

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**IDENTIFICAÇÃO DA DISPLASIA BRONCOPULMONAR EM RECÉM-NASCIDOS
PRÉ-TERMOS DE MUITO BAIXO PESO POR MEIO DE BIOMARCADORES
URINÁRIOS: APLICAÇÕES NÃO INVASIVAS COM PLATAFORMAS
METABOLÔMICA E ATR-FTIR**

CAMILA PIQUI NASCIMENTO

UBERLÂNDIA

2026

CAMILA PIQUI NASCIMENTO

**IDENTIFICAÇÃO DA DISPLASIA BRONCOPULMONAR EM RECÉM-NASCIDOS
PRÉ-TERMOS DE MUITO BAIXO PESO POR MEIO DE BIOMARCADORES
URINÁRIOS: APLICAÇÕES NÃO-INVASIVAS COM PLATAFORMAS
METABOLÔMICA E ATR-FTIR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador: Dr Robinson Silva-Sabino

Co-orientadora: Dr^a. Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo

UBERLÂNDIA

2026

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

N244 2026	Nascimento, Camila Piqui, 1989- Identificação da displasia broncopulmonar em recém-nascidos pré-termos de muito baixo peso por meio de biomarcadores urinários: aplicações não-invasivas com plataformas metabolômica e ATR-FTIR [recurso eletrônico] / Camila Piqui Nascimento. - 2026. Orientador: Robinson Silva-Sabino. Coorientadora: Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós- graduação em Ciências da Saúde. Modo de acesso: Internet. DOI http://doi.org/10.14393/ufu.te.2026.663 Inclui bibliografia. 1. Ciências médicas. I. Silva-Sabino, Robinson, 1981-, (Orient.). II. Azevedo, Vivian Mara Gonçalves de Oliveira, 1981-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciências da Saúde. IV. Título. CDU: 61
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências da Saúde				
Defesa de:	Tese de Doutorado Nº 11/PPGCSAUDE				
Data:	25/08/2026	Hora de início:	08:30h	Hora de encerramento:	11:45h
Matrícula do Discente:	12013CSD004				
Nome do Discente:	Camila Piqui Nascimento				
Título do Trabalho:	IDENTIFICAÇÃO DA DISPLASIA BRONCOPULMONAR EM RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMOS DE MUITO BAIXO PESO POR MEIO DE BIOMARCADORES URINÁRIOS: APLICAÇÕES NÃO INVASIVAS COM PLATAFORMAS METABOLÔMICA E ATR-FTIR				
Área de concentração:	Ciências da Saúde				
Linha de pesquisa:	2: Diagnóstico, Tratamento e Prognóstico das Doenças e Agravos à Saúde				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Desenvolvimento de Plataformas Diagnósticas pela saliva				

Reuniu-se em sala virtual, pela plataforma Google Meet, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, composta pelos Profs. Drs. Rui Miguel Pinheiro Vitorino (UA), Jamil Pedro de Siqueira Caldas (UNICAMP), Daniela Testoni Costa Nobre (UNIFESP), Thúlio Marquez Cunha (FAMED) e Robinson Silva Sabino (ICBIM) orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dr. Robinson Silva Sabino, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença dos membros da banca, e concedeu a Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Robinson Sabino da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 25/08/2026, às 11:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rui Miguel Pinheiro Vitorino, Usuário Externo**, em 25/08/2026, às 11:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thúlio Marquez Cunha, Professor(a) do Magistério Superior**, em 25/08/2026, às 11:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **DANIELA TESTONI COSTA NOBRE, Usuário Externo**, em 25/08/2026, às 11:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **JAMIL PEDRO DE SIQUEIRA CALDAS, Usuário Externo**, em 26/08/2026, às 08:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **7636995** e o código CRC **4A656861**.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Camila Piqui Nascimento.

Identificação da displasia broncopulmonar em recém-nascidos pré-termos de muito baixo peso por meio de biomarcadores urinários: aplicações não-invasivas com plataformas metabolômica e ATR-FTIR.

Presidente da banca (orientador): Prof. Dr. Robinson Silva-Sabino

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Banca Examinadora

Titular: Prof. Dr. Rui Vitorino

Instituição: Universidade de Aveiro

Titular: Prof. Dr. Jamil Pedro de Siqueira Caldas

Instituição: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Titular: Profa. Dra. Daniela Testoni Costa Nobre

Instituição: Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Titular: Prof. Dr. Thúlio Marquez Cunha

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade da vida e pelo aprendizado diário.

Ao Prof. Dr. Robinson Sabino-Silva, pelo suporte e orientação ao longo de toda a trajetória, por confiar na minha capacidade, pela amizade, pelo cuidado e, sobretudo, pela paciência em todos os momentos.

Às Prof.as Dr.as Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo e Vânia Olivetti Steffen Abdallah, pela oportunidade concedida e pelo aprendizado proporcionado em cada encontro.

Ao Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho (in memoriam), registro minha profunda gratidão pela confiança, pela admiração que sempre nutri por sua trajetória como pesquisador e pela relevância de seus ensinamentos em cada conversa.

Aos colegas do Grupo de Inovação em Diagnóstico Salivar e Nanobiotecnologia, pelo apoio durante as análises, pela dedicação e pela paciência nos momentos de dúvida.

Aos amigos do Núcleo de Projetos, Pesquisa e Prevenção do Hospital do Câncer (NUPPEC), pelo apoio contínuo, incentivo e encorajamento; pela compreensão diante das minhas ausências; pela ajuda nos momentos de incerteza; e por compartilharem a alegria desta conquista.

Aos meus pais, Agmar e Lucivânia, por toda a dedicação à minha formação profissional, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao Tarcio, à Anna e à Meg, pela compreensão diante das minhas ausências, pela força nos momentos de dificuldade, pelo consolo nos períodos de desespero e pela alegria nos dias de tristeza.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, registro meu sincero agradecimento.

RESUMO

Introdução: A displasia broncopulmonar (DBP) é uma doença pulmonar crônica que acomete recém-nascidos pré-termo (RNPT), caracterizada por prejuízo no desenvolvimento alveolar e vascular, resultando em comprometimento da troca gasosa e dependência prolongada de oxigênio. A elevada incidência da prematuridade e a morbimortalidade associada à DBP expõem a limitação de um diagnóstico ainda baseado em desfechos clínicos tardios, que não refletem as alterações imuno-inflamatórias precoces da doença. Essa limitação compromete a estratificação de risco e a adoção de intervenções oportunas, justificando o desenvolvimento de biomarcadores não invasivos integrados à inteligência artificial para aprimorar a predição e o manejo da DBP em RNPT de muito baixo peso. **Objetivo:** Desenvolver e avaliar plataformas não invasivas baseadas em biomarcadores urinários, integradas a algoritmos de inteligência artificial, para a predição precoce da DBP em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso (RNPT MBP). **Materiais e métodos:** Realizou-se um estudo longitudinal em uma unidade de terapia intensiva neonatal, incluindo RNPT com idade gestacional < 30 semanas e muito baixo peso ao nascer (< 1.500g). Os recém-nascidos foram classificados em dois grupos: DBP e sem DBP. Amostras de urina coletadas no segundo dia de vida foram analisadas por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (ATR-FTIR) e por espectrometria de massa de alta resolução (MS) acoplada à cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para identificação de metabólitos. Em seguida, os espectros obtidos por ambas as plataformas foram submetidos à análise de algoritmos de inteligência artificial para avaliação do desempenho de predição diagnóstica (acurácia, sensibilidade e especificidade). As análises estatísticas incluíram testes paramétricos e não paramétricos para comparação entre grupos, análise multivariada de dados espectrais por PCA, aplicação de algoritmos de aprendizado de máquina para classificação, análise metabolômica, regressão logística uni e multivariável, validação interna por bootstrap, avaliação do desempenho preditivo por curvas ROC e análise de decisão clínica.

Resultados: Na análise por ATR-FTIR de 42 amostras urinárias de RNPT MBP, incluindo 20 com DBP e 22 sem DBP, o algoritmo de Ada Boost associado com pré-processamento de segunda derivada apresentou 73% de sensibilidade, 81% de especificidade e 78% de acurácia na classificação entre recém-nascidos que evoluíram ou não para DBP. Os marcadores vibracionais mais relevantes foram associados a lipídeos, carboidratos e proteínas. A análise metabolômica por HPLC–MS de 88 amostras urinárias de recém-nascidos pré-termo de muito

baixo peso, incluindo 33 com DBP e 55 sem DBP, identificou dois metabólitos com abundância significativamente diferente entre os grupos. O modelo multivariável final (M2), que combinou sexo, peso ao nascer, idade gestacional, ventilação mecânica no segundo dia de vida e Cys–Ser–Met urinário, apresentou bom desempenho discriminatório, com AUC de 0,862 (IC 95% bootstrap, 0,775–0,937). No ponto de corte de 0,347, o modelo alcançou sensibilidade de 80,7%, especificidade de 83,9% e acurácia de 81,8%, com valor preditivo positivo de 90,2% e valor preditivo negativo de 70,3%. **Conclusões:** Os resultados evidenciam o potencial da plataforma portátil ATR-FTIR associada a algoritmos de inteligência artificial para a triagem diagnóstica da DBP utilizando uma matriz biológica não invasiva como a urina. A abordagem metabolômica urinária identificou Cys–Ser–Met e creatinina como metabólitos diferencialmente abundantes em recém-nascidos pré-termo com DBP, e a incorporação de Cys–Ser–Met às variáveis clínicas melhorou a discriminação do modelo, embora esses achados ainda requeiram validação externa em coortes maiores e multicêntricas. Em conjunto com nossos resultados prévios obtidos por ATR–FTIR, estes dados sugerem que plataformas espectroscópicas e metabolômicas podem fornecer assinaturas bioquímicas complementares para a identificação precoce da DBP, devendo sua utilidade diagnóstica e clínica ser confirmada prospectivamente antes da implementação na prática neonatal.

Palavras-chave: Displasia Broncopulmonar, Biomarcadores, Recém-Nascido de muito Baixo Peso, Recém-Nascido Prematuro, ATR-FTIR, Metabolômica, Urina.

ABSTRACT

Introduction: Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a chronic lung disease affecting preterm infants, characterized by impaired alveolar and vascular development, resulting in compromised gas exchange and prolonged oxygen dependency. The high incidence of prematurity and the morbidity and mortality associated with BPD highlight the limitations of a diagnosis that remains largely based on late clinical outcomes, which fail to reflect the early immunoinflammatory alterations underlying the disease. This limitation hinders risk stratification and timely intervention, underscoring the need for the development of non-invasive biomarkers integrated with artificial intelligence to improve the prediction and management of BPD in very low birth weight preterm infants. **Objective:** To develop and evaluate non-invasive platforms based on urinary biomarkers integrated with artificial intelligence algorithms for the early prediction of BPD in very low birth weight preterm infants (VLBW-PTIs). **Materials and Methods:** A longitudinal study was conducted in a neonatal intensive care unit between January 2015 and September 2019, including preterm infants with gestational age <30 weeks and very low birth weight (<1,500 g). Infants were classified into two groups: BPD and non-BPD. Urine samples collected on the second day of life were analyzed using attenuated total reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and high-resolution mass spectrometry (MS) coupled with high-performance liquid chromatography (HPLC) for metabolite identification. Spectral data generated by both platforms were subsequently analyzed using artificial intelligence algorithms to assess diagnostic predictive performance (accuracy, sensitivity, and specificity). Statistical analyses included parametric and nonparametric tests for group comparisons, principal component analysis (PCA) of spectral data, machine learning-based classification algorithms, metabolomic analysis, univariable and multivariable logistic regression, internal bootstrap validation, receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, and decision curve analysis. **Results:** In the ATR-FTIR analysis of 42 urine samples from very low birth weight (VLBW) preterm infants, including 20 with bronchopulmonary dysplasia (BPD) and 22 without BPD, the AdaBoost algorithm combined with second-derivative preprocessing demonstrated a sensitivity of 73%, a specificity of 81%, and an accuracy of 78% in classifying infants who did or did not develop BPD. The most relevant vibrational markers were associated with lipids, carbohydrates, and proteins. HPLC-MS metabolomic analysis of 88 urine samples from VLBW preterm infants, including 33 with BPD and 55 without BPD, identified two metabolites with

significantly different abundances between the groups. The final multivariable model (M2), which combined sex, birth weight, gestational age, mechanical ventilation on the second day of life, and urinary Cys-Ser-Met, showed good discriminatory performance, yielding an AUC of 0.862 (bootstrap 95% CI, 0.775–0.937). At a cutoff of 0.347, the model achieved 80.7% sensitivity, 83.9% specificity, and 81.8% accuracy, with a positive predictive value of 90.2% and a negative predictive value of 70.3%.

Conclusions: The results highlight the potential of a portable ATR-FTIR platform combined with artificial intelligence algorithms for the diagnostic screening of BPD using a non-invasive biological matrix such as urine. The urinary metabolomic approach identified Cys-Ser-Met and creatinine as differentially abundant metabolites in preterm infants with BPD, and the incorporation of Cys-Ser-Met into clinical variables improved model discrimination. However, these findings still require external validation in larger, multicenter cohorts. Together with our previous results obtained via ATR-FTIR, these data suggest that spectroscopic and metabolomic platforms can provide complementary biochemical signatures for the early identification of BPD, though their diagnostic and clinical utility must be prospectively confirmed prior to implementation in neonatal practice.

Key-words: Bronchopulmonary Dysplasia, Biomarkers, Infant, Very Low Birth Weight, Infant, Premature, ATR-FTIR, Metabolomics, Urine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1

- Figure 1.** Representative average ATR-FTIR spectra (3700–800 cm⁻¹) obtained from second-day urine samples of preterm infants who did and did not develop BPD 42
- Figure 2.** Principal Component Analysis (PCA) score plot of PC1 versus PC2 derived from second-day urinary ATR-FTIR spectra of preterm infants stratified by subsequent development of BPD 43
- Figure 3.** The SHAP value graph of each feature within the AdaBoost model results in the main urinary vibrational modes for discriminating neonates without BPD from neonates with BPD..... 46

ARTIGO 2

- Figure 1.** Volcano plot of metabolites differentially expressed in BPD and matched-control with very low birth weight preterm infants. Volcano plots illustrate the number of differentially expressed metabolites, with the most abundant shown in red and the least abundant in green. The metabolites expressed in gray present similar ($p > 0.05$) expression 62
- Figure 2.** Heatmap of urinary metabolites differentially abundant between very-low-birth-weight preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia (BPD). Columns represent individual infants, and rows represent the two differentially abundant metabolites. Samples are grouped according to BPD status, as indicated by the top annotation bar. The color scale represents relative metabolite abundance, with green indicating lower abundance and red indicating higher abundance. Cys–Ser–Met was more abundant, whereas creatinine was less abundant, in infants with BPD than in matched infants without BPD 63
- Figure 3.** Decision curve analysis of models M1–M4 for bronchopulmonary dysplasia. Standardized net benefit is plotted across threshold probabilities from 0.00 to 0.90. The black, red, green and blue curves represent M1, M2, M3 and M4, respectively; the gray curves represent the “treat all” and “treat none” reference strategies 67

- Figure 4.** Receiver operating characteristic curve for the final multivariable logistic regression model (M2) for bronchopulmonary dysplasia. The curve shows the sensitivity and $1 - \text{specificity}$ of M2 across classification thresholds. The diagonal line represents discrimination equivalent to chance 69
- Figure 5.** Nomogram for estimating the individual probability of bronchopulmonary dysplasia based on the final multivariable logistic regression model (M2). For each infant, the value of each predictor is located on its corresponding axis and projected vertically to the “Points” scale. The assigned points are summed on the “Total Points” axis and then mapped to the corresponding estimated probability of BPD 71

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Table 1.	Maternal and clinical characteristics of preterm infants with and without BPD	41
Table 2.	Performance of machine learning algorithms applied to second-day urinary ATR-FTIR spectra from extremely low birth weight preterm infants with and without BPD	43
Table 3.	Attribution of vibrational modes of the SHAP value of each feature within the AdaBoost model to differentiate dysplastic and non-dysplastic extremely low birth weight preterm infants	46

ARTIGO 2

Table 1.	Maternal and clinical characteristics of preterm infants with and without BPD	61
Table 2.	Database annotations and physicochemical characteristics of urinary metabolites differentially abundant between very-low-birth-weight preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia	64
Table 3.	Univariate Analysis of Predictors of Bronchopulmonary Dysplasia	65
Table 4.	Multivariable Analysis of Predictors of Bronchopulmonary Dysplasia	68
Table 5.	Points assigned to each predictor in the nomogram for estimating the risk of bronchopulmonary dysplasia (BPD)	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAP	Academia Americana de Pediatria
CAP Trial	Cafeína para Apneia da Prematuridade
CPAP	Pressão Positiva Contínua nas Vias Aéreas
DBP	Displasia Broncopulmonar
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
GC-MS	Cromatografia Gasosa
IA	Inteligência Artificial
IL-1 β	Interleucinas Um Beta
IL-6	Interleucina Seis
IL-8	Interleucina Oito
iNO	Óxido Nítrico Inalatório
INSURE	Intubação–Surfactante–Extubação
LC-MS	Cromatografia líquida de alta eficiência
LISA	Administração de Surfactante Menos Invasiva
MS	Espectrometria de massas
NICHD	Instituto Nacional de Saúde Da Criança E Desenvolvimento Humano
NIPPV	Ventilação com Pressão Positiva Intermitente Nasal
NPT	Nutrição Parenteral Total
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCA	Análise de Componentes Principais
PEEP	Pressão Positiva ao Final da Expiração
PLS-DA	Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais
RNM	Ressonância magnética nuclear
RNPT	Recém-Nascidos Pré-Termo
RNPT MBP	Recém- Nascidos Pré-Termo de Muito Baixo Peso
SBP	Sociedade Brasileira de Pediatria
SDR	Síndrome do Desconforto Respiratório
SUS	Sistema Único de Saúde
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador Beta
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa

VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VMI	Ventilação Mecânica Invasiva
VNI	Ventilação Não Invasiva
VOAF	Ventilação Oscilatória de Alta Frequência

SUMÁRIO

1	Introdução.....	15
2	Fundamentação Teórica.....	18
2.1	Prematuridade.....	18
2.2	Displasia Broncopulmonar.....	20
2.2.1	Definição.....	20
2.2.2	Epidemiologia.....	21
2.2.3	Fisiopatologia.....	21
2.2.4	Tratamento.....	22
2.2.4.1	Corticoide.....	23
2.2.4.2	Suporte Ventilatório	24
2.2.4.3	Nutrição	25
2.2.4.4	Surfactante	26
2.2.5	Fatores de Risco: Pré-Natal, Perinatal e Pós- Natal	28
2.2.6	Fatores Genéticos	29
2.2.7	Fenótipos	29
2.2.8	Epigenética	30
2.2.9	Terapias Inovadoras	31
2.2.10	Impacto a Longo Prazo	32
2.3	ATR-FTIR	33
2.4	Metabolômica	34
3	Objetivos	36
3.1	Geral	36
3.2	Específicos	36
4	Resultados	36
4.1	ARTIGO 1	37
4.2	ARTIGO 2	54
	Referências	81
	Apêndices	90
	Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	90
	Apêndice B – Roteiro para Coleta de Dados	92
	Anexos	98

Anexo A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – Aprovação do Protocolo de Pesquisa	98
Anexo B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – Aprovação da Inclusão dos Novos Métodos de Análise (FTIR e Metabolômica)	105

1. Introdução

A prematuridade configura-se atualmente como um dos principais desafios de saúde pública em âmbito global. Estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicam que aproximadamente 15 milhões de recém-nascidos nascem prematuros anualmente, o que corresponde a aproximadamente 11% dos nascimentos mundiais. Além de representar a principal causa de mortalidade em crianças menores de cinco anos, a prematuridade associa-se a desfechos adversos imediatos e tardios, com repercussões significativas sobre a sobrevivência, o desenvolvimento e a qualidade de vida (OMS, 2023). No Brasil, as taxas de prematuridade acompanham a tendência mundial e impõem relevante ônus assistencial para o Sistema Único de Saúde (SUS). Evidências nacionais apontam que a prematuridade se associa a desigualdades socioeconômicas e ao acesso restrito a cuidados especializados, o que reforça a necessidade de políticas públicas de prevenção, acompanhamento pré-natal adequado e ao aprimoramento de estratégias assistenciais baseadas em evidências (EBSERH, 2023).

O desenvolvimento pulmonar é profundamente comprometido pelo nascimento prematuro. A maturação estrutural e funcional do pulmão ocorre em estágios sequenciais e altamente regulados, que se estendem desde a formação de estruturas primitivas até o processo de formação de alvéolos. Recém-nascidos pré-termo extremo, especialmente aqueles com idade gestacional inferior a 28 semanas, apresentam interrupção abrupta da organogênese pulmonar em fases críticas do desenvolvimento, o que os torna altamente vulneráveis a complicações respiratórias graves, incluindo síndrome do desconforto respiratório (SDR), hipertensão pulmonar persistente e, posteriormente, a displasia broncopulmonar (LUCA et al., 2017).

A displasia broncopulmonar (DBP) é a complicação pulmonar crônica mais frequente em RNPT, especialmente entre recém-nascidos submetidos à ventilação mecânica e oxigenoterapia prolongada. Descrita originalmente por Northway em 1967, a DBP foi inicialmente atribuída ao barotrauma e à toxicidade do oxigênio. No entanto, a compreensão contemporânea da doença ampliou-se substancialmente, passando a reconhecê-la como uma condição multifatorial decorrente da interação entre imaturidade pulmonar, processos inflamatórios e imunomediados, fatores genéticos e ambientais (JOBE; BANCALARI, 2001; NORTHWAY; ROSAN; PORTER, 1967).

Atualmente, o diagnóstico da DBP permanece um desafio clínico e conceitual. Persistem lacunas quanto à padronização de critérios diagnósticos universalmente aceitos, o que limita a comparabilidade entre estudos e a estratificação adequada de risco. A definição

mais utilizada baseia-se na necessidade de oxigenoterapia suplementar por pelo menos 28 dias, classificada de acordo com a gravidade da dependência de oxigênio em 36 semanas de idade pós-menstrual. Todavia, esse modelo diagnóstico fundamenta-se em desfechos clínico-funcionais tardios, não contemplando de forma abrangente variáveis como suporte ventilatório, padrões de crescimento pulmonar e marcadores de inflamação sistêmica e disfunção vascular (JENSEN et al., 2019; STOECKLIN; SIMPSON; PILLOW, 2019).

A ausência de critérios diagnósticos objetivos, padronizados e biologicamente fundamentados compromete a acurácia da identificação precoce da doença e limita a comparação entre estudos clínicos e epidemiológicos. Essa limitação impacta negativamente a estratificação de risco, a implementação de estratégias de prevenção e o desenvolvimento de terapias direcionadas. Além disso, parcela significativa de recém-nascidos evoluem com sequelas respiratórias graves, mas não preenchem os critérios tradicionais de DBP, revelando a necessidade de biomarcadores mais sensíveis e específicos para sua detecção precoce (GILFILLAN; BHANDARI; BHANDARI, 2021; JENSEN et al., 2019b).

Do ponto de vista fisiopatológico, a DBP é a alteração do tecido pulmonar caracterizado por um processo inflamatório crônico que leva à interrupção da formação alveolar fisiológica, redução da superfície disponível para trocas gasosas, remodelamento da matriz extracelular e alterações da vascularização pulmonar. Esses processos resultam simplificação alveolar, rarefação vascular, fibrose intersticial e disfunção endotelial, configurando um fenótipo pulmonar estrutural e funcionalmente imaturo (LIGNELLI et al., 2019; THÉBAUD et al., 2019).

Além disso, fatores como ventilação mecânica invasiva, toxicidade do oxigênio, infecções perinatais, restrição de crescimento intrauterino e predisposição genética atuam como determinantes adicionais na gênese e progressão da DBP. O estresse oxidativo desempenha papel central na cascata fisiopatológica, promovendo lesões epiteliais e endoteliais, aumento da permeabilidade alveolar e perpetuação de um estado inflamatório crônico (LUCA et al., 2017).

Do ponto de vista clínico, a DBP está associada à elevada carga de morbidade, incluindo necessidade de hospitalizações recorrentes, dependência prolongada de oxigenoterapia domiciliar, maior risco de infecções respiratórias graves, hipertensão pulmonar e comprometimento da função pulmonar na infância e na vida adulta. As repercussões extrapulmonares incluem atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e prejuízo no

crescimento, impactando negativamente o prognóstico a longo prazo (AOYAMA ET AL., 2021; CHEONG; DOYLE, 2018; GILFILLAN; BHANDARI; BHANDARI, 2021; JEON; OH; CHANG, 2021).

Considerando esses aspectos, torna-se imperativa a identificação de biomarcadores com potencial para atuar como ferramentas prognósticas e capacidade de detecção precoce da DBP. A análise de fluidos biológicos não invasivos, como a urina, destaca-se como estratégia particularmente vantajosa no contexto neonatal, por ser de coleta simples, indolor e segura, além de permitir monitorização longitudinal. Estudos recentes demonstram que a urina reflete alterações metabólicas e inflamatórias sistêmicas associadas à fisiopatologia neonatal, configurando-se como biofluido promissor na investigação de biomarcadores precoces da DBP (ÁLVAREZ-FUENTE et al., 2017; ASKENAZI et al., 2016; FANOS et al., 2014, 2014; PINTUS et al., 2018).

Nesse cenário, a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier acoplada à refletância total atenuada (ATR-FTIR) emerge como uma ferramenta analítica robusta para a caracterização de assinaturas bioquímicas em fluidos biológicos. Trata-se de uma técnica rápida, reprodutível, requer mínima preparação de amostra e que pode fornecer informações moleculares sobre proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos. Por ser não destrutiva, associada com baixo custo operacional, a espectroscopia ATR-FTIR é considerada promissora para triagem clínica e detecção precoce de alterações fisiopatológicas (MOVASAGHI; REHMAN; UR REHMAN, 2008).

Complementarmente, a metabolômica permite analisar o conjunto de metabólitos presentes em amostras biológicas, viabilizando a identificação de assinaturas metabólicas associadas a condições patológicas específicas. A integração entre ATR-FTIR e metabolômica amplia o potencial de identificar biomarcadores específicos e discriminativos, capazes de diferenciar recém-nascidos com maior risco de desenvolver DBP daqueles com evolução pulmonar favorável (PIERSIGILLI; BHANDARI, 2020; TALARI et al., 2017).

O potencial da ATR-FTIR aplicada a biofluidos, como sangue, saliva e urina, tem sido amplamente investigado para o diagnóstico de diversas condições clínicas. Evidências demonstram que, mesmo diante de diferentes métodos de preparo de amostra, há consistência na definição de regiões espectrais associadas a biomarcadores de interesse clínico, o que reforça a robustez analítica da técnica. Esses achados indicam que a urina constitui uma matriz

biológica confiável para a identificação de assinaturas moleculares aplicáveis à triagem de doenças neonatais (NASEER; ALI; QAZI, 2021).

Portanto, diante da elevada incidência, morbidade e custo social da displasia broncopulmonar, impõe-se a necessidade de estratégias diagnósticas inovadoras. A utilização da urina como matriz biológica, aliada às técnicas de ATR-FTIR e metabolômica, pode fornecer ferramentas não invasivas, sensíveis e potencialmente reprodutíveis para triagem precoce, estratificação de risco e monitoramento da evolução clínica da doença.

Assim, esta tese propõe o desenvolvimento e a avaliação de plataformas diagnósticas não invasivas para predição precoce da displasia broncopulmonar em recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, fundamentadas na identificação de biomarcadores urinários por espectroscopia ATR-FTIR e análise metabolômica integradas a algoritmos de inteligência artificial. Essa abordagem visa superar as limitações dos critérios clínicos tradicionais, contribuindo para uma estratificação de risco mais precisa, para a antecipação de intervenções terapêuticas e para o aprimoramento dos desfechos clínicos neonatais.

2. Fundamentação Teórica

2.1. Prematuridade

A prematuridade é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como o nascimento que ocorre antes de 37 semanas completas de gestação. Embora esse ponto de corte seja amplamente adotado, evidências recentes sustentam a necessidade de subclassificações mais precisas, em razão da heterogeneidade biológica e da magnitude variável dos desfechos clínicos associados à idade gestacional. A prematuridade configura-se como um fator de risco global para mortalidade infantil, estando também associada a desfechos adversos neurológicos e respiratórios, além de impacto substancial sobre os sistemas de saúde, particularmente em países de média e baixa renda (BRASIL, 2014; OMS, 2023).

Quanto à idade gestacional, a literatura classifica os recém-nascidos da seguinte forma: extrema prematuridade (< 28 semanas), muito prematuro (28 a < 32 semanas), moderado a tardio (32 a < 37 semanas). Essa estratificação reflete gradiente progressivo no que se refere à imaturidade pulmonar, neurológica e imunológica. Em termos de peso de nascimento, adotam-se as seguintes categorias: extremo baixo peso (< 1.000 g), muito baixo peso (< 1.500 g) e baixo

peso (< 2.500 g). Essas distinções são importantes porque correlacionam-se com risco crescente de complicações (BRASIL, 2014, 2017).

Globalmente, estima-se que cerca de 15 milhões de recém-nascidos sejam prematuros a cada ano, representando mais de 10% de todos os nascimentos vivos mundialmente (OMS, 2023). No Brasil, a prevalência de nascimentos prematuros está entre aproximadamente 10 e 12%, com variações regionais críticas (EBSERH, 2023). Estudos recentes corroboram essa magnitude e apontam aumento da sobrevida de prematuros extremos, com implicações no perfil de morbimortalidade a longo prazo (BOSSI et al., 2022; DE-MIR-MESSA et al., 2022).

O recém-nascido pré-termo apresenta alterações estruturais e funcionais decorrentes da interrupção prematura do desenvolvimento fetal. Entre essas alterações, destacam-se a imaturidade pulmonar, caracterizada por formação alveolar incompleta e produção reduzida de surfactante, a maior permeabilidade capilar, a suscetibilidade ao estresse oxidativo e um sistema imunológico imaturo. Essas alterações contrastam com o neonato a termo, cujo desenvolvimento pulmonar e imunológico é funcionalmente mais efetivo na resposta aos desafios do ambiente extrauterino (FIGUERAS-ALOY et al., 2024; TORNERO PATRICIO, 2021).

Nos prematuros, o desenvolvimento pulmonar é interrompido abruptamente em fases críticas da morfogênese pulmonar, particularmente nas fases canalicular ou sacular. A formação alveolar, que deveria ocorrer nas semanas tardias e pós-natais, fica comprometida, resultando em menor área de troca gasosa. Além disso, a exposição à ventilação mecânica, altas frações de oxigênio e infecções contribui para a perpetuação da lesão pulmonar e para a formação da displasia broncopulmonar (AMBALAVANAN et al., 2026; DE-MIR-MESSA et al., 2022).

A prematuridade também impõe risco elevado de comprometimentos neurológicos, em virtude da imaturidade dos tecidos cerebrais. Estudos longitudinais demonstram que prematuros têm maiores taxas de paralisia cerebral, déficits cognitivos, problemas de atenção e atraso motor. Complicações respiratórias recorrentes, como episódios de hipóxia intermitente, também podem potencializar os efeitos deletérios sobre o desenvolvimento cerebral (CERISOLA; BALTAR, 2023; DE-MIR-MESSA et al., 2022).

Com os avanços tecnológicos, a sobrevida de prematuros extremos aumentou substancialmente (DE-MIR-MESSA et al., 2022; PEREIRA-CERRO et al., 2020). No entanto, esse avanço está associada a custos elevados: internações prolongadas, necessidade de suporte respiratório e acompanhamento contínuo. No contexto de sistemas de saúde, esses recém-nascidos sobreviventes demandam cuidados de longo prazo, reinternações, uso crônico de

oxigênio e suporte multidisciplinar, gerando sobrecarga econômica e social significativa (ÁLVAREZ-FUENTE et al., 2017).

2. 2. Displasia broncopulmonar

2.2.1. Definição

A displasia broncopulmonar (DBP), também denominada doença pulmonar crônica da prematuridade, foi inicialmente descrita por Northway em 1967, como resultado da exposição prolongada de recém-nascidos prematuros à ventilação mecânica e oxigenoterapia. As alterações descritas incluíam inflamação crônica, fibrose intersticial, destruição de septos alveolares e hipertrofia da musculatura lisa das vias aéreas (NORTHWAY; ROSAN; PORTER, 1967).

Do ponto de vista fisiológico, a DBP é atualmente compreendida como uma desordem do desenvolvimento pulmonar adequado após um nascimento prematuro. O processo normal de alveolarização, vascularização e maturação do parênquima pulmonar é interrompido precocemente, resultando em um pulmão com menos alvéolos, de maior diâmetro e menor complexidade estrutural. A consequência funcional é a redução da área de troca gasosa e maior vulnerabilidade à insuficiência respiratória (THÉBAUD et al., 2019).

Em 2018, um workshop promovido pelo Instituto Nacional de Saúde da Criança e Desenvolvimento Humano (NICHD) revisitou os critérios de definição da DBP. Foi proposta uma abordagem mais ampla, considerando não apenas a dependência de oxigênio, mas também a necessidade de qualquer forma de suporte respiratório às 36 semanas de idade pós-concepção. Essa definição enfatiza a heterogeneidade da doença e reconhece que diferentes formas de suporte respiratório refletem graus variados de gravidade da condição (HIGGINS et al., 2018).

Mais recentemente, foi proposto uma classificação da DBP estratificada em três graus, definida pelo tipo de suporte respiratório necessário em 36 semanas de idade pós-concepção: grau I, necessidade de oxigênio de baixo fluxo; grau II, necessidade de oxigênio de alto fluxo ou pressão positiva contínua; e grau III, necessidade de ventilação invasiva. Essa abordagem tem sido considerada mais objetiva, além de demonstrar maior capacidade prognóstica para desfechos de morbidade respiratória na infância (GILFILLAN; BHANDARI; BHANDARI, 2021; JENSEN et al., 2019b; SHUKLA; AMBALAVANAN, 2021).

2.2.2. Epidemiologia

Dados do NICHD indicam que a displasia broncopulmonar (DBP) permanece como uma das principais morbidades entre recém-nascidos extremamente prematuros. Em uma coorte multicêntrica acompanhada entre 1993 e 2012, observou-se aumento na proporção de DBP entre neonatos nascidos entre 26 e 27 semanas de idade gestacional, com elevação de aproximadamente 50% para 55% entre 2009 e 2012, apesar dos avanços nas práticas assistenciais neonatais (STOLL et al., 2015).

Na Europa, observa-se incidência variável de displasia broncopulmonar (DBP), estimada entre 20% e 30% entre recém-nascidos prematuros de muito baixo peso ao nascer. Em países de alta renda, verifica-se relativa estabilidade nas taxas de DBP grave; entretanto, tem sido descrito aumento proporcional das formas leve e moderada, fenômeno atribuído principalmente à maior sobrevida de pré-termo extremo (BARALDI; FILIPPONE, 2007; THÉBAUD et al., 2019).

No Brasil, a incidência de displasia broncopulmonar entre recém-nascidos prematuros varia conforme a população e a estrutura assistencial. Estudos multicêntricos em 19 hospitais públicos universitários brasileiros demonstraram que aproximadamente 22% dos sobreviventes pré-termo apresentaram DBP às 36 semanas de idade pós-menstrual e até 45% quando combinado com óbito nessa faixa etária (STOLZ et al., 2024). Em coortes menores, a prevalência de DBP em unidades neonatais de referência foi relatada em torno de 21,5% a 27,3%, ressaltando diferenças regionais e critérios diagnósticos (FREITAS et al., 2012).

A sobrevida crescente dos prematuros extremos, em virtude do avanço de tecnologias como ventilação não invasiva, corticoterapia antenatal e uso precoce de surfactante, tem resultado em aumento proporcional da prevalência de DBP, o que reforça a relevância epidemiológica dessa condição (HORBAR et al., 2012; JENSEN et al., 2021).

2.2.3. Fisiopatologia

A fisiopatologia da DBP é dinâmica, multifatorial e complexa, resultante da interação entre imaturidade estrutural pulmonar e exposições inflamatórias e oxidativas precoces, envolvendo fatores pré-natais, perinatais e pós-natais. Entre os fatores pré-natais, destaca-se a corioamnionite, uma inflamação das membranas corioamnióticas associada a resposta inflamatória fetal e aumento do risco de lesão pulmonar precoce. Adicionalmente, condições como restrição de crescimento intrauterino e pré-eclâmpsia podem comprometer a vascularização pulmonar fetal e causar disfunção da vasculatura em desenvolvimento,

aumentando a susceptibilidade à DBP (HARTLING; LIANG; LACAZE-MASMONTEIL, 2012; KALLAPUR; JOBE, 2006).

O nascimento prematuro interrompe fases críticas do desenvolvimento pulmonar, especialmente as fases canalicular e sacular, períodos nos quais ocorrem a diferenciação do epitélio respiratório, a intensificação da produção de surfactante e a organização da rede vascular pulmonar funcional. A transição precoce para o ambiente extrauterino compromete a continuidade da alveolarização e do desenvolvimento microvascular, resultando em pulmões estruturalmente imaturos, caracterizados por menor número de alvéolos, aumento do diâmetro alveolar e simplificação da arquitetura pulmonar, com consequente redução da superfície disponível para trocas gasosas (JOBE; IKEGAMI, 2000; THÉBAUD et al., 2019).

No período pós-natal, múltiplos insultos contribuem para a perpetuação da lesão pulmonar. A exposição a altas concentrações de oxigênio induz estresse oxidativo mediado por espécies reativas de oxigênio, promovendo dano celular e ativação de vias inflamatórias intracelulares. A ventilação mecânica invasiva pode causar volutrauma e barotrauma, resultando em lesão epitelial e inflamação. Infecções neonatais, como pneumonia e sepse, também intensificam a resposta inflamatória, agravando a lesão pulmonar (BALANY; BHANDARI, 2015; JOBE; IKEGAMI, 1998). Do ponto de vista molecular, a DBP é caracterizada pela ativação de vias inflamatórias, incluindo interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-8), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e fatores pró-fibróticos, como TGF- β . Adicionalmente também ocorre disfunção da sinalização do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fundamental para o desenvolvimento da rede vascular pulmonar. Essa cascata culmina em remodelamento da matriz extracelular, fibrose intersticial e falha na angiogênese (AMBALAVANAN et al., 2026; CALTHORPE et al., 2023; LI ET AL., 2025; ZHANG et al., 2024).

Assim, a DBP deve ser compreendida como resultado da interação entre imaturidade pulmonar estrutural, fatores inflamatórios intra e extrauterinos, estresse oxidativo e efeitos deletérios das terapias respiratórias. Esse conjunto de mecanismos explica a heterogeneidade da apresentação clínica e a dificuldade de definição única para a doença (JOBE; BANCALARI, 2001; LIGNELLI et al., 2019).

2.2.4. Tratamento

O manejo da DBP requer abordagem multifatorial, interdisciplinar e baseada em evidências, envolvendo intervenções farmacológicas, estratégias individualizadas de suporte ventilatório, otimização nutricional e controle de fatores inflamatórios e infecciosos. Dada sua

natureza complexa e multifatorial, não se tem uma terapia curativa específica, de modo que o tratamento se concentra na modulação da injúria pulmonar, na redução da exposição a fatores lesivos, na atenuação da resposta inflamatória e no suporte ao crescimento e à maturação pulmonar. Essas estratégias terapêuticas visam minimizar a progressão da lesão estrutural, reduzir a dependência prolongada de suporte respiratório e reduzir desfechos respiratórios adversos a longo prazo (JOBE; BANCALARI, 2001; THÉBAUD et al., 2019).

2.2.4.1. Corticoides

A administração de antenar de corticosteroide permanece como uma das intervenções mais eficazes na prevenção de morbidade respiratória associada à prematuridade. Evidências provenientes de revisão sistemática atualizada demonstram que betametasona ou dexametasona administradas a gestantes em risco de parto prematuro reduzem significativamente a síndrome do desconforto respiratório, hemorragia intraventricular e mortalidade neonatal (MCGOLDRICK et al., 2020). Embora a redução direta da incidência de displasia broncopulmonar (DBP) não seja consistentemente observada como desfecho primário, a diminuição da gravidade da insuficiência respiratória inicial e da necessidade de ventilação mecânica invasiva pode influenciar indiretamente o risco subsequente de DBP, ao limitar a exposição à hiperóxia e ao volutrauma, reconhecidos determinantes da lesão pulmonar crônica (JOBE; BANCALARI, 2001; THÉBAUD et al., 2019).

No período pós-natal, os corticosteroides sistêmicos têm sido empregados para modular a inflamação pulmonar persistente e facilitar a extubação em prematuros com dependência ventilatória prolongada. Evidências consolidadas indicam que o uso tardio (≥ 7 dias de vida) de dexametasona reduz significativamente a incidência de DBP e o desfecho combinado morte ou DBP. Entretanto, a administração precoce e em doses elevadas associa-se a maior risco de eventos adversos neurológicos (DOYLE et al., 2017). Análises observacionais reforçam que o benefício respiratório deve ser cuidadosamente ponderado frente ao risco potencial de comprometimento do neurodesenvolvimento, sobretudo em recém-nascidos extremamente prematuros expostos a esquemas mais intensivos (DOYLE; MAINZER; CHEONG, 2025).

A hidrocortisona em baixas doses emergiu como alternativa terapêutica com perfil potencialmente mais favorável. Ensaio clínico randomizado envolvendo prematuros extremos demonstrou aumento da sobrevida sem DBP com o uso precoce de hidrocortisona em dose fisiológica, sem incremento significativo na incidência de paralisia cerebral aos dois anos de idade (BAUD et al., 2016). Ainda assim, sínteses de evidência posteriores indicam que os dados

disponíveis, embora promissores, não são suficientes para recomendação universal da estratégia, devendo sua indicação ser individualizada (ONLAND et al., 2018).

Quanto aos corticosteroides inalatórios, estudo multicêntrico randomizado avaliando budesonida iniciada precocemente em prematuros extremos demonstrou redução da incidência de DBP. Contudo, observou-se tendência a maior mortalidade, o que limita sua incorporação rotineira na prática clínica (BASSLER et al., 2015). Revisões sistemáticas subsequentes apontam heterogeneidade dos resultados e ausência de consenso quanto ao impacto líquido em sobrevida livre de DBP (SHINWELL et al., 2016).

Dessa forma, a corticoterapia na prevenção e no manejo da DBP deve ser individualizada, baseada na estratificação de risco e no equilíbrio entre benefícios respiratórios e potenciais efeitos adversos sistêmicos e neurológicos.

2.2.4.2. Suporte Ventilatório

O suporte ventilatório constitui o eixo central da prevenção e do manejo da DBP em RNPT. Diretrizes internacionais recomendam que estratégias respiratórias priorizem a ventilação não invasiva (VNI), sempre que clinicamente possível, com o objetivo de reduzir a exposição à ventilação mecânica invasiva (VMI) e, conseqüentemente, minimizar a lesão pulmonar induzida pelo ventilador (SWEET et al., 2023; WYCKOFF et al., 2020).

A pressão positiva contínua nas vias aéreas por via nasal (CPAP nasal) deve ser iniciada precocemente em prematuros com respiração espontânea, conforme preconizado pelo consenso europeu atualizado e pelas recomendações da *American Academy of Pediatrics* (AAP), por estar associada à redução da necessidade de intubação e menor tempo de ventilação invasiva (COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN et al., 2014; SWEET et al., 2023).

Nos casos de falha do CPAP, a ventilação com pressão positiva intermitente nasal (NIPPV) pode ser utilizada como estratégia intermediária de VNI, com evidências provenientes de revisões sistemáticas demonstrando menor taxa de falha respiratória e redução na necessidade de intubação quando comparada ao CPAP isolado (LEMYRE et al., 2016).

Quando a VMI se torna necessária, recomenda-se abordagem protetora com utilização de volumes correntes baixos (aproximadamente 4–6 mL/kg), limitação de pressões inspiratórias e ajuste adequado da pressão positiva ao final da expiração (PEEP), com preferência por modos com alvo de volume, associados à redução da incidência combinada de morte ou DBP (KLINGENBERG et al., 2017; SWEET et al., 2023).

A ventilação oscilatória de alta frequência (VOAF) pode ser considerada como estratégia alternativa em situações de complacência pulmonar reduzida ou falha da ventilação convencional, embora revisões sistemáticas demonstrem benefício modesto na redução de DBP, sem impacto consistente sobre mortalidade (COOLS; OFFRINGA; ASKIE, 2015).

O manejo da oxigenoterapia é igualmente crítico. As diretrizes da AAP e do European Consensus recomendam a manutenção da saturação periférica de oxigênio geralmente entre 90% e 95%, evitando tanto hipóxia quanto hiperóxia, ambas associadas a maior risco de mortalidade, retinopatia da prematuridade e desfechos adversos do neurodesenvolvimento (SWEET et al., 2023; WYCKOFF et al., 2020).

No contexto brasileiro, a Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) recomenda, nas Diretrizes de Reanimação Neonatal, a estabilização respiratória inicial com CPAP nasal em prematuros <34 semanas sempre que possível, reservando a intubação para casos de falha ventilatória ou instabilidade clínica, alinhando-se às recomendações internacionais (GUINSBURG; ALMEIDA, 2022).

2.2.4.3. Nutrição

A nutrição adequada do RNPT constitui um componente importante na prevenção da DBP, influenciando positivamente o crescimento somático, desenvolvimento pulmonar e a resposta inflamatória. Evidências de revisões sistemáticas sugerem que déficits precoces em calorias e macronutrientes estão associados a maior risco de DBP, enquanto níveis adequados de energia e proteína na primeira semana podem reduzir a dependência de suporte ventilatório e a incidência de DBP (YANG et al., 2025).

A nutrição parenteral total (NPT) precoce, com administração de aminoácidos $\geq 1,5$ g/kg/d e energia não proteica adequada desde o primeiro dia de vida, favorece um estado anabólico e reduz o catabolismo proteico, podendo diminuir a morbidade pulmonar crônica associada à DBP, ainda que as evidências provindas de ensaios clínicos controlados permaneçam limitadas (LIN et al., 2024).

O leite humano materno é considerado padrão ouro na alimentação do RNPT. Revisões narrativas e metanálises recentes indicam que a alimentação enteral com leite materno próprio da mãe ou leite humano doado está consistentemente associada a menor risco de DBP e outras complicações, quando comparada à nutrição enteral com fórmulas artificiais, possivelmente devido à presença de imunoglobulinas, antioxidantes, citocinas e fatores de crescimento que

modulam respostas inflamatórias pulmonares e sistêmicas (MEILIANA et al., 2024; TRINDADE et al., 2025).

A suplementação do leite humano é frequentemente necessária em prematuros extremos para atender às exigências de proteína, energia e minerais (cálcio e fósforo). Estratégias de fortificação individualizadas podem melhorar o crescimento ponderoestatural e favorecer parâmetros respiratórios sem comprometer a tolerância enteral, embora a eficácia específica na redução da DBP ainda exija mais estudos controlados.

Entre os micronutrientes, a suplementação de vitamina A por via intramuscular tem sido associada a modesta redução no risco de DBP, especialmente em recém-nascidos com baixos níveis basais de retinol, conforme sintetizado em metanálises anteriores que indicaram redução relativa do risco de DBP com vitamina A comparado a controle (DING; CHEN; LU, 2021).

Ensaios clínicos recentes de suplementação de vitamina D em prematuros extremos alimentados exclusivamente com leite humano sugerem que altas doses diárias de vitamina D aumentam adequação de status de vitamina D, mas não reduzem a gravidade da DBP aos 36 semanas pós-menstrual, reforçando a necessidade de pesquisas adicionais para definir benefício respiratório direto (SALAS et al., 2025).

As principais diretrizes de nutrição neonatal reconhecidas não recomendam rotineiramente o uso isolado de suplementos vitamínicos ou outros micronutrientes especificamente para prevenção de DBP fora de contextos de deficiência documentada, enfatizando a importância de atingir metas de energia e proteína adequadas, promover a alimentação com leite humano fortificado quando possível e gerenciar de forma integrada parâmetros de fluido e suporte respiratório (MEILIANA et al., 2024).

Assim, a otimização da nutrição enteral e parenteral — priorizando leite humano, provisão precoce de proteína e energia, complementação específica de micronutrientes quando indicado, e monitorização metabólica cuidadosa — constitui uma estratégia essencial dentro do manejo multidisciplinar para reduzir o risco e a severidade da DBP em recém-nascidos pré-termo.

2.2.4.4. Surfactante

A terapia de reposição com surfactante exógeno constitui um dos avanços mais importantes na neonatologia contemporânea, estando associada à redução significativa da mortalidade e da gravidade da SDR em RNPT. Ensaios clínicos clássicos demonstraram que a

administração precoce de surfactante, combinada ao suporte ventilatório apropriado, reduz a necessidade de VMI e melhora desfechos respiratórios imediatos (VERDER et al., 1994).

Diretrizes internacionais contemporâneas, reconhecem que o manejo inicial de prematuros com SDR deve incluir estabilização com CPAP e administração seletiva e precoce de surfactante, preferencialmente em combinação com estratégias VNI, quando clinicamente indicado (SWEET et al., 2023). Essas diretrizes consolidam evidências de que abordagens menos invasivas de administração de surfactante podem melhorar a evolução respiratória e reduzir complicações associadas à VMI.

Nesse contexto, técnicas como INSURE (*Intubation–Surfactant–Extubation*) — que associa intubação breve, administração de surfactante e extubação rápida para suporte não invasivo — e LISA (*Less Invasive Surfactant Administration*) — que utiliza cateter fino traqueal para administrar surfactante em neonatos em respiração espontânea sob CPAP — têm sido amplamente estudadas. Meta-análises demonstram que estratégias menos invasivas estão associadas à redução da duração da VMI, menor incidência de DBP e menor risco de pneumotórax, em comparação à administração convencional via intubação prolongada (ALDANA-AGUIRRE et al., 2017; ISAYAMA et al., 2016; LAU; CHAMBERLAIN; SUN, 2017).

O AAP e o Committee on Fetus and Newborn recomenda estabilização inicial com CPAP e administração seletiva de surfactante em prematuros com evidência progressiva de SDR, ressaltando que técnicas menos invasivas podem ser consideradas em serviços com experiência e competência técnica, visando limitar a exposição à ventilação invasiva e suas complicações associadas ao desenvolvimento de DBP (POLIN et al., 2014).

No Brasil, diretrizes da SBP no contexto da reanimação e manejo inicial de prematuros reforçam o uso de CPAP precoce, a indicação adequada de surfactante em prematuros com SDR e a preferência por técnicas menos invasivas sempre que indicadas, alinhando-se às recomendações internacionais de proteção pulmonar e redução de risco de DBP (GUINSBURG; ALMEIDA, 2022).

A administração precoce de surfactante, especialmente nas primeiras horas de vida, tem sido associada a menor risco de complicações pulmonares, menor necessidade de VMI e melhor evolução respiratória, enquanto abordagens emergentes como a nebulização de surfactante permanecem em investigação e ainda não são recomendadas de forma rotineira (SWEET et al., 2023).

2.2.5. Fatores de Risco: Pré-Natal, Perinatal e Pós- Natal

A DBP apresenta etiologia multifatorial, envolvendo interações entre fatores pré-natais, perinatais e pós-natais que interferem na alveologênese e na angiogênese pulmonar. Entre os fatores pré-natais, destaca-se a corioamnionite, cuja inflamação intrauterina promove ativação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , alterando vias de desenvolvimento pulmonar fetal. Metanálise recente confirmou associação significativa entre corioamnionite histológica e maior risco de DBP, sobretudo em prematuros extremos (VILLAMOR-MARTINEZ et al., 2019). Esses achados reforçam a base fisiopatológica clássica da “nova DBP”, caracterizada por interrupção da alveologênese (JOBE; BANCALARI, 2001).

Doenças hipertensivas da gestação, incluindo pré-eclâmpsia, associam-se à insuficiência placentária e hipóxia fetal crônica. Revisão sistemática contemporânea demonstrou aumento do risco de DBP em prematuros expostos a distúrbios hipertensivos maternos, especialmente quando acompanhados de restrição de crescimento intrauterino (LIM et al., 2022).

O tabagismo materno também compromete o desenvolvimento vascular pulmonar por mecanismos oxidativos e epigenéticos, mantendo associação consistente com desfechos respiratórios adversos (REHAN; ASOTRA; TORDAY, 2009).

A corticoterapia antenatal, por sua vez, reduz mortalidade e síndrome do desconforto respiratório, impactando indiretamente a incidência de DBP (MCGOLDRICK et al., 2020). No período perinatal, a prematuridade extrema (<28 semanas) e o extremo baixo peso ao nascer (<1000 g) permanecem os determinantes mais robustos de DBP, com incidência inversamente proporcional à idade gestacional (STOLL et al., 2015). A vulnerabilidade estrutural do pulmão imaturo o torna particularmente suscetível ao estresse oxidativo e à inflamação (THÉBAUD et al., 2019).

Entre os fatores pós-natais, a ventilação mecânica invasiva prolongada é um dos principais determinantes modificáveis, associando-se a volutrauma, barotrauma e biotrauma inflamatório. Meta-análise recente demonstrou que estratégias ventilatórias menos invasivas reduzem significativamente o risco de DBP em comparação à ventilação convencional (ISAYAMA et al., 2016). A exposição a altas frações inspiradas de oxigênio intensifica o estresse oxidativo pulmonar, conforme evidenciado em grandes ensaios multicêntricos (BOOST II, 2013; SUPPORT; NICHD, 2010). Além disso, sepse tardia e inflamação sistêmica aumentam significativamente o risco de DBP, como demonstrado em coorte nacional (JUNG; LEE, 2019).

Em síntese, a DBP resulta da convergência entre imaturidade estrutural pulmonar, inflamação intrauterina e exposições pós-natais lesivas, especialmente ventilação invasiva e hiperóxia, reforçando a necessidade de estratégias preventivas multifatoriais iniciadas ainda no período pré-natal.

2.2.6. Fatores Genéticos

Polimorfismos em genes relacionados à inflamação, ao estresse oxidativo, ao desenvolvimento vascular e ao remodelamento pulmonar têm sido associados à suscetibilidade individual à DBP, sugerindo contribuição genética relevante na variabilidade fenotípica da doença. Estudos de agregação familiar e análises em gêmeos indicam herdabilidade significativa da DBP, embora nenhum polimorfismo isolado seja suficiente para explicar integralmente o risco, reforçando a natureza poligênica e multifatorial da condição (LAVOIE; RAYMENT, 2023; YU et al., 2016).

Genes envolvidos na resposta inflamatória (como variantes em citocinas pró-inflamatórias), na defesa antioxidante e na angiogênese pulmonar têm sido investigados como potenciais moduladores do risco. Revisões recentes destacam que a contribuição genética parece interagir fortemente com exposições ambientais, como ventilação mecânica e hiperóxia, caracterizando modelo de suscetibilidade gene-ambiente (LAVOIE; RAYMENT, 2023).

Além dos fatores genéticos estruturais, mecanismos epigenéticos — incluindo metilação do DNA, modificações de histonas e regulação por microRNAs — modulam a expressão gênica relacionada à resposta inflamatória e à capacidade de reparo alveolar. Evidências experimentais e clínicas sugerem que alterações epigenéticas induzidas por inflamação intrauterina, hipóxia e exposição ao oxigênio podem contribuir para a heterogeneidade da evolução clínica entre prematuros submetidos a condições neonatais semelhantes (MCEVOY; ASCHNER, 2015).

Assim, a variabilidade na ocorrência e gravidade da DBP não pode ser atribuída exclusivamente à prematuridade ou às intervenções pós-natais, mas resulta da interação dinâmica entre predisposição genética, regulação epigenética e fatores ambientais, reforçando a complexidade fisiopatológica da doença.

2.2.7. Fenótipos

A DBP não constitui entidade clínica homogênea, mas um espectro de fenótipos fisiopatológicos distintos, resultantes da interação entre prematuridade extrema, inflamação persistente, exposição ao oxigênio suplementar e suporte ventilatório. O fenótipo inflamatório

caracteriza-se por ativação sustentada de vias pró-inflamatórias e aumento de citocinas no ambiente pulmonar, associando-se a maior risco de limitação crônica ao fluxo aéreo (HIGGINS et al., 2018; THÉBAUD et al., 2019).

O fenótipo vascular, por sua vez, associa-se à interrupção do desenvolvimento da microvasculatura pulmonar, com rarefação capilar e prejuízo da angiogênese, fenômenos que comprometem a alveologênese e favorecem hipertensão pulmonar associada à DBP (HIGGINS et al., 2018; HILGENDORFF; O'REILLY, 2015). Meta-análise recente envolvendo 44 estudos demonstrou que a hipertensão pulmonar em prematuros com DBP está associada a maior mortalidade e pior evolução clínica, reforçando a relevância prognóstica do componente vascular (MASCARENHAS et al., 2025).

Já o fenótipo obstrutivo envolve remodelamento estrutural de vias aéreas de pequeno calibre, aumento da resistência pulmonar e hiperresponsividade brônquica, podendo resultar em sintomas respiratórios persistentes na infância e adolescência (HIGGINS et al., 2018; JENSEN et al., 2019).

Nesse contexto, a classificação operacional proposta por Jensen et al. (2019), baseada no tipo de suporte respiratório aos 36 semanas de idade pós-menstrual, representa avanço metodológico ao priorizar gravidade funcional e demonstrar melhor correlação com desfechos respiratórios tardios.

2.2.8. Epigenética

Prematuros com DBP apresentam padrões específicos de metilação em genes envolvidos em inflamação, reparo tecidual e resposta ao estresse oxidativo, indicando que essas alterações epigenéticas podem predispor à doença e influenciar a gravidade clínica (CHO et al., 2023; WANG et al., 2022).

MicroRNAs regulam processos essenciais como angiogênese, produção de surfactante e resposta inflamatória. Perfis específicos de expressão foram identificados em pacientes com DBP, sugerindo que os microRNAs possam atuar como biomarcadores precoces e potenciais alvos terapêuticos (MAEDA et al., 2024; THÉBAUD et al., 2019).

A acetilação e a metilação de histonas modulam a plasticidade da cromatina e a transcrição gênica. Evidências sugerem que a ventilação mecânica e a hiperóxia podem induzir alterações de histonas, amplificando a inflamação pulmonar (GENCER et al., 2024). Exposições ambientais, como tabagismo materno, infecção intrauterina e suporte ventilatório

agressivo, interagem com o perfil epigenético individual, modulando a suscetibilidade e a evolução da DBP (CHO et al., 2023; DASTGHEIB et al., 2025).

A epigenética abre caminho para novas estratégias diagnósticas e terapêuticas. Biomarcadores relacionados à epigenética apresentam potencial para auxiliar na detecção precoce da DBP e na estratificação de risco, enquanto intervenções farmacológicas podem, de forma promissora, atuar no remodelamento de assinaturas epigenéticas específicas (DASTGHEIB et al., 2025; MAEDA et al., 2024).

2.2.9. Terapias Inovadoras associadas a Inteligência Artificial

A inteligência artificial (IA) tem sido utilizada como ferramenta de apoio na neonatologia, com potencial significativo na estratificação de risco e na predição precoce da DBP. Modelos de aprendizado de máquina aplicados a bancos de dados clínicos e ventilatórios alcançaram maior acurácia que escores tradicionais, permitindo identificar recém-nascidos de maior risco ainda nas primeiras semanas de vida (CHHABRA et al., 2026).

Além disso, a IA tem sido aplicada em exames de imagem, como ressonância magnética e tomografia de alta resolução, identificando alterações estruturais precoces do parênquima pulmonar e auxiliando no diagnóstico diferencial (OZCELIK et al., 2025).

A busca por biomarcadores confiáveis constitui campo estratégico para prognóstico e prevenção da DBP. Diferentes fluidos biológicos, como urina, sangue e lavado traqueal, vêm sendo estudados. Perfis metabólicos e proteômicos foram correlacionados ao risco da doença, permitindo identificar precocemente recém-nascidos com maior vulnerabilidade à DBP (BAKER et al., 2014; Lal; BHANDARI; AMBALAVANAN, 2018; PIERSIGILLI; BHANDARI, 2016). Nesse contexto, a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), associada à metabolômica, surge como técnica não invasiva capaz de identificar assinaturas moleculares específicas em biofluidos, possibilitando rastreamento precoce (BAKER et al., 2014; MOVASAGHI; REHMAN; UR REHMAN, 2008; OLLESCH et al., 2013).

As perspectivas futuras apontam para uma abordagem multimodal. A integração entre IA, biomarcadores, terapias regenerativas e novas moléculas anti-inflamatórias permitirá a individualização do manejo da DBP, aproximando a neonatologia de uma medicina de precisão (CHHABRA et al., 2026; GILFILLAN; KILADEJO; BHANDARI, 2025; PIERSIGILLI; BHANDARI, 2016).

2.2.10. Impacto a Longo Prazo

As sequelas respiratórias representam uma das complicações mais marcantes da DBP. Crianças e adolescentes sobreviventes apresentam risco aumentado de hospitalizações por infecções respiratórias recorrentes, como bronquiolite e pneumonia (MOSCHINO; BONADIES; BARALDI, 2021; STOLL et al., 2015). Além disso, estudos de coorte mostram que a função pulmonar permanece reduzida até a vida adulta, com menor VEF1 e limitação ao exercício físico (MOSCHINO; BONADIES; BARALDI, 2021).

As repercussões cardiovasculares são de grande relevância clínica na DBP. O remodelamento vascular anômalo observado na DBP associa-se à hipertensão pulmonar persistente, complicação que aumenta a mortalidade e limita a capacidade funcional (THÉBAUD et al., 2019). As complicações metabólicas também têm sido observadas no curso tardio. Adolescentes e adultos jovens com histórico de nascerem muito prematuros (e sobreviventes da DBP) apresentam maior risco de resistência insulínica, obesidade central e dislipidemia (SIPOLA-LEPPÄNEN et al., 2015). Além disso, a DBP exerce impacto significativo sobre o neurodesenvolvimento. Crianças afetadas apresentam maior prevalência de déficits cognitivos, atraso no desenvolvimento motor e desempenho escolar inferior (STOLL et al., 2015; TWILHAAR et al., 2018). Déficits de linguagem, memória e funções executivas são descritos mesmo em casos de DBP moderada (TWILHAAR et al., 2018).

O impacto econômico da DBP é expressivo. Os custos imediatos decorrem da internação prolongada em unidades neonatais e da necessidade de suporte ventilatório avançado (LAPCHAROENSAP et al., 2020; OMS, 2023). Nos anos subsequentes, é frequente a necessidade de reinternações associadas com infecções respiratórias, e as complicações crônicas representam parcela significativa dos gastos em saúde. A necessidade de terapia com utilização de oxigenoterapia domiciliar, ventilação não invasiva e medicamentos de uso contínuo eleva ainda mais os custos diretos (ÁLVAREZ-FUENTE et al., 2017). Além disso, custos indiretos incluem sobrecarga familiar, afastamento de cuidadores do mercado de trabalho e dependência de programas sociais, ampliando o impacto socioeconômico coletivo (HUMAYUN et al., 2021).

Projeções globais sugerem que o custo da prematuridade e suas complicações, como a DBP, pode ser exponencialmente maior (até várias vezes superior) em comparação a recém-nascidos a termo, o que evidencia um desafio crescente para sistemas de saúde em diferentes países (HUMAYUN et al., 2021; LAPCHAROENSAP et al., 2020).

2.3. ATR-FTIR

A espectroscopia ATR-FTIR é uma técnica vibracional amplamente empregada na caracterização bioquímica de sistemas biológicos complexos, baseada na absorção da radiação infravermelha, permitindo a identificação de grupos funcionais por meio da análise da absorção associada às vibrações moleculares específicas. O espectro obtido representa uma assinatura bioquímica global da amostra, refletindo contribuições integradas de proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos, o que confere à técnica caráter global e potencial aplicação em estudos diagnósticos (BAKER et al., 2014; MOVASAGHI; REHMAN; UR REHMAN, 2008; NASEER; ALI; QAZI, 2021; TALARI et al., 2017).

Do ponto de vista instrumental, o sistema FTIR é composto por uma fonte de radiação infravermelha, um interferômetro (normalmente do tipo Michelson), um módulo de amostragem como o cristal ATR e um detector que captura o sinal modulando-se o padrão de interferência. No modo ATR, a interação da radiação com a amostra ocorre por meio de onda evanescente, permitindo análise direta com preparo mínimo e sem destruição do material biológico, característica particularmente relevante em biofluidos de volume limitado, como a urina neonatal (BAKER et al., 2014; YAP et al., 2021).

Entre as principais vantagens da técnica destacam-se: ser não-destrutiva, sensível, relativamente rápida, apresentar custo moderado comparado a outras técnicas de óptica, a possibilidade de automação, a capacidade de trabalhar com amostras mínimas, o potencial de detectar alterações metabólicas ou bioquímicas e a possibilidade de integração com algoritmos multivariados de análise de dados (DI SANTO et al., 2022; MOVASAGHI; REHMAN; UR REHMAN, 2008; NASEER; ALI; QAZI, 2021; TALARI et al., 2017).

Estudos recentes têm ampliado a aplicação da espectroscopia ATR-FTIR no contexto biomédico, incluindo a análise de vesículas extracelulares em amostras de urina para detecção de neoplasias. A combinação de ATR-FTIR com métodos de análise multivariada, como análise de componentes principais (PCA), demonstrou capacidade discriminatória entre grupos clínicos distintos, evidenciando que vesículas extracelulares transportam assinaturas moleculares detectáveis por espectroscopia vibracional no infravermelho (YAP et al., 2021). Esses achados reforçam o potencial da técnica como ferramenta de triagem baseada em assinatura espectral integrada, particularmente quando associada a modelos de inteligência artificial (DI SANTO et al., 2022).

2.4. Metabolômica

A metabolômica é definida como a análise abrangente e sistemática do conjunto de metabólitos de baixo peso molecular presentes em células, tecidos e fluidos biológicos, refletindo de forma direta as alterações fisiológicas e patológicas do organismo. Diferentemente da genômica, transcriptômica e proteômica, que avaliam níveis intermediários de expressão biológica, a metabolômica fornece um retrato fenotípico mais imediato e dinâmico da condição biológica atual do indivíduo (WISHART, 2011, 2016; ZHANG et al., 2024). A técnica tem sido amplamente explorada no campo biomédico, incluindo oncologia, pneumologia e neonatologia, pela sua capacidade de identificar biomarcadores precoces, auxiliar no prognóstico e monitorar a resposta terapêutica (FANOS et al., 2014; PIERSIGILLI et al., 2019; PIERSIGILLI; BHANDARI, 2016).

A abordagem metabolômica baseia-se na detecção e quantificação de metabólitos por meio de plataformas analíticas de alta resolução, como a ressonância magnética nuclear (RMN) e a espectrometria de massas (MS), frequentemente acopladas a técnicas cromatográficas, como cromatografia líquida de alta eficiência (LC-MS) ou cromatografia gasosa (GC-MS). Essas tecnologias permitem a caracterização de centenas a milhares de metabólitos em uma única análise, gerando conjuntos de dados de alta dimensionalidade que exigem processamento de bioinformática avançada (DUNN et al., 2010). A escolha da plataforma depende do objetivo experimental: a RMN é altamente reprodutível e quantitativa, enquanto a MS apresenta maior sensibilidade e cobertura metabólica (PIERSIGILLI et al., 2019; PIERSIGILLI; BHANDARI, 2016; WISHART, 2011, 2016).

O processamento dos dados metabolômicos envolve etapas rigorosas de pré-processamento, incluindo normalização, correção de ruído e alinhamento espectral, seguidas de análises estatísticas multivariadas supervisionadas e não supervisionadas, como PCA (*Principal Component Analysis*) e PLS-DA (*Partial Least Squares Discriminant Analysis*). Essas abordagens permitem a identificação de padrões metabólicos discriminatórios, a identificação de biomarcadores e a inferência de rotas metabólicas envolvidas em processos fisiopatológicos (DUNN et al., 2010).

Os benefícios do uso da metabolômica incluem a possibilidade de monitorar alterações bioquímicas de forma precoce, não invasiva e integrada, fornecendo informações complementares a outras técnicas ômicas. Além disso, a metabolômica possibilita identificar assinaturas metabólicas específicas associadas ao estresse oxidativo, inflamação, hipóxia e

desordens energéticas, fenômenos frequentemente observados em doenças pulmonares e neonatais (LAL; BHANDARI; AMBALAVANAN, 2018; ZHANG et al., 2024).

No contexto neonatal, estudos têm demonstrado o potencial clínico da metabolômica na identificação de perfis metabólicos associados ao risco de displasia broncopulmonar, evidenciando alterações relacionadas a processos inflamatórios, remodelamento pulmonar e metabolismo energético (CAPASSO et al., 2019; FANOS et al., 2014). Esses dados reforçam a plausibilidade biológica do uso de metabólitos urinários como marcadores precoces de disfunção pulmonar em prematuros. Na pneumologia, a metabolômica também tem sido aplicada na caracterização do microambiente pulmonar e na detecção precoce de alterações metabólicas ligadas à doença pulmonar obstrutiva crônica e à fibrose (LAL; BHANDARI; AMBALAVANAN, 2018).

Mais recentemente, a metabolômica foi combinada com técnicas como a espectroscopia ATR-FTIR e análises de vesículas extracelulares, expandindo seu potencial diagnóstico e prognóstico em doenças complexas. Essa integração tem permitido análises mais robustas e abrangentes, reforçando a metabolômica como ferramenta estratégica para a medicina personalizada e para a compreensão de mecanismos fisiopatológicos (WISHART, 2016; WU et al., 2022; ZHANG et al., 2024).

A elevada incidência global de prematuridade e sua associação com morbimortalidade tornam a detecção da DBP um relevante problema de saúde pública. Apesar dos avanços na neonatologia, o diagnóstico da DBP permanece baseado em critérios clínicos calcados em desfechos tardios e heterogêneos, centrados na dependência de oxigenoterapia, os quais não refletem de forma objetiva as alterações imunológicas e inflamatórias que caracterizam a fisiopatologia precoce da doença. Essa limitação compromete a estratificação de risco, a implementação de intervenções oportunas e o desenvolvimento de terapias direcionadas. Nesse contexto, a identificação precoce de biomarcadores não invasivos, capazes de capturar alterações metabólicas e moleculares nos primeiros dias de vida, integrados a algoritmos de inteligência artificial, representa uma estratégia inovadora e potencialmente transformadora para aprimorar a predição, o manejo e os desfechos clínicos da DBP em prematuros de muito baixo peso.

3. Objetivos

3.1 Geral

Desenvolver plataformas não-invasiva baseadas em biomarcadores urinários e aplicadas a algoritmos de inteligência artificial para a triagem diagnóstica e de risco para displasia broncopulmonar em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso.

3.2 Específicos

- a. Avaliar o desempenho diagnóstico por espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier acoplada com refletância total atenuada (ATR-FTIR) combinada com técnicas de inteligência artificial para comparar os componentes urinários de recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com displasia broncopulmonar;
- b. Avaliar o desempenho diagnóstico e de classificação do risco por metabolômica combinada com parâmetros clínicos para comparar os componentes urinários de recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com displasia broncopulmonar;

4. Resultados

Os capítulos de Materiais e Métodos, Resultados e Discussão encontram-se estruturados na forma de dois manuscritos científicos independentes, denominados Artigo 1 e Artigo 2, conforme a modalidade alternativa prevista pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFU.

ARTIGO 1

Early Prediction of Bronchopulmonary Dysplasia in Very Preterm Infants Using Urinary ATR-FTIR Spectroscopy Integrated with Machine Learning

Camila Piqui Nascimento^{1,2}, Mayla Silva Borges^{1,2,3}, Caio Augusto de Lima¹, Priscilla Larissa Silva Pires², Kelvyn Lucas Santos Zanetti⁴, Bianca Landi Visconti Ferreira Gauze Rodrigues⁴, Marco Guevara-Vega¹, Douglas Carvalho Caixeta¹, Mario Machado Martins³, Murillo Guimarães Carneiro⁶, Mariana Gonçalves Gomes Tavoletto⁷, Vânia Olivetti Steffen Abdallah⁴, Luiz Ricardo Goulart^{3,†}, Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo⁵, Robinson Sabino-Silva^{1,2*}

¹ Innovation Center in Salivary Diagnostics and Nanobiotechnology, Department of Physiology, Institute of Biomedical Sciences, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

² Graduation Program in Health Sciences, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

³ Laboratory of Nanobiotechnology Luiz Ricardo Goulart Filho, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

⁴ School of Medicine, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

⁵ Faculty of Physical Education and Physiotherapy, Federal University of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

⁶ Faculty of Computing, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

⁷ Neonatal Service, Clinical Hospital of Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

[†] *In memoriam*

* Corresponding Author:

Robinson Sabino-Silva; Federal University of Uberlandia (UFU), Institute of Biomedical Sciences (ICBIM), ARFIS, Av. Pará, 1720, Campus Umuarama, CEP 38400-902, Uberlandia, MG, Brazil. Phone: +55 34 3218 2100

E-mail: robinsonsabino@gmail.com

Abstract

Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a chronic lung condition in preterm infants, resulting from lung immaturity and oxygen supplementation, which alters pulmonary physiology. These changes may be reflected in systemic metabolism and detected through urinary analysis using ATR-FTIR spectroscopy. This study investigated whether urinary attenuated total reflectance Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy combined with machine learning could enable early prediction of BPD in extremely low birth weight preterm infants. The single-center prospective study in a neonatal intensive care unit included preterm infants <30 weeks of gestation age and birth weight of <1,000g. Urine samples were collected on the second day of life and analyzed using ATR-FTIR spectroscopy. A total of 42 infants were enrolled and stratified according to subsequent BPD development (20 BPD; 22 without BPD). The AdaBoost algorithm achieved 73% sensitivity, 81% specificity and 78% accuracy in distinguishing urine sample from infants with and without BPD. Discriminatory vibrational bands were primarily associated with vibrational modes from lipids, carbohydrates and proteins. Urinary ATR-FTIR spectroscopy integrated with machine learning demonstrates potential as a rapid, non-invasive, and low-cost platform for early BPD risk stratification in extremely low birth weight premature infants.

Keywords: Bronchopulmonary Dysplasia, Urine, ATR-FTIR, Machine Learning, Preterm Infants

Introduction

Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a chronic lung disease affecting preterm infants exposed to prolonged mechanical ventilation, (1). Despite decades of investigation, its definition and diagnostic criteria remain imprecise, and recent analyses highlight substantial variability in oxygen-dependency thresholds and respiratory-support parameters (2–4). According to the NICHD workshop, BPD in infants <32 weeks is diagnosed based on the need for respiratory support at 36 weeks postmenstrual age; however, this definition relies on late functional endpoints rather than underlying biological processes, and inconsistencies in oxygen assessment and ventilatory classification contribute to delayed or misclassified diagnoses. This heterogeneity undermines cross-cohort comparability and limits efforts to develop biologically meaningful biomarkers capable of predicting long-term pulmonary outcomes (3,5–7).

The pathogenesis of BPD remains incompletely understood. Lung injury, impaired alveolar and vascular development, inflammation, oxidative stress, mechanical ventilation–induced damage, and genetic or epigenetic susceptibility interact within a highly immature pulmonary microenvironment (4). Advances in neonatal care have shifted BPD from a fibrocystic injury pattern to a disease primarily defined by disrupted alveolarization and pulmonary vascular development (8). These alterations are associated with chronic lung disease, pulmonary hypertension, and increased morbidity and mortality, imposing a significant healthcare burden (9,10). Despite progress in neonatal intensive care, BPD remains highly prevalent among extremely preterm infants, with incidence varying across regions and influenced by gestational age, birth weight, and perinatal practices (11–13). Importantly, early systemic metabolic perturbations may precede overt clinical manifestations, providing a window for biologically informed risk stratification (11).

One emerging strategy involves Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy to neonatal biofluids, such as urine. This method provides a biochemical fingerprint based on molecular vibrational signatures when infrared light interacts with the sample. Unlike conventional biomarker assays targeting single analytes, ATR-FTIR captures integrated molecular alterations across lipids, proteins, nucleic acids, and metabolites in a single acquisition, enabling high-dimensional phenotypic characterization. This biophotonic platform offers rapid analysis, relatively low cost, minimal sample preparation, low operational cost, and compatibility with artificial intelligence–based multiparametric modeling for high-dimensional pattern recognition (14–16). When coupled with machine learning, ATR-FTIR has the potential to uncover unique spectral patterns associated with early disease progression, supporting its translational relevance in neonatal research (17–22).

We hypothesize that ATR-FTIR spectroscopy can detect early and specific biochemical alterations in urinary components reflecting systemic responses to disrupted pulmonary development, thereby serving as a non-invasive screening tool for BPD. We therefore investigated whether urinary biochemical signatures obtained at two days of life in extremely low birth weight preterm infants could serve as early predictive biomarkers of BPD.

Materials and Methods

Ethical approval

The study was approved by the Research Ethics Committee of Federal University of Uberlândia (#2.360.814). Written informed consent was obtained from the parents or legal guardians prior to enrollment.

Study population

This cross-sectional study was conducted in a single tertiary neonatal intensive care unit between January 2015 and September 2019. Eligible participants were preterm infants of both genders and all racial and ethnic groups, with a gestational age between 23 and <30 weeks, a birth weight of <1,000 grams, and no evidence of congenital malformations. Infants who died before 36 weeks of postmenstrual age or were diagnosed with early- or late-onset sepsis were excluded. The study population comprised preterm infants who subsequently developed bronchopulmonary dysplasia (BPD) and those who did not. According to the National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) workshop criteria, BPD in infants born at <32 weeks' gestation is established based on the requirement for respiratory support at 36 postmenstrual weeks (2).

Sampling

Urine samples were collected from study participants on the second day of life using a sterile neonatal urine collection bag. The urine samples were transferred to 1.5 mL microtubes and immediately centrifuged at 3,800 rpm for 5 minutes at room temperature. The supernatant was carefully collected and stored at -80°C until analysis.

ATR-FTIR spectroscopy

A portable FTIR spectrophotometer equipped with an attenuated total reflectance (ATR) module (Agilent Technologies, Agilent Cary 630, Santa Clara, CA, USA) was used for spectral acquisition. The ATR unit contained a diamond crystal serving as the internal reflection element. Urine spectra acquired over the wavenumber region of 4,000 cm^{-1} to 650 cm^{-1} , and 32 scan per sample at a spectral resolution of 4 cm^{-1} . The air spectrum was used as a background before each infrared urine analysis. Aliquots of urine (10 μL) were deposited onto aluminum devices and heated to 80°C in a dry bath (Ageon, Brazil®) for 10 minutes and added to the ATR crystal. All measurements were performed in duplicate, and the mean spectrum was used for statistical analysis.

Statistical data analysis

GraphPad Prism 8 was used for statistical analysis of newborn characteristics. Normally distributed data were analyzed using the t-test and reported as mean (standard deviation), non-normally distributed data were analyzed using the Mann-Whitney test and reported as median (interquartile range), and Fisher's exact test was used for categorical data and reported as number of cases (percentage) to the reference group. Statistically significant tests were considered with p-values lower than 0.05.

The ATR-FTIR spectra were processed using the Orange 3.35.0 software, implemented in Python 3 (Demsar citation). Spectral data were normalized to minimize acquisition-related variability and ensure analytical consistency. Principal Component Analysis (PCA) was performed following spectral preprocessing, including min–max normalization and baseline correction using the truncated rubberband method applied to the lipid region ($3050\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$) and the biofingerprint region ($1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$).

PCA reduced the high-dimensional spectral variables into orthogonal principal components that captured the maximal variance within the dataset. The representation of the variables (n) is reduced to some principal components (PC's) that describe the maximum variation of the data and are presented in an n-dimensional space, in the graphical form of “scores” of the clusters in the data set. The resulting components were projected into multidimensional space and visualized as cluster score plots to assess group discrimination.

Classification performance was evaluated using multiple machine learning algorithms, including AdaBoost, Naïve Bayes, Neural Networks, Support Vector Machines (SVM), and Random Forest. Model validation was performed using leave-one-out cross-validation. Model performance was evaluated using three established classification metrics: sensitivity, specificity, and overall accuracy. Sensitivity (true positive rate) was defined as the proportion of infants who developed BPD and were correctly identified by the model. Specificity (true negative rate) represented the proportion of infants who did not develop BPD and were correctly classified. Overall accuracy corresponded to the proportion of correctly classified cases, encompassing both true positive and true negative predictions.

Results

Of the preterm infants screened during the study period, 42 met the eligibility criteria and were included in the final analysis. A total of 148 infants were excluded because of death

before 36 weeks of postmenstrual age, diagnosis of early- or late-onset sepsis, or birth weight exceeding 1,000 g. The eligible cohort was divided into two groups: infants who did not develop BPD (n=22) and those who developed BPD (n=20). Maternal characteristics were comparable between groups (Table 1). Clinically relevant neonatal variables associated with BPD development were identified and are also summarized in Table 1.

Table 1. Maternal and clinical characteristics of preterm infants with and without BPD

Variable	Without BPD (n = 22)	BPD (n = 20)	OR	P value
Gestational age (weeks) – Median (Max-Min)	27 (29-24)	25.50 (28-24)	-	0.007
Gender – Female	54.55%	25%	3.600	0.051
Birth weight (g) – mean (error measures)	861.9 (95.43)	741.5 (143.9)	-	0.002
Apgar 5 min – mean (error measures)	7.68 (1.49)	7.25 (1.68)	-	0.383
Respiratory distress syndrome	100%	100%	-	>0.999
Intrauterine growth restriction	22.73%	25%	0.882	>0.999
Days of hospitalization – Median (Max-Min)	75.5 (123-55)	115.5 (255-72)	-	<0,0001
Invasive mechanical ventilation on day 2	54.55%	85%	4.722	0.047
Surfactant	100%	90%	-	0.220
SNAPPE II – Median (Max- Min)	32 (71-10)	50.5 (75-0)	-	0.019
Persistent artery canal	81.2%	80%	1,125	>0.999

Chorioamnionitis	13.64%	20%	-	0.69
Steroid antenatal	68.18%	95%	-	0.04
Premature rupture of membranes	13.64%	25%	-	0.44
Preeclampsia/ Eclampsia	45.45%	25%	-	0.20

* Mean $\pm$ SD, median (Max-Min), or percentage. OR: odds ratio.

A representative mid-infrared urinary spectrum distinguishing infant who did not develop BPD from those who did is shown in Figure 1. The spectrum encompasses vibrational bands corresponding to key biomolecular constituents, including lipids, proteins, glycoproteins, and nucleic acid. Comparative analysis of the spectra revealed distinct biochemical differences between BPD and without BPD samples.

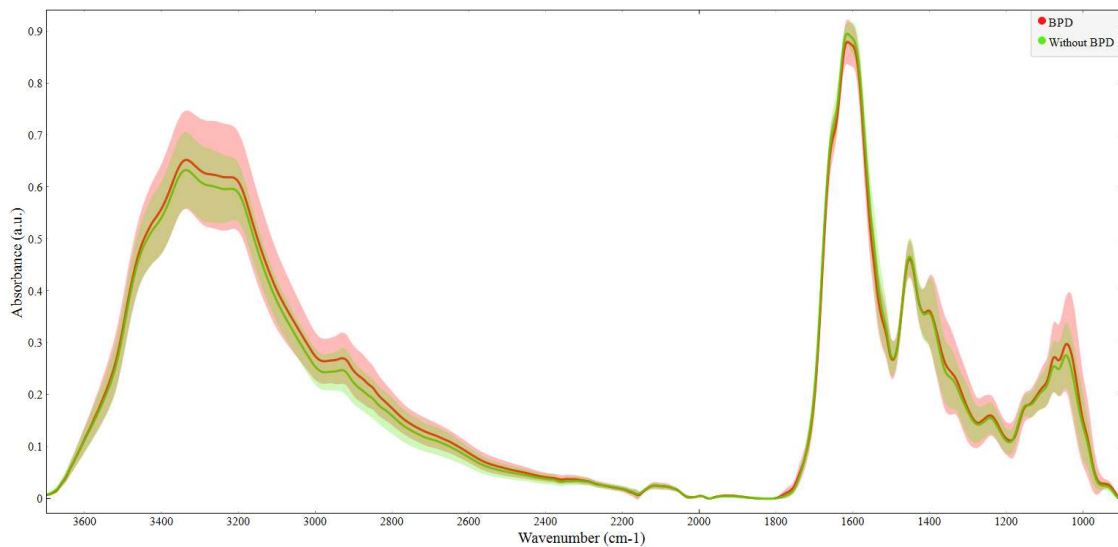


Figure 1. Representative average ATR-FTIR spectra (3700–800 cm^{-1}) obtained from second-day urine samples of preterm infants who did and did not develop bronchopulmonary dysplasia (BPD).

Subsequently, an initial exploratory analysis was to identify group-specific spectral variations between infants who developed BPD and those who did not. Principal Component Analysis (PCA) revealed partial separation patterns in second-day urinary infrared spectra between the two groups. PCA transformed the original high-dimensional spectral dataset into orthogonal latent variables (principal components), capturing the main sources of variance in the dataset. The first two components, PC1 and PC2, accounted for 61.4% and 18.3% of the total variance, respectively. These components were visualized in the corresponding score plot

(Figure 2), illustrating the distribution and clustering behavior of the samples in reduced dimensional space.

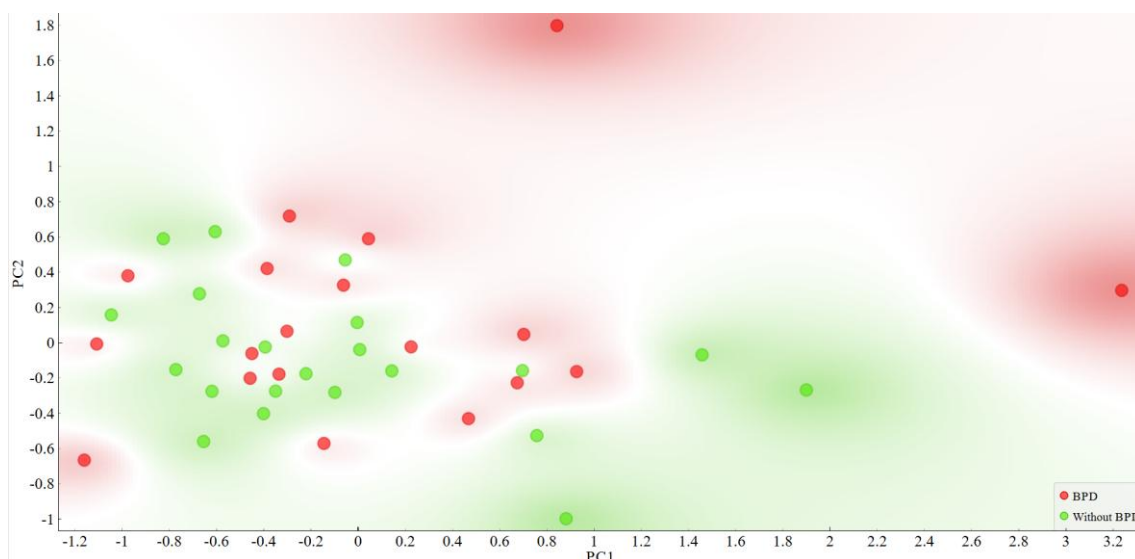


Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) score plot of PC1 versus PC2 derived from second-day urinary ATR-FTIR spectra of preterm infants stratified by subsequent development of bronchopulmonary dysplasia (BPD).

To enhance classification reliability of second-day urinary spectra from extremely low birth weight preterm infants, supervised machine learning algorithms were applied, including AdaBoost, Neural Networks, Naive Bayes, Random Forest and Support Vector Machine. Classification performance is summarized in Table 2. Among the evaluated models, the AdaBoost algorithm preprocessed with 2nd derivative demonstrated superior discriminatory performance between infants who developed BPD and those who did not. Optimal performance was achieved using combined spectral regions corresponding to lipids ($3050\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$) and the biofingerprint region ($1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$). The best classification performance using urine samples showed sensitivity of 73%, specificity of 81% and accuracy of 78% to distinguish between with and without BPD (Table 2).

Table 2. Performance of machine learning algorithms applied to second-day urinary ATR-FTIR spectra from extremely low birth weight preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia.

Pre-processing (band)	Algorithm	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)
Row data (3050-2800 cm ⁻¹ ; 1800-900 cm ⁻¹)	AdaBoost	42	72	58
	Naive	68	36	51
	Bayes			
	Neural Network	42	50	46
	SVM	31	77	56
	Random Forest	42	50	46
Min-Max and Rubberband(3050- 2800 cm ⁻¹ ; 1800- 900 cm ⁻¹)	AdaBoost	47	31	39
	Naive	52	59	56
	Bayes			
	Neural Network	42	45	44
	SVM	31	68	51
	Random Forest	52	59	56
1st derivative (3050-2800 cm ⁻¹ ; 1800-900 cm ⁻¹)	AdaBoost	36	72	56
	Naive	52	50	51
	Bayes			
	Neural Network	47	36	0,41
	SVM	36	0,68	0,53
	Random Forest	42	63	0,53
2nd derivative (3050-2800 cm ⁻¹ ; 1800-900 cm ⁻¹)	AdaBoost	73	81	78
	Naive	68	45	56
	Bayes			
	Neural Network	47	45	46
	SVM	31	86	60

ALSS smoothing (3050-2800 cm ⁻¹ ; 1800-900 cm ⁻¹)	Random Forest	42	54	48
	AdaBoost	68	72	70
	Naive Bayes	57	72	65
	Neural Network	42	36	39
	SVM	36	91	65
	Random Forest	52	68	61
	AdaBoost	42	50	46
	Naive Bayes	52	63	58
	Neural Network	47	54	51
	SVM	52	77	65
PCA denoising (3050-2800 cm ⁻¹ ; 1800-900 cm ⁻¹)	Random Forest	36	50	44

To identify the most significant vibrational that are responsible for differentiating BPD and non-BPD dysplastic preterm infants in the algorithm, Shapley Additive Explanations (SHAP) were generated (Figure 3). The SHAP value of each feature within the AdaBoost model results in the main urinary vibrational modes at 1192 cm⁻¹, 1030 cm⁻¹, 3047 cm⁻¹, 924 cm⁻¹, 1496 cm⁻¹, 1716 cm⁻¹, 1567 cm⁻¹, 1358 cm⁻¹, 1235 cm⁻¹ and 1168 cm⁻¹ as responsible for distinguishing premature infants (Figure 3). The molecular assignments approximated of each vibrational mode indicated by the analysis are described in Table 3.

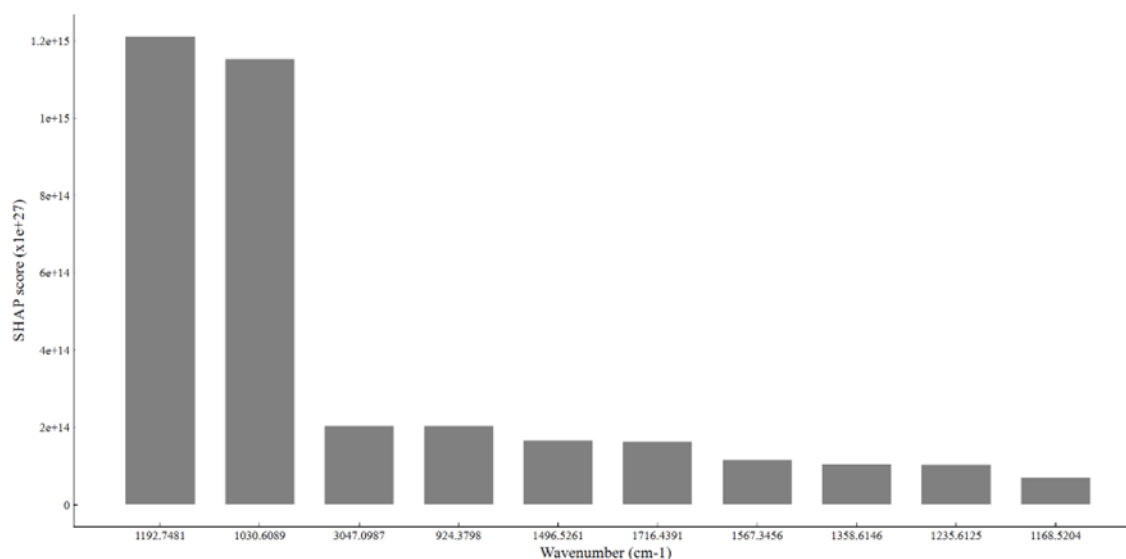


Figure 3. The SHAP value graph of each feature within the AdaBoost model results in the main urinary vibrational modes for discriminating neonates without BPD from neonates with BPD.

Table 3. Attribution of vibrational modes of the SHAP value of each feature within the AdaBoost model to differentiate dysplastic and non-dysplastic extremely low birth weight preterm infants.

Wavenumber (cm ⁻¹)	Band assignment	Biomolecular components
1192	Phospholipids	Lipids
1030	Glucose	Carbohydrates
3047	Amid B (N-H stretching)	Protein
924	Membrane lipids (phospholipids)	Lipids
1496	Amida II	Protein
1716	Amide I (arises from C=O stretching vibration)	Protein
1567	Amide II region	Protein
1358	Stretching C-O, deformation C-H, deformation N-H	Lipids
1235	Composed of amide III as well as phosphate vibration of nucleic acids	Protein
1168	ν C-O of carbohydrates	Carbohydrates

Discussion

ATR-FTIR spectroscopy enables rapid, sustainable, non-destructive characterization of molecular vibrational signatures while preserving sample integrity, supporting high-throughput and minimally invasive biochemical profiling for clinical screening (16). In this study, urinary ATR-FTIR spectra obtained on the second day of life were analyzed using supervised machine learning algorithms to assess early discriminatory performance for bronchopulmonary dysplasia (BPD). Among the evaluated models, AdaBoost combined with second-derivative preprocessing demonstrated the highest classification performance. Optimal discrimination was achieved using the lipid (3050–2800 cm^{-1}) and biofingerprint (1800–900 cm^{-1}) spectral regions, yielding a sensitivity of 73%, specificity of 81%, and overall accuracy of 78%. These findings indicate that early urinary spectral signatures capture biologically relevant alterations associated with subsequent BPD development. BPD remains defined by late oxygen-based criteria that do not capture the early immunometabolic processes underlying disrupted lung development, thereby limiting timely risk stratification and early intervention (3,5). In our cohort, all infants who developed BPD were born between 24 and 28 weeks of gestation, and half of the studied population progressed to the disease, which is consistent with contemporary epidemiological patterns. Although some reports suggest modest declines in incidence, most studies indicate stable or rising BPD rates over recent decades, largely attributable to improved survival of extremely premature infants despite limited therapeutic options (11,33). In addition to respiratory morbidity, BPD markedly amplifies healthcare costs, with expenditures rising by over 160% in infants requiring home oxygen therapy (10). This marked economic impact highlights the urgency of early, non-invasive biomarkers for timely risk stratification.

SHAP-based feature attribution revealed that the most influential spectral variables within the AdaBoost model were centered at 1192 cm^{-1} and 1030 cm^{-1} , corresponding to phospholipid-associated vibrations and glucose-related carbohydrate modes, respectively. The marked predominance of the 1192 cm^{-1} band suggests early perturbations in membrane phospholipid composition, potentially reflecting oxidative lipid remodeling, which could be related with ventilator-induced injury and impaired alveolar development in BPD (4,8). The pivotal contribution of the 1030 cm^{-1} band indicates alterations in carbohydrate metabolism, consistent with dysregulated glucose utilization and systemic metabolic stress in extremely preterm infants (36). Taken together, the dominance of the 1192 cm^{-1} (phospholipid) and 1030 cm^{-1} (glucose-related) bands suggests that second-day urinary spectra reflect early membrane

lipid remodeling and altered glucose handling, consistent with the immunometabolic reprogramming and redox imbalance described in the pathobiology of BPD (36).

To our knowledge, urinary ATR-FTIR spectroscopy has not previously been explored as a strategy for early BPD risk assessment in premature infants (24,25,30,31). In the present analysis, lipid-associated bands rank among the most discriminative spectral features. This observation is biologically coherent, as lipids are fundamental structural constituents of cellular membranes and represent the predominant fraction of pulmonary surfactant, which governs alveolar stability through modulation of surface tension. Alterations in surfactant phospholipids have been associated with lung maturity in studies employing ATR-FTIR combined with machine-learning models (25,32). Evidence from other pulmonary diseases underscore the sensitivity of ATR-FTIR to detect biochemical disturbances. In lung cancer, shifts in protein, lipid, and nucleic acid bands enabling accurate detection of malignant samples. (26,27). Although overlapping in the detection of changes with lipids, the specific vibrational patterns differed, indicating that ATR-FTIR captures disease-specific biochemical configurations rather than identical spectral signatures across inflammatory, developmental, and neoplastic conditions.

FTIR-based techniques have demonstrated effectiveness in detecting and monitoring diverse pathological conditions through the analysis of saliva, blood, serum, amniotic fluid, bronchoalveolar lavage, and urine (17–19,21,24,27,34,35). However, most neonatal and pulmonary spectroscopy studies have relied on samples obtained at later clinical stages or after disease establishment. In contrast, our study shows that ATR-FTIR applied to urine collected on the second day of life can identify biochemical alterations preceding the clinical diagnosis of BPD. This earlier timing, at second day, enables biological risk detection rather than late diagnostic confirmation. The prominence of phospholipid and glucose bands supports early membrane disruption and metabolic imbalance as central events in BPD pathogenesis.

Although restricted by its single-center framework and moderate sample size, this study provides proof of concept that second-day urinary ATR-FTIR profiling can reveal biochemical changes preceding clinical BPD diagnosis. Multicenter validation and longitudinal analyses are required to confirm reproducibility and temporal robustness. If validated, early risk identification could support stratified respiratory management and timely targeted interventions during a critical therapeutic opportunity. A portable, urine-based platform integrated with

artificial intelligence may offer a scalable, non-invasive adjunct to routine neonatal intensive care practice.

In summary, our findings reveal that urinary ATR-FTIR spectroscopy performed on the second day of life can indicate relevant changes in infrared spectra in extremely low birth weight infants who later develop BPD. The most influential vibrational signals were related to phospholipids (1192 cm^{-1}) and glucose (1030 cm^{-1}), pointing toward disturbances in membrane composition and metabolic regulation. Using AdaBoost with second-derivative preprocessing, the model achieved a sensitivity of 73%, specificity of 81%, and overall accuracy of 78%, supporting the robustness of this approach. Together, these results suggest that artificial intelligence–assisted vibrational spectroscopy may serve as a practical, non-invasive tool for early risk stratification in neonatal lung disease. Larger multicenter studies are now needed to confirm its reproducibility and clinical adoption.

Author contributions

C.P.N., V.O.S.A., D.M.L.M.F., V.M.G.O.A., L.R.G.† and R.S.S., conceived and designed the study; C.P.N., M.S.B., M.G.G.T., C.A.L., P.L.S.P., K.L.S.Z. and B.L.V.F.G.R., data collect; D.C.C., M.M.M. and R.S.S, standardization of the method; M.S.B. and M.G.V, performed the experiments; C.P.N., M.S.B., D.C.C. and M.G.C. analysed the data; L.R.G.† and R.S.S., resource; C.P.N., M.G.V., D.C.C., D.M.L.M.F., V.M.G.O.A. and R.S.S., contributed to the manuscript's drafting. All authors reviewed the manuscript.

Additional Information

The authors declare no competing financial interests.

References

1. Northway WH, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med*. 1967 Feb 16;276(7):357–68.
2. Higgins RD, Jobe AH, Koso-Thomas M, Bancalari E, Viscardi RM, Hartert TV, et al. Bronchopulmonary Dysplasia: Executive Summary of a Workshop. *J Pediatr*. 2018 June;197:300–8.

3. Gilfillan M, Bhandari A, Bhandari V. Diagnosis and management of bronchopulmonary dysplasia. *BMJ*. 2021 Oct 20;375:n1974.
4. Enzer KG, Baker CD, Wisniewski BL. Bronchopulmonary Dysplasia. *Clin Chest Med*. 2024 Sept 1;45(3):639–50.
5. Han YS, Kim SH, Sung TJ. Impact of the definition of bronchopulmonary dysplasia on neurodevelopmental outcomes. *Sci Rep*. 2021 Nov 19;11:22589.
6. Bancalari E, Jain D. Bronchopulmonary Dysplasia: Can We Agree on a Definition? *Am J Perinatol*. 2018 May;35(6):537–40.
7. Jobe AH, Bancalari EH. Controversies about the definition of bronchopulmonary dysplasia at 50 years. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2017 May;106(5):692–3.
8. Lignelli E, Palumbo F, Myti D, Morty RE. Recent advances in our understanding of the mechanisms of lung alveolarization and bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. 2019 Dec 1;317(6):L832–87.
9. Carvalho CG, Silveira RC, Procianoy RS. Lesao pulmonar induzida pela ventilacao em recém-nascidos prematuros. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2013 Dec;25(4):319–26.
10. Álvarez-Fuente M, Arruza L, Muro M, Zozaya C, Avila A, López-Ortego P, et al. The economic impact of prematurity and bronchopulmonary dysplasia. *Eur J Pediatr*. 2017 Dec;176(12):1587–93.
11. Jensen EA, Dysart K, Gantz MG, McDonald S, Bamat NA, Keszler M, et al. The Diagnosis of Bronchopulmonary Dysplasia in Very Preterm Infants. An Evidence-based Approach. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Sept 15;200(6):751–9.
12. Jensen EA, Schmidt B. Epidemiology of Bronchopulmonary Dysplasia. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2014 Mar;100(3):145–57.
13. Siffel C, Kistler KD, Lewis JFM, Sarda SP. Global incidence of bronchopulmonary dysplasia among extremely preterm infants: a systematic literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2021 June 3;34(11):1721–31.
14. Naseer K, Ali S, Qazi J. ATR-FTIR spectroscopy as the future of diagnostics: a systematic review of the approach using bio-fluids. *Appl Spectrosc Rev*. 2021 Feb 7;56(2):85–97.
15. Movasaghi Z, Rehman S, Ur Rehman DrI. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Appl Spectrosc Rev*. 2008 Feb;43(2):134–79.
16. Baker MJ, Trevisan J, Bassan P, Bhargava R, Butler HJ, Dorling KM, et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nat Protoc*. 2014 Aug;9(8):1771–91.
17. Caixeta DC, Carneiro MG, Rodrigues R, Alves DCT, Goulart LR, Cunha TM, et al. Salivary ATR-FTIR Spectroscopy Coupled with Support Vector Machine Classification for Screening of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diagn Basel Switz*. 2023 Apr 12;13(8):1396.

18. Caixeta DC, Aguiar EMG, Cardoso-Sousa L, Coelho LMD, Oliveira SW, Espindola FS, et al. Salivary molecular spectroscopy: A sustainable, rapid and non-invasive monitoring tool for diabetes mellitus during insulin treatment. *PloS One*. 2020;15(3):e0223461.
19. Ferreira ICC, Aguiar EMG, Silva ATF, Santos LLD, Cardoso-Sousa L, Araújo TG, et al. Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy Analysis of Saliva for Breast Cancer Diagnosis. *J Oncol*. 2020;2020:4343590.
20. Guevara-Vega M, Rosa RB, Caixeta DC, Costa MA, de Souza RC, Ferreira GM, et al. Salivary detection of Chikungunya virus infection using a portable and sustainable biophotonic platform coupled with artificial intelligence algorithms. *Sci Rep*. 2024 Sept 16;14(1):21546.
21. Barauna VG, Singh MN, Barbosa LL, Marcarini WD, Vassallo PF, Mill JG, et al. Ultrarapid On-Site Detection of SARS-CoV-2 Infection Using Simple ATR-FTIR Spectroscopy and an Analysis Algorithm: High Sensitivity and Specificity. *Anal Chem*. 2021 Feb 9;93(5):2950–8.
22. Rodrigues RP, Aguiar EM, Cardoso-Sousa L, Caixeta DC, Guedes CC, Siqueira WL, et al. Differential Molecular Signature of Human Saliva Using ATR-FTIR Spectroscopy for Chronic Kidney Disease Diagnosis. *Braz Dent J*. 2019;30(5):437–45.
23. Talari ACS, Martinez MAG, Movasaghi Z, Rehman S, Rehman IU. Advances in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Appl Spectrosc Rev*. 2017 May 28;52(5):456–506.
24. Ahmed W, Veluthandath AV, Madsen J, Clark HW, Dushianthan A, Postle AD, et al. Towards quantifying biomarkers for respiratory distress in preterm infants: Machine learning on mid infrared spectroscopy of lipid mixtures. *Talanta*. 2024 Aug 1;275:126062.
25. Ahmed W, Veluthandath AV, Rowe DJ, Madsen J, Clark HW, Postle AD, et al. Prediction of Neonatal Respiratory Distress Biomarker Concentration by Application of Machine Learning to Mid-Infrared Spectra. *Sensors*. 2022 Feb 23;22(5):1744.
26. Bangaol R, Santillan A, Angeles LM, Abanilla L, Lim A, Ramos MaC, et al. ATR-FTIR spectroscopy as adjunct method to the microscopic examination of hematoxylin and eosin-stained tissues in diagnosing lung cancer. *PLoS ONE*. 2020 May 29;15(5):e0233626.
27. Yang X, Ou Q, Qian K, Yang J, Bai Z, Yang W, et al. Diagnosis of Lung Cancer by ATR-FTIR Spectroscopy and Chemometrics. *Front Oncol*. 2021 Sept 30;11:753791.
28. Hirata K, Nishikawa M, Nozaki M, Kitajima H, Yanagihara I, Wada K, et al. Urine Desmosine as a Novel Biomarker for Bronchopulmonary Dysplasia and Postprematurity Respiratory Disease in Extremely Preterm or Low Birth Weight Infants. *Am J Perinatol*. 2024 May;41(S 01):e1030–6.
29. Scher H, Miller YE, Aguayo SM, Johnson KJ, Miller JE, McCray PB. Urinary bombesin-like peptide levels in infants and children with bronchopulmonary dysplasia and cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 1998 Nov;26(5):326–31.

30. Walther FJ, Hernandez-Juviel JM, Gordon LM, Sherman MA, Waring AJ. Dimeric surfactant protein B peptide sp-b(1-25) in neonatal and acute respiratory distress syndrome. *Exp Lung Res.* 2002 Dec;28(8):623–40.
31. Almlén A, Vandenbussche G, Linderholm B, Haegerstrand-Björkman M, Johansson J, Curstedt T. Alterations of the C-terminal end do not affect *in vitro* or *in vivo* activity of surfactant protein C analogs. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 2012 Jan 1;1818(1):27–32.
32. Yap XL, Wood B, Ong TA, Lim J, Goh BH, Lee WL. Detection of Prostate Cancer via IR Spectroscopic Analysis of Urinary Extracellular Vesicles: A Pilot Study. *Membranes.* 2021 July 31;11(8):591.
33. Ohuma EO, Moller AB, Bradley E, Chakwera S, Hussain-Alkhateeb L, Lewin A, et al. National, regional, and global estimates of preterm birth in 2020, with trends from 2010: a systematic analysis. *The Lancet.* 2023 Oct 7;402(10409):1261–71.
34. Duckworth E, Mortimer M, Al-Sarireh B, Kanamarlapudi V, Roy D. Frontline clinical diagnosis-FTIR on pancreatic cancer. *Cancer Med.* 2023 Aug;12(16):17340–5.
35. Gajjar K, Trevisan J, Owens G, Keating PJ, Wood NJ, Stringfellow HF, et al. Fourier-transform infrared spectroscopy coupled with a classification machine for the analysis of blood plasma or serum: a novel diagnostic approach for ovarian cancer. *The Analyst.* 2013 July 21;138(14):3917–26.
36. Yue L, Lu X, Dennery PA, Yao H. Metabolic dysregulation in bronchopulmonary dysplasia: Implications for identification of biomarkers and therapeutic approaches. *Redox Biol.* 2021 Dec;48:102104. doi: 10.1016/j.redox.2021.102104. Epub 2021 Aug 13. PMID: 34417157; PMCID: PMC8710987.

ARTIGO 2

Early Urinary Metabolomic Profiling Reveals Prognostic Biomarkers of Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants

Camila Piqui Nascimento^{1,2,8}, Mayla Silva Borges^{1,2,3}, Felipe Andrés Cordero da Luz⁸, Caio Augusto de Lima¹, Priscilla Larissa Silva Pires², Kelvyn Lucas Santos Zanetti⁴, Bianca Landi Visconti Ferreira Gauze Rodrigues⁴, Rayany Cristina de Souza^{1,3}, Douglas Carvalho Caixeta^{1,3}, Mario Machado Martins³, Hebréia Oliveira Almeida Souza³, Murillo Guimarães Carneiro⁶, Mariana Gonçalves Gomes Tavolo⁷, Vânia Olivetti Steffen Abdallah⁴, Luiz Ricardo Goulart^{3,†}, Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo⁵, Robinson Sabino-Silva^{1,2,3*}

¹ Innovation Center in Salivary Diagnostics and Nanobiotechnology, Department of Physiology, Institute of Biomedical Sciences, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

² Graduation Program in Health Sciences, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

³ Laboratory of Nanobiotechnology Luiz Ricardo Goulart Filho, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

⁴ School of Medicine, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

⁵ Faculty of Physical Education and Physiotherapy, Federal University of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

⁶ Faculty of Computing, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

⁷ Neonatal Service, Clinical Hospital of Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

⁸ Cancer Research and Prevention Nucleus, Grupo Luta Pela Vida, Cancer Hospital in Uberlândia, Uberlândia, Brazil

[†] *In memoriam*

* Corresponding Author:

Robinson Sabino-Silva; Federal University of Uberlandia (UFU), Institute of Biomedical Sciences (ICBIM), ARFIS, Av. Pará, 1720, Campus Umuarama, CEP 38400-902, Uberlandia, MG, Brazil. Phone: +55 34 3218 2100

E-mail: robinsonsabino@gmail.com

Abstract

Background: Bronchopulmonary dysplasia (BPD) remains a major complication of extreme prematurity, and validated biomarkers for early risk stratification remain unavailable.. Non-invasive urinary metabolomic profile may identify non-invasive molecular markers that complement established clinical predictors of BPD.. **Objective:** To identify early urinary metabolic biomarkers associated with BPD and to determine whether their integration with clinical variables improves early risk prediction.. **Methods:** In this prospective cohort study, urine samples collected from very low birth weight preterm infants at 23–30 weeks of gestation underwent untargeted HPLC–MS-based metabolomic profiling. Differential metabolite abundance was assessed, and multivariable logistic regression was used to develop models integrating metabolic and clinical predictors. Model performance was evaluated using bootstrap internal validation, receiver operating characteristic analysis, decision curve analysis, and a nomogram. **Results:** Among 88 preterm infants, 33 (37.5%) developed BPD. Metabolomic profiling identified two urinary metabolites that differed significantly between groups: Cys–Ser–Met was more abundant, whereas creatinine was less abundant, in infants who developed BPD. After adjustment for sex, birth weight, gestational age, and mechanical ventilation on postnatal day 2, Cys–Ser–Met remained independently associated with BPD (odds ratio per unit increase, 1.10; 95% confidence interval [CI], 1.03–1.17). The final model (M2), which combined Cys–Ser–Met with these clinical variables, demonstrated good discrimination, with an area under the receiver operating characteristic curve of 0.862 (bootstrap-derived 95% CI, 0.775–0.937). At the Youden-derived probability cutoff of 0.347, the model achieved an accuracy of 81.8%, sensitivity of 80.7%, and specificity of 83.9%. At a 0.35 threshold, M2 provided greater net benefit than the clinical-only model and reference strategies, with performance comparable to M4. **Conclusions:** Higher urinary Cys–Ser–Met abundance was independently associated with BPD and improved model discrimination when added to established clinical variables. These findings highlight urinary metabolomics as a potential non-invasive complementary approach to early BPD risk prediction, however, external validation in larger, multicenter cohorts is required before clinical implementation.

Keywords: Bronchopulmonary Dysplasia; Infant, Premature; Metabolomics; Biomarkers; Urine; Risk Factors; Intensive Care Units, Neonatal; Predictive Value of Tests.

Introduction

Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a chronic lung disease in preterm infants, characterized by changes in alveolar development and impaired pulmonary vascular development, resulting in compromised gas exchange and prolonged oxygen dependence. BPD is now recognized as a multifactorial condition resulting from the interaction between extreme pulmonary immaturity, dysregulated inflammation, oxidative stress, and ventilator-associated injury (1,2). The National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) consensus definition expanded the diagnostic framework for BPD by incorporating the need for any form of respiratory support at 36 weeks' postmenstrual age, rather than classification predicated solely on oxygen supplementation (3,4). Although this revision acknowledges the clinical heterogeneity of BPD, it reveals the absence of validated biomarkers that can detect at-risk infants prior to clinical presentation (5–8).

BPD remains one of the most prevalent complications of extreme prematurity, affecting approximately 11 to 50% of infants born before 32 weeks of gestation worldwide, with the highest rates observed in infants with extremely low birth weight (<1000 g). In Brazil, multicenter studies report incidences similar to those of high-income countries, however, regional disparities in access to specialized neonatal care and variability in mortality rates may lead to underestimation of the true disease burden (9,10).

Metabolomics profiling enables a powerful strategy for identifying biomarkers associated in bronchopulmonary dysplasia (BPD), as it allows for the comprehensive identification of low molecular weight metabolites that reflect the biochemical processes involved in the development of the disease. This strategy enables the early detection of metabolic alterations. Recent investigations support this potential, demonstrating that metabolic disorders can be identified before the clinical manifestation of the disease (11–14). Urine is a particularly suitable biofluid because it can be collected non-invasively, remains biochemically stable, and reflects systemic metabolic alterations. These attributes are especially important in extremely preterm infants, in whom repeated blood sampling carries significant clinical risk (11–13).

Therefore, this study aimed to identify urinary metabolites associated with subsequent BPD in very-low-birth-weight preterm infants and to determine whether their integration with established clinical variables improves early risk prediction. We further sought to develop and

internally validate a multivariable model for individualized estimation of BPD risk in this vulnerable population.

Materials and methods

Ethical approval

This study was approved by the Research Ethics Committee of Federal University of Uberlândia (nº2.360.814), and written informed consent was signed from the parents or legal guardians prior to enrollment of their infants.

Study population

This single-center longitudinal study was conducted in a single tertiary-level neonatal intensive care unit between January 2015 and September 2019. Eligible participants were preterm infants with a gestational age between 23 and <30 weeks, birth weight <1500 grams, and no evidence of congenital malformations. Infants who died before 36 postmenstrual weeks or who received a diagnosis of early or late sepsis were excluded. The study population included premature newborns with and without a diagnosis of bronchopulmonary dysplasia (BPD). According to the NICHD consensus definition, BPD in infants < 32 weeks of gestation is defined by the requirement of respiratory support at 36 weeks postmenstrual (3).

Urine Sample Collection and Preparation

Neonatal urine was obtained using a sterile urine collector on the second day after birth. The urine samples were then placed in 1.5 mL microtubes and promptly subjected to centrifugation (3,800 rpm, 5 minutes, at room temperature, 22°C). Subsequently, the supernatant was collected and stored at -80°C until analysis. All samples were processed within a standardized time frame to minimize pre-analytical variability.

Metabolomic analysis

For extraction of metabolites, 1,000 µL of spectroscopic-grade methanol was added to 100 µL of each urine sample. The samples were homogenized and centrifuged for 15 minutes at 13,000 x g. The supernatants of the samples were collected and subsequently evaporated to dryness using Genevac™ miVac Centrifugal Concentrators for 60 minutes. The sample was resuspended in 400 µL of methanol and filtered through a 0.22 micrometer filter.

Metabolite analysis was performed using a high-performance liquid chromatography (HPLC) system coupled to an Agilent Infinity 1260/Q-TOF 6520 B high-resolution mass

spectrometer with an ionization source electrospray instrument. Chromatographic separation was performed using an Agilent Poroshell 120 (2.1×50 mm $2.7 \mu\text{m}$) column. The mobile phase consisted of water acidified with formic acid (0.1% v/v) and methanol under a gradient elution program ranging from 2% to 98% (0–6 min), followed by additional 98% methanol (6–12 min). The ionization parameters included a nebulizer pressure of 20 psi and a drying gas flow rate of 8 L/min at 220°C associated with an energy of 4.5 kV applied to the capillary. The injection volume was 4 μL .

Raw data were processed using MassHunter Qualitative v. 10.0 software. The molecular feature extraction (MFE)' tool was used for the extraction of the mass spectra and conversion to CEF extension (Rodrigues, 2023). Agilent Mass Profiler Professional (MPP) software v. B.13.1.1 was used to filter and analyze the extracted molecular compounds. The filters used were minimum absolute abundance of 5,000 counts and all allowable charge states. Alignment parameters were set to a retention time tolerance of 0.15 min and a mass window of 15 ppm + 2 mDa. Molecular compounds considered were those present in 50% of at least one group. The statistical analyses of the metabolomic analysis data were performed with log₂-transformed values. Differential metabolites were identified using an unpaired t-test with a significance threshold of $p < 0.05$ and a fold change ≥ 2.0 . The metabolites were identified using the METLIN 2019 database and the public databases PubChem and The Human Metabolome Database (HMDB). The data were processed in MassHunter Qualitative v. 07, followed by data alignment using MPP. These data were subsequently exported to a CSV extension. All data processing and additional analysis were conducted using Orange v. 3.36.2 software (a Python 3 programming language associated with artificial intelligence algorithms). A reduction in the number of predictors was conducted using the difference in the expression of metabolites via ANOVA, followed by training artificial intelligence algorithm models (Neural Network, Gradient Boosting, Support Vector Machine, Random Forest, AdaBoost, Stochastic Gradient Descent, K-Nearest Neighbors, Logistic Regression, and Naïve Bayes) were evaluated using a stratified 10-fold cross-validation approach to ensure balanced representation of both classes across folds.

Statistical Analysis

Statistical analyses were conducted to evaluate clinical differences between patient groups (without BPD vs. with BPD). All procedures were performed using GraphPad Prism 8. Data distribution was assessed using the Shapiro–Wilk test. For normally distributed variables,

Student's *t* test was applied, and results are presented as means (standard deviations). Non-normally distributed variables were evaluated using the Mann–Whitney *U* test, with results reported as medians (interquartile ranges). Categorical variables were compared using Fisher's exact test, and values are expressed as counts and percentages relative to the reference group.

Logistic regression models were constructed to investigate the prognostic value of metabolites that remained statistically significant after metabolomics preprocessing. False positives were controlled using the Benjamini–Hochberg false discovery rate, which identified Cys-Ser-Met and creatinine as the only metabolites significantly associated with BPD. For the development of descriptive logistic regression models based on frequentist inference, the following analytic framework was adopted: (1) identification of clinically relevant covariates with potential confounding effects based on the established literature; (2) assessment of their confounding role; (3) evaluation of assumptions for multivariate logistic regression; (4) selection of the most informative model; and (5) assessment of clinical utility.

Because of the limited sample size, the dataset was not partitioned into training and testing subsets, as such splitting would substantially reduce statistical power and produce unstable estimates. Consequently, the analyses of clinical benefit should be interpreted as exploratory and descriptive rather than as externally validated predictive performance. Bootstrap resampling was applied for internal validation and to reduce estimation optimism. Potential confounding variables weight in grams, gender, gestational age, invasive mechanical ventilation on the second day, pre-eclampsia, eclampsia, chorioamnionitis, urinary tract infection, gestational diabetes, preterm labor, premature rupture of membranes, Apgar 5, need for resuscitation in the delivery room, CPAP in the delivery room, surfactant use, nitric oxide, aminophylline, incubator oxygen, and antenatal corticosteroid doses were initially screened through binary logistic regression with a Stepwise Forward selection procedure (entry and retention threshold: $p < 0.05$), with likelihood ratio comparison. The final set of retained variables was weight in grams, gender, and mechanical ventilation on the second day. Gestational age was incorporated into subsequent models regardless of its behavior in the stepwise procedure. Continuous variable distributions were examined visually (histograms, Q–Q plots) and through skewness and kurtosis statistics. Identification of potential confounders followed the classical criterion: variables associated with both the independent variable(s) and the outcome, based on bivariate tests or correlation metrics, were treated as potential confounders.

Pairwise associations between continuous variables were analyzed according to their distributional and relational properties. When data displayed approximate normality, absence of extreme outliers, and linear relationships (verified by scatterplots), Pearson's correlation coefficient was used. If any of these conditions were violated, Spearman's rank correlation was applied, provided that the association remained monotonic. Confidence intervals for correlation coefficients were estimated using BCa bootstrap resampling (1,000 iterations) with a fixed Mersenne–Twister seed (123456) for reproducibility. Bivariate analyses involving one continuous variable and a binary outcome were conducted using Student's *t* test under the assumptions of normality and homogeneity of variances. When heteroscedasticity was detected (Levene's test $p < 0.05$), Welch's *t* test was employed. In cases of non-normality, BCa bootstrap *t* tests ($n = 1000$) were applied; when non-normality was attributable to pronounced skewness, the Mann–Whitney *U* test was preferred. No evidence of confounding effect was detected. Multicollinearity in multivariate models was evaluated using tolerance, variance inflation factor (VIF), and collinearity diagnostics based on the proportion of variance in components with condition indices >15 . Indicators of multicollinearity were defined as: tolerance <0.20 , VIF >5 , and $>50\%$ variance proportion in two or more variables within the same dimension (excluding the constant). No evidence of multicollinearity was observed.

For logistic regression models, the assumption of linearity between continuous predictors and the logit was examined using the Box–Tidwell procedure. Through bivariate analyses, no evidence of confounding was observed between Cys-Ser-Met or creatinine and the clinical covariates retained in the modeling process (weight, sex, gestational age, and mechanical ventilation on the second day). Likewise, no violations of the linearity-in-the-logit assumption were detected. To assess the internal stability of parameter estimates in the multivariable model, BCa bootstrap resampling (1,000 iterations; fixed Mersenne–Twister seed 123456) was performed, providing bias-corrected confidence intervals for all regression coefficients. Overall model fit was assessed using the Hosmer–Lemeshow test ($p > 0.05$ indicating adequate calibration). Competing models were compared using information criteria (AIC, BIC) and the Likelihood Ratio Test (LRT) between nested models, with $p < 0.05$ supporting the model with greater complexity. For each model, predicted probabilities were computed to construct ROC curves, with estimation of the area under the curve (AUC), corresponding confidence intervals, and comparisons across models.

Classification performance was evaluated as the best-fitting model (lowest AIC). The optimal classification threshold was defined using the Youden index. Performance metrics

included accuracy, sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), F1-score, and Cohen’s kappa. Calibration was examined using calibration curves and the Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit test.

To complement the clinical interpretation of the models, Decision Curve Analysis (DCA) was conducted by calculating raw and standardized net benefits for threshold probabilities between 0 and 0.90. DCA was performed using both the standard method (rmda package) and manual computation of net benefit to ensure consistency. Net benefit curves for the model were compared with the “treat all” and “treat none” strategies. When applicable, confidence intervals were estimated via bootstrap resampling. Relative performance was interpreted in terms of net clinical gain across threshold probabilities, including the optimal threshold identified by ROC analysis. Finally, a nomogram was constructed for the final multivariable model to facilitate practical application of the logistic regression results. Internal validation was performed using bootstrap resampling (1,000 iterations), with optimism-corrected estimates reported for AUC, calibration, and discrimination metrics.

The nomogram represents the logistic regression model as a graphical scoring system. Each predictor appears on a dedicated axis; locating the patient’s value on that axis yields a corresponding number of points. The sum of all points produces a total score, which is then converted into the predicted probability of the outcome. This transformation corresponds to the logistic function applied to the model’s Linear Predictor:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(\text{Linear Predictor})}}$$

Thus, the nomogram provides an accessible and intuitive representation of the contribution of each variable to the final estimated risk. In summary, the analysis initially assessed whether clinical variables could confound the associations between the selected metabolites (Cys–Ser–Met and creatinine) and BPD using correlation analyses or tests comparing means or ranks, as appropriate. The assumptions underlying logistic regression were subsequently evaluated. Univariate analyses were performed to examine the association of each metabolite with BPD, followed by multivariable analyses to estimate their independent effects. Four competing models were considered: M1 included clinical variables only; M2 included M1 plus Cys–Ser–Met; M3 included M1 plus creatinine; and M4 included M1 plus both Cys–Ser–Met and creatinine. The final model was selected using likelihood-ratio tests for nested models—all pairwise comparisons except M2 versus M3—together with the Akaike

information criterion (AIC) and Bayesian information criterion (BIC). The stability of the estimates from the best-fitting model was assessed using bootstrap resampling. Predictive performance was evaluated using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, with the optimal cutoff determined by the Youden index. Decision curve analysis was also performed to quantify the model's net clinical benefit across a range of threshold probabilities. Finally, a nomogram was developed to support clinical decision-making. The significance level (α) was set at 0.05 for all analyses.

Results

Maternal and Neonatal Characteristics

A total of 88 preterm infants born at a tertiary referral hospital for high-risk maternal and neonatal care within the Brazilian Unified Health System (SUS) met the eligibility criteria and were included in this prospective cohort study. Of these, 55 infants did not develop bronchopulmonary dysplasia (BPD), whereas 33 developed BPD. Table 1 summarizes the maternal and neonatal characteristics most relevant to BPD development, and baseline characteristics were compared between groups using appropriate statistical tests.

Table 1. Maternal and clinical characteristics of preterm infants with and without BPD

Variable	Without BPD (n = 55)	BPD (n = 33)	P value
Gestational age (weeks) – Median (Max-Min)	28 (29-24)	27 (29-24)	0.001
Gender – Female	46.55%	24.24%	0.035
Birth weight (g) – mean (error measures)	1100 (1500-670)	924 (1495-560)	0.002
Respiratory distress syndrome	94.83%	93.94%	>0.999
Intrauterine growth restriction	12.07%	15.15%	0.75
Surfactant	77.59%	87.88%	0.273

SNAPPE II – Median (Max-Min)	25.5 (71-0)	33 (75-0)	0.041
Chorioamnionitis	10.99%	6.59%	>0,99
Premature rupture of membranes	18,68%	13.19%	0.49

* Median (Max-Min), or percentage.

Metabolomics

A total of 760 metabolites were detected in the urine samples. After applying a prevalence filter requiring detection in at least 75% of samples in either study group, 12 metabolites were retained for comparative analysis.. Statistical analysis, conducted using the unpaired t-test (two-tailed) with a significance threshold of $p < 0.05$ and a fold change ≥ 2 , revealed 2 metabolites that met these prespecified criteria for differential abundance between infants who developed BPD and matched control infants without BPD. The volcano plot integrates effect size, expressed as $\log_2$ fold change, with statistical significance (Figure 1). Of the 12 metabolites evaluated, 10 did not differ significantly between groups, whereas two showed significant differences in relative abundance. Specifically, one metabolite was more abundant and one was less abundant in the BPD group than in the matched control group.

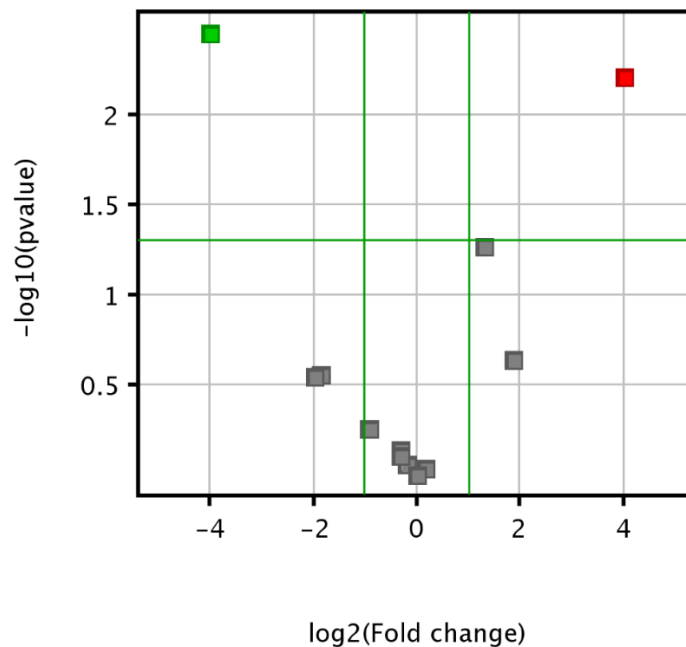


Figure 1. Volcano plot of metabolites differentially expressed in BPD and matched-control with very low birth weight preterm infants. Volcano plots illustrate the number of differentially expressed metabolites, with the most abundant shown in red and the least abundant in green. The metabolites expressed in gray present similar ($p > 0.05$) expression.

Figure 2 presents the sample-level abundance profiles of the two urinary metabolites that met the criteria for differential abundance. Consistent with the volcano plot analysis, Cys–Ser–Met was more abundant in infants who developed BPD, whereas creatinine was less abundant, compared with matched infants without BPD. The heatmap also illustrates interindividual variation in metabolite abundance within each study group.

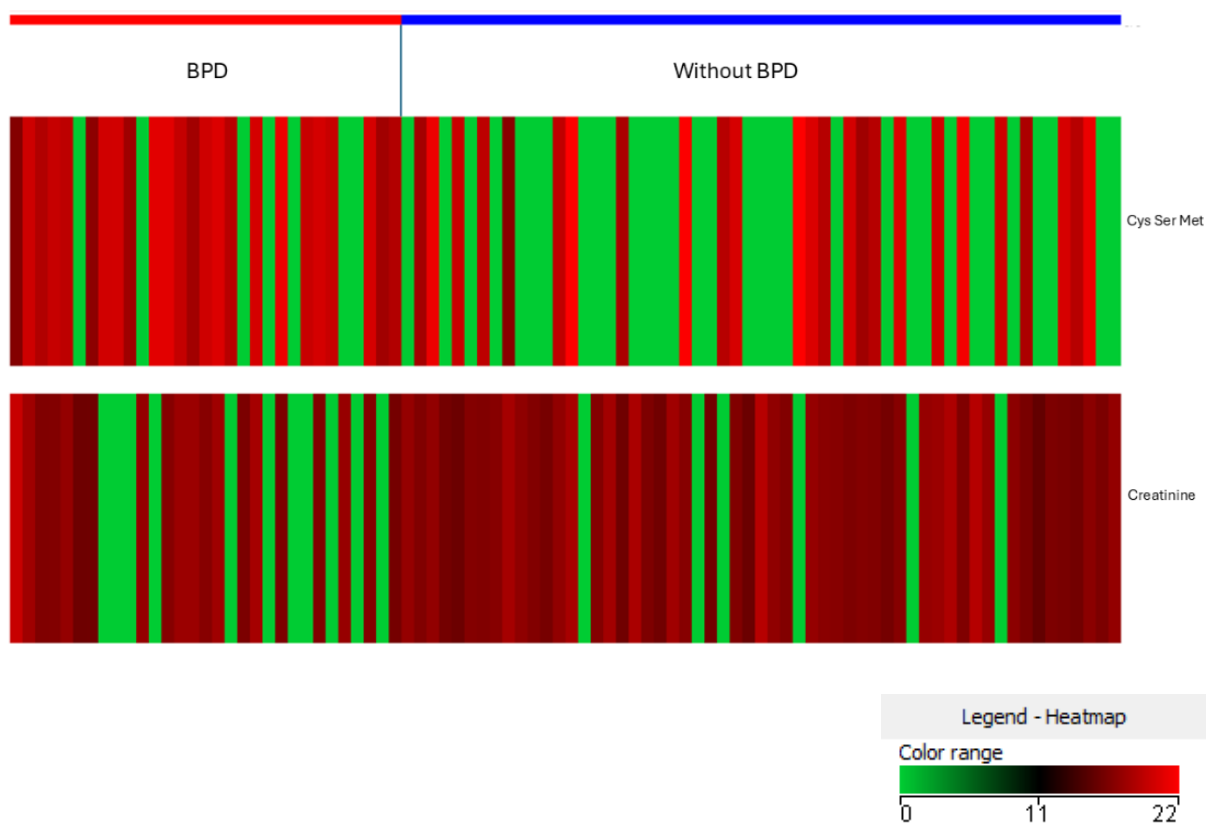
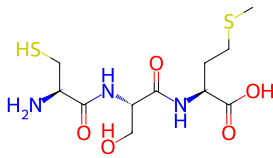
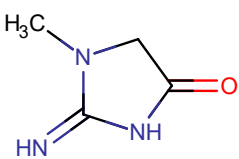


Figure 2. Heatmap of urinary metabolites differentially abundant between very-low-birth-weight preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia (BPD). Columns represent individual infants, and rows represent the two differentially abundant metabolites. Samples are grouped according to BPD status, as indicated by the top annotation bar. The color scale represents relative metabolite abundance, with green indicating lower abundance and red indicating higher abundance. Cys–Ser–Met was more abundant, whereas creatinine was less abundant, in infants with BPD than in matched infants without BPD.

Table 2 summarizes the database identifiers, molecular formulae, monoisotopic molecular weights, chemical structures, and classifications of the two urinary metabolites that differed significantly between very-low-birth-weight preterm infants with and without BPD. Metabolite annotations were compiled from the PubChem database, the Human Metabolome

Database (HMDB) and the Metabolomics Workbench, and cross-referenced using standardized accession numbers to harmonize nomenclature and associated metadata across databases.

Table 2. Database annotations and physicochemical characteristics of urinary metabolites differentially abundant between very-low-birth-weight preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia.

Name [Registration number]	Chemical formula	Monoisotopic Molecular Weight	Chemical structure	Class
Cys-Ser-Met [PubChem145454876 - MW REGNO80968]	$C_{11}H_{21}N_3O_5S_2$	339.0911		Organic acids and derivatives; Carboxylic acids and derivatives; Amino acids, peptides, and analogues; Tripeptides
Creatinine [PubChem137319715 - HMDB00562 - MW REGNO 0028430]	$C_4H_7N_3O$	113.1179		Organic acids and derivatives; Carboxylic acids and derivatives; Amino acids, peptides, and analogues; Tripeptides

Regression models

In the univariate logistic regression models, each one-unit increase in Cys–Ser–Met abundance was associated with 7.4% higher odds of BPD, whereas each one-unit increase in creatinine abundance was associated with 8.3% lower odds of BPD, suggesting a potential inverse association. Female sex was associated with lower estimated odds of BPD than male sex, although this association did not reach statistical significance.

Among the clinical variables, each 1-g increase in birth weight was associated with a 0.3% reduction in the odds of BPD and each additional week of gestational age was associated with a nearly 40% decrease in the odds of BPD. Mechanical ventilation was associated with approximately 3.4-fold higher odds of BPD; however, the reported confidence interval and P value are internally inconsistent and should be verified before this finding is interpreted as

statistically significant. The complete regression and receiver operating characteristic analyses are presented in Table 3.

Table 3. Univariate Analysis of Predictors of Bronchopulmonary Dysplasia

Variable	OR (CI 95%)	p-value	AUC (IC95%)	ROC p-value
Cys Ser Met	1,074 (1.022 – 1.129)	0.005	0.640 (0.522 – 0.758)	0.031
Creatinine	0.917 (0.858 – 0.979)	0.009	0.593 (0.460 – 0.726)	0.151
Gender		0.072	0.599 (0.477 – 0.721)	0.126
Male	1			
Female	0.415 (0.159 – 1.082)			
Mechanical ventilation		0.012	0.643 (0.523 – 0.762)	0.027
No	1			
Yes	3.428 (1.314 – 8.940)			
Weight (grams)	0.997 (0.995 – 0.999)	0.001	0.713 (0.600 – 0.827)	0.001
Gestational age	0.605 (0.446 – 0.820)	0.001	0.705 (0.590 – 0.820)	0.002

Multivariable analysis

Subsequently, three nested multivariable models were fitted. Model 1 (M1) included the clinical variables: sex, birth weight, gestational age, and mechanical ventilation on postnatal day 2). The Model 2 (M2) extended M1 by incorporating Cys-Ser-Met, whereas Model 3 (M3) extended M1 by incorporating creatinine and Model 4 (M4) included both metabolites (Cys-Ser-Met and creatinine). Model fit was compared using the Akaike information criterion (AIC), Bayesian information criterion (BIC), and likelihood-ratio tests (LRTs), when appropriate. The addition of Cys–Ser–Met in M2 significantly improved model fit relative to M1, while the addition of creatinine in M1 did not result in statistically significant improvement in fit over M1, neither in M2. M4 nevertheless showed improved fit relative to M1 (LRT p-values: M1 vs. M2 = 0.003; M1 vs. M3 = 0.056; M2 vs M4 = 0.08; M1 vs. M4 = 0.005), indicating that the improvement was primarily attributable to the inclusion of Cys–

Ser–Met. In fact, and M2 (AIC: 91.2, BIC: 106.12) had a better fit than M3 (AIC: 96.17, BIC: 111.03) and comparable to M4 (AIC: 90.25, BIC: 107.59). These comparisons identified M2 as the preferred model. Adding Cys–Ser–Met to the clinical variables significantly improved model fit, whereas the subsequent addition of creatinine did not provide further significant improvement.

Decision curve analysis (DCA) was performed for models M1–M4 across threshold probabilities ranging from 0.00 to 0.90, using the “treat all” and “treat none” strategies as reference approaches. Bootstrap resampling was used to estimate 95% confidence intervals (1,000 iterations; seed 12345). At the threshold probability of 0.35, which is closely aligned to the prevalence of BPD in the population used for the DCA,, the M2 model demonstrated clinically meaningful performance, yielding a raw net benefit of 0.228 (95% CI: 0.098–0.331) and a standardized net benefit of 0.647 (95% CI: 0.277–0.940). At this threshold, M2 provided greater net benefit than M1 and the two reference strategies, although its advantage over M3 was modest.

A raw net benefit of 0.228 corresponds to the equivalent of 22.8 net true-positive classifications per 100 infants, after weighting false-positive classifications according to the selected threshold probability. The standardized net benefit indicates that the model achieves 64.7% of the maximum attainable clinical benefit, clearly surpassing the alternative strategies. The “treat all” strategy provided positive net benefit only at lower threshold probabilities and approached zero near the observed event prevalence; above this point, its net benefit became negative. The decision curves for M1–M4 are shown in Figure 3.

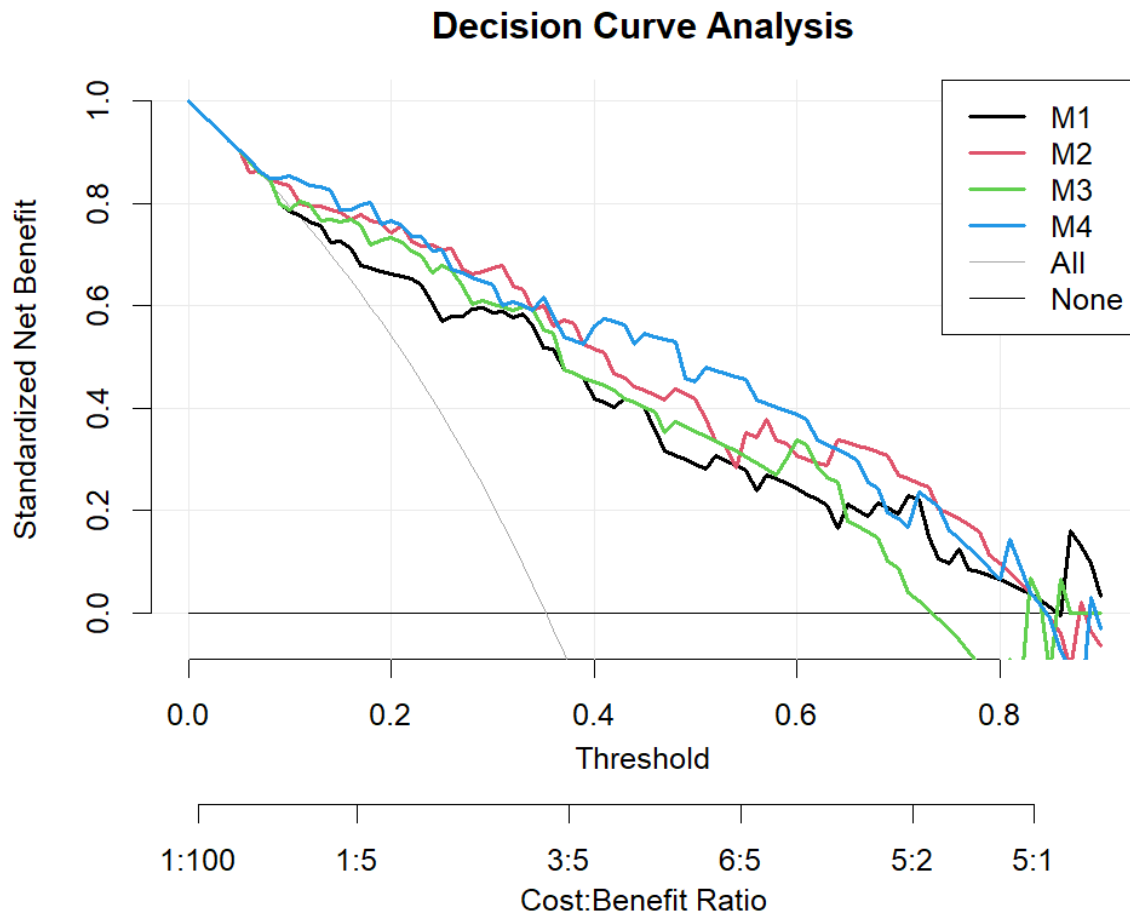


Figure 3. Decision curve analysis of models M1–M4 for bronchopulmonary dysplasia. Standardized net benefit is plotted across threshold probabilities from 0.00 to 0.90. The black, red, green and blue curves represent M1, M2, M3 and M4, respectively; the gray curves represent the “treat all” and “treat none” reference strategies.

Standardized net benefit was assessed across threshold probabilities between 0.0 to 0.90. Compared with the clinical-only model (M1, black), models M2 (red) and M3 (green) showed consistently higher net benefit, supporting improved clinical decision-making across a wide range of thresholds. The “treat all” (dark grey) and “treat none” (light grey) strategies perform as expected, with the latter yielding zero net benefit. Overall, M2 showed improved performance relative to M1 and performed comparably to M4 while including one fewer predictors.

In the final multivariable model (M2), which demonstrated adequate calibration (Hosmer–Lemeshow $p = 0.295$), Cys-Ser-Met remained an independent risk factor for BPD,

with an estimated 9.7% increase in the odds per unit. Higher birth weight continued to show a protective association, corresponding to a reduction of approximately 0.4% in risk for each additional gram. Female sex was independently associated with markedly lower risk of BPD, corresponding to an approximately 81% reduction in odds compared with males, while gestational age did not remain statistically significant after multivariable adjustment. Mechanical ventilation on the second day persisted as a strong clinical predictor, with infants requiring ventilatory support presenting more than a sixfold increase in the odds of BPD. All adjusted estimates are summarized in Table 4.

Bootstrap resampling (1,000 iterations) was performed to assess the stability and internal validity of the parameter estimates in the final model (M2). The bootstrap results were consistent with the original estimates, reinforcing the robustness of the model. Cys-Ser-Met showed a stable positive association, with a bias-corrected 95% confidence interval (BCa 95% CI: 0.005 to 0.319), confirming its independent contribution to BPD risk. Birth weight also demonstrated a reproducible protective effect, with the bootstrap interval remaining entirely below zero (BCa 95% CI: -0.009 to -0.002). Female sex retained a significant protective association (BCa 95% CI: -3.403 to -0.758), and mechanical ventilation on the second day continued to be the most influential predictor, showing a consistently elevated effect across resamples (BCa 95% CI: 0.225 to 9.297). In contrast, gestational age exhibited wide bootstrap intervals crossing zero (BCa 95% CI: -0.580 to 0.880), confirming the loss of statistical significance observed in the adjusted model.

Table 4. Multivariable Analysis of Predictors of Bronchopulmonary Dysplasia

Variable	OR (CI 95%)	p-value
Intercept	4.516	0.805
Cys Ser Met	1.097 (1.025 – 1.174)	0.007
Gender		0.011
Male	1	
Female	0.188 (0.052 – 0.681)	
Mechanical ventilation		0.005
No	1	

	Yes	6.224 (1.714 – 22.598)	
Weight (grams)		0.996 (0.992 – 0.999)	0.010
Gestational age		1.032 (0.628 – 1.697)	0.900

The final model (M2) showed an interesting discriminatory performance, with an AUC of 0.862 (bootstrap-derived 95% CI: 0.775–0.937) (Figure 4). The optimal probability cutoff, determined using the Youden index was 0.347. At this cutoff, the model achieved an overall accuracy of 0.8182, with a sensitivity of 0.8070 and a specificity of 0.8387, indicating balanced discrimination between infants with and without BPD. The positive predictive value was 0.9020, whereas the negative predictive value was 0.7027. The model yielded an F1 score of 0.8519, reflecting the balance between positive predictive value and sensitivity, and a kappa coefficient of 0.6184, evidencing substantial agreement beyond chance.

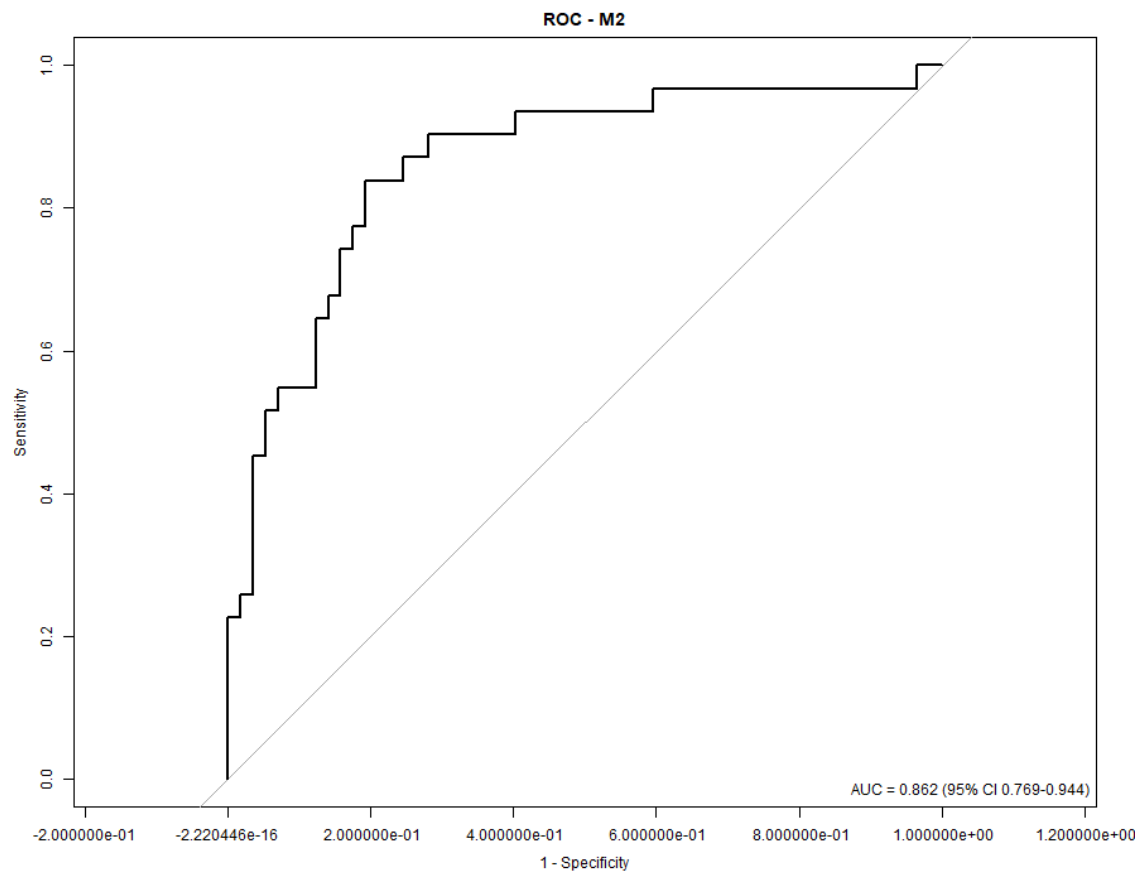


Figure 4. Receiver operating characteristic curve for the final multivariable logistic regression model (M2) for bronchopulmonary dysplasia. The curve shows the sensitivity and 1 –

specificity of M2 across classification thresholds. The diagonal line represents discrimination equivalent to chance.

Lastly, a nomogram was developed for the final multivariable model (M2) to facilitate patient-level estimation of the probability of BPD (Figure 5). The nomogram assigns a point value to each predictor—sex, gestational age, birth weight, mechanical ventilation on postnatal day 2, and urinary Cys–Ser–Met abundance. For an individual infant, the points corresponding to each predictor are summed, and the total score is then mapped to the estimated probability of BPD. Lower birth weight contributed the largest proportion of the total score, followed by Cys–Ser–Met abundance, mechanical ventilation on postnatal day 2, sex, and gestational age.

Internal validation was performed using 1,000 bootstrap resamples (R, seed 12345), with optimism correction estimates applied to global performance metrics (AUC and calibration). The bootstrap results demonstrated stable coefficients and good internal validity. Visual inspection of the nomogram further reinforces the predominance of birth weight as the leading contributor to risk estimation, followed sequentially by the metabolite, mechanical ventilation, and sex.

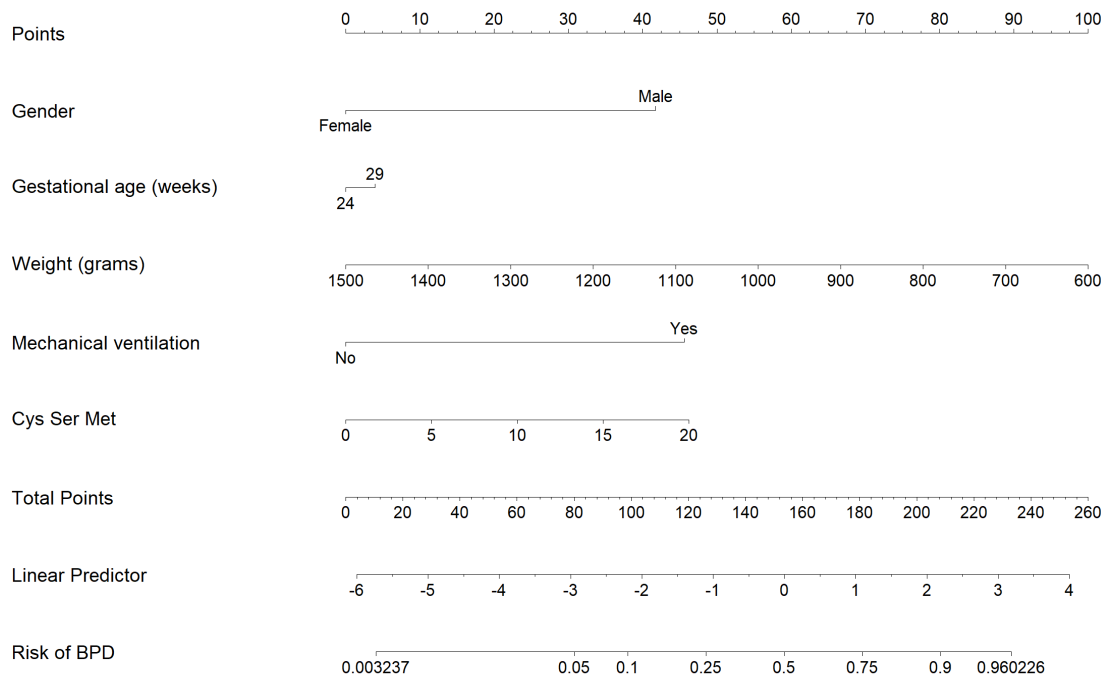


Figure 5. Nomogram for estimating the individual probability of bronchopulmonary dysplasia based on the final multivariable logistic regression model (M2). For each infant, the value of each predictor is located on its corresponding axis and projected vertically to the “Points” scale. The assigned points are summed on the “Total Points” axis and then mapped to the corresponding estimated probability of BPD.

The nomogram assigns point values to each predictor (birth weight, Cys-Ser-Met, mechanical ventilation on the second day, sex, and gestational age) according to their estimated contribution to the model. The predictor-specific points are summed to obtain a total score, which is mapped to the model’s linear predictor and converted into a model-estimated probability of BPD using the logistic function. Internal validation with 1,000 bootstrap resamples (seed 12345) demonstrated good coefficient stability and adequate calibration, supporting the reliability of individualized predictions generated from the nomogram. However, it does not establish the accuracy of individual predictions in external populations.

For each profile, the model’s linear predictor and corresponding probability of BPD were calculated. To estimate an individual patient's total score, sum the points corresponding to the observed value of each predictor. The total score can then be converted into a predicted risk of BPD using the nomogram's Total Points-to-Risk axis (Table 5). These hypothetical cases,

analyzed alongside the real cohort, allowed systematic exploration of the model's response to incremental changes in key predictors. As expected, predicted risk increased sharply with lower birth weight, higher metabolite levels, and need for mechanical ventilation, while sex and gestational age contributed more modest but consistent shifts. This combined dataset ensured coherent structure between real and simulated observations, facilitating direct comparison and reinforcing the interpretability and clinical usability of the nomogram.

Table 5. Points assigned to each predictor in the nomogram for estimating the risk of bronchopulmonary dysplasia (BPD).

Predictor	Value / Category	Points
Gender	Male	41.7
	Female	0.0
Gestational age (weeks)	24	0.0
	25	0.8
	26	1.6
	27	2.4
	28	3.2
	29	4.0
Weight (g)	600	100.0
	700	88.9
	800	77.8
	900	66.7
	1000	55.6
	1100	44.4
	1200	33.3
	1300	22.2
	1400	11.1
	1500	0.0
Mechanical ventilation	No	0.0
	Yes	45.6
Cys-Ser-Met score	0	0.0
	5	11.6
	10	23.1
	15	34.7
	20	46.2

Subgroup fairness was assessed by comparing the sensitivity and specificity of the final model (Youden-based threshold) according to sex and mechanical ventilation status. Before threshold adjustment, sensitivity was higher in males than in females (0.91 vs. 0.63), whereas specificity was higher in females than in males (0.89 vs. 0.74). Ventilated patients showed higher sensitivity but lower specificity than non-ventilated patients (0.87 vs. 0.75 and 0.69 vs. 0.90, respectively). An equal-opportunity post-processing procedure was then applied by selecting subgroup-specific thresholds to approximate the sensitivity of the overall model (Youden index = 0.839). The target sensitivity was not achieved in any subgroup. Therefore, the subgroup-specific Youden-optimal threshold was retained where necessary.

After threshold adjustment, the sensitivity difference between males and females remained unchanged (0.29 before and after adjustment), whereas specificity changed from 0.74 to 0.68 in males and from 0.89 to 0.96 in females. For mechanical ventilation status, the sensitivity difference decreased from 0.12 to 0.05, and specificity changed from 0.90 to 0.84 in non-ventilated patients and from 0.69 to 0.77 in ventilated patients.

Discussion

In this prospective cohort of very-low-birth-weight preterm infants, urinary metabolomic profiling performed on postnatal day 2 identified Cys–Ser–Met and creatinine as differentially abundant in infants who subsequently developed BPD. Cys–Ser–Met was more abundant, whereas creatinine was less abundant, in the BPD group; however, only Cys–Ser–Met provided significant incremental information beyond sex, gestational age, birth weight, and mechanical ventilation on postnatal day 2. The resulting model showed good discrimination (AUC, 0.862; bootstrap-derived 95% CI, 0.775–0.937), with 80.7% sensitivity, 83.9% specificity, and greater net benefit than the clinical-only model and reference strategies. These findings indicate that urinary Cys–Ser–Met may complement routinely available clinical variables for early BPD risk estimation, although external validation is required before clinical implementation. The increased urinary levels of the tripeptide L-cysteine–L-seryl–L-methionine (Cys–Ser–Met) observed in patients who developed bronchopulmonary dysplasia (BPD) may reflect a state of persistent pulmonary and systemic oxidative stress, a hallmark of this condition, particularly in preterm infants exposed to prolonged mechanical ventilation (15–18). Metabolomic studies applied to neonatal lung diseases and experimental models of ventilation-induced lung injury have consistently demonstrated significant dysregulation of

metabolic pathways related to sulfur-containing amino acids, especially those involving cysteine and methionine, in settings of chronic inflammation, oxidative damage, and pulmonary remodeling (13,19–21).

Cysteine plays a central role in maintaining cellular redox balance through its contribution to glutathione synthesis, whereas methionine participates in methylation reactions and antioxidant responses mediated by the methionine–homocysteine cycle. In this context, the increased detection of a tripeptide containing these amino acid residues in urine may represent a downstream product of enhanced proteolytic activity, oxidation of sulfur-containing residues, or adaptive metabolic responses to sustained oxidative stress (19,22–24). Although specific tripeptides are rarely described as classical urinary metabolites, evidence from untargeted metabolomics indicates that low–molecular-weight peptides can emerge as indirect biomarkers of tissue injury and metabolic dysfunction in chronic and inflammatory pulmonary diseases (25,26).

In contrast, the elevation of urinary creatinine observed in non-dysplastic patients suggests a more stable metabolic profile, potentially reflecting greater renal maturity, better hemodynamic preservation, and a lower systemic impact of oxidative stress. In critically ill neonates, urinary creatinine has been used not only as an indirect marker of glomerular filtration but also as an indicator of overall catabolic status and global metabolic homeostasis (27,28). Taken together, the association between elevated urinary Cys–Ser–Met levels in dysplastic patients and higher urinary creatinine levels in non-dysplastic infants supports the hypothesis that BPD is associated with a urinary metabolic signature consistent with increased proteolytic activity, redox imbalance, and adaptive metabolic reprogramming in response to chronic lung injury, whereas infants without BPD maintain a metabolic profile closer to physiological homeostasis.

To test the prognostic value of these metabolites, nested logistic regression models were developed to identify the incremental gain in BPD classification compared to models containing only well-known clinical variables (29,30). Through these, it was possible to identify that only Cys-Ser-Met has independent prognostic value, in addition to gender, birth weight, and administration of mechanical ventilation on the second day. Through the nomograms, it was possible to identify that very high concentrations of Cys-Ser-Met have a value similar to that of mechanical ventilation administration and slightly higher than that of the male gender - both important risk factors for BPD - highlighting its important prognostic value. To our knowledge,

this is the first study to show the importance of urinary Cys-Ser-Met, in association with clinical variables, for the prognosis of BPD.

The model obtained presented very good classification indices, with accuracy, sensitivity, specificity, and positive predictive value greater than 80%, and even a high F1-score, indicating that the model can classify true positives well. In fact, through decision curve analysis, the model manages to reasonably increase the number of true positives compared to classifying all as BPD from a threshold established in the sample's own BPD incidence (approximately 35%), by an additional 23 per 100 children. However, studies show that the incidence of BPD in very low birth weight preterm neonates (less than 1.5 kg) varies from 20-60%, and can reach 89%, situations in which the model would be far superior in classifying BPD (31–33).

Despite the advantages of our model, the low global threshold for BPD classification (34.7% probability) imposes inherent limitations on risk prediction for certain subgroups. For female infants, despite sex being protective, eight infants in the cohort still developed BPD. Hypothetical scenarios indicate that a girl only reaches the high-risk zone (above the Youden threshold) under extreme clinical conditions: gestational age ≤ 24 –25 weeks, birthweight ≤ 700 g, mechanical ventilation on day 2, and elevated Cys-Ser-Met levels (≥ 1.0 –1.5). Milder combinations generally place female infants in the low-to-moderate risk range, highlighting a bottleneck where the model may underestimate risk for severely ill girls. Similarly, infants who did not receive mechanical ventilation can surpass the threshold only under specific circumstances: very low gestational age (≤ 24 –25 weeks), low birthweight (≤ 700 g), and extremely high Cys-Ser-Met values (~ 20 –22 on the nomogram scale). The absence of mechanical ventilation strongly limits the predicted probability, making non-ventilated infants prone to underestimation of risk, even when other adverse factors are present.

These patterns also illustrate the limitations of post-hoc threshold adjustment. In our cohort, subgroup-specific threshold optimization did not eliminate the disparity in sensitivity between males and females, although it reduced the sensitivity gap according to mechanical ventilation status. These findings should be interpreted cautiously because the analysis was based on a small overall sample ($N = 88$), with subgroup sizes ranging from 34 to 54 participants and fewer than 10 outcome events in some subgroups. Under these conditions, equal-opportunity post-processing could not reproduce the target sensitivity across all groups, limiting its ability to achieve comparable classification performance. Although the nomogram showed

promising performance after internal validation, its applicability is currently limited to populations comparable to the study cohort. External validation, independent calibration assessment, and prospective evaluation of clinical utility are required before routine implementation in neonatal care.

To further examine potential heterogeneity in model performance, we conducted exploratory inverse probability weighting (IPW) analyses stratified by sex and mechanical ventilation status (data not shown). Because mechanical ventilation is a clinical predictor rather than a protected attribute, analyses by ventilation status were interpreted as subgroup robustness assessments rather than formal evaluations of algorithmic fairness. Although weighting reduced differences in classification metrics across subgroups, it also attenuated the estimated contributions of sex and mechanical ventilation in the logistic regression models and corresponding nomograms. This trade-off illustrates the instability of fairness-aware modeling in small datasets, in which weighting may reduce the effective sample size, increase variance, and diminish the apparent contribution of clinically relevant predictors. Interpretation is further limited by the single-center design, modest cohort size, small subgroup counts, absence of external validation, and the exploratory nature of analyses conducted within the model-development cohort. Nevertheless, this work provides an initial framework for integrating metabolic and clinical information while explicitly considering subgroup performance in very-low-birth-weight preterm infants, a clinically vulnerable population in whom equitable and individualized early risk assessment remains particularly challenging. Urinary Cys–Ser–Met was independently associated with subsequent bronchopulmonary dysplasia after adjustment for sex, birth weight, gestational age, and mechanical ventilation on postnatal day 2. Its addition to routinely available clinical variables improved model performance, yielding good discrimination and greater net benefit than the clinical-only model. These findings support Cys–Ser–Met as a potential noninvasive marker for early BPD risk estimation; however, the single-center design, modest sample size, and internal validation limit immediate clinical applicability. Larger multicenter studies with external validation are required to confirm the reproducibility, calibration, and clinical utility of this metabolite-informed model.

Author contributions

C.P.N., V.O.S.A., D.M.L.M.F., V.M.G.O.A., L.R.G.† and R.S.S., conceived and designed the study; C.P.N., M.S.B., M.G.G.T., C.A.L., P.L.S.P., K.L.S.Z. and B.L.V.F.G.R., data collect;

D.C.C., M.M.M. and R.S.S, standardization of the method; M.S.B. and M.G.V, performed the experiments; C.P.N., M.S.B., D.C.C., F.A.C.D.L. and M.G.C. analysed the data; L.R.G.† and R.S.S., resource; C.P.N., M.G.V., D.C.C., D.M.L.M.F., V.M.G.O.A., F.A.C.D.L. and R.S.S., contributed to the manuscript's drafting. All authors reviewed the manuscript.

Additional Information

The authors declare no competing financial interests.

References

1. Northway WH, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med*. 1967 Feb 16;276(7):357–68.
2. Lignelli E, Palumbo F, Myti D, Morty RE. Recent advances in our understanding of the mechanisms of lung alveolarization and bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. 2019 Dec 1;317(6):L832–87.
3. Higgins RD, Jobe AH, Koso-Thomas M, Bancalari E, Viscardi RM, Hartert TV, et al. Bronchopulmonary Dysplasia: Executive Summary of a Workshop. *J Pediatr*. 2018 June;197:300–8.
4. Jensen EA, Dysart K, Gantz MG, McDonald S, Bamat NA, Keszler M, et al. The Diagnosis of Bronchopulmonary Dysplasia in Very Preterm Infants. An Evidence-based Approach. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Sept 15;200(6):751–9.
5. Gilfillan M, Bhandari A, Bhandari V. Diagnosis and management of bronchopulmonary dysplasia. *BMJ*. 2021 Oct 20;375:n1974.
6. Bancalari E, Jobe AH. Workshop on Bronchopulmonary Dysplasia (BPD) - Office of Rare Diseases [Internet]. 2000 [cited 2018 Nov 28]. Available from: <https://rarediseases.info.nih.gov/asp/html/conferences/conferences/broncho20000601.html>
7. Jobe AH, Steinhorn R. Can We Define Bronchopulmonary Dysplasia? *J Pediatr*. 2017 Sept;188:19–23.
8. Aoyama BC, Rice JL, McGrath-Morrow SA, Collaco JM. Mortality in Outpatients with Bronchopulmonary Dysplasia. *J Pediatr*. 2021 Oct 6;S0022-3476(21)00958-6.
9. Ambalavanan N, Van Meurs KP, Perritt R, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Stevenson DK, et al. Predictors of Death or Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants with Respiratory Failure. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. 2008 June;28(6):420–6.
10. Thébaud B, Goss KN, Laughon M, Whitsett JA, Abman SH, Steinhorn RH, et al. Bronchopulmonary dysplasia. *Nat Rev Dis Primer*. 2019 Nov 14;5(1):78.

11. Guo Y, Liu Y, Zhang R, Xu S, Guo X, Yu Z, et al. Analysis of variable metabolites in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta-analysis. *Ital J Pediatr*. 2024 Nov 14;50(1):246.
12. Fanos V, Pintus MC, Lussu M, Atzori L, Noto A, Stronati M, et al. Urinary metabolomics of bronchopulmonary dysplasia (BPD): preliminary data at birth suggest it is a congenital disease. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2014 Oct;27 Suppl 2:39–45.
13. Lal CV, Bhandari V, Ambalavanan N. Genomics, microbiomics, proteomics, and metabolomics in bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol*. 2018 Nov 1;42(7):425–31.
14. Piersigilli F, Bhandari V. Metabolomics of bronchopulmonary dysplasia. *Clin Chim Acta*. 2020 Jan 1;500:109–14.
15. Whidden MA, Smuder AJ, Wu M, Hudson MB, Nelson WB, Powers SK. Oxidative stress is required for mechanical ventilation-induced protease activation in the diaphragm. *J Appl Physiol*. 2010 May;108(5):1376–82.
16. Ambalavanan N, Deutsch G, Pryhuber G, Travers CP, Willis KA. The Evolving Pathophysiology of Bronchopulmonary Dysplasia. *Physiol Rev*. 2026 Jan 1;106(1):197–237.
17. Capasso L, Vento G, Loddo C, Tirone C, Iavarone F, Raimondi F, et al. Oxidative Stress and Bronchopulmonary Dysplasia: Evidences From Microbiomics, Metabolomics, and Proteomics. *Front Pediatr*. 2019;7:30.
18. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary Dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 June;163(7):1723–9.
19. Kimble A, Robbins ME, Perez M. Pathogenesis of Bronchopulmonary Dysplasia: Role of Oxidative Stress from ‘Omics’ Studies. *Antioxidants*. 2022 Dec;11(12):2380.
20. Nojima Y, Takeda Y, Maeda Y, Bamba T, Fukusaki E, Itoh MN, et al. Metabolomic analysis of fibrotic mice combined with public RNA-Seq human lung data reveal potential diagnostic biomarker candidates for lung fibrosis. *FEBS Open Bio*. 2020 Oct 5;10(11):2427–36.
21. Zheng H, Zhang L, Wang C, Wang Y, Zeng C. Metabolic dysregulation in pulmonary fibrosis: insights into amino acid contributions and therapeutic potential. *Cell Death Discov*. 2025 Aug 27;11(1):411.
22. Panayiotidis MI, Stabler SP, Allen RH, Pappa A, White CW. Oxidative stress-induced regulation of the methionine metabolic pathway in human lung epithelial-like (A549) cells. *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen*. 2009 Mar 31;674(1):23–30.
23. Lu SC. REGULATION OF GLUTATHIONE SYNTHESIS. *Mol Aspects Med*. 2009;30(1–2):42–59.
24. Fujii J, Osaki T, Soma Y, Matsuda Y. Critical Roles of the Cysteine–Glutathione Axis in the Production of γ -Glutamyl Peptides in the Nervous System. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr 28;24(9):8044.

25. Vo DK, Trinh KTL. Emerging Biomarkers in Metabolomics: Advancements in Precision Health and Disease Diagnosis. *Int J Mol Sci*. 2024 Dec 8;25(23):13190.
26. Wishart DS. Advances in Metabolite Identification. *Bioanalysis*. 2011 Aug 1;3(15):1769–82.
27. Kuo J, Akison LK, Chatfield MD, Trnka P, Moritz KM. Serum and urinary biomarkers to predict acute kidney injury in premature infants: a systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Nephrol*. 2022;35(8):2001–14.
28. Erez DL, Denburg MR, Afolayan S, Jodele S, Wallace G, Davies SM, et al. Acute Kidney Injury in Children after Hematopoietic Cell Transplantation Is Associated with Elevated Urine CXCL10 and CXCL9. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020 July;26(7):1266–72.
29. Sucasas Alonso A, Pérttega Diaz S, Sáez Soto R, Avila-Alvarez A. Epidemiology and risk factors for bronchopulmonary dysplasia in preterm infants born at or less than 32 weeks of gestation. *An Pediatr*. 2022 Mar;96(3):242–51.
30. Ding L, Wang H, Geng H, Cui N, Huang F, Zhu X, et al. Prediction of Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants Using Postnatal Risk Factors. *Front Pediatr*. 2020 June 26;8:349.
31. Siffel C, Kistler KD, Lewis JFM, Sarda SP. Global incidence of bronchopulmonary dysplasia among extremely preterm infants: a systematic literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2021 June 3;34(11):1721–31.
32. Kardum D, Filipović-Grčić B, Müller A, Dessardo S. Incidence and risk factors for moderate and severe bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants in two Croatian perinatal regions – a retrospective cohort study. *J Pediatr Neonatal Individ Med JPNIM*. 2019 Apr 30;8(1):e080129–e080129.
33. Aleem S, Greenberg RG. The Complex Challenge of Defining Bronchopulmonary Dysplasia. *Pediatrics*. 2025 Oct 14;156(5):e2025073156.

Referências Bibliográficas

ALDANA-AGUIRRE, Jose C. *et al.* Less invasive surfactant administration versus intubation for surfactant delivery in preterm infants with respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis. 1 jan. 2017.

ÁLVAREZ-FUENTE, María *et al.* The economic impact of prematurity and bronchopulmonary dysplasia. **European Journal of Pediatrics**, v. 176, n. 12, p. 1587–1593, dez. 2017.

AMBALAVANAN, Namasivayam *et al.* The Evolving Pathophysiology of Bronchopulmonary Dysplasia. **Physiological reviews**, v. 106, n. 1, p. 197–237, 1 jan. 2026.

AOYAMA, Brianna C. *et al.* Mortality in Outpatients with Bronchopulmonary Dysplasia. **The Journal of Pediatrics**, p. S0022- 3476(21)00958–6, 6 out. 2021.

ASKENAZI, David J. *et al.* Acute Kidney Injury Urine Biomarkers in Very Low-Birth-Weight Infants. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN**, v. 11, n. 9, p. 1527–1535, 7 set. 2016.

BAKER, Matthew J. *et al.* Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. **Nature protocols**, v. 9, n. 8, p. 1771–1791, ago. 2014.

BALANY, Jherna; BHANDARI, Vineet. Understanding the Impact of Infection, Inflammation, and Their Persistence in the Pathogenesis of Bronchopulmonary Dysplasia. **Frontiers in Medicine**, v. 2, 21 dez. 2015.

BARALDI, Eugenio; FILIPPONE, Marco. Chronic Lung Disease after Premature Birth. **New England Journal of Medicine**, v. 357, n. 19, p. 1946–1955, 8 nov. 2007.

BASSLER, Dirk *et al.* Early Inhaled Budesonide for the Prevention of Bronchopulmonary Dysplasia. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 16, p. 1497–1506, 15 out. 2015.

BAUD, Olivier *et al.* Effect of early low-dose hydrocortisone on survival without bronchopulmonary dysplasia in extremely preterm infants (PREMILOC): a double-blind, placebo-controlled, multicentre, randomised trial. **The Lancet**, v. 387, n. 10030, p. 1827–1836, 30 abr. 2016.

BOOST II, United Kingdom, Australia, and New Zealand Collaborative Groups. Oxygen Saturation and Outcomes in Preterm Infants. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 22, p. 2094–2104, 30 maio 2013.

BOSSI, Lucrecia *et al.* Late preterm newborn: follow-up recommendations. **Archivos Argentinos De Pediatría**, v. 120, n. 6, p. S88–S94, dez. 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Atenção a saúde do recém- nascido: guia para os profissionais de saúde**. 2ª ed. Brasília: Ms, 2014. v. 1

BRASIL, Ministério da Saúde. **Atenção humanizada ao recém-nascido: método canguru: manual técnico**. 3ª ed. Brasília: Ms, 2017.

CALTHORPE, Rebecca J. *et al.* Complex roles of TGF- β signaling pathways in lung development and bronchopulmonary dysplasia. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 324, n. 3, p. L285–L296, 1 mar. 2023.

CAPASSO, Letizia *et al.* Oxidative Stress and Bronchopulmonary Dysplasia: Evidences From Microbiomics, Metabolomics, and Proteomics. **Frontiers in Pediatrics**, v. 7, p. 30, 2019.

CERISOLA, Alfredo; BALTAR, Federico. [Neurological consequences of prematurity]. **Medicina**, v. 83 Suppl 4, p. 18–24, set. 2023.

CHEONG, Jeanie L. Y.; DOYLE, Lex W. An update on pulmonary and neurodevelopmental outcomes of bronchopulmonary dysplasia. **Seminars in Perinatology**, v. 42, n. 7, p. 478–484, 1 nov. 2018.

CHHABRA, Divya *et al.* Time-Series Machine Learning for Prediction of Bronchopulmonary Dysplasia. **The Journal of Pediatrics**, v. 292, 1 maio 2026.

CHO, Hye-Youn *et al.* Prospective epigenome and transcriptome analyses of cord and peripheral blood from preterm infants at risk of bronchopulmonary dysplasia. **Scientific Reports**, v. 13, p. 12262, 28 jul. 2023.

COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN *et al.* Respiratory Support in Preterm Infants at Birth. **Pediatrics**, v. 133, n. 1, p. 171–174, 1 jan. 2014.

COOLS, Filip; OFFRINGA, Martin; ASKIE, Lisa M. Elective high frequency oscillatory ventilation versus conventional ventilation for acute pulmonary dysfunction in preterm infants - Cools, F - 2015 | Cochrane Library. 19 mar. 2015.

DASTGHEIB, Seyed Alireza *et al.* Decoding bronchopulmonary dysplasia in premature infants through an epigenetic lens. **Frontiers in Medicine**, v. 12, p. 1531169, 2025.

DE-MIR-MESSA, Inés *et al.* Development of Lung Function in Preterm Infants During the First Two Years of Life. **Archivos de Bronconeumología**, v. 58, n. 3, p. 237–245, 1 mar. 2022.

DI SANTO, Riccardo *et al.* Machine Learning-Assisted FTIR Analysis of Circulating Extracellular Vesicles for Cancer Liquid Biopsy. **Journal of Personalized Medicine**, v. 12, n. 6, p. 949, 10 jun. 2022.

DING, Yueqin; CHEN, Zhifeng; LU, Yanling. Vitamin A supplementation prevents the bronchopulmonary dysplasia in premature infants. **Medicine**, v. 100, n. 3, p. e23101, 22 jan. 2021.

DOYLE, Lex W. *et al.* Late (> 7 days) systemic postnatal corticosteroids for prevention of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants - Doyle, LW - 2017 | Cochrane Library. 24 out. 2017.

DOYLE, Lex W.; MAINZER, Rheanna; CHEONG, Jeanie L. Y. Systemic Postnatal Corticosteroids, Bronchopulmonary Dysplasia, and Survival Free of Cerebral Palsy. **JAMA Pediatrics**, v. 179, n. 1, p. 65–72, jan. 2025.

DUNN, Warwick B. *et al.* Systems level studies of mammalian metabolomes: the roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 1, p. 387–426, 15 dez. 2010.

EBSERH, Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares. **Prematuridade – uma questão de saúde pública: como prevenir e cuidar — Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares.** Disponível em: <<https://www.gov.br/ebserh/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-nordeste/huab-ufrn/comunicacao/noticias/prematuridade-2013-uma-questao-de-saude-publica-como-prevenir-e-cuidar>>. Acesso em: 23 dez. 2025.

FANOS, Vassilios *et al.* Urinary metabolomics of bronchopulmonary dysplasia (BPD): preliminary data at birth suggest it is a congenital disease. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 27, n. sup2, p. 39–45, 1 out. 2014.

FERRANTE, Giuliana *et al.* Antioxidants: Role the in prevention and treatment of bronchopulmonary dysplasia. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 42, p. 53–58, 1 jun. 2022.

FIGUERAS-ALOY, Josep *et al.* Comparative analysis of foetal and neonatal growth curves. **Anales de Pediatría (English Edition)**, v. 100, n. 5, p. 333–341, maio 2024.

FREITAS, Brunnella Alcantara Chagas de *et al.* Prevalence and factors associated with bronchopulmonary dysplasia in a referral hospital in Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira De Terapia Intensiva**, v. 24, n. 2, p. 179–183, jun. 2012.

GILFILLAN, Margaret A.; KILADEJO, Adedapo; BHANDARI, Vineet. Current and Emerging Therapies for Prevention and Treatment of Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants. **Pediatric Drugs**, 15 maio 2025.

GILFILLAN, Margaret; BHANDARI, Anita; BHANDARI, Vineet. Diagnosis and management of bronchopulmonary dysplasia. **BMJ**, v. 375, p. n1974, 20 out. 2021.

GUINSBURG, Ruth; ALMEIDA, Maria. **Reanimação do recém-nascido <34 semanas em sala de parto: diretrizes 2022 da Sociedade Brasileira de Pediatria.** [S.l.]: Sociedade Brasileira de Pediatria, 2022.

HARTLING, Lisa; LIANG, Yuanyuan; LACAZE-MASMONTEIL, Thierry. Chorioamnionitis as a risk factor for bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta-analysis. 1 jan. 2012.

HIGGINS, Rosemary D. *et al.* Bronchopulmonary Dysplasia: Executive Summary of a Workshop. **The Journal of pediatrics**, v. 197, p. 300–308, jun. 2018.

HILGENDORFF, Anne; O'REILLY, Michael A. Bronchopulmonary Dysplasia Early Changes Leading to Long-Term Consequences. **Frontiers in Medicine**, v. 2, p. 2, 12 fev. 2015.

HORBAR, Jeffrey D. *et al.* Mortality and Neonatal Morbidity Among Infants 501 to 1500 Grams From 2000 to 2009. **Pediatrics**, v. 129, n. 6, p. 1019–1026, 1 jun. 2012.

HUMAYUN, Jhangir *et al.* Systematic review of the healthcare cost of bronchopulmonary dysplasia. **BMJ Open**, v. 11, n. 8, p. e045729, 10 ago. 2021.

ISAYAMA, Tetsuya *et al.* Association of Noninvasive Ventilation Strategies With Mortality and Bronchopulmonary Dysplasia Among Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-analysis. **JAMA**, v. 316, n. 6, p. 611–624, 9 ago. 2016.

JENSEN, Erik A. *et al.* The Diagnosis of Bronchopulmonary Dysplasia in Very Preterm Infants. An Evidence-based Approach. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 200, n. 6, p. 751–759, 15 set. 2019a.

JENSEN, Erik A. *et al.* The Diagnosis of Bronchopulmonary Dysplasia in Very Preterm Infants. An Evidence-based Approach. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 200, n. 6, p. 751–759, 15 set. 2019b.

JENSEN, Erik A. *et al.* Severity of Bronchopulmonary Dysplasia Among Very Preterm Infants in the United States. **Pediatrics**, v. 148, n. 1, p. e2020030007, jul. 2021.

JEON, Ga Won; OH, Minkyung; CHANG, Yun Sil. Definitions of bronchopulmonary dysplasia and long-term outcomes of extremely preterm infants in Korean Neonatal Network. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 24349, 21 dez. 2021.

JOBE, A. H.; IKEGAMI, M. Mechanisms initiating lung injury in the preterm. **Early Human Development**, v. 53, n. 1, p. 81–94, nov. 1998.

JOBE, Alan H.; BANCALARI, Eduardo. Bronchopulmonary Dysplasia. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 163, n. 7, p. 1723–1729, jun. 2001a.

JOBE, Alan H.; BANCALARI, Eduardo. Bronchopulmonary Dysplasia. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 163, n. 7, p. 1723–1729, jun. 2001b.

JOBE, Alan H.; IKEGAMI, Machiko. Lung Development and Function in Preterm Infants in the Surfactant Treatment Era. **Annual Review of Physiology**, v. 62, n. Volume 62, 2000, p. 825–846, 1 mar. 2000.

JUNG, Euseok; LEE, Byong Sop. Late-Onset Sepsis as a Risk Factor for Bronchopulmonary Dysplasia in Extremely Low Birth Weight Infants: A Nationwide Cohort Study. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 15448, 29 out. 2019.

KALLAPUR, S. G.; JOBE, A. H. Contribution of inflammation to lung injury and development. **Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition**, v. 91, n. 2, p. F132–F135, mar. 2006.

KLINGENBERG, Claus *et al.* Volume-targeted versus pressure-limited ventilation in neonates - Klingenberg, C - 2017 | Cochrane Library. 17 out. 2017.

LAL, Charitharth Vivek; BHANDARI, Vineet; AMBALAVANAN, Namasivayam. Genomics, microbiomics, proteomics, and metabolomics in bronchopulmonary dysplasia. **Seminars in Perinatology**, Bronchopulmonary Dysplasia: Emerging Concepts. v. 42, n. 7, p. 425–431, 1 nov. 2018.

LAPCHAROENSAP, Wannasiri *et al.* Hospitalization costs associated with bronchopulmonary dysplasia in the first year of life. **Journal of Perinatology**, v. 40, n. 1, p. 130–137, 2020.

LAU, Christine S. M.; CHAMBERLAIN, Ronald S.; SUN, Shyan. Less Invasive Surfactant Administration Reduces the Need for Mechanical Ventilation in Preterm Infants: A Meta-Analysis. **Global Pediatric Health**, v. 4, p. 2333794X17696683, 1 jan. 2017.

LAVOIE, Pascal M.; RAYMENT, Jonathan H. Genetics of bronchopulmonary dysplasia: An update. **Seminars in Perinatology**, v. 47, n. 6, p. 151811, 1 out. 2023.

LEMYRE, Brigitte *et al.* Early nasal intermittent positive pressure ventilation (NIPPV) versus early nasal continuous positive airway pressure (NCPAP) for preterm infants - Lemyre, B - 2016 | Cochrane Library. 15 dez. 2016.

LI, Min *et al.* Research progress on pathophysiologic mechanisms, clinical treatment and predictive biomarkers in bronchopulmonary dysplasia: from the perspective of oxidative stress. **Frontiers in Pediatrics**, v. 12, p. 1343870, 27 mar. 2025.

LIGNELLI, Ettore *et al.* Recent advances in our understanding of the mechanisms of lung alveolarization and bronchopulmonary dysplasia. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 317, n. 6, p. L832–L887, 1 dez. 2019.

LIM, Gina *et al.* Association of Maternal Hypertensive Disorders During Pregnancy With Severe Bronchopulmonary Dysplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Korean Medical Science**, v. 37, n. 16, 12 abr. 2022.

LIN, Huijia *et al.* Nutritional support during the first week for infants with bronchopulmonary dysplasia and respiratory distress: a multicenter cohort study in China. **BMC Pediatrics**, v. 24, n. 1, p. 238, 3 abr. 2024.

LUCA, Daniele De *et al.* The Montreux definition of neonatal ARDS: biological and clinical background behind the description of a new entity. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 5, n. 8, p. 657–666, 1 ago. 2017.

MA, Liya *et al.* Potential Nutrients for Preventing or Treating Bronchopulmonary Dysplasia. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 22, p. 83–88, 1 mar. 2017.

MAEDA, Hajime *et al.* miRNA Signatures in Bronchopulmonary Dysplasia: Implications for Biomarkers, Pathogenesis, and Therapeutic Options. **Frontiers in bioscience (Landmark edition)**, v. 29, n. 7, p. 271, 25 jul. 2024.

MASCARENHAS, Dwayne *et al.* Pulmonary hypertension in preterm neonates with bronchopulmonary dysplasia: a meta-analysis. **Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition**, v. 110, n. 4, p. 344–352, 1 jul. 2025.

MCEVOY, Cindy T.; ASCHNER, Judy L. The Natural History of Bronchopulmonary Dysplasia (BPD): The Case for Primary Prevention. **Clinics in perinatology**, v. 42, n. 4, p. 911–931, dez. 2015.

MCGOLDRICK, Emma *et al.* Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2020, n. 12, p. CD004454, 25 dez. 2020.

MEILIANA, Meiliana *et al.* Nutrition guidelines for preterm infants: A systematic review. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 48, n. 1, p. 11–26, 2024.

MOSCHINO, Laura; BONADIES, Luca; BARALDI, Eugenio. Lung growth and pulmonary function after prematurity and bronchopulmonary dysplasia. **Pediatric Pulmonology**, v. 56, n. 11, p. 3499–3508, nov. 2021.

MOVASAGHI, Zanyar; REHMAN, Shazza; UR REHMAN, Dr. Ihtesham. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 2, p. 134–179, 1 fev. 2008.

MÜRNER-LAVANCHY, Ines M. *et al.* Neurobehavioral Outcomes 11 Years After Neonatal Caffeine Therapy for Apnea of Prematurity. **Pediatrics**, v. 141, n. 5, p. e20174047, 1 maio 2018.

NASEER, Khulla; ALI, Salmann; QAZI, Javaria. ATR-FTIR spectroscopy as the future of diagnostics: a systematic review of the approach using bio-fluids. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 56, n. 2, p. 85–97, 7 fev. 2021.

NORTHWAY, W. H.; ROSAN, R. C.; PORTER, D. Y. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. **The New England Journal of Medicine**, v. 276, n. 7, p. 357–368, 16 fev. 1967.

O’CONNOR, Kristin L. *et al.* Macrolides for the prevention of bronchopulmonary dysplasia in preterm neonates - O’Connor, KL - 2026 | Cochrane Library. 9 fev. 2026.

OLLESCH, Julian *et al.* FTIR spectroscopy of biofluids revisited: an automated approach to spectral biomarker identification. **Analyst**, v. 138, n. 14, p. 4092–4102, 17 jun. 2013.

OMS, ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Preterm birth**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>>. Acesso em: 11 dez. 2025.

ONLAND, Wes *et al.* Systemic Hydrocortisone To Prevent Bronchopulmonary Dysplasia in preterm infants (the SToP-BPD study): statistical analysis plan. **Trials**, v. 19, n. 1, p. 178, 9 mar. 2018.

OZCELIK, Gozde *et al.* Prediction of bronchopulmonary dysplasia using machine learning from chest X-rays of premature infants in the neonatal intensive care unit. **Medicine**, v. 104, n. 36, p. e44322, 5 set. 2025.

PEREIRA-CERRO, Alejandra Victoria *et al.* Evolution of psychomotor development in pre-school children born prematurely. **Anales de Pediatría (English Edition)**, v. 93, n. 4, p. 228–235, out. 2020.

PIERSIGILLI, Fiammetta *et al.* Identification of new biomarkers of bronchopulmonary dysplasia using metabolomics. **Metabolomics: Official Journal of the Metabolomic Society**, v. 15, n. 2, p. 20, 2 fev. 2019.

PIERSIGILLI, Fiammetta; BHANDARI, Vineet. Biomarkers in neonatology: the new “omics” of bronchopulmonary dysplasia. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 29, n. 11, p. 1758–1764, 2 jun. 2016.

PIERSIGILLI, Fiammetta; BHANDARI, Vineet. Metabolomics of bronchopulmonary dysplasia. **Clinica Chimica Acta**, v. 500, p. 109–114, 1 jan. 2020.

PINTUS, Maria Cristina *et al.* Urinary 1H-NMR Metabolomics in the First Week of Life Can Anticipate BPD Diagnosis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 7620671, 28 jun. 2018.

POLIN, Richard A. *et al.* Surfactant Replacement Therapy for Preterm and Term Neonates With Respiratory Distress. **Pediatrics**, v. 133, n. 1, p. 156–163, 1 jan. 2014.

REHAN, Virender K.; ASOTRA, Kamlesh; TORDAY, John S. The Effects of Smoking on the Developing Lung: Insights from a Biologic Model for Lung Development, Homeostasis, and Repair. **Lung**, v. 187, n. 5, p. 281–289, 2009.

RUSTAM, Aamenah *et al.* Enteral vitamin a supplementation for the prevention of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants: an updated systematic review and meta-analysis. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 87, n. 8, p. 5132, ago. 2025.

SALAS, Ariel A. *et al.* Early Vitamin D Supplementation in Infants Born Extremely Preterm and Fed Human Milk: A Randomized Controlled Trial. **The Journal of Pediatrics**, v. 287, 1 dez. 2025.

SCHMIDT, Barbara *et al.* Caffeine therapy for apnea of prematurity. **The New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 20, p. 2112–2121, 18 maio 2006.

SCHMIDT, Barbara *et al.* Survival Without Disability to Age 5 Years After Neonatal Caffeine Therapy for Apnea of Prematurity. **JAMA**, v. 307, n. 3, p. 275–282, 18 jan. 2012.

SCHMIDT, Barbara *et al.* Academic Performance, Motor Function, and Behavior 11 Years After Neonatal Caffeine Citrate Therapy for Apnea of Prematurity: An 11-Year Follow-up of the CAP Randomized Clinical Trial. **JAMA Pediatrics**, v. 171, n. 6, p. 564–572, 1 jun. 2017.

SHINWELL, Eric S. *et al.* Inhaled Corticosteroids for Bronchopulmonary Dysplasia: A Meta-analysis. **Pediatrics**, v. 138, n. 6, p. e20162511, 1 dez. 2016.

SHUKLA, Vivek V.; AMBALAVANAN, Namasivayam. Recent Advances in Bronchopulmonary Dysplasia. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 88, n. 7, p. 690–695, 1 jul. 2021.

SIPOLA-LEPPÄNEN, Marika *et al.* Cardiometabolic Risk Factors in Young Adults Who Were Born Preterm. **American Journal of Epidemiology**, v. 181, n. 11, p. 861–873, 1 jun. 2015.

STOECKLIN, Benjamin; SIMPSON, Shannon J.; PILLOW, J. Jane. Bronchopulmonary dysplasia: Rationale for a pathophysiological rather than treatment based approach to diagnosis. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 32, p. 91–97, 1 nov. 2019.

STOLL, Barbara J. *et al.* Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993–2012. **JAMA**, v. 314, n. 10, p. 1039–1051, 8 set. 2015.

STOLZ, Camila *et al.* Bronchopulmonary dysplasia: temporal trend from 2010 to 2019 in the Brazilian Network on Neonatal Research. 1 maio 2024.

SUPPORT, Study Group of the Eunice Kennedy Shriver; NICHD, Neonatal Research Network. Target Ranges of Oxygen Saturation in Extremely Preterm Infants. **New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 21, p. 1959–1969, 27 maio 2010.

SWEET, David G. *et al.* European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome: 2022 Update. **Neonatology**, v. 120, n. 1, p. 3–23, 7 mar. 2023.

TALARI, Abdullah Chandra Sekhar *et al.* Advances in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 52, n. 5, p. 456–506, 28 maio 2017.

THÉBAUD, Bernard *et al.* Bronchopulmonary dysplasia. **Nature reviews. Disease primers**, v. 5, n. 1, p. 78, 14 nov. 2019.

TORNERO PATRICIO, Sebastián. Efecto del nivel socioeconómico y de la prematuridad sobre el desarrollo psicomotor. **Anales de Pediatría**, v. 95, n. 4, p. 285–286, out. 2021.

TRINDADE, Gabriela S. *et al.* Nutrition Strategies for the Preterm Infant with Bronchopulmonary Dysplasia. **Nutrients**, v. 17, n. 21, p. 3472, 4 nov. 2025.

TWILHAAR, E. Sabrina *et al.* Cognitive Outcomes of Children Born Extremely or Very Preterm Since the 1990s and Associated Risk Factors: A Meta-analysis and Meta-regression. **JAMA Pediatrics**, v. 172, n. 4, p. 361–367, 1 abr. 2018.

VERDER, Henrik *et al.* Surfactant Therapy and Nasal Continuous Positive Airway Pressure for Newborns with Respiratory Distress Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 331, n. 16, p. 1051–1055, 20 out. 1994.

VILLAMOR-MARTINEZ, Eduardo *et al.* Association of Chorioamnionitis With Bronchopulmonary Dysplasia Among Preterm Infants. **JAMA Network Open**, v. 2, n. 11, p. e1914611, 6 nov. 2019.

WANG, Xuting *et al.* Epigenome-wide association study of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants: results from the discovery-BPD program. **Clinical Epigenetics**, v. 14, n. 1, p. 57, 28 abr. 2022.

WISHART, David S. Advances in Metabolite Identification. **Bioanalysis**, v. 3, n. 15, p. 1769–1782, 1 ago. 2011.

WISHART, David S. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 15, n. 7, p. 473–484, jul. 2016.

WU, YaLi *et al.* Metabolomics of Extracellular Vesicles: A Future Promise of Multiple Clinical Applications. **International Journal of Nanomedicine**, v. 17, p. 6113–6129, 7 dez. 2022.

WYCKOFF, Myra H. *et al.* Neonatal Life Support: 2020 International Consensus on Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science With Treatment Recommendations. **Circulation**, v. 142, n. 16_suppl_1, p. S185–S221, 20 out. 2020.

YANG, Jiayi *et al.* Early nutritional management and risk of neonatal bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta analysis. **Italian Journal of Pediatrics**, v. 51, p. 94, 24 mar. 2025.

YAP, Xin-Le *et al.* Detection of Prostate Cancer via IR Spectroscopic Analysis of Urinary Extracellular Vesicles: A Pilot Study. **Membranes**, v. 11, n. 8, p. 591, 31 jul. 2021.

YU, Kun-Hsing *et al.* The genetic predisposition to bronchopulmonary dysplasia. **Current opinion in pediatrics**, v. 28, n. 3, p. 318–323, jun. 2016.

ZHANG, Jiaxin *et al.* Research progress of microvascular development in bronchopulmonary dysplasia. **Pediatric Investigation**, v. 8, n. 4, p. 299–312, 12 jul. 2024.

ZHENG, Yi; WU, Qi; HAN, Shuping. Inhaled nitric oxide in premature infants for preventing bronchopulmonary dysplasia: a meta-analysis. **BMC Pediatrics**, v. 23, p. 139, 29 mar. 2023.

APÊNDICES

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - Recém-nascido

Prezada senhora, o(a) menor (a), pelo qual a senhora é responsável, está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada **“Avaliação de biomarcadores no período neonatal”**, sob a responsabilidade dos pesquisadores: Profa. Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah, Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart, Daniela Marques de L. M. Ferreira, Patrícia Terra Alves, Lídia Mayrink de Barros, Heloísio dos Reis, Aíve Oliva Santos, Maria Carolina Martins, Daniela Silva Rodrigues da Costa, Andréia de Albuquerque Freitas e Angela Maria Oliveira.

Nesta pesquisa nós estamos buscando novos exames que possam nos mostrar mais precocemente se o bebê recém-nascido está com infecção.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será obtido por um destes pesquisadores: Daniela Marques de L. M. Ferreira, Lídia Mayrink de Barros, Maria Carolina Martins, Daniela Silva Rodrigues da Costa ou Andréia de Albuquerque Freitas, após o nascimento do seu bebê, durante a sua internação hospitalar na Maternidade do Hospital das Clínicas da UFU.

A participação do(a) seu(sua) filho (o) será autorizando a utilização de uma amostra do sangue e urina dele que já é colhido para exames de rotina referentes aos cuidados médicos. Se o seu filho tiver nascido prematuro e adoecer com suspeita que esteja com infecção será autorizando também a utilização de uma amostra do líquido e secreção traqueal (que apenas será colhido para fazer o diagnóstico desta infecção, se houver necessidade, por decisão da equipe médica que está cuidando do seu bebê). Em nenhum momento o(a) menor será identificado(a). Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a identidade dele(a) será preservada.

O(A) menor não terá nenhum gasto ou ganho financeiro por participar na pesquisa.

Os riscos consistem no incômodo que ele(a) poderá sentir com a coleta do sangue e urina, porém estes materiais já serão coletados rotineiramente para os cuidados dele(a) durante a internação e no incômodo que ele(a) poderá sentir com a coleta de secreção traqueal e líquido, que também serão colhidos rotineiramente no caso dele ter suspeita de infecção. Os benefícios que haverá, mesmo que não diretamente, são o avanço no diagnóstico mais cedo das infecções nos bebês possibilitando início do

(Continua)

tratamento mais rápido e contribuindo para diminuir a mortalidade dos bebês.

O(A) menor é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou coação. Sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.

Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com a senhora.

Se houver qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com os pesquisadores Profa. Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah, Dra. Daniela Marques de L. M. Ferreira, Lídia Mayrink de Barros, Maria Carolina Martins, Daniela Silva Rodrigues da Costa ou Andréia de Albuquerque Freitas - Hospital das Clínicas, Serviço de Neonatologia - Av. Pará, 1720. Bairro Umuarama - Telefones: 3218-2112 / 3218-2454.

Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos – Universidade Federal de Uberlândia – A. João Naves de Ávila, 2121 bloco A, sala 224, Campus Santa Mônica – Uberlândia – MG – CEP: 38408-100 – Telefone: 3239-4131.

Uberlândia, de de 20....

Assinatura dos pesquisadores

Eu, responsável legal pelo(a) menor _____
consinto na participação dele no projeto citado acima, após ter sido devidamente esclarecida.

Responsável pelo(a) menor participante da pesquisa

APÊNDICE B – ROTEIROS PARA COLETA DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS DOS RECÉM-NASCIDOS

Projeto de Pesquisa: **Desenvolvimento e Avaliação de Biomarcadores Associados à Patologias no Período Neonatal e Implicações Diagnósticas e Prognósticas**

INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS

Nº. Sujeito Pesquisa: _____ Prontuário mãe: _____ Prontuário RN: _____
--

1. DADOS MATERNOS	
Idade Materna: _____ anos	Estado Civil: () solteira () casada () amasiada () viúva () divorciada
Escolaridade: () 1 a 3 anos () 4 a 7 anos () 8 a 11 anos () 12 ou + () ignorado	Paridade: G _____ P _____ A _____
Nº. de consultas de pré-natal: _____	Tipo de parto: () Vaginal () Cesariana
Corticóide antenatal: () Não () Sim, 1 dose () Sim, 2 doses () Sim, ≥ 3 doses – IG: _____ Qual: _____	RCIU: () Não () Sim
	HBsAg: () Não () Sim
	HIV: () Não () Sim
ITU: () Não () Sim - Quando: _____	Pré-eclâmpsia: () Não () Sim
Anomalia congênita: () Não () Sim Qual: _____	Corioamnionite: () Não () Sim
TPP : () Não () Sim	Diabete melito: () Não () Sim
Sofrimento fetal agudo: () Não () Sim	Oligodrâmnio: () Não () Sim
Drogas ilícitas: () Não () Sim	DPP: () Não () Sim
TORCHS: () Não () Sim - IG: _____ Qual: () Toxoplasmose () Rubéola () CMV () Vírus Herpes Simples Tratamento: _____	Sulfato de Mg (neuroproteção): () Não () Sim
	Pesquisa estrepto: () Não () Sim
	Sífilis: () Não () Sim
Uso de ATB: () Não () Sim Quando: () 1º trim. () 2º trim. () 3º trim. () 48h antes parto Qual ATB? _____	Rotura prematura de membranas (RUPREMA): () Não () Sim Quantas horas: _____

(Continua)

2. DADOS DO RECÉM NASCIDO	
Data do Nascimento: ____/____/20____ Hora: ____: ____	Idade Gestacional: DUM:____ Clínica:____ USG (1º. TRI):____
Peso de Nascimento:____ gramas	Sexo: () M () F () Indeterminado
Boletim de Apgar: 1':____ 5':____ 10':____	SNAP II:____ SNAPPE II:____
Gemelaridade: () Não () Sim	Classificação: () PIG () AIG () GIG
Reanimação na sala de parto: () Não () Sim	
() VPP com balão e máscara - ____ Ciclos () VPP com balão e cânula - ____ Ciclos () VPP com balão e CPAP - ____ Ciclos IOT: () Não () Sim	Massagem cardíaca: () Não () Sim, ____ Ciclos Drogas: () Não () Sim – Qual(is):____
Temperatura: Mãe:____ °C RN: Sala de parto:____ °C Admissão:____ °C 2h vida:____ °C	SDR: () Não () Sim ROP: () Sim () Não
Pneumotórax: () Não () Sim Data:____	PCA: () Não () Sim - Data:____ Tratamento:____
Dist. Hemorrágicos: () Não () Sim Data:____	Convulsão: () Não () Sim - Data:____
Plaquetopenia: () Não () Sim Data:____ - Valor:____	ECN: () Não () Sim - Data:____
Infecções: () diarreia () meningite () onfalite () conjuntivite () infecções cutânea () risco infeccioso	Sepse: () Não () Sim - Data:____ () Precoce () Tardia
Surfactante: () Não () Sim Idade:____	Drogas vasoativas: () Não () Sim Qual: () Dopamina () Dobutamina () Milrinone () Adrenalina/ Noradren.
Uso de β -bloqueadores: () Não () Sim Qual?____	Óxido Nítrico (NO): () Não () Sim Quantos dias?____
Vitamina A: () Não () Sim Quantas dias?____ Dose prescrita:____	Cafeína: () Não () Sim Quantas dias?____ Dose prescrita:____
Hemotransfusão: () Não () Sim Idade:____ Hemocomponente:____	EXT: () Não () Sim - Data:____ Procedimento Cirúrgico: () Não () Sim Qual:____ - Data:____

(Continua)

DADOS USG TRANSFONTANELA		
Data:	Idade:	Resultado:
Data:	Idade:	Resultado:

RESULTADO DE CULTURAS		
Data:	Idade:	Resultado:
Data:	Idade:	Resultado:
Data:	Idade:	Resultado:
Data:	Idade:	Resultado:

USO DE ATB	
ATB:	Data Inicio: Tempo:
ATB:	Data Inicio: Tempo:
ATB:	Data Inicio: Tempo:
ATB:	Data Inicio: Tempo:
ATB:	Data Inicio: Tempo:

OUTRAS INFORMAÇÕES RELEVANTES

(Continua)

Projeto de Pesquisa: **Desenvolvimento e Avaliação de Biomarcadores Associados à Patologias no Período Neonatal e Implicações Diagnósticas e Prognósticas**

INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS 2 – DIETA, FÁRMACOS E EXAMES

Nº. Sujeito Pesquisa: _____
Prontuário RN: _____

Data Nascimento: ____ / ____ / ____	Horário de Nascimento: ____:____ h
-------------------------------------	------------------------------------

DIETA			
Dia 1:	() Dieta zero	() NPP	() Leite Humano de Banco
Dia 2:	() Dieta zero	() NPP	() Leite Humano de Banco
Dia 3:	() Dieta zero	() NPP	() Leite Humano de Banco
Dia 4:	() Dieta zero	() NPP	() Leite Humano de Banco
Dia 5:	() Dieta zero	() NPP	() Leite Humano de Banco
Dia 6:	() Dieta zero	() NPP	() Leite Humano de Banco
Dia 7:	() Dieta zero	() NPP	() Leite Humano de Banco

FÁRMACOS	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
Kanakion							
Vacina Hepatite B							
Aminiofilina							
Cafeína							
Surfactante							
Soroterapia							
Ringer Lactato							
Morfina							
Dommonid							
Fentanil							
Midazolam							
Dobutamina							
Dopamina							
Adrenalina (nebulização)							
Ranitidina							
Furosemida							
Ampicilina							
Gentamicina							
Oxacilina							
Amicacina							
Cefotaxima							

(Continua)

EXAMES (até 72h de vida)		
HEMOGRAMA – DATA: ____/____/____ Idade: ____ h		
Leucograma	Leucócitos: _____	
	Mielo: ____ Meta: ____ Bast: ____ Seg: ____ Eos: ____ Linf: ____ Baso: ____ Mon: ____ Neutrófilos Imaturos: ____ Neutrófilos Totais: ____ Razão I/T: ____	
Eritrograma:	Hb: _____ Hto: _____	Plaquetas: _____
HEMOGRAMA – DATA: ____/____/____ Idade: ____ h		
Leucograma	Leucócitos: _____	
	Mielo: ____ Meta: ____ Bast: ____ Seg: ____ Eos: ____ Linf: ____ Baso: ____ Mon: ____ Neutrófilos Imaturos: ____ Neutrófilos Totais: ____ Razão I/T: ____	
Eritrograma:	Hb: _____ Hto: _____	Plaquetas: _____
PCR	Data: ____/____/____ Idade: ____ h Resultado: _____	
	Data: ____/____/____ Idade: ____ h Resultado: _____	
HMC	Data: ____/____/____ Idade: ____ h Resultado: _____	
	Data: ____/____/____ Idade: ____ h Resultado: _____	
LCR	Data: ____/____/____ Idade: ____ h	
	Resultado: _____	

ANEXOS**ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS (PLATAFORMA BRASIL) – Aprovação do Protocolo de Pesquisa****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Desenvolvimento e Avaliação de Biomarcadores Associados à Patologias no Período Neonatal e Implicações Diagnósticas e Prognósticas

Pesquisador: VÂNIA OLIVETTI STEFFEN ABDALLAH

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 36471314.5.0000.5152

Instituição Proponente: Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 974.356

Data da Relatoria: 18/12/2014

Apresentação do Projeto:

Conforme apresenta o protocolo: Em contraposição aos contínuos avanços na assistência perinatal observados nas últimas décadas, a mortalidade neonatal ainda é expressiva, especialmente nos países em desenvolvimento, e os recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer, ou seja, aqueles com peso de nascimento inferior a 1500 gramas, representam uma parcela da população de risco responsável por esta alta mortalidade. As infecções bacterianas continuam sendo uma das principais causas de mortalidade nos recém-nascidos pré-termos, além de acarretarem aumento no tempo de hospitalização e nos custos. O diagnóstico de sepse neo-natal é difícil de ser estabelecido e continua a ser um desafio. Os primeiros sinais e sintomas de sepse neo-natal são muitas vezes inespecíficos e facilmente confundidos com as condições que são esperadas nesta população, tais como desconforto respiratório, apneia da prematuridade e dismotilidade gastrointestinal. Essa dificuldade no diagnóstico, aliada a alta taxa de mortalidade tem levado ao uso excessivo de antibióticos no ambiente de terapia intensiva neonatal e o surgimento de organismos resistentes. O diagnóstico precoce, antes que ocorra deterioração clínica, é de particular interesse dos neonatologistas, uma vez que o tempo para início da terapêutica representa um dos determinantes da sobrevida na sepse neonatal. Assim, esforços para a redução da taxa de mortalidade neonatal são realizados como a procura de novos marcadores bioquímicos

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 974.356

que sejam capazes de prever precocemente o risco de desenvolvimento de doenças agudas neonatais e o monitoramento do curso da doença no recém-nascido grave e agudamente doente. Inúmeros testes laboratoriais tem sido avaliados na tentativa de se obter um que seja útil para o diagnóstico precoce de sepse neonatal e que possibilite a confirmação do diagnóstico de forma rápida e possa ser utilizado para o acompanhamento da evolução. Apesar de extensa investigação ao longo das últimas décadas, ainda não há um único teste que satisfaça os critérios que o tornariam o marcador ideal para a diagnóstico precoce da sepse no recém-nascido. Os autores concordam que a combinação de marcadores, com a mínima coleta de sangue e custos mínimos, oferece melhores resultados no diagnóstico da sepse neonatal precoce e tardia do que o uso de um marcador único. O objetivo do presente trabalho é desenvolver novos biomarcadores por métodos biotecnológicos e imunológicos e verificar sua contribuição no diagnóstico precoce da infecção neonatal. O estudo será uma corte prospectiva realizada no Serviço de Neonatologia do HCU-UFU, Banco de Leite do HCU-UFU, Maternidade do HCU-UFU e no Laboratório de Nanobiotecnologia da UFU. Serão estudadas todas as mães e seus recém nascidos prematuros (RNPT) menores que 34 semanas e peso de nascimento menor que 1.500g, nascidos no HCU-UFU, no período de 10 anos (2015 a 2024). Será constituído também um grupo controle de recém-nascidos à termo (RNT) saudáveis. Será coletado sangue materno, leite humano da própria mãe, sangue do cordão umbilical, sangue do RNPT (com 48 horas, 7 dias, 14 dias, 28 dias e após a cada 14 dias enquanto este permanecer internado, aproveitando o momento de coletas de sangue que são realizadas rotineiramente), urina do RNPT (com 48 horas de vida e 7 dias) . Nos RNPT que apresentarem suspeita clínica de sepse será colhido sangue, urina e líquido (antes do início da terapêutica), conforme rotina já estabelecida no serviço. Apenas nos RNPT que requerem intubação orotraqueal para suporte ventilatório e que forem submetidos à aspiração, a secreção traqueal será colhida. Todas estas amostras serão encaminhadas ao Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia para dosagem dos biomarcadores: Proteína C reativa (PCR), Procalcitonina (PCT), CD14 subtipo solúvel – presepsina (sCD14-ST), Interleucina – 6 (IL-6), Interleucina – 1 (IL-1), Interleucina – 10 (IL-10), Fator de necrose tumoral (TNF), transforming growth fator beta 1 (TGF-1), CD14/CD16, CD4/CD8, entre outros marcadores de interesse. Nos pacientes com suspeita clínica de sepse, além dos biomarcadores serão realizados, conforme rotina do serviço, os exames de hemograma e hemocultura. Após a coleta dos dados e análises, os grupos serão estratificados e avaliados estatisticamente. Metodologia Proposta: Serão estudadas todas as mães e seus recém-nascidos prematuros (RNPT) menores que 34 semanas e peso de nascimento menor que 1.500g, nascidos no HCU-UFU, no período de 10 anos. Será constituído

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 02 de 07

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 974.356

também um grupo controle que consiste de RN à termo, sem história de asfixia perinatal ou patologias neonatais durante a internação, cuja mãe não apresentou bolsa rota maior que 18 horas ou clínica de corioamnionite, totalizando aproximadamente 100 recém-nascidos. Estes RN serão selecionados entre aqueles que tiverem indicação de coleta de sangue para qualquer monitoramento necessário, por exemplo dosagem de bilirrubina, íons, glicemia, entre outros. Nas primeiras 48 horas após o nascimento, a pesquisadora abordará cada mãe de recém-nascido incluído no estudo para informar a respeito do estudo. O primeiro TCLE será obtido das mães, para a utilização de seu sangue e leite. Um segundo TCLE será obtido das mães de RNPT, consentindo com a utilização do sangue do cordão, sangue periférico, urina, líquido e aspirado traqueal de seus filhos. Um terceiro TCLE será obtido das mães de RN a termo (grupo controle), consentindo com a utilização do sangue do cordão e sangue periférico de seus filhos. Após o nascimento do RN será coletado 2 mL de sangue da mãe, em até 24 horas do parto. Este sangue será colhido na mesma ocasião da coleta de exames rotineiros (sorologia para VDRL e HIV) que é realizado em todas as parturientes do hospital. Todas as mães de RNPT abaixo de 1500g são encaminhadas ao Banco de Leite Humano do HCU- UFU para retirada do leite, uma vez que seus bebês não apresentam condições de sugar diretamente ao seio. Uma amostra (10 mL) deste leite materno será destinada ao estudo. Será armazenado cerca de 5 mL do sangue do cordão umbilical que é coletado rotineiramente em todos os recém-nascidos, termo e pré-termo. Após admissão destes RNPT na Unidade de Terapia Intensiva neonatal será repetido a coleta de sangue com 48 horas, 7 dias, 14 dias, 28 dias e após a cada 14 dias enquanto este permanecer internado, aproveitando o momento de coletas de sangue que são realizadas rotineiramente no serviço nestes bebês. Nos recém-nascidos que apresentarem suspeita clínica de sepse será colhido sangue no momento da suspeita e antes do início da terapêutica, conforme rotina já estabelecida no serviço. Para o grupo controle (RNT) será repetido a coleta de sangue com cerca de 48 horas, aproveitando o momento de coleta de sangue para algum monitoramento que se fizer necessário nos cuidados deste recém-nascido. Assim, todas as amostras de sangue serão obtidas da sobra dos exames coletados de rotina na UTI neonatal e não representarão, portanto, uma nova coleta de sangue. Será colhido uma amostra de urina com 48 horas e 7 dias. Nos RNPT que apresentarem suspeita clínica de sepse será colhido nova amostra de urina no momento da suspeita. Nestes casos será colhido líquido (LCR) conforme rotina já estabelecida no serviço. O nos RNPT que requerem intubação orotraqueal para suporte ventilatório e que forem submetidos à aspiração, a secreção traqueal será colhida. Nas amostras de sangue serão realizados, conforme a disponibilidade, a dosagem dos seguintes biomarcadores: Proteína C reativa (PCR), Procalcitonina (PCT), CD14 subtipo solúvel – presepsina (sCD14-ST),

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 03 de 07

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 974.356

Interleucina – 6 (IL-6), Interleucina – 1 (IL-1), Interleucina – 10 (IL-10), Fator de necrose tumoral (TNF), transforming growth factor beta 1 (TGF-1), CD14/CD16, CD4/CD8, entre outros marcadores de interesse. Nos pacientes com suspeita clínica de sepse, além dos biomarcadores serão realizados, conforme rotina do serviço, os exames de hemograma e hemocultura. Nas amostras de leite materno, urina e líquido serão realizados, a detecção de imunoglobulinas específicas. Além de analisar os marcadores já investigados na literatura, propomos também desenvolver novos biomarcadores por tecnologias proteômicas, genômicas e imunológicas (em anexo na plataforma Brasil).

Critério de Inclusão: Serão incluídos na pesquisa os RNPT com idade gestacional menor que 34 semanas e peso de nascimento menor que 1.500g nascidos no HCU- UFU durante o período de estudo. O grupo controle será constituído de recém-nascidos à termo, sem história de asfixia perinatal ou patologias neonatais durante a internação, cuja mãe não apresentou bolsa rota maior que 18 horas ou clínica de corioamnionite, selecionados entre aqueles que tiverem indicação de coleta de sangue para qualquer monitoramento necessário, por exemplo dosagem de bilirrubina, íons, glicemia, entre outros.

Critério de Exclusão: Serão excluídos os RNPT com malformações congênitas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral: Desenvolver e/ou avaliar o papel de biomarcadores no período neonatal, desde o nascimento até a alta hospitalar.

Objetivos Específicos: 1- Desenvolver novos biomarcadores por métodos biotecnológicos e imunológicos. 2. Verificar a contribuição dos biomarcadores no diagnóstico precoce da infecção neonatal (sepse neonatal precoce e sepse neonatal tardia). 3- Avaliar o comportamento dos biomarcadores e suas relações com as principais patologias no período neonatal: hemorragia periintraventricular, retinopatia da prematuridade e displasia broncopulmonar, entre outras. 4- Avaliar a relação entre os biomarcadores e o desfecho final do recém-nascido: alta ou óbito. 5- Avaliar os biomarcadores no sangue de cordão do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido. 6- Avaliar os biomarcadores no sangue periférico do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido. 7- Avaliar os biomarcadores na urina do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido. 8- Avaliar os biomarcadores no líquido do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido. 9- Avaliar os biomarcadores na secreção traqueal do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido. 10- Avaliar os biomarcadores

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 04 de 07

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 974.356

no sangue da mãe do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.11- Avaliar os biomarcadores no leite materno do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores: Os riscos aos indivíduos participantes da pesquisa são mínimos e se referem basicamente ao risco de identificação de participação na pesquisa, pois os riscos referentes à coleta de sangue, urina, LCR e secreção traqueal, tais como dor local, formação de hematoma no local, queda de saturação durante a coleta, já estão incluídos nos cuidados de rotina a que estes recém-nascidos estão submetidos pela própria prematuridade e não serão realizadas novas coletas. A equipe executora compromete-se com o sigilo absoluto da identidade dos sujeitos da pesquisa.

Os benefícios do estudo são a possibilidade de se detectar um marcador precoce para o diagnóstico de infecções neonatais e outras patologias prevalentes neste período.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O CEP/UFU, considera que as pendências foram respondidas de maneira clara e adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os itens foram apresentados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências apontadas no parecer 887.483 foram atendidas.

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, o CEP manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 974.356

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2015.

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2016

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2017

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2018

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2019

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2020

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2021

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2022

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: Dezembro de 2023

Data para entrega de Relatório Final ao CEP/UFU: Dezembro de 2024

OBS.: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

O CEP/UFU lembra que:

a- segundo a Resolução 466/12, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.

b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.

c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução CNS 466/12, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Orientações ao pesquisador :

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 466/12) e deve receber uma via original do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS 466/12), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 06 de 07

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 974.356

previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 466/12). É papel de o pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res.251/97, item III.2.e).

UBERLÂNDIA, 05 de Março de 2015

Assinado por:
Sandra Terezinha de Farias Furtado
(Coordenador)

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS (PLATAFORMA BRASIL) – Aprovação de inclusão dos novos métodos de análise (FTIR e Metabolômica)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento e Avaliação de Biomarcadores Associados à Patologias no Período Neonatal e Implicações Diagnósticas e Prognósticas

Pesquisador: VÂNIA OLIVETTI STEFFEN ABDALLAH

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 36471314.5.0000.5152

Instituição Proponente: Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.094.314

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma emenda para informar mudança de equipe executora e acréscimo de metodologia para análise dos dados coletados. O término destas atividades deste protocolo esta previsto para 2024. As informações aqui descritas forma extraídas do documento anexo: PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1565127_E3.pdf, de 27 de maio de 2020.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

Desenvolver e/ou avaliar o papel de biomarcadores no período neonatal, desde o nascimento até a alta hospitalar.

Objetivos Específicos:

- 1- Desenvolver novos biomarcadores por métodos biotecnológicos e imunológicos.
2. Verificar a contribuição dos biomarcadores no diagnóstico precoce da infecção neonatal (sepse neonatal precoce e sepse neonatal tardia).
- 3- Avaliar o comportamento dos biomarcadores e suas relações com as principais patologias no período neonatal: hemorragia periintraventricular, retinopatia da prematuridade e displasia broncopulmonar, entre outras.

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.094.314

- 4- Avaliar a relação entre os biomarcadores e o desfecho final do recém-nascido: alta ou óbito.
- 5- Avaliar os biomarcadores no sangue de cordão do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 6- Avaliar os biomarcadores no sangue periférico do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 7- Avaliar os biomarcadores na urina do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 8- Avaliar os biomarcadores no líquido do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 9- Avaliar os biomarcadores na secreção traqueal do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 10- Avaliar os biomarcadores no sangue da mãe do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 11- Avaliar os biomarcadores no leite materno do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos aos indivíduos participantes da pesquisa são mínimos e se referem basicamente ao risco de identificação de participação na pesquisa, pois os riscos referentes à coleta de sangue, urina, LCR e secreção traqueal, tais como dor local, formação de hematoma no local, queda de saturação durante a coleta, já estão incluídos nos cuidados de rotina a que estes recém-nascidos estão submetidos pela própria prematuridade e não serão realizadas novas coletas.

A equipe executora compromete-se com o sigilo absoluto da identidade dos sujeitos da pesquisa.

Os benefícios do estudo são a possibilidade de se detectar um marcador precoce para o diagnóstico de infecções neonatais e outras patologias prevalentes neste período.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores informam adequações na equipe executora e inserção de novas técnicas para análise do material biológico colhido.

Segundo a pesquisadora principal:

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 02 de 06

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.094.314

"Observou-se a necessidade de agregar estas técnicas laboratoriais à metodologia do Projeto de Pesquisa "Desenvolvimento e Avaliação de Biomarcadores Associados à Patologias no Período Neonatal e Implicações Diagnósticas e Prognósticas", possibilitando o aprimoramento das técnicas de análises laboratoriais das amostras biológicas na busca por biomarcadores associados às patologias no período neonatal.

Desta forma, foram incluídas ao projeto, na seção 4. Metodologia, na seção secundária 4.7 - Técnicas laboratoriais, as seções terciárias e quaternárias: 4.7.9 – Metabolômica (página 18), 4.7.9.1 - Análise Espectrometria de Massas com Ionização por "Electrospray" (IES/EM) por infusão direta (página 18), 4.7.9.2 - EM e EM/EM (página 19), e 4.7.10 - Técnica de Espectros de Reflexão Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR-FTIR) (página 19), com a descrição do processo de análise em cada técnica laboratorial."

Além disso, justificam: "Ressalta-se que a inclusão destas técnicas laboratoriais não descaracterizam o estudo originalmente proposto e aprovado, pois não modificam o desenho do estudo, nem as hipóteses, nem os objetivos primários e nem os riscos e benefícios da pesquisa, sendo somente a adição de novas técnicas de análise laboratorial para avaliação das amostras biológicas já coletadas, a fim de desenvolver e/ou avaliar o papel de biomarcadores no período neonatal."

Chama atenção o orçamento, onde se acrescentou R\$ 700.000,00, recurso esse, segundo a pesquisadora será obtido por "...será contemplado com recursos financeiros do Laboratório de Nanobiotecnologia provenientes da CAPES, FAPEMIG e CNPq."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos foram apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A emenda apresenta a seguinte pendência:

P1) Atualizar a equipe executora na Plataforma Brasil. Ainda são citados membros que não fazem mais parte da equipe.

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.094.314

=====

Responder às pendências em um documento (WORD[.doc] ou .pdf) anexo e alterar no corpo do projeto os tópicos que forem diretamente impactados pelas respostas às pendências. Colocar os textos alterados em destaque (outra cor, por exemplo).

TODAS AS ADEQUAÇÕES DEVEM SER FEITAS TANTO NO PROJETO DETALHADO QUANTO NO FORMULÁRIO DA PLATAFORMA BRASIL

CASO O PESQUISADOR NÃO ANEXE ESTE DOCUMENTO COM O DETALHAMENTO DAS RESPOSTAS ÀS PENDÊNCIAS, O PROTOCOLO SERÁ DEVOLVIDO AO PESQUISADOR SEM TER SIDO ANALISADO PELO CEP E PERMANECERÁ COM PENDÊNCIAS.

Todas as alterações feitas em qualquer documento, por conta de resposta às pendências, deverão ser destacadas (ex. cor diferente) no referido documento.

O pesquisador tem prazo de 30 dias para responder à(s) pendência(s). Após este prazo o mesmo deverá submeter Novo PROTOCOLO de pesquisa para avaliação pelo sistema CEP/CONEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

OBS: o CEP/UFU informa que a recorrência de uma mesma pendência por três vezes acarretará na "NÃO APROVAÇÃO" do protocolo de pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1565127_E3.pdf	27/05/2020 19:15:51		Aceito
Outros	Justificativa_Emenda_Maio_2020_WOR D.doc	27/05/2020 19:14:48	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_2020_FINAL.docx	26/05/2020 15:01:09	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN ABDALLAH	Aceito
Outros	Justificativa_Emenda_Maio__2020.pdf	26/05/2020 14:59:40	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 04 de 06

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.094.314

Recurso do Parecer	recurso.pdf	07/09/2019 18:55:59		Aceito
Outros	Relatorio_Parcial_2018.pdf	07/09/2019 18:55:51	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Relatorio_Parcial_2017.pdf	07/09/2019 18:55:42	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Relatorio_Parcial_2016.pdf	07/09/2019 18:55:35	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Relatorio_Parcial_2015.pdf	07/09/2019 18:55:24	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Notificacao_Relatorios_e_Equipe .pdf	07/09/2019 18:54:54	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Curriculo_lattes_novos_pesquisadores.docx	21/06/2019 10:59:45	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito
Outros	Termo_de_Compromisso_Equipe_Executadora.pdf	21/06/2019 10:58:19	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito
Outros	Emenda_CEP.pdf	21/06/2019 10:57:05	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoEquipeExecutadora.pdf	12/09/2017 10:11:51	Lidia Mayrink de Barros	Aceito
Outros	JustificativadeEmentaCEP.pdf	12/09/2017 10:11:10	Lidia Mayrink de Barros	Aceito
Outros	TCLE.doc	14/10/2015 15:58:17	Lidia Mayrink de Barros	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_recem_nascido.doc	14/10/2015 15:46:39	Lidia Mayrink de Barros	Aceito
Outros	Carta resposta ao CEP assinada.pdf	12/12/2014 09:16:04		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto final após pendencias CEP.doc	12/12/2014 09:13:06		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto assinada 2.pdf	19/08/2014 22:50:04		Aceito
Outros	Termo de compromisso assinado.pdf	30/07/2014 23:47:50		Aceito
Outros	Instituição co-participante neonatologia assinada.pdf	30/07/2014 23:47:05		Aceito
Outros	Instituição co-participante maternidade assinada.pdf	30/07/2014 23:46:47		Aceito
Outros	Instituição co-participante berçário assinada.pdf	30/07/2014 23:46:22		Aceito
Outros	Inst. Co-participante Laboratorio assinada.pdf	29/07/2014 23:59:46		Aceito
Outros	Inst. Co-participante Hospital de Clínicas assinada.pdf	29/07/2014 23:59:31		Aceito

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 05 de 06

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.094.314

Outros	Inst. Co-participante banco de leite assinada.pdf	29/07/2014 23:59:10		Aceito
Outros	instrumento para coleta de dados.doc	16/07/2014 23:46:25		Aceito
Outros	curriculo lattes pesquisadores.doc	16/07/2014 23:44:17		Aceito
Outros	Técnicas laboratoriais.doc	16/07/2014 20:08:29		Aceito

Situação do Parecer:

Pendente

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERLÂNDIA, 17 de Junho de 2020

Assinado por:
Karine Rezende de Oliveira
(Coordenador(a))

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 06 de 06

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento e Avaliação de Biomarcadores Associados à Patologias no Período Neonatal e Implicações Diagnósticas e Prognósticas

Pesquisador: VÂNIA OLIVETTI STEFFEN ABDALLAH

Área Temática:

Versão: 7

CAAE: 36471314.5.0000.5152

Instituição Proponente: Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.125.987

Apresentação do Projeto:

Trata-se de atendimento a pendência do parecer nº: 4.094.314 de 17 de junho de 2020.

As informações deste parecer foram extraídas do documento anexo na Plataforma Brasil: PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1565127_E3.pdf de 23/06/2020.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Objetivo Geral: Desenvolver e/ou avaliar o papel de biomarcadores no período neonatal, desde o nascimento até a alta hospitalar.

Objetivo Secundário:

- 1- Desenvolver novos biomarcadores por métodos biotecnológicos e imunológicos.
2. Verificar a contribuição dos biomarcadores no diagnóstico precoce da infecção neonatal (sepse neonatal precoce e sepse neonatal tardia).
- 3- Avaliar o comportamento dos biomarcadores e suas relações com as principais patologias no período neonatal: hemorragia periventricular, retinopatia da prematuridade e displasia broncopulmonar, entre outras.
- 4- Avaliar a relação entre os biomarcadores e o desfecho final do recém-nascido: alta ou óbito.

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.125.987

- 5- Avaliar os biomarcadores no sangue de cordão do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 6- Avaliar os biomarcadores no sangue periférico do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 7- Avaliar os biomarcadores na urina do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 8- Avaliar os biomarcadores no líquido do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 9- Avaliar os biomarcadores na secreção traqueal do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 10- Avaliar os biomarcadores no sangue da mãe do RNT e RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.
- 11- Avaliar os biomarcadores no leite materno do RNPT correlacionando-os à evolução clínica e desfecho do recém-nascido.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme o protocolo:

Riscos:

Os riscos aos indivíduos participantes da pesquisa são mínimos e se referem basicamente ao risco de identificação de participação na pesquisa, pois os riscos referentes à coleta de sangue, urina, LCR e secreção traqueal, tais como dor local, formação de hematoma no local, queda de saturação durante a coleta, já estão incluídos nos cuidados de rotina a que estes recém-nascidos estão submetidos pela própria prematuridade e não serão realizadas novas coletas. A equipe executora compromete-se com o sigilo absoluto da identidade dos sujeitos da pesquisa.

Benefícios:

Os benefícios do estudo são a possibilidade de se detectar um marcador precoce para o diagnóstico de infecções neonatais e outras patologias prevalentes neste período.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Foi apontada a seguinte pendência no protocolo:

P1) Atualizar a equipe executora na Plataforma Brasil. Ainda são citados membros que não fazem mais parte da equipe.

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 02 de 06

(Continua)



Continuação do Parecer: 4.125.987

RESPOSTA PESQUISADORES: Informamos que foi atualizado o quadro da equipe executora na Plataforma Brasil, de acordo com a atualização descrita em destaque vermelho na última versão do projeto de pesquisa submetido e conforme emendas e notificações submetidas anteriormente a este Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.

ANÁLISE CEP/UFU: Pendência atendida.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Os pesquisadores atenderam a pendência do parecer nº: 4.094.314 de 17 de junho de 2020.

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, Resolução 510/16 e suas complementares, o CEP manifesta-se pela aprovação da emenda.

A emenda não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

Considerações Finais a critério do CEP:

OBS.: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

O CEP/UFU lembra que:

- a- segundo as Resoluções CNS 466/12 e 510/16, o pesquisador deverá manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período mínimo de 5 (cinco) anos após o término da pesquisa;
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.
- c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento as Resoluções CNS 466/12, 510/16 e suas complementares, não implicando na qualidade científica

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 03 de 06

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.125.987

do mesmo.

Orientações ao pesquisador :

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 466/12 e 510/16) e deve receber uma via original do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS 466/12), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 466/12). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, destacando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res.251/97, item III.2.e).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1565127_E3.pdf	23/06/2020 18:31:09		Aceito
Outros	Resposta_Pendencia_Junho_2020_WO RD.doc	23/06/2020 18:28:57	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Resposta_Pendencia_Junho_2020.pdf	23/06/2020 18:22:24	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Justificativa_Emenda_Maio_2020_WOR D.doc	27/05/2020 19:14:48	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	Projeto_2020_FINAL.docx	26/05/2020 15:01:09	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 04 de 06

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.125.987

Investigador	Projeto_2020_FINAL.docx	26/05/2020 15:01:09	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito
Outros	Justificativa_Emenda_Maio_2020.pdf	26/05/2020 14:59:40	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito
Outros	Relatorio_Parcial_2018.pdf	07/09/2019 18:55:51	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Relatorio_Parcial_2017.pdf	07/09/2019 18:55:42	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Relatorio_Parcial_2016.pdf	07/09/2019 18:55:35	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Relatorio_Parcial_2015.pdf	07/09/2019 18:55:24	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Notificacao_Relatorios_e_Equipe .pdf	07/09/2019 18:54:54	MAYLA SILVA BORGES	Aceito
Outros	Curriculo_lattes_novos_pesquisadores.docx	21/06/2019 10:59:45	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito
Outros	Termo_de_Compromisso_Equipe_Executora.pdf	21/06/2019 10:58:19	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito
Outros	Emenda_CEP.pdf	21/06/2019 10:57:05	VÂNIA OLIVETTI STEFFEN	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoEquipeExecutora.pdf	12/09/2017 10:11:51	Lidia Mayrink de Barros	Aceito
Outros	JustificativadeEmentaCEP.pdf	12/09/2017 10:11:10	Lidia Mayrink de Barros	Aceito
Outros	TCLE.doc	14/10/2015 15:58:17	Lidia Mayrink de Barros	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_recem_nascido.doc	14/10/2015 15:46:39	Lidia Mayrink de Barros	Aceito
Outros	Carta resposta ao CEP assinada.pdf	12/12/2014 09:16:04		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto final após pendencias CEP.doc	12/12/2014 09:13:06		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto assinada 2.pdf	19/08/2014 22:50:04		Aceito
Outros	Termo de compromisso assinado.pdf	30/07/2014 23:47:50		Aceito
Outros	Instituição co-participante neonatologia assinada.pdf	30/07/2014 23:47:05		Aceito
Outros	Instituição co-participante maternidade assinada.pdf	30/07/2014 23:46:47		Aceito
Outros	Instituição co-participante berçário assinada.pdf	30/07/2014 23:46:22		Aceito
Outros	Inst. Co-participante Laboratorio assinada.pdf	29/07/2014 23:59:46		Aceito

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br

Página 05 de 06

(Continua)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 4.125.987

Outros	Inst. Co-participante Hospital de Clínicas assinada.pdf	29/07/2014 23:59:31		Aceito
Outros	Inst. Co-participante banco de leite assinada.pdf	29/07/2014 23:59:10		Aceito
Outros	instrumento para coleta de dados.doc	16/07/2014 23:46:25		Aceito
Outros	curriculo lattes pesquisadores.doc	16/07/2014 23:44:17		Aceito
Outros	Técnicas laboratoriais.doc	16/07/2014 20:08:29		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERLÂNDIA, 30 de Junho de 2020

Assinado por:
Karine Rezende de Oliveira
(Coordenador(a))

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br