

Clayton L.D. Macedo
Mari C. Ferreira
Alexandre A. Naujorks
Andrea Tercziany
Fabiano J.B. da Costa
Heléia C. De David
Lenise L. Nascimento
Taciana de O. Dal'Forno
Theniza M. Uggeri

Centro de Ciências da Saúde,
Universidade Federal de Santa Maria,
Santa Maria, RS.

RESUMO

OBJETIVOS: Considerando-se os recentes relatos de uma possível relação entre exposição precoce ao leite bovino e diabetes mellitus do tipo 1 (DM1), este estudo teve como objetivo pesquisar a idade de início de exposição alimentar ao leite bovino em indivíduos portadores de DM1, através de um estudo caso-controle; bem como correlacionar a idade de introdução do leite bovino na dieta com o desenvolvimento e a idade de aparecimento do DM1. **MÉTODOS:** O estudo foi baseado em entrevistas dirigidas às mães de indivíduos dos seguintes grupos: a) grupo de pacientes diabéticos insulino-dependentes (GDM1), com diagnóstico realizado até os 30 anos, com média de idade ao diagnóstico de $9,2 \pm 5,4$ anos; b) grupo controle (GC): estudantes não-diabéticos. A amostra constituiu-se de 124 indivíduos (47 do GDM1 e 77 do GC), sem diferença estatística em relação a sexo e idade cronológica entre os dois grupos. **RESULTADOS:** A média do tempo de aleitamento exclusivo foi significativamente menor para o GDM considerando o sexo feminino. Não houve diferença significativa entre as médias dos grupos considerando o sexo masculino. Não houve correlação entre a idade de exposição ao leite bovino e a idade de início do DM1. **CONCLUSÕES:** Indivíduos com DM1 do sexo feminino foram expostos mais precocemente ao leite bovino comparados aos indivíduos controles, sugerindo um possível papel deste alimento na etiopatogenia da doença. A retirada precoce do leite materno da dieta dos lactentes e, conseqüentemente, dos fatores de proteção por ele oferecidos, podem ser considerados elementos potencialmente relacionados com o desencadeamento do processo auto-imune. (*Arq Bras Endocrinol Metab* 1999;43/5: 360-365)

Unitermos: Aleitamento materno; Diabetes mellitus do tipo 1; Leite; Lactente; Estudos caso-controle

ABSTRACT

OBJECTIVES: Considering the recent reports about a possible relationship between early exposure to bovine milk and type 1 diabetes mellitus (DM1), this study aimed to evaluate the initial age of feeding with bovine milk in DM1 subjects, through a case-control study; as well as to correlate the age at introduction of bovine milk on children's diet with the development and the age of onset of DM1. **METHODS:** The study was based in interviews directed to mothers of the following groups: a) insulin dependent diabetes patients (DM1G), with diagnosis done up to the mean age of 30 years, with an average age at the diagnosis of 9.2 ± 5.4 years; b) Control group: non diabetic students (CG). The sample comprised 124 subjects (47 DM1G and 77 CG), without statistical difference related to sex and chronological age between both groups. **RESULTS:** The exclusive breast feeding rate time was significantly less for the female sex. There was no significant differences between the groups rate in relation to the male sex. Also, there was no relationship between the age of exposure to bovine milk and the age at the onset of DM1. **CONCLUSIONS:** DM1 female subjects were exposed earlier to bovine milk than control subjects, suggesting a possible role of the

Recebido em 22/03/99
Revisado em 10/08/99
Aceito em 02/10/99

diet in the etiopathogeny of the disease. Precocious withdrawal from breast feeding, and the associated protection factors offered by it, can be considered elements potentially related to triggering of the autoimmune process. (*Arq Bras Endocrinol Metab* 1999;43/5: 360-365)

Keywords: Breast feeding; Type 1 diabetes mellitus; Dairy products; Infant; Case-control studies

A DESTRUIÇÃO AUTO-IMUNOLOGICAMENTE mediada das células β pancreáticas constitui o mecanismo patogênico fundamental no desenvolvimento do diabetes mellitus do tipo 1 (DM1). A hiperglicemia sintomática é precedida em vários anos por alterações imunológicas e metabólicas (1), conceitualmente apontando o DM1 como uma doença autoimune progressiva e sujeita a prevenção, detecção e atuação em algum dos estágios mais precoces de seu desenvolvimento. A associação entre os antígenos leucocitários humanos (HLA) classe II e o risco aumentado de DM1 em parentes de primeiro grau, além de outros distúrbios autoimunes observados, são compatíveis com um defeito imunológico geneticamente adquirido pelos indivíduos susceptíveis (2-4). No entanto, a taxa de concordância entre gêmeos monozigóticos tem sido relatada como de 50% ou menos (5). Esta observação aventa a hipótese de que, além da herança gênica, fatores ambientais desencadeadores do processo autoimune fazem parte da etiopatogenia da doença. Vírus como o CoxsackieB4, drogas (aloxana, estreptozotocina e o raticida vacor), além de fatores dietéticos, têm sido estudados na esperança de correlacionar-se significativamente um destes fatores com carga genética susceptível e desencadeamento do processo (1).

As maiores evidências sorológicas parecem relacionadas à albumina sérica bovina (BSA), uma proteína que apresenta-se em concentrações baixas (em torno de 1%) no leite bovino (6). Recentemente, demonstrou-se a alta prevalência de anticorpos anti-albumina bovina sérica (BSA) em pacientes portadores de DM1 de início recente (100%) em relação aos controles não-diabéticos (3,8%) (7). Esta proteína sérica bovina contém uma região de 17 aminoácidos (fração ABBOS) diferente de qualquer seqüência de aminoácidos da albumina sérica humana (8), mas que assemelha-se a uma outra proteína de peso molecular 69 Kd encontrada na superfície da célula β pancreática. Os anticorpos contra este epítipo (ABBOS) reagem de maneira cruzada também com a proteína p69 da superfície da célula β e podem ser os responsáveis pelo desencadeamento do processo autoimune que leva ao DM1 (7). A resposta imune celular à

exposição à BSA é mediada por linfócitos T específicos, que estão presentes em crianças com DM1 recentemente diagnosticado (9).

Os recém-nascidos apresentam uma marcada imaturidade imunológica no período neonatal e primeiros meses de vida. O leite humano diminui a morbi-mortalidade por infecções virais, bacterianas e fúngicas, principalmente a nível dos tratos gastrointestinal e respiratório e outras neste período. Seus fatores de defesa são divididos em solúveis e celulares (1). Os fatores solúveis são imunoglobulinas IgA, IgM e IgG; lisozima, lactoferrina, vitamina B12, lactoperoxidase, fator de crescimento do *Lactobacillus bifidus*, complemento, interferon e fator anti-estafilocócico (10). Os fatores celulares constituem linfócitos e macrófagos. As principais diferenças entre a composição do leite bovino e humano, relacionadas ao processo imunogênico, são: 1) maior conteúdo nitrogenado no leite bovino, em grande parte devido a um maior conteúdo de caseína; 2) presença de beta-lactoglobulina no leite bovino e ausência desta no leite humano; 3) a presença de albumina sérica bovina em concentrações semelhantes a de albumina sérica humana nos respectivos leites (11).

Trabalhos que consideraram a taxa de incidência de DM1 e a prevalência de amamentação materna encontraram correlação positiva entre a incidência da doença e a diminuição do tempo de amamentação (12) e entre a incidência da doença e o consumo diário de proteínas do leite (13). Embora evidências experimentais a justifiquem, estudos em humanos sobre a hipótese do DM1 desencadeado por leite bovino têm gerado resultados conflitantes (14).

Assim, o presente estudo dispôs-se a pesquisar o tempo de aleitamento materno prévio a introdução de leite bovino na dieta de um grupo de pacientes portadores de DM1, correlacionando-os com os dados de um grupo controle proveniente da mesma população, porém não relacionado.

MÉTODOS

O estudo foi baseado em entrevistas dirigidas exclusivamente às mães de indivíduos dos seguintes grupos não pareados: a) grupo diabéticos (GD): pacientes diabéticos do tipo 1, de qualquer idade mas com diagnóstico realizado até os 30 anos, de ambos os sexos, acompanhados pelo Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário de Santa Maria, em consultórios particulares de médicos endocrinologistas de Santa Maria ou membros da Associação de Diabéticos de Santa Maria, a amostra inicial foi composta de 51

indivíduos, 27 do sexo feminino e 24 do sexo masculino; b) grupo controle (GC): estudantes da oitava série, cujas turmas foram sorteadas, não-diabéticos e não relacionados ao GD, das seguintes escolas: Colégio Centenário (particular), Escola Olavo Bilac (pública, de localização central em Santa Maria) e CIEP Tancredo Neves (pública, de um bairro periférico em Santa Maria), ao todo foram amostrados 116 estudantes, 62 do sexo feminino e 54 do sexo masculino.

À elaboração inicial do questionário seguiu-se um período de teste do instrumento. O questionário foi aprimorado e a equipe de pesquisa, constituída por oito acadêmicos do Curso de Medicina da Universidade Federal de Santa Maria, foi treinada e orientada quanto à padronização das entrevistas. Estas deveriam ser diretas e não orientadas, desconsiderando-se qualquer dúvida ou insegurança na resposta da entrevistada. A resposta seria espontânea, não insistindo-se no caso de negação em fornecer todos ou determinado dado. As mães dos indivíduos eram procuradas em seu domicílio diretamente ou através de ligação telefônica. Foram descartados: casos de filhos adotivos ou de mães falecidas; casos onde a mãe não foi localizada em pelo menos duas ocasiões ou; casos em que a mãe negou-se a responder ao questionário.

Os dados foram analisados estatisticamente através do programa *Instat*, utilizando-se o teste "t" não pareado ($<0,05$) e teste de correlação linear.

RESULTADOS

Ao todo, foram obtidos dados pertinentes a 124 indivíduos, sendo 47 do GD e 77 do GC. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à distribuição por sexo ($p=0,66$).

Em relação à idade cronológica, não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos grupos ($p=0,204$). Porém, encontrou-se diferença estatisticamente significativa entre as médias das idades cronológicas do sexo feminino ($p=0,0156$). Dentro do GD, a média dos indivíduos do sexo feminino foi significativamente mais alta em relação aos indivíduos masculinos, com $p=0,046$.

A idade cronológica dos indivíduos diabéticos ao diagnóstico da doença foi em média de $9,2\pm 5,4$ anos. Entre os indivíduos masculinos, a média foi de $7\pm 4,6$ anos (mediana de 7 anos) e entre os femininos, $10,9\pm 5,6$ anos (mediana de 11 anos), diferença esta estatisticamente significativa ($p=0,014$).

Quanto a renda familiar mensal média do GD foi pouco superior ao GC (R\$ 1058,60 vs. R\$ 828,40, respectivamente, porém a diferença não foi significati-

va ($p=0,183$). O desvio padrão foi grande nos dois grupos (R\$ 1016,50 no GD vs. R\$ 737,50 no GC).

Em relação à história familiar para DM1, observou-se que 65% dos indivíduos analisados em ambos os grupos tinham história familiar positiva em algum grau de parentesco para qualquer dos tipos de DM, não havendo diferença significativa entre os mesmos.

As médias, DPs e medianas referentes ao tempo de aleitamento materno prévio à introdução de leite bovino na dieta dos indivíduos segundo o grupo e o sexo estão demonstrados na tabela 1. A média de tempo de aleitamento materno exclusivo foi significativamente menor ($p=0,0449$) entre os indivíduos diabéticos do sexo feminino em relação aos do grupo controle do mesmo sexo. As medianas também foram estatisticamente diferentes entre diabéticos e controles do sexo feminino, com $p=0,021$. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos grupos em relação ao sexo masculino ($p=0,95$). Dentro de cada grupo também não houve diferença estatisticamente significativa das médias comparando-se os dois sexos. Considerando-se o número total (ambos os sexos) de indivíduos dentro de cada grupo, também não houve diferença estatisticamente significativa entre eles (tabela 1).

A percentagem de crianças que receberam do aleitamento materno antes da introdução do leite bovino na dieta nos dois sexos segundo a idade em meses pode ser verificada nos gráficos 1 e 2.

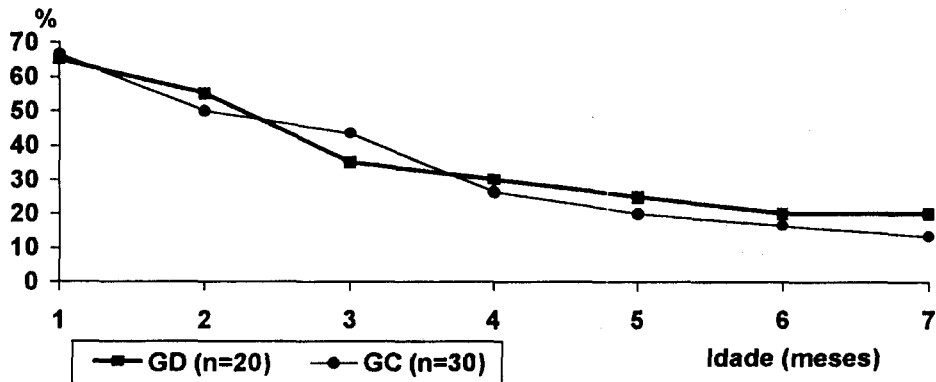
Tendo em vista que não foi observada diferença estatisticamente significativa na distribuição da amostra por sexos, não atribuímos a isso a diferença encontrada quanto ao tempo de aleitamento, que foi maior no GC sexo feminino. No entanto neste tipo de estudo retrospectivo sempre devemos considerar falhas relacionadas à não lembrança exata dos dados por parte dos participantes (no caso as mães).

Tabela 1. Tempo de aleitamento materno em meses antes da introdução de leite bovino (média, DP e mediana) na dieta entre os grupos, segundo o sexo e para a amostra total.

GRUPO	FEMININO		MASCULINO		TOTAL	
	GD	GC	GD	GC	GD	GC
n	25	47	20	30	45	77
MÉDIA	2,1*	3,7*	2,8	2,8	2,4	3,3
DP	2,8	3,2	2,9	3,3	2,8	3,2
MEDIANA	1 [#]	3 [#]	2	1,5	1	2

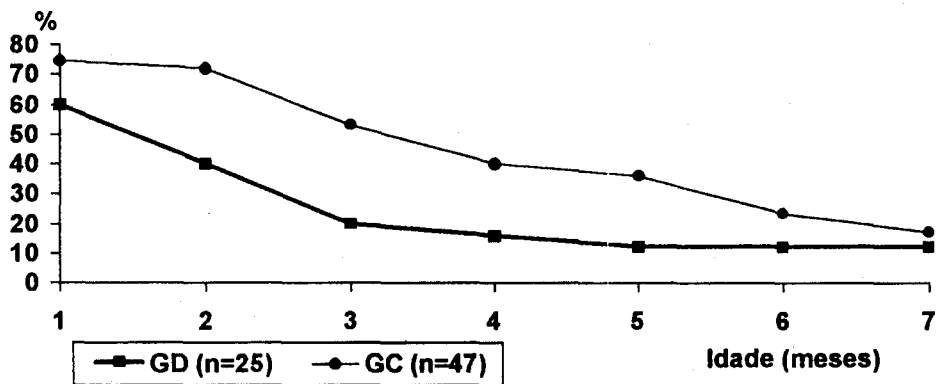
n=número de indivíduos; DP=desvio padrão; GD=grupo de diabéticos; GC=grupo de controles;

* $p=0,0449$; # $p=0,021$



GD: diabéticos; GC: controles.

Gráfico 1. Percentagem de crianças amamentadas antes da introdução de leite bovino na dieta (sexo masculino).



GD: diabéticos; GC: controles.

Gráfico 2. Percentagem de crianças amamentadas antes da introdução de leite bovino na dieta (sexo feminino).

DISCUSSÃO

O modelo de estudo caso-controle é uma eficiente maneira de demonstrar associação direta entre a doença e exposição a determinados fatores. Alguns destes estudos demonstraram que pacientes com DM1 mais constantemente apresentavam história de exposição neonatal precoce ao leite bovino ou uma história curta ou negativa de amamentação materna em relação a controles não diabéticos (14). Por exemplo, Saukkonen et al. (6) encontraram que a suplementação alimentar tinha iniciado mais cedo em diabéticos em relação aos não diabéticos (3 e 4 meses de idade, respectivamente). Outros estudos, contudo, não demonstraram diferenças entre diabéticos e controles relacionados ou não relacionados em relação ao tempo de aleitamento materno

e de suplementação dietética com leite bovino, ou no consumo de produtos derivados do leite bovino (15).

Revisando a literatura disponível até 1993, Gerstein (14) encontrou um único estudo que relacionou mudanças na incidência de DM1 com mudanças nas práticas de amamentação em dois países nórdicos (Noruega e Suécia), realizado por Borch-Johnsen et al. (12). Nestes dois países, uma queda na incidência de DM1 ao longo de quatro décadas foi observada concomitantemente a um aumento na prevalência de amamentação materna por pelo menos dois ou três meses. Estudando diferenças nas taxas de incidência da doença e prevalência de aleitamento materno em 18 países, Scott (16) observou que países com mais baixas prevalências de aleitamento aos 3 meses de vida do lactente também

apresentavam incidências mais altas de DM1. Este estudo também demonstrou que, em 12 países, a incidência de DM1 correlacionava-se positivamente com o consumo diário de proteínas de leite bovino pela população geral. Dahl-Jorgensen et al. (17) encontraram resultados bastante similares. Assim, Gerstein (14) sugere que 74-94% da variação na incidência de DM1 entre os países com dados confiáveis pode ser relacionada a diferenças no consumo de leite bovino, embora os estudos disponíveis não tenham provado que esta relação representa uma verdadeira associação entre DM1 e práticas alimentares neonatais, já que não há como saber se aquelas pessoas que mais consomem leite bovino são as mesmas que desenvolvem DM1. Este mesmo autor concluiu que estudos metodologicamente adequados demonstravam um risco de DM1 aumentado em 1,5 vezes para indivíduos com uma história de exposição precoce ao leite bovino e amamentação com duração inferior a 3 meses.

Estudando a prevalência de anticorpos IgG contra albumina sérica bovina (BSA), Pardini et al. (18) observou que a prevalência de anticorpos anti-BSA foi mais alta em indivíduos com DM1 do que nos controles, contudo a grande variação no título de anticorpos, comparando pacientes e controles sugeriu que anticorpos anti-BSA não são marcadores suficientemente sensíveis nem específicos para o diagnóstico de DM1.

No Brasil, a meta para o aleitamento materno é sua exclusividade até os 6 meses de idade, com prolongamento da amamentação até os 2 anos complementado por outros alimentos (21). Porém, dados da Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição de 1990 demonstram que, após o 3º mês de vida, 43% das crianças estão desmamadas. Aos 4 meses e meio, apenas a metade ainda mama no peito. Aos 6 meses, 61% deixaram de receber totalmente o leite materno. O aleitamento materno exclusivo até o 6º mês é praticamente nulo (19). A duração mediana do aleitamento materno representa a idade em que a metade das crianças ainda é amamentada. Na região Sul, esta mediana é de 86 dias. A pior mediana do Brasil, a do Nordeste, é de apenas 41 dias (19). As crianças desmamadas precocemente deixam de receber os fatores de proteção do leite humano em um período de labilidade imunológica de seu organismo, assim como passam a receber alimentos que, uma vez absorvidos, podem ser reconhecidos como antígenos pelo sistema imunológico imaturo.

O presente estudo comparou o tempo de dieta baseada em leite humano e livre de leite bovino entre indivíduos com DM1 e controles não relacionados.

Houve relação inversa estatisticamente significativa entre o tempo de aleitamento materno não acompanhado de suplementação por leite bovino e a prevalência de DM1 em indivíduos do sexo feminino (tabela 1). Apenas 20% das meninas diabéticas aos 3 meses e 12% aos 6 meses de idade ainda não haviam recebido leite bovino como complementação ao leite materno. O estudo falhou em demonstrar semelhante correlação também entre indivíduos do sexo masculino. É possível que a idade cronológica da população estudada, em média em torno de 15 anos, possa interferir na fidelidade das respostas dadas pelas mães dos sujeitos, em função do relativamente longo tempo decorrido desde os fatos pesquisados até o questionamento atual.

Embora a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomende a introdução de complementação alimentar somente a partir do 6º mês de vida do lactente, os grupos estudados apresentaram uma média de dieta sem leite bovino de apenas bem abaixo disto, em conformidade com a mediana de aleitamento materno da região sul do Brasil (em torno de 3 meses). A atual falta de estudos da incidência do DM1 em nossa população impossibilita a comparação com outros trabalhos da literatura, como os do grupo de pesquisadores responsáveis pelo *Childhood Diabetes in Finland* (20). Sabe-se que a Finlândia apresenta a maior incidência mundial de DM1 e, nestes estudos, o tempo de aleitamento materno até 3 meses é apontado como uma possível causa de alta incidência de DM1 neste país.

CONCLUSÕES

Indivíduos com DM1 do sexo feminino foram expostos mais precocemente ao leite bovino comparados aos indivíduos controles, sugerindo um papel importante deste alimento na etiopatogenia da doença. A retirada precoce do leite materno da dieta dos lactentes e, conseqüentemente, dos fatores de proteção por ele oferecidos, deve ser considerada como um elemento permissivo e potencialmente relacionado com o desencadeamento do processo autoimune.

Existem evidências concretas na literatura sugerindo que a exposição precoce ao leite bovino aumenta o risco de desenvolvimento de DM1 em indivíduos HLA-susceptíveis. A multiplicidade de padrões de HLA em diferentes grupos populacionais valoriza o estudo em nosso meio.

O incentivo ao aleitamento materno até os seis meses, além de ter um papel relevante na queda da morbi-mortalidade infantil (21), pode constituir também um método de prevenção do desencadeamento do processo autoimune.

REFERÊNCIAS

1. Sarni R. Leite materno e imunidade. In: Santoro M. **51º Curso Nestlé de Atualização em Pediatria** (resumo das conferências) **1994**;217-8.
2. Leshin M. Southwestern Internal Medicine conference: Polyglandular autoimmune syndromes. **Am J Med Sci** **1985**;290:77-12.
3. Tarn AC, Thomas JM, Dean BM et al. Predicting insulin-dependent diabetes. **Lancet** **1988**;1:845-6.
4. Nepom GT. A unified hypothesis for the complex genetics of HLA associations with IDDM. **Diabetes** **1991**;39:1153-5.
5. Unger RH, Foster DW. Diabetes Mellitus. In: Wilson JD, Foster DW, ed. **Williams Textbook of Endocrinology**. 8ª ed. Saunders, **1992**:1255-318.
6. Saukkonen T, Savilahti E, Vaarala O et al. Children with newly diagnosed IDDM have increased levels of antibodies to bovine serum albumin but not to ovalbumin. **Diabetes Care** **1994**;17(1):970-7.
7. Karjalainen J, Martin JM, Knip M et al. A bovine albumin peptide as a possible trigger of insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med** **1992**;327:302-6.
8. Atkinson MA, Maclaren NK. Islet cell autoantigens in insulin-dependent diabetes. **J Clin Invest** **1993**;92:1608-9.
9. Cheung R, Karjalainen J, Vandermeulen J et al. T cells from children with IDDM are sensitized to albumin serum albumin. **Scand J Immunol** **1994**;40:623-6.
10. Succi RCM. Doenças infecciosas e leite materno. In: Santoro M. **51º Curso Nestlé de Atualização em Pediatria** (resumo das conferências) **1994**;224-2.
11. Martin JM, Trink B, Daneman D, et al. Milk proteins in the etiology of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). **Am J Med** **1991**;23:447-6.
12. Borch-Johnsen K, Zachau-Christiansen B, Mandrup-Poulsen B et al. Relation between breast-feeding and incidence rates of insulin-dependent diabetes mellitus: a hypothesis. **Lancet** **1984**;2:1083-4.
13. Scott FW, Marlis EB. Conference summary: diet as an environmental factor in development of insulin-dependent diabetes mellitus. **Can J Physiol Pharmacol** **1991**;69:311-9.
14. Gerstein HC. Cow's milk exposure and type I diabetes mellitus - A critical overview of the clinical literature. **Diabetes Care** **1994**;17 (1):13-7.
15. Akerblom HK. Workshop report: 4th International Onnela Workshop: Immunology and diet towards the prevention of type I (insulin-dependent) diabetes? **Diabetologia** **1990**;33:509-2.
16. Scott FW. Cow's milk and insulin-dependent diabetes mellitus: is there a relationship? **Am J Clin Nutr** **1990**;51:489-3.
17. Dahl-Jorgensen K, Joner G, Hanssen KF. Relationship between cow's milk consumption and incidence of IDDM in childhood. **Diabetes Care** **1991**;14:1081-3.
18. Pardini VC, et al. Antibodies to bovine serum albumin in Brazilian children and young adults with IDDM. **Diabetes Care** **1996**;19(2):126-9.
19. Machado E. Evolução do Programa Nacional de Incentivo ao Aleitamento Materno no Brasil. In: Santoro M. **51º Curso Nestlé de Atualização em Pediatria** (resumo das conferências) **1994**;225-3.
20. Virtanen SM, Rasanen L, Aro A, et al. Childhood diabetes in Finland Study group. Feeding in infancy and the risk of type I diabetes mellitus in Finnish children. **Diabetic Med** **1992**;9:815-5.
21. UNICEF, OMS, UNESCO, FNUAP. Medidas Vitais. Edição revisada. **Abigraf** **1993**:89-23.

Endereço para correspondência:

Mari Cassol Ferreira
Rua Ramiro Barcelos 1740/301
97035002 Porto Alegre, RS
e-mail: Mari_Ferreira@hotmail.com