a partir da média calculada com base na nota da avaliação subjetiva e da prova. Foram consideradas aprovadas aquelas candidatas que obtiveram média igual ou superior a 6,0 e foram selecionadas para o trabalho seguindo a ordem de classificação até serem completas as vagas.

De um total de 28 candidatas nove foram aprovadas e seis selecionadas, ficando as demais na situação de suplência.

Treinamento Antropometria (antropometria, MAP e dinamometria) e Pressão Arterial

Para estas medidas havia duas vagas, uma já estava preenchida, dessa forma realizou-se um treinamento para selecionar a segunda medidora. O treinamento ocorreu no período de 20 a 24 de abril e 5 a 7 de maio, as candidatas vaga foram submetidas a treinamento de coleta de medida antropométricas e aferição da pressão arterial. Além destas, uma terceira participante (já selecionada), que já havia recebido treinamento para o acompanhamento da coorte de 93, participou também afim de retreinar suas aferições. Após treinamento e padronização foi escolhida a candidatas com melhores medidas, conforme os critérios de Habicht.

Os responsáveis pelo treinamento, padronização e seleção das candidatas foram os doutorandos Gicele, Leonardo, Gabriela, Giovane e Renata.

Treinamento do questionário de frequência alimentar (QFA)

A capacitação de pessoas para orientar os jovens sobre o procedimento com o QFA eletrônico, autoaplicado, foi realizada com duas candidatas que já haviam trabalhado no acompanhamento anterior. Elas receberam um retreinamento, sendo orientadas sobre como proceder com questionário em papel e no computador.

A responsável pelo retreinamento foi a doutoranda Janaina.

Treinamento Ultrassom Carótida

Três candidatas (selecionadas para o estudo, mas em processo de seleção para o equipamento) a duas vagas foram submetidas ao treinamento que ocorreu do dia 25 a 27 de abril nos turnos da manhã e tarde, sob as responsabilidades dos doutorandos Giovane, Carolina e Rogério.

Treinamento do VOP

Este exame teve início quando o trabalho de campo já estava em andamento. Por isso, o treinamento ocorreu nos dias 20 e 21 de julho nos turnos manhã e tarde. Participaram do treinamento duas técnicas em radiologia que já trabalhavam no estudo realizando ultrassom de carótida e abdominal, dessa forma elas continuariam exercendo a função anterior e no turno inverso realizariam a medida do VOP. Após o treinamento uma delas comunicou que não poderia trabalhar nos dois turnos, sendo assim, uma nova pessoa, a técnica responsável pelo Photonic Scanner, foi treinada nos dias 31 de julho e 1 de agosto nos turnos manhã e tarde, para a função. A doutoranda Carolina foi a responsável por este treinamento.

Treinamento do Bod pod

Ocorreu no dia 3 de maio no turno da tarde. As duas candidatas que já haviam trabalhado no acompanhamento anterior receberam um retreinamento e foram selecionadas para a função. As responsáveis pelo treinamento foram as doutorandas Silvana e Gabriela.

Treinamento do DXA

Os avaliadores pré-selecionados, por já terem trabalhado em outro acompanhamento exercendo a mesma função, foram submetidos a um retreinamento teórico prático de forma a recapitular a técnica de tomada de medida e de calibração. O treinamento ocorreu no dia 02 de maio nos turnos da manhã e tarde, sob a responsabilidade do doutorando Renata.

Treinamento da Coleta de sangue

Para a coleta de sangue ficou a mesma equipe, de sete pessoas, que havia trabalhado no acompanhamento da C93, não sendo necessário treinamento. Abaixo é apresentado um quadro com as funções e as vagas para as funções:

FUNÇÃO	NÚMERO DE PESSOAS
Recepção	4
Fluxo área dos questionários	2
Fluxo área dos equipamentos	2
Entrevistadoras	8
Psicólogas	6
Monitora do QFA	2
DXA	2
Bod Pod	2
Photonic	2
Ultrassom de carótida	2
Ultrassom abdominal	3
Espirometria	2
Coleta de sangue	2
Acelerometria	1+ 2 motoboys
VOP	2
Deutério	1
TOTAL	

Quadro1. Funções e vagas para as respectivas funções.

Estudo Piloto

No dia 29 de maio de 2012 foi realizado o estudo piloto. Ele serviu para uma avaliação prévia de toda logística e funcionamento da clínica da coorte de 82, tendo como responsáveis os coordenadores, pesquisadores, supervisora de campo e doutorandos.

Os candidatos aprovados e selecionados para trabalharem no acompanhamento foram divididos em dois grupos para que em um momento servissem de “participantes da coorte” para as entrevistas e exames corporais e, posteriormente, fossem os responsáveis

pela coleta de dados. Essa estratégia permitiu estabelecer o fluxo a ser (adotado desde a chegada da pessoa à clínica), leitura do TCLE, realização dos exames nos equipamentos e dos questionários e, principalmente, ajudou a estimar o tempo gasto para realização de todas as medidas.

TRABALHO DE CAMPO

O trabalho de campo teve início no dia quatro de junho de 2012, no turno da manhã as 8:00 horas, na clínica situada nas dependências do prédio B do Centro de Pesquisas Epidemiológicas. O atendimento era realizado das 8:00 às 14:00 (turno da manhã) e das 14:00 às 20:00 (turno da tarde).

Logística da Coorte 82 na Clínica do CPE

Os participantes eram contatados por telefones e convidados a comparecerem no centro de pesquisas com dia e hora marcada. Havia uma pessoa responsável por fazer estes agendamentos.

Inicialmente eram agendados 16 adolescentes por dia, oito em cada turno de trabalho. Esse número foi sendo testado e foi aumentando gradativamente até chegar a 15 agendamentos por turno de trabalho.

Ao chegar na clínica, a pessoa era atendida na recepção, um ambiente estruturado para essa finalidade. Neste momento, era solicitado um documento para certificação de que se tratava de um participante da coorte de 82. Fazia-se então, a checagem do nome com a planilha de agendamentos. Caso a pessoa não portasse documento perguntava-se o nome completo da mãe e esse era conferido em um banco de dados disponível num dos computadores da recepção. Após a conferência dos dados a pessoa recebia um crachá de identificação que continha o nome e um código de barras com o ID do participante, este crachá deveria ser usado durante todo o tempo de permanência no local. Além de identificar o jovem, o crachá mostrava todos os locais pelos quais o indivíduo deveria passar, garantindo desta forma que todos os questionários fossem respondidos e exames realizados. Após a entrega do crachá, a recepcionista entrava em contato com a responsável pelo fluxo dos questionários, para a mesma disponibilizar uma entrevistadora. Dessa forma a pessoa era encaminhada para a entrevistadora juntamente

com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – existiam dois tipos de TCLE: do subestudo do deutério e do restante da amostra.

A entrevistadora fazia a leitura do TCLE para a pessoa estar ciente dos procedimentos. Ao final, no caso de participante do sexo feminino, era perguntado sobre gravidez, na confirmação ou suspeita de gravidez a participante não deveria fazer alguns exames. Até a metade do acompanhamento as gestantes só deveriam fazer as entrevistas, no entanto, esta regra foi alterada, foi decidido pela coordenação que as gestantes fariam além das entrevistas, a medida de ultrassom de carótida, medida de altura, medida de altura sentada e de pressão arterial. No final do TCLE constava uma lista com os procedimentos que seriam realizados ao lado havia um espaço para que o participante marcasse um “X” naqueles itens que estivesse de acordo em fazer. Se a pessoa se recusasse ou relatasse possuir algum impedimento para a realização (critério de exclusão para determinado exame), o doutorando de plantão era chamado para tentar reverter a recusa ou caso contrário assinalar tal ocorrido no crachá. Os seguintes códigos eram utilizados pelos doutorandos:

R = recusa

G = grávida

PG = possível gravidez

CE = critério de exclusão

A = no caso da gestante realizar a altura.

A clínica foi dividida em duas partes, uma para a realização de exames e outra para a aplicação dos questionários. Cada parte era controlada por uma pessoa que portava uma planilha para controle do fluxo dos questionários e dos equipamentos. Dessa forma, após assinatura do TCLE, o indivíduo era conduzido para uma das responsáveis pelo fluxo, esta o encaminhava para as entrevistas ou para os equipamentos conforme disponibilidade.

Nas entrevistas eram aplicados os instrumentos: questionário geral, questionário confidencial, QFA, M.I.N.I. e QI - WAIS. Na parte dos equipamentos eram realizados os seguintes exames: pletismografia (BodPod), densitometria (DXA), avaliação das dimensões corporais (photonic scanner), espirometria, ultrassom de carótidas, ultrassom abdominal coleta de sangue, antropometria (pregas cutâneas subescapular e tricipital;

circunferência da cintura; perímetro braquial; altura e altura sentado), dinamometria, velocidade da onda de pulso (VOP) e pressão arterial. A ordem com que os participantes realizavam as etapas (questionários ou equipamentos) era controlada pelas responsáveis pelo fluxo na clínica.

Para as entrevistas eram destinadas sete salas, sendo quatro para os questionários geral e confidencial e três para saúde mental. Havia ainda uma sétima sala destinada ao questionário de frequência alimentar (QFA). O QFA era autoaplicado no computador e supervisionado por uma monitora. Não havia ordem para a realização das entrevistas.

Para a realização dos exames o participante era conduzido pela responsável pelo entretenimento (recreacionista) até um vestiário para trocar sua roupa por aquela apropriada para os exames. Além da roupa era necessário a retirada de qualquer objeto de metal. Todos os pertences dos participantes eram guardados em armários com chaveados, a chave ficava na posse do participante durante todo o seu percurso na clínica.

Dentro de cada sala dos equipamentos havia uma ficha para anotações, denominada “Diário de campo”. Nesta ficha eram anotadas as intercorrências que seriam posteriormente de interesse dos responsáveis e do estudo. Exemplos: na sala do Photonic havia registros no diário de campo sobre discrepâncias na medida da circunferência da cintura além do que era considerado relevante. Na antropometria os registros eram feitos caso a coleta de medidas fosse realizada no braço contrário ao protocolo. No DXA a ocorrência mais comum era em relação a existência de piercing em alguma parte do corpo e não poder realizar a medida no corpo inteiro, ou então o adolescente ser obeso ou muito alto de forma que seu corpo ultrapassava os limites da cama do aparelho. Na sala de coleta de sangue havia uma em planilha Excel, para anotação dos coletadores, sobre os casos de desmaio, acesso venoso ruim, pouca amostra sanguínea, etc. Na sala do ultrassom havia uma ficha técnica própria que a responsável pela coleta tinha que preencher para todos os exames realizados.

O tempo médio que os participantes permaneciam na clínica foi de 3h e 30 min. No Quadro 2 são apresentadas as médias de tempo gastas em cada estação.

ESTAÇÃO	TEMPO MÉDIO (1º trimestre)	TEMPO MÉDIO	TEMPO MÉDIO
Equipamentos			
BodPod	15 min		
DXA	37 min		
Photonic	45 min		
Ultrassom de carótida	11 min		
Sangue	06 min		
Espirometria 1	31 min		
Espirometria 2	06 min		
Antropometria e pressão	19 min		
Questionários	01 h*		
Geral			
Confidencial			
QFA	14 min		
Testes Psicológicos			

Quadro 2. Tempo médio que os participantes permaneciam na clínica

Antes de deixar a clínica o jovem recebia uma ajuda de custo pela sua participação (R\$50,00) e assinava um recibo do valor. Em algumas situações o jovem solicitava um atestado para comprovar falta na escola, trabalho, cursinho, o qual era prontamente fornecido etc. Esse documento ficava a disposição na recepção e era assinado pela supervisora de campo.

INSTRUMENTOS DE PESQUISA

Questionário geral

O questionário geral do acompanhamento dos 30 anos era constituído de 587 questões e dividido em 21 blocos que abordavam diversos temas.

BLOCO A – Família e Moradia

BLOCO B - Consultas

BLOCO C – Hospitalização

BLOCO D – Medicamentos

BLOCO E – Saúde da Mulher
BLOCO F – Doença Respiratória
BLOCO G – Fraturas
BLOCO H – Acidentes e violência
BLOCO I – Atividade Física
BLOCO J – Eventos Estressores
BLOCO K – Composição Familiar
BLOCO L – Morbidade dos Pais
BLOCO M - Casamento
BLOCO N - Fumo
BLOCO O – Imagem Corporal
BLOCO P – Segunda Geração
BLOCO Q – Escolaridade
BLOCO R - Trabalho
BLOCO S – Escala Social e Renda
BLOCO T – Alimentação e Álcool
BLOCO U – Saúde Mental

QFA

O QFA composto por 88 itens alimentares foi desenvolvido com base nos questionários alimentares de outros acompanhamentos sendo em versão eletrônica e autoaplicado. O questionário, diferentemente dos outros acompanhamentos era semiquantitativo, ou seja, continha as porções de consumo padronizadas e a frequência de consumo fechada/categorizada. Foram inseridas fotos com as porções médias de cada alimento com o objetivo de tornar o layout do questionário mais atraente.

MANUAIS DE INSTRUÇÕES

Os manuais de instruções do estudo serviam como guia e apoio para os entrevistadores e responsáveis dos equipamentos. Eles eram sempre utilizados nos casos de dúvidas, tanto no registro de informações no computador, quanto para esclarecer sobre

os critérios de exclusão de exames, erros dos equipamentos, etc. Exemplares dos mesmos ficavam em cada sala de entrevista.

Modificações nas instruções durante o campo

Durante o trabalho de campo foram realizadas alterações e acréscimos ao manual, devido a situações não previstas durante o campo. Foi elaborada uma errata e anexada ao manual de instruções.

ESTRATÉGIAS DE BUSCA DOS PARTICIPANTES DURANTE O TRABALHO DE CAMPO

Algumas estratégias de busca foram utilizadas no decorrer do trabalho para àqueles que não haviam sido encontrados/contatados ou que não compareceram na clínica do CPE após contato telefônico (agendamento).

- A partir de 31 de agosto foram enviados rastreadores (motoboys) nos endereços antigos.
- A partir de 24 de agosto foi iniciada a busca online (facebook e google).
- A partir de 24 de outubro foram colocados cartazes em todas as linhas de ônibus e em vários locais da cidade, como universidades, postos de saúde, supermercados, postos de gasolina, etc.
- A partir de 1 de junho foram realizadas chamadas em alguns meios de comunicação com: RBS, TV Nativa no Jornal 12 horas, Radio Cultura e na Radio Pelotense.

ALTERAÇÕES NA EQUIPE NO DECORRER DO TRABALHO DE CAMPO

No decorrer do campo algumas mudanças foram necessárias. Elas serão apresentadas a seguir:

A equipe da psicologia sofreu algumas alterações durante o campo devido ao número insuficiente de profissionais capacitadas para a função. No início do trabalho de campo, das seis vagas apenas três haviam sido preenchidas, sendo que uma delas pediu dispensa no segundo dia de trabalho. Ficamos com duas profissionais, necessitando de mais quatro para o preenchimento do quadro de funcionários.

Para esta seleção realizou-se um treinamento com quatro candidatas, que ocorreu nos dias 04, 05 e 06 de junho. Ao final tivemos duas selecionadas. Realizou-se ainda outro treinamento, para o preenchimento das duas vagas. Este ocorreu nos dias 13, 14 e 15 de junho com a participação de quatro candidatas. Ao final do treinamento e seleção com duas selecionadas, completou-se o quadro de funcionários.

Somente a partir do dia 18 de junho obteve-se a equipe de psicólogas completa.

- Solicitaram dispensa:
 - Milene (entrevistas) saiu 17/08.
 - Patrícia (espiro) saiu dia 06/09.
 - Elisangela (VOP) saiu dia 28/11.
- No dia 01/08 entrou a Liana para substituir Milene, ela começou fazendo digitação por alguns dias e no dia 18/08 começou como entrevistadora. Ela já havia realizado o treinamento anterior ao trabalho de campo e estava na condição de suplente, por isso foi necessário apenas um retreinamento, o qual ocorreu no dia 02/08.
- No dia 06/09 entrou a Analu para substituir a Patrícia. O treinamento para o preenchimento desta vaga ocorreu na semana do dia 03 à 06/09.
- Não foi necessário substituir a Elisangela.
- No mês de novembro foram dispensadas: Ana Laura (psicóloga), a Giméli (psicóloga) e a Cintia (fluxo).
- A partir do início de novembro a clínica passou a funcionar em um turno de 6 horas, sendo um dia pela manhã das 8 às 14 horas e outro pela tarde das 14 às 20 horas. Dessa forma, foram mantidas as equipes que passaram a trabalhar em dias alternados.
- No início de janeiro ficamos com apenas uma equipe trabalhando de terça à sábado durante as tardes das 14 às 20 horas.

O trabalho de campo foi finalizado no dia 28 de fevereiro de 2012.

ESTRUTURA DA EQUIPE RESPONSÁVEL

Estrutura de cargos

A coordenação geral do Estudo de Coorte de Nascimentos de 1982 em Pelotas, RS é de responsabilidade dos professores Cesar Victora e Fernando Barros. O acompanhamento dos 30 anos foi coordenado pelos professores Bernardo Horta, Helen Gonçalves e Denise Gigante. A supervisão geral e coordenação do trabalho de campo ficaram a cargo das secretárias Juliana Bareno e Fabiana de Souza Pereira contando com a colaboração dos doutorandos, que através de escala realizavam plantões diários.

Reuniões de trabalho

A equipe de pesquisadores, supervisora, colaboradores e doutorandos tinham reuniões semanais ou quinzenais para a discussão de estratégias de logística e busca de jovens, distribuição de tarefas e responsabilidades e atualização do trabalho de campo.

Equipe

Ao longo do trabalho de campo, reuniões com a equipe de trabalho foram realizadas com o objetivo de informar eventuais mudanças na logística, questionários, postura, etc. Em geral, as reuniões eram feitas pela supervisora do trabalho de campo (Fernanda Mendonça).

CONTROLE DE QUALIDADE

Não foi feito controle de qualidade.

BANCO DE DADOS

A equipe de Banco de Dados, composta por Cauane Blumenberg (Gerente Geral de Banco de Dados), Janaína Vieira dos Santos Motta (Gerente de Dados da Coorte 1982), Leonardo Pozza dos Santos e Giovanni Vinicius Araújo de França ficou responsável por diversas atividades, como:

- Implementação dos blocos no software Pendragon visando a coleta de dados;
- Programação/desenvolvimento de scripts para pré-processamento dos dados;
- Extração dos dados armazenados no servidor de entrevistas;

- Pré-processamento de dados através dos scripts desenvolvidos;
- Pós-processamento de dados através dos scripts desenvolvidos;
- Tratamento de inconsistências geradas ao longo do campo;
- Elaboração e entrega dos blocos finais, prontos para análise epidemiológica.

Após a elaboração dos blocos para entrevista em papel, todos foram implementados em um software proprietário específico para coleta de dados, chamado Pendragon. Este sistema permitiu a coleta de informações através de netbooks. Todas as entrevistas eram armazenadas em um servidor específico.

A programação de scripts para pré-/pós-processamento foi feita no ambiente de desenvolvimento do próprio software estatístico Stata. Neste mesmo programa foram aplicados os diversos scripts para tratamento de dados e também de inconsistências.

ASPECTOS FINANCEIROS

O controle financeiro da pesquisa ficou a cargo de um dos pesquisadores e do administrador do Centro de Pesquisas Epidemiológicas da Universidade Federal de Pelotas. A supervisora de campo informava mensalmente ao administrador o total a ser pago para cada membro da equipe. A equipe de entrevistadoras recebia salários mensais fixos, enquanto que motoboys entre outros recebiam salários de acordo com a produção.

QUESTÕES ÉTICAS

Alguns participantes da coorte, durante a realização da entrevista/exames ou posteriormente ao seu comparecimento na clínica do CPE, solicitavam atendimento médico com especialista por algum problema de saúde. A demanda era repassada para a supervisora do trabalho de campo a qual entrava em contato com profissionais capazes de indicar local ou profissional ou solucionar o problema. Em alguns casos os pesquisadores também eram comunicados para acelerar o processo. Sempre que possível, os casos eram encaminhados para um atendimento gratuito e de qualidade.