

*Documento do  
mês sobre  
amamentação*

*nº 03/99*



maternity by Picasso

## **DIABETES MELLITUS INSULINO-DEPENDENTE E ALEITAMENTO MATERNO**

Continuam a se acumular evidências de que o aleitamento materno exclusivo desde o nascimento promove saúde ótima e que a exposição precoce a leite de vaca ou fórmula pode causar problemas a longo prazo. O diabetes de origem juvenil, que tem múltiplos fatores causais, incluindo os genéticos, está entre as doenças crônicas que podem ser provocadas pela alimentação artificial.

Neste documento apresentamos 3 textos que discutem a relação entre alimentação na infância e desenvolvimento do diabetes mellitus insulino-dependente.

1. Práticas de Alimentação Infantil e Sua Possível Relação com a Etiologia do Diabetes Mellitus. **American Academy of Pediatrics, 1994; 752-754.**
2. Predisposição genética e fatores ambientais levando ao desenvolvimento de diabetes mellitus insulino-dependente em crianças chilenas. F. Pérez – Bravo, E. Carrasco, M.D. Gutierrez – López, M.T. Martínez, G. López, M. Garcia de los Rios. **J. Mol. Med., 1996; 74: 105-109.**
3. Amamentação ao seio, amamentação com leite de vaca e o diabetes mellitus tipo 1: examinando as evidências. **Rev. Bras. Epidemiol., 1998; 1(1): 4-13.** Autorização concedida gentilmente pelo editor para divulgar como encarte deste Documento.

---

Realização:



Apoio:

Unicef



Fundo das Nações Unidas para a Infância



WABA

Tradução: Trajano Ribeiro Filho e  
Tereza Setsuko Toma  
Revisão: Marina Ferreira Rea  
Editoração: Nelson Fco. Brandão

## As Práticas de Alimentação Infantil e Sua Possível Relação com a Etiologia do Diabetes Mellitus.

**Abreviações:** DMID, diabetes mellitus insulino-dependente; BR, bioreprodução.

O diabetes mellitus insulino-dependente (DMID) é um distúrbio genético grave e freqüente, afetando um grande número de crianças e adolescentes em todo o mundo. A incidência anual nos Estados Unidos é aproximadamente 15 por 100.000 indivíduos abaixo de 19 anos de idade, com uma prevalência de 2.6 por 100.000 pessoas. Estatísticas acuradas sobre a evolução do DMID em adultos são limitadas, mas sugerem que a taxa anual varia segundo regiões geográficas. Um pico na adolescência ocorre em muitas populações, mas aproximadamente igual número de indivíduos desenvolve DMID antes e após os 19 anos de idade.<sup>1-10</sup>

A etiologia da lesão e destruição das células beta parece envolver uma interface entre predisposição genética e agressão ambiental; o DMID não é herdado. As alterações genéticas que envolvem antígenos específicos HLA localizados no cromossoma 6 (e outras possíveis alterações não localizadas no cromossoma 6) resultam em um risco aumentado para ocorrência de lesão das células beta. Parece, contudo, que menos de 5% dos indivíduos que possuem os “genes para diabetes” atualmente identificáveis tornar-se-ão manifestamente diabéticos.<sup>11-15</sup> O processo patológico que leva à destruição das células beta é do tipo autoimune, envolvendo respostas tanto de células T quanto B, com liberação de citoquina e acúmulo de radical livre. O óxido nítrico parece ser o provável candidato a mediador tóxico final.<sup>16-19</sup>

### ANTECEDENTES

É longa a história de tentativas de relacionar a manifestação do diabetes a uma variedade de eventos ambientais. A presumida relação entre caxumba e desenvolvimento tardio de DMID alcança quase um século.<sup>20</sup> As questões críticas não resolvidas incluem: 1) O que detona o processo autoimune? 2) Existe um único gatilho ou são necessárias muitas agressões ambientais acumuladas para finalmente destruir a massa de células beta ? 3) Existe um período

especial de susceptibilidade e este está relacionado com agentes ambientais específicos ? 4) Qual é a duração do período de latência biológico entre a agressão desencadeante e a expressão clínica do diabetes ?

As evidências disponíveis sustentam a afirmação de que vários fatores ambientais podem estar envolvidos de maneira crítica no início e continuidade do processo autoimune destrutivo – infecções virais, diversas toxinas específicas, alterações nutricionais e estresse emocional.<sup>21-24</sup> Além disso, embora episódios únicos (tais como infecção por caxumba) possam raramente levar ao diabetes, na maioria dos casos provavelmente são necessárias múltiplas e variadas agressões ao longo do tempo. Um artigo recente discutiu a possível relação entre exposição precoce à proteína do leite de vaca e desenvolvimento do DMID.<sup>25</sup> Embora o relato proporcione um modelo conceitual, metodologia nova e impressionante estatística, é somente um de uma série de estudos ao longo dos últimos 10 anos que tentaram esmiuçar a complexidade das práticas de alimentação infantil e posterior desenvolvimento de DMID.

### ESTUDOS EM SERES HUMANOS

Em 1984, a primeira publicação que relacionava práticas de alimentação infantil e posterior desenvolvimento de DMID referia-se a um estudo ecológico de práticas de aleitamento materno ao longo de vários anos na Escandinávia. O estudo indicava que crianças nascidas durante os anos em que o aleitamento materno era uma prática comum estavam menos propensas a desenvolver DMID quando comparadas com aquelas nascidas durante períodos em que o aleitamento materno era menos popular. Infere-se destes achados que tanto a ausência de aleitamento materno quanto a introdução precoce de fórmula à base de leite de vaca na dieta infantil seriam fatores para o desenvolvimento de DMID em indivíduos geneticamente susceptíveis.<sup>26</sup> Desde então, mais de 90 artigos foram publicados, tanto defendendo o conceito original quanto apresentando argumentos contra sua validade. Gerstein,<sup>27</sup> através de meta-análise, reviu todas

as publicações e selecionou cuidadosamente cerca de 20 estudos que atendiam a critérios científicos rigorosos. Esta análise concluiu que existia uma modesta, mas estatisticamente significativa associação (odds ratio  $\geq 1.5$ ) entre introdução precoce do leite de vaca (e/ou término precoce do aleitamento materno) e desenvolvimento de DMID na infância. A época, dosagem e duração da exposição da criança ao leite de vaca podem ser importantes; alguns estudos sugerem idade mais precoce de início do DMID nas crianças que não foram amamentadas ou que receberam leite humano por muito pouco tempo.<sup>28-45</sup>

Uma série de observações de Kostraba<sup>46</sup> a partir da metanálise de Gerstein amplia de forma apropriada a discussão, incluindo outros aspectos da alimentação infantil e sugerindo cautela em passar das relações estatísticas para relações causais. Se existe uma relação causal entre ingestão de leite de vaca e surgimento do diabetes, parece que a proteína do leite ou alguma subfração são os precipitadores do processo autoimune em indivíduos geneticamente susceptíveis mais do que uma influência protetora do leite humano. Não há nenhuma evidência de que o leite processado, como aquele encontrado nas fórmulas infantis comerciais, seja de algum modo mais ou menos danoso do que o leite de vaca integral.

Há vários anos sabe-se que crianças com DMID têm uma frequência aumentada de anticorpos para uma variedade de proteínas do leite de vaca, o que é particularmente evidente naquelas com DMID de início precoce. Artigo recente de Karjalainen et al,<sup>25</sup> amplia estas observações e pode trazer maior compreensão sobre o desencadear do processo autoimune. Estes pesquisadores identificaram anticorpos contra o fragmento aminoácido-17 da albumina sérica bovina em 100% de um grande grupo de crianças finlandesas com diagnóstico recente de diabetes. A albumina sérica bovina presente no leite de vaca é imunologicamente distinta da albumina sérica humana com pouca ou nenhuma reação cruzada. Anticorpos para o aminoácido-17 do peptídeo da molécula de albumina do soro bovino foram encontrados em poucos controles saudáveis ou em irmãos de crianças diabéticas. Estes resultados interessantes e provocativos não foram reproduzidos totalmente em estudos ampliados de laboratório e ainda precisam ser confirmados por outros pesquisadores.<sup>47</sup>

## ESTUDOS EM ANIMAIS

A nosso ver, a primeira documentação da relação entre proteína do leite de vaca e diabetes em espécies animais susceptíveis é de 1984, pouco tempo após as observações escandinavas sobre práticas de aleitamento materno e desenvolvimento de DMID.<sup>26,48</sup> A adição de proteína do leite de vaca à ração rotineira aumentou a frequência de diabetes em ratos BR geneticamente susceptíveis para cerca de 100%. A remoção de toda proteína integral e a substituição por uma proteína hidrolisada reduziu a manifestação do diabetes nestes animais a aproximadamente zero. Desde então, numerosos estudos

sobre alimentação têm sido realizados utilizando principalmente ratos BR geneticamente susceptíveis e variedades de ratos diabéticos não obesos. Embora muitos estudos tenham confirmado um efeito estimulante das proteínas do leite e da carne bovinas sobre a frequência de diabetes,<sup>49-53</sup> estes achados não têm sido sempre verdadeiros. Vários pesquisadores não têm conseguido reproduzir de forma consistente os achados anteriores e, em alguns casos, têm identificado que uma série de proteínas de plantas, mais notavelmente a soja, também podem desencadear diabetes em variedades animais susceptíveis.<sup>54-59</sup>

## CONCLUSÃO

1. Diabetes mellitus insulino-dependente se desenvolve em indivíduos que carregam características específicas de susceptibilidade. Como não se conhecem todos os “genes com susceptibilidade” potencial ao diabetes, atualmente não é possível identificar todos os indivíduos de risco. Entretanto, parece que uma pequena porcentagem de tais indivíduos nunca desenvolverá diabetes mellitus clínico.
2. O processo destrutivo autoimune pode ser deflagrado por uma série de fatores ambientais.
3. Exposição precoce de crianças à proteína do leite de vaca pode ser um importante fator no desencadear do processo destrutivo de células beta em alguns indivíduos. Não se sabe se a proteína do leite de vaca nas fórmulas infantis disponíveis comercialmente está associada com este processo.
4. A proibição da proteína do leite de vaca nos primeiros meses de vida pode reduzir o posterior desenvolvimento do DMID ou adiar seu surgimento em indivíduos susceptíveis.
5. Pesquisas adicionais são necessárias para definir a possível relação entre práticas de alimentação infantil e desenvolvimento de DMID.

## RECOMENDAÇÃO

1. O aleitamento materno é fortemente recomendado como a principal fonte nutritiva durante o primeiro ano de vida das crianças.
2. Em famílias com história importante de DMID, particularmente se um irmão tem diabetes, o aleitamento materno e a proibição do leite de vaca disponível comercialmente e dos produtos contendo proteínas intactas de leite de vaca devem ser firmemente encorajados no primeiro ano de vida.
3. Uma vez que a antigenicidade das fórmulas infantis e do leite de vaca podem ser diferentes e não existe qualquer evidência contra o uso de fórmula para crianças cujas mães não amamentam, as fórmulas infantis comerciais à base de leite de vaca continuam sendo a alternativa aprovada.
4. A substituição das fórmulas à base de leite de vaca por fórmulas à base de soja não é aconselhada como prática de nutrição seja para crianças em

geral seja para as de alto risco, porque estudos em animais associam a ingestão de proteína de soja ao desenvolvimento de diabetes.

5. A substituição das fórmulas à base de leite de vaca por fórmulas elementares racionalmente faz sentido já que o risco de grandes proteínas seria substituído por dipeptídeos, tripeptídeos e oligopeptídeos. Porém, esta opção não pode ser endossada porque não há estudos em seres humanos confirmando seus benefícios.
6. Um ensaio prospectivo randomizado no qual crianças geneticamente susceptíveis evitassem a ingestão de leite de vaca deve ser desenvolvido através de acordos de cooperação nacionais e internacionais.

#### Grupo de Trabalho sobre Proteína do Leite de Vaca e Diabetes Mellitus:

Allan L. Drash, MD, coordenador

Michael S. Kramer, MD

Jack Swanson, MD

John N. Udall Jr, MD, PhD

#### REFERÊNCIAS

1. LaPorte RE, Fishbein HA, Drash AL, et al. The Pittsburgh insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) registry: the incidence of insulin-dependent diabetes mellitus in Allegheny County, Pennsylvania (1965-1976). *Diabetes*. 1981;30:279-284
2. LaPorte RE, Tajima N, Akerblom HK, et al. Geographic differences in the risk of insulin dependent diabetes mellitus: the importance of registries. *Diabetes care*. 1985;8(suppl 1):101-107
3. Diabetes Epidemiology Research International. Geographic patterns of childhood insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*. 1988;37:1113-1119
4. Rewers M, LaPorte RE, King H, Tuomilehto J. Trends in the prevalence and incidence of diabetes: insulin-dependent diabetes mellitus in childhood. *World Health Stat Q*. 1988;41:179-189
5. Stone RA. Secular trends in incidence of childhood IDDM in 10 countries. *Diabetes care*. 1990;39:858-864
6. WHO DIAMOND Project Group. WHO multinational project for childhood diabetes. *Diabetes care*. 1990;13:1062-1068
7. Joner G, Sovik. The incidence of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus 15-29 years in Norway 1978-1982. *Diabetologia*. 1991;34:271-274
8. Schoenle EJ, Bagot M, Semadeni S, Wiesendanger M, Molinari L. Epidemiology of insulin-dependent diabetes mellitus in Switzerland: increasing incidence rate and rural-urban differences in Swiss men born 1948-1972. *Diabetes Care*. In press
9. Nystrom L, Dahlquist G, Rewers M, Wall S. The Swedish childhood diabetes study. An analysis of the temporal variation in diabetes incidence 1978-1987. *Int J Epidemiol*. 1990;19:141-146
10. Tuomilehto J, Rewers M, Reunanen A, et al. Increasing trend in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus in childhood in Finland. Analysis of age, calendar time and birth cohort effects during 1965 to 1984. *Diabetologia*, 1991;34:282-287
11. Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature*, 1987;329:599-604
12. Todd JA, Bell JI, McDevitt JA. A molecular basis for genetic susceptibility in insulin dependent diabetes mellitus. *Trends Genet*. 1988;4:129-134
13. Morel PA, Dorman JS, Todd JA, McDevitt HO, Trucco M. Aspartic acid at position 57 of the HLA-DQ beta chain protects against type I diabetes mellitus: a family study. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988;55:8111-8115
14. Trucco M. Immunogenetics in insulin-dependent diabetes mellitus: the second-event hypothesis. In: Belfiore F, Bergman RN, Molinatti GM, eds. *Current Topics in Diabetes Research*. Vol 12. Basel: Karger; 1993, pp 135-146
15. Trucco M. To be or not to be ASP 57, that is the question. *Diabetes Care*. 1992;15:705-715
16. Bottazzo GF. Death of a beta cell: homicide or suicide? *Diabetis Med*. 1986;3:119-130
17. Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *N Engl J Med*. 1986;314:1360-1368
18. Drell DW, Notkins AL. Multiple immunological abnormalities in patients with type I (insulin dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1987;30:132-143
19. Kolb H, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: a pathogenic factor in autoimmunity. *Immunol Today*. 1992;13:157-160
20. Harris HF. A case of diabetes mellitus following mumps. *Boston Med Surg J*. 1899;140:645-649
21. Orchard TJ, Dorman JS, LaPorte RE, Ferrell RE, Drash AL. Host and environmental interactions in diabetes mellitus. *J Chronic Dis*. 1986;39:979-999
22. Diabetes Epidemiology Research International. Preventing insulin dependent diabetes mellitus: the environmental challenge. *Br Med J*. 1987;295:479-481
23. Drash AL, Lipton RB, Dorman JS, et al. The interface between epidemiology and molecular biology in the search for the causes of insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Med*. 1991;23:463-471
24. Laron Z, Karp M, eds. *Genetic Environmental Risk Factors for Type I Diabetes (IDDM) Including a Discussion on the Autoimmune Basis*. London, England: Freund Publishing House, Ltd; 1992
25. 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;327:302-307
26. Borch-Johnsen K, Joner G, Mandrup-Poulsen T, et al. Relation between breast-feeding and incidence rates of insulin-dependent diabetes mellitus. A hypothesis. *Lancet*. 1984;2:1083-1086
27. Gerstein HC. Cow's milk exposure type I diabetes mellitus. A critical overview of the clinical literature. *Diabetes Care*. 1994;17:13-19
28. Scott FW. Cow milk and insulin-dependent diabetes mellitus: is there a relationship? *Am J Clin Nutr*. 1990;51:489-491
29. Dahl-Jorgensen K, Joner G, Hanssen KF. Relationship between cows' milk consumption and incidence of IDDM in childhood. *Diabetes Care*. 1991;14:1081-1083
30. Virtanen SM, Rasanen L, Aro A, et al. Infant feeding in Finnish children less than 7 yr of age with newly diagnosed IDDM. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetes Care*. 1991; 14:415-417
31. Virtanen SM, Rasanen L, Aro A, et al. Feeding in infancy and the risk of type I diabetes mellitus in Finnish children. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetic Med*. 1992; 9:815-819

32. Dahlquist G, Blom L, Lonnberg G. The Swedish childhood diabetes study – a multivariate analysis of risk determinants for diabetes in different age groups. *Diabetologia*. 1991;34:757-762
33. Blom L, Dahlquist G, Nystrom L, Sanstrom A, Wall S. The Swedish childhood diabetes study – social and perinatal determinants for diabetes in childhood. *Diabetologia*. 1989;32:7-13
34. Dahlquist G, Savilahti E, Landin-Olsson M. Na increased level of antibodies to beta-lactoglobulin is a risk determinant for early-onset type I (insulin-dependent) diabetes mellitus independent of islet cell antibodies and early introduction of cow's milk. *Diabetologia*. 1992;35:980-984
35. Glatthaar C, Whittall DE, Welborn TA, et al. Diabetes in Western Australian children: descriptive epidemiology. *Med J Aust*. 1988;148:117-123
36. Kostraba JN, Dorman JS, LaPorte RE, et al. Early infant diet and risk of IDDM in blacks and whites – a matched case-control study. *Diabetes Care*. 1992;15:626-631
37. Siemiatycki J, Colle E, Campbell S, Dewar RA, Belmonte MM. Case-control study of IDDM. *Diabetes Care*. 1989;12:209-216
38. Mayer EJ, Hamman RF, Gay EC, Lezzotte DC, Savitz DA, Klingensmith GJ. Reduced risk of IDDM among breast-fed children. The Colorado IDDM Registry. *Diabetes*. 1988;37:1625-1632
39. Kostraba JN, Cruikshanks KJ, Lawler-Heavner J, et al. Early exposure to cow's milk and solid foods in infancy, genetic predisposition and risk of IDDM. *Diabetes*. 1993;42:288-295
40. Fort P, Lanes R, Dahlem S, et al. Breast feeding and insulin-dependent diabetes mellitus in children. *J Am Coll Nutr*. 1986;5:439-441
41. Kyvik KO, Green A, Svendsen A, Mortensen K. Breast feeding and the development of type I diabetes mellitus. *Diabetic Med*. 1992;9:233-235
42. Metcalfe MA, Baum JD. Family characteristics and insulin dependent diabetes. *Arch Dis Child*. 1992;67:731-736
43. Nigro G, Campea L, De Novellis A, Orsini M. Breast-feeding and insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*. 1985;1:467
44. Bognetti E, Meschi F, Malavasi C, et al. HLA antigens in Italian type 1 diabetic patients: role of DR3/DR4 antigens and breast feeding in the onset of the disease. *Acta Diabetol*. 1992;28:229-232
45. Virtanen SM, Rasanen L, Ylonen K, et al. Early introduction of dairy products associated with increased risk of IDDM in Finnish children. Childhood in Diabetes in Finland Study Group. *Diabetes*. 1993;42:1786-1790
46. Kostraba JN. What can epidemiology tell us about the role of infant diet in the etiology of IDDM? *Diabetes Care*. 1994;17:87-91
47. Atkinson MA, Bowman MA, Kao KJ, et al. Lack of immune responsiveness to bovine serum albumin in insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med*. 1993;329:1853-1858
48. Elliot RB, Martin JM. Dietary protein: a trigger of insulin dependent diabetes in the BB rat? *Diabetologia*. 1984;26:297-299
49. Daneman D, Fishman L, Clarson C, Martin J. Dietary triggers of insulin-dependent diabetes in the BB rat. *Diabetes Res Clin Exp*. 1987;5:93-97
50. Coleman DL, Kuzava JE, Leiter EH. Effect of diet on incidence of diabetes in nonobese diabetic mice. *Diabetes*. 1990;39:432-436
51. Scott FW, Daneman D, Martin JM. Evidence for a critical role of diet in the development of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Exp*. 1988;7:153-157
52. Scott FW, Elliott RB, Kolb H. Diet and autoimmunity: prospects of prevention of type I diabetes. *Diabetes Nutr Metabol Clin Exp*. 1989;2:61-67
53. Leslie RDG, Elliot RB. Early environmental events as a cause of IDDM: evidence and implications. *Diabetes*. 1994;43:843-850
54. Scott FW, Sarwar G, Cloutier HE. Diabetogenicity of various protein sources in the diet of the diabetes-prone BB rat. In: Camerini-Davalos RA, Cole HS, eds. *Prediabetes*. New York: Plenum Publishing Corp; 1988: 277-285
55. Scott FW, Cloutier HC, Souligny J, Riley WJ, Hoorfar J, Brogren CH. Diet and antibody production in the diabetes-prone BB rat. In: Larkins R, Zimmet P, Chisholm D, eds. *Diabetes 1988. Proceedings of the 13<sup>th</sup> International Diabetes Federation*. The Netherlands: Elsevier Science Publishers BV; 1989:763-767
56. Scott FW, Marliss EB. Conference summary: diet as an environmental factor in development of insulin-dependent diabetes mellitus. *Can J Physiol Pharmacol*. 1991;69:311-319
57. Hoorfar J, Scott FW, Cloutier HE. Dietary plant materials and development of diabetes in the BB rat. *J Nutr*. 1991; 121:908-916
58. Scott FW. Food, diabetes immunology. In: Forse AS, Kabbash L, Blackburn GL, Bell SJ, eds. *Diet, Nutrition and Immunity*. Boca Raton, FL: CRC Press. In press
59. Hoorfar J, Buschard K, Dagnaes-Hansen F. Prophylactic nutritional modification of the incidence of diabetes in autoimmune non-obese diabetic (NOD) mice. *Br J Nutr*. 1993;69:597-607

Tradução: Trajano Ribeiro Filho e Tereza Setsuko Toma  
 Revisão: Marina Ferreira Rea  
 Edição eletrônica: Nelson Francisco Brandão  
 Agradecimentos a Olavo Toma Ribeiro pela digitação de grande parte deste texto.

**Genetic predisposition and environmental factors leading to the development of insulin-dependent Diabetes Mellitus in Chilean children**

## **Predisposição genética e fatores ambientais levando ao desenvolvimento de diabetes mellitus insulino-dependente em crianças chilenas**

Recebido: 23 de abril de 1995/Aceito: 3 de novembro de 1995

**Resumo.** Este estudo foi desenhado para examinar a hipótese de que alguns fatores ambientais aumentam o risco de diabetes mellitus insulino-dependente. Coletaram-se dados sobre a história alimentar de 80 crianças diabéticas no Arquivo de Santiago do Chile e de 85 indivíduos controles não diabéticos, os quais eram comparáveis em termos de idade, sexo e características étnicas. Definiu-se exposição precoce como a ingestão de fontes alimentares outras que não leite materno antes de três meses de idade. Para definir susceptibilidade genética ao diabetes mellitus insulino-dependente cada indivíduo foi classificado em termos de HLA DQA1 e DQB1, e a possível conformação de heterodímeros susceptíveis foi considerada um marcador de risco. No grupo diabético um menor número de crianças foi exclusivamente amamentado quando comparado ao grupo controle (21.55 +- 15.05 vs 33.95 +- 20.40 semanas,  $p < 0.01$ ). Além disso, exposição a leite de vaca e a alimentos sólidos ocorreu mais precocemente no grupo diabético do que no grupo controle (15.90 +- 10.95 vs 21.15 +- 13.65 e 16.85 +- 10.25 vs 21.20 +- 12.35 semanas,  $p < 0.05$ ). Nossos dados mostram que entre os fatores importantes para o desenvolvimento do diabetes mellitus insulino-dependente estão uma curta duração do aleitamento materno e uma exposição precoce a leite de vaca e alimentos sólidos. O alto risco relativo observado em indivíduos geneticamente predispostos indica um efeito de interação entre componentes genéticos e ambientais.

**Palavras chaves.** Diabetes mellitus insulino-dependente . Exposição a leite de vaca . Predisposição genética . Alimentos sólidos . Dieta da infância . Aleitamento materno.

**Abreviações.** DMID: Diabetes mellitus insulino-dependente . RR: Risco relativo

### **Introdução**

Pesquisa realizada durante a década passada indicou que o diabetes mellitus insulino-dependente (DMID) tem uma etiologia multifatorial (1). Os eventos iniciais do processo autoimune que levam à destruição das células beta do pâncreas e ao desenvolvimento de DMID são ainda desconhecidos (2), mas o processo depende tanto de fatores genéticos quanto ambientais. A predisposição genética de um indivíduo para desenvolver DMID é fortemente influenciada por genes MHC classe II particularmente aqueles codificados pelas proteínas DR e DQ. Por isso, a susceptibilidade genética ao DMID é determinada principalmente pela estrutura das cadeias alfa e beta da DQ e cadeia beta da DR (3-5). Em seres humanos a relação temporal entre infecção e diabetes está bem documentada, mas o papel exato dos vírus (incluindo coxsackie B, rubéola e caxumba) na patogênese é desconhecido (6-8).

Vários estudos ecológicos e de caso-controle têm mostrado que o risco de desenvolver DMID é mais baixo em crianças que foram amamentadas (9,10). Além disso, alguns autores sugerem que crianças amamentadas por períodos mais longos têm menor risco de desenvolver DMID do que aquelas amamentadas por períodos mais curtos (9-12). Estas observações sugerem que o efeito protetor da amamentação pode estar relacionado a um retardo na exposição a outros tipos de dietas (12,13). A ingestão de leite de vaca tem sido proposta como um fator ambiental que desencadeia o desenvolvimento de DMID (14,15). Evidência sorológica de que este processo autoimune é deflagrado pela exposição a uma proteína encontrada no leite de vaca tem levantado muitas preocupações a respeito da segurança e conveniência de alimentar recém-nascidos com produtos à base de leite de vaca. (15-20).

O Chile é uma região com uma incidência extremamente baixa de DMID (21) e onde pouco se conhece sobre os fatores de risco para DMID. Com o objetivo de estabelecer uma possível relação entre fatores genéticos e ambientais no desenvolvimento do DMID realizamos um estudo retrospectivo que analisa fatores tais como duração da

---

F. Pérez - Bravo  
Laboratorio de Bioquímica.  
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos,  
Universidad de Chile, Macul 5540, Santiago, Chile

E. Carrasco, G. López, M. Garcia de los Rios  
Unidad de Diabetes y Nutrición, Facultad de Medicina,  
Campus Occidente, Universidad de Chile, Santiago, Chile

M.D. Gutierrez – López, M.T. Martinez  
Unidad de Lípidos y Aterosclerosis, Hospital Clínico San Carlos,  
Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, Spain

amamentação, exposição precoce a leite de vaca ou outros substitutos na dieta infantil e ocorrência de infecção em relação aos marcadores de susceptibilidade HLA DQ.

---

## Materiais e métodos

### População

Obtivemos dados sobre 80 casos de DMID do Arquivo de Santiago do Chile (no período de 1985-1992), os quais incluíam 38 do sexo masculino e 42 do sexo feminino com uma idade média de 15.1 +- 5.6 anos, duração do DMID de 6.4 +- 3.3 anos e uma ordem relativa de nascimento de 0.64 +- 0.29. Para ser incluído no estudo o indivíduo deveria preencher os seguintes critérios: idade abaixo de 15 anos à época do diagnóstico de diabetes, residir em Santiago do Chile, início do tratamento com insulina dentro de 2 semanas após o diagnóstico e diabetes não secundário a outras condições. O grupo controle consistiu de 85 indivíduos saudáveis, não diabéticos, recrutados aleatoriamente de várias escolas de Santiago. Este grupo incluiu 38 do sexo masculino e 47 do sexo feminino com uma idade média de 14.8 +- 5.1 e ordem relativa de nascimento de 0.70 +- 0.33. A ordem relativa de nascimento foi calculada dividindo a ordem de nascimento da própria criança pelo número de crianças na família. As crianças com DMID e as controles eram etnicamente similares, pertencendo ao grau III da classificação sócio-genética, o qual representa cerca de 40% de miscigenação indígena com grupos genéticos europeus, primariamente de origem hispânica (22).

### Dieta infantil

Os dados de nutrição infantil foram colhidos através de questionários enviados pelo correio ou por entrevistas pessoais com a mãe de cada indivíduo avaliado geneticamente. Os questionários cobriam várias questões relativas à história familiar de DMID e outras doenças autoimunes e ocorrência de doenças infecciosas na infância, tais como rubéola, caxumba e outras. Os dados coletados incluíam a duração de toda a dieta e, se a criança foi exclusivamente amamentada, a idade de introdução dos substitutos do leite materno e dos alimentos sólidos, o tipo de substituto do leite materno (isto é, se à base de leite, à base de soja ou fórmula infantil especial, leite evaporado, leite em pó, leite de vaca fresco e marca da fórmula), além do uso de fórmulas infantis especiais, incluindo aquelas com proteínas hidrolisadas. Os dois grupos eram similares com relação à renda, educação e situação social.

### Análise genética do DNA

O DNA do genoma de 63 pacientes com DMID (79%) e de 74 controles (87%) foram extraídos de linfócitos do sangue periférico usando técnicas padronizadas (23). O DNA (0.5 micrograma) foi submetido a análise de reação por cadeia polimerase. A identificação dos alelos HLA DQA1 e DQB1 foi possível pelo uso de reação por cadeia

polimerase e análise por pontos com oligonucleotídeos marcados, como previamente descritos (24). Os alelos estudados foram: DQA1\*0101 - 0102 - 0103 - (NR), DQA1\*0201 (NR), DQA1\*0301 (R), DQA1\*0401 - 0601 (R), DQA1\*0501 (R), DQB1\*0201 (ND), DQB1\*0301 (D), DQB1\*0302 (ND), DQB1\*0303 (D), DQB1\*0402 (D), DQB1\*0501 (ND), DQB1\*0502 (ND), DQB1\*0503 (D) e DQB1\*0602 (D).

Com base em estudos anteriores (25,26) os genótipos de risco para DMID foram definidos considerando o número de conformações possíveis heterodímeros DQ susceptíveis. Os heterodímeros DQ susceptíveis possuem uma arginina na posição 52 da cadeia alfa DQ e ausência de ácido aspártico na posição 57 da cadeia beta DQ. As cadeias susceptíveis [alfa DQ Arg 52+ (R), beta DQ Asp 57- (ND)] e cadeias protetoras [alfa DQ Arg 52- (NR), beta DQ Asp 57+ (D)], H0 e H1, foram definidas como genótipos de baixo risco e H2 e H4 como genótipos de alto risco (27).

### Análise estatística

Utilizou-se o teste t de Student para comparar variáveis de distribuição normal (por exemplo, ano de nascimento) e o teste de Wilcoxon para comparar variáveis de distribuição não normal (por exemplo, ordem relativa de nascimento, duração da amamentação e idade de exposição a leite de vaca e alimentos sólidos). O teste de Fisher foi usado quando os números teóricos eram maiores do que 3. Diferenças estatísticas de  $P < 0.05$  foram consideradas significantes. O risco relativo (RR) foi estimado de acordo com as fórmula de Woolf e para as séries contendo 0 utilizou-se a fórmula modificada de Haldane.

---

## Resultados

A prevalência de agentes infecciosos durante a infância foi muito similar entre diabéticos e controles (varicela: 8.4 vs 10.5%, caxumba: 2.3 vs 2.6%, rubéola: 1.4 vs 1.6%, hepatite: 5.3 vs 5.4%, difteria: 5.3 vs 4.2%, tonsilite: 14.4 vs 12.9%, os resultados dos testes para coxsackie B e citomegalovirus foram negativos em ambos os grupos; nenhuma das diferenças foi estatisticamente significativa). Somente o sarampo ocorreu numa frequência mais alta no grupo controle (8.2 vs 2.8%,  $P < 0.05$ ).

A tabela 1 descreve as dietas infantis e compara o período de amamentação exclusiva entre crianças diabéticas e controles (21.55+-15.05 vs 33.95+-20.40 semanas,  $P < 0.01$ ). Encontramos leves diferenças entre pacientes diabéticos e controles com relação à idade de exposição ao leite de vaca (15.90+-12.55 vs 21.15+-13.65 semanas,  $P < 0.05$ ) e aos alimentos sólidos (16.85+-10.25 vs 21.20+-12.35 semanas,  $P < 0.05$ ). Para investigar uma possível relação entre a duração da amamentação e a predisposição genética ao DMID em termos de genótipos de alto e baixo risco comparamos a distribuição de casos quanto aos genótipos para DQA1\* e DQB1\* na conformação heterodímera teórica, de acordo com o modelo de Khalil (27). A tabela 2 apresenta o RR de desenvolvimento de



DMID em relação à duração da amamentação e aos genótipos de alto ou baixo risco. Encontrou-se um RR maior em crianças com um genótipo de alto risco e curto período de aleitamento materno exclusivo (RR=13.1,  $P<0.0001$ ) quando comparadas àquelas exclusivamente amamentadas (>3meses) com um genótipo de baixo risco. O RR foi baixo nos casos em que o período de amamentação durou menos de 3 meses. Observou-se uma grande variação no RR entre genótipos de alto risco (H4) e diferentes períodos de aleitamento materno (RR=13.10 vs RR=1.20,  $P<0.001$ ).

**Tabela 1.** Duração do aleitamento materno e idade de início da exposição a outras fontes alimentares

	Pacientes diabéticos (n=80)	Indivíduos não diabéticos (n=85)	P
Amamentados (%)	88	95	
Duração do aleitamento materno exclusivo*	21.55+-15.05	33.95+-20.40	0.01
Exposição a fórmula infantil especial**	14.90+-10.95	15.80+-14.35	NS
Exposição a leite de vaca (em pó/fresco)	15.90+-12.55	21.15+-13.65	0.05
Exposição a alimento sólido**	16.85+-10.25	21.21+-12.35	0.05

\* Idade média, em semanas, na qual crianças amamentadas foram desmamadas

\*\* Idade média, em semanas, do início da exposição

**Tabela 2.** Estimativa de risco relativo com relação a aleitamento materno e genótipos de alto ou baixo riscos. Antes e após os 3 meses

Genótipo DQB/DQB-DQA/DQA	Diabético (n=63)		Não diabético (n=74)		RR,	P
	N	Freq.	n	Freq.		
Mamou no peito<3:						
H4	27	0.42	4	0.05	13.10	0.0001
0302/0201-0301/0501	15		2			
0302/0302-0301/0301	6		2			
outros	6		0			
H2	12	0.19	6	0.08	2.70	0.05
0302/0501-0101/0301	5		2			
0302/0301-0301/0501	2		3			
0201/0501-0101/0501	2		1			
outros	3		0			
H1	1	0.02	2	0.03	0.58	NS
0301/0501-0101/0501	1		1			
0301/0502-0101/0301	0		1			
H0	4	0.06	12	0.16	0.35	NS
0501/0501-0101/0101	2		5			
0501/0602-0101/0101	2		2			
0602/0602-0101/0101	0		2			
0301/0602-0101/0501	0		2			
0301/0301-0301/0301	0		1			
Mamou no peito>3:						
H4	10	0.16	10	0.14	1.20	NS
0302/0201-0301/0501	5		4			
0302/0302-0301/0301	3		2			
outros	2		2			
H2	7	0.11	12	0.16	0.75	NS
0302/0501-0101/0301	1		5			
0302/0301-0301/0501	2		2			
0201/0501-0101/0501	2		2			
outros	2		3			
H1	1	0.02	14	0.19	0.07	0.01
0301/0501-0101/0301	1		3			
0301/0502-0101/0301	0		3			
0602/0201-0101/0501	0		3			
outros	0		5			
H0	1	0.02	14	0.19	0.07	0.01
0301/0602-0101/0301	1		3			
0501/0501-0101/0101	0		5			
0602/0602-0101/0101	0		2			
0301/0301-0301/0301	0		2			
outros	0		2			

---

## Discussão

Há relatos de que a incidência de DMID na infância em Santiago do Chile é extremamente baixa (25/100.000 habitantes - ano), com registros anuais que mostram um leve crescimento nos últimos anos (21,28). Este estudo foi realizado para avaliar a possível associação entre tipo de dieta durante a infância, estrutura genética e o desenvolvimento do DMID.

Ao contrário dos achados de outros estudos (29,30), a nossa pesquisa mostrou que os dois principais agentes envolvidos na patogênese do DMID (rubéola e caxumba) eram similares ou estavam mais presentes entre indivíduos não diabéticos. Como em outros estudos (10,12,31), contudo, encontramos diferenças entre crianças não diabéticas e diabéticas quanto ao período de aleitamento materno exclusivo. A duração da amamentação exclusiva foi mais curta no grupo diabético, tendo sido exposto a leite de vaca e alimentos sólidos mais cedo do que crianças não diabéticas. No Chile a composição protéica do leite de vaca (26.4%) consiste principalmente de caseína do tipo 1. Um estudo finlandês (13) foi o primeiro a sugerir uma relação inversa entre a idade de introdução de produtos lácteos e a duração do aleitamento materno exclusivo, por um lado, e o risco de DMID, por outro. Estudos subsequentes confirmaram que a introdução de produtos lácteos antes da idade de 3-4 meses pode ser crítica para o desenvolvimento de diabetes (11-12, 31,32). Recentemente, outro estudo finlandês mostrou que a idade de introdução de produtos lácteos - independentemente da duração do aleitamento materno exclusivo - está associada a maior risco de DMID (32). Vários estudos mostram que a exposição precoce a produtos lácteos aumenta o risco de DMID em cerca de 1.5 vezes (33, 34). Quando analisamos o risco genotípico e o tipo de dieta infantil, observamos um alto RR para desenvolvimento de DMID em crianças com risco genotípico alto e curtos períodos de aleitamento materno exclusivo. O risco decresceu naquelas crianças amamentadas por mais de 3 meses. Recentemente, Kostraba e cols. (11, 35) relataram a exposição de crianças com genótipos de alto e baixo riscos para DMID e sua exposição a leite de vaca integral. Exposição a leite de vaca integral aos 3 meses de idade estava associada com um odds ratio de 3.7 em crianças de alto risco e de 2.9 naquelas de baixo risco (não significante). Contudo, os autores demonstraram uma interação entre fatores ambientais e genéticos, com a presença de apenas um dos fatores de risco resultando em risco moderadamente aumentado de DMID. Vários estudos ecológicos de caso-controle indicaram uma possível relação entre fontes protéicas do leite de vaca e DMID (32-36).

A predisposição genética é essencial para o desenvolvimento de DMID. A destruição específica de células beta resultante do processo autoimune celular/humoral pode depender de um fator desencadeante externo. Acreditamos que a ausência de fatores predisponentes é protetora, embora a predisposição genética possa oferecer uma explicação plausível das diferenças entre indivíduos diabéticos e controles. Nossos

dados sugerem que o aleitamento materno exclusivo é importante na diminuição do risco de desenvolver DMID, indicando um provável efeito protetor da amamentação prolongada. A estrutura genética da população chilena é similar à de outras populações brancas. Os fatores que parecem ser importantes para a baixa incidência de DMID em Santiago do Chile são: a baixa prevalência de agentes infecciosos relacionados à DMID, a alta proporção de crianças amamentadas na população, a reduzida frequência de DR3, DQB1\*0201, e a presença de alelos DR14 protetores (26).

**Agradecimentos.** Esta investigação foi apoiada por subvenção de FONDECYT1930781/93. Expressamos nossa gratidão a todas as crianças que participaram deste estudo.

---

## Referências

1. Bach JF (1994) Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. *Endocrine Rev* 15:516-542.
2. Todd JA (1990) Genetic control of autoimmunity in type I diabetes. *Immunol Today* 11:122-129.
3. Nepon JT (1990) A unified hypothesis for the complex genetics of HLA associations with IDDM. *Diabetes* 39:1153-1157.
4. Sheehy MJ (1992) HLA and insulin-dependent diabetes. A protective perspective. *Diabetes* 41:123-129.
5. Thorsby E, Ronningen KS (1993) Particular HLA-DQ molecules play a dominant role in determining susceptibility or resistance to type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 36:371-377.
6. Yoon J-W (1991) Role of viruses in the pathogenesis of IDDM. *Ann Med* 23:437-445.
7. Szopa TM, Titchener PA, Portwood ND, Taylor KW (1993) Diabetes mellitus due to viruses – some recent developments. *Diabetologia* 36:687-695.
8. Fohlman J, Friman G (1993) Is juvenile diabetes a viral disease? *Ann Med* 25:569-574.
9. Kivik KO, Green A, Svendsen A, Mortensen K (1992) Breast-feeding and the development of type I diabetes mellitus. *Diabetic Med* 9:233-235.
10. Borch-Johnsen K, Joner G, Mandrup-Poulsen T, Christy M, Zachau-Christiansen B, Kastrup K, Nepon J (1984) Relation between breast-feeding and incidence rates of insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* II:1083-1086.
11. Kostraba JN, Cruickshanks KJ, Lawler-Heavner J, Jobin LF, Rewers MJ, Gay EC, Chase HP, Klingensmith G, Hamman RF (1993) Early exposure to cow's milk and solid foods in infancy, genetic predisposition and risk of IDDM. *Diabetes* 42:288-295.
12. Kostraba JN, Dorman JS, LaPorte RE, Scott FW, Steekiste AR, Gloninger M, Drash A (1992) Early infant diet and risk of insulin-dependent diabetes mellitus in blacks and whites: a matched case control study. *Diabetes Care* 15:626-631.
13. Virtanen SM, Rasanen L, Aro A, Lindrom J, Sippola H, Lounamaa R, Toivanen L, Tuomilehto J, Akerblom HK (1991) Infant feeding in Finnish children <7 yr of age with newly diagnosed IDDM. *Diabetes Care* 14:415-417.
14. Martin JM, Trink B, Caneman D, Dosch HM, Robinson B (1991) Milk proteins in the etiology of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Ann Med* 23:447-452.
15. Virtanen SM, Saukkonen T, Savilahti E, Ylonen K, Rasanen L, Aro A, Knip M, Tuomilehto J, Akerblom HK (1994) Diet, cow's milk protein antibodies and the risk of IDDM in Finnish children. *Diabetologia* 37:381-387.
16. Karjalainen J, Martin JM, Knip M, Ylonen J, Robinson B, Savilahti E, Akerblom HK, Dosch HM (1992) A bovine albumin peptide as a possible trigger of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 327:302-307.
17. Karjalainen J, Saukkonen T, Savilahti E, Dosch HM (1992) Disease-associated anti-bovine serum albumin antibodies in

- type I (insulin-dependent) diabetes mellitus are detected by particle concentration fluoroimmunoassay, and not by enzyme linked immunoassay. *Diabetologia* 35:985-990.
18. Dahlquist G, Savilahti E, Landin-Olsson M (1992) An increased level of antibodies to beta-lactoglobulin in a risk determinant for early-onset type I (insulin-dependent) diabetes mellitus independent of islet cell antibodies and early introduction of cow's milk. *Diabetologia* 35:980-984.
  19. Saukkonen T, Savilahti E, Vaarala O, Virtala ET, Tuomilehto J, Akerblom HK (1994) Children with newly diagnosed IDDM have increased levels of antibodies to bovine serum albumin but not to Ovalbumin. *Diabetes Care* 17:970-976.
  20. Krokowski M, Caillat-Zucman S, Timsit J, Larger E, Pehuet-Figoni M, Bach JF, Boitard C (1995) Anti-bovine serum albumin antibodies: genetic heterogeneity and clinical relevance in adult-onset IDDM. *Diabetes Care* 18:170-173.
  21. Carrasco E, López G, Garcia de los Rios M, Vargas N (1992) Incidencia de diabetes mellitus insulinodependiente en menores de 15 años. Período 90-91. Santiago de Chile. *Rev Soc Argent de Diabetes* 26[Suppl]:14A (abstract).
  22. Valenzuela C (1988) Marco de referencia sociogenético para los estudios de salud pública en Chile. *Rev Chil Pediatr* 55:123-127.
  23. Sambrook J, Fritsh EF, Maniatis TM (1989) *Molecular cloning. A laboratory manual*, 2<sup>nd</sup> edn. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor.
  24. Gutierrez-López MD, Bertera S, Chantres MT, Vavassori C, Dorman JS, Trucco M, Serrano-Rios M (1992) Susceptibility to type I (insulin-dependent) diabetes mellitus in Spanish patients correlates quantitatively with expression of HLA-DQA Arg 52 and HLA-DQB non Asp 57 alleles. *Diabetologia* 35:583-588.
  25. Pérez-Bravo F, Gutierrez-López MD, Calvillán M, Dorman JS, Trucco M, Serrano\_rios M (1994) Quantitative effect of HLA DR and BDQ heterodimers in type I diabetes mellitus in two latinamerican populations: Chile and Peru. *Eur J Clin Invest* 24[Suppl]: A7 (abstract).
  26. Pérez-Bravo F, Serrano-Rios M, Gutierrez-López MD, Calvillán M, Garcia de los Rios M, Kocova M, Dorman JS, Trucco M (1995) Genetic analysis of HLA DRB1, DQA1 and DQB1 alleles and susceptibility to IDDM in Chilean subjects. *Diabetologia* 38:378-379 (letter).
  27. Khalil I, Deschamps I, Lepage V, Al-Daccak R, Degos L, Hors J (1992) Dose effect of *cis* and *trans* encoded HLA-DQ alpha/beta heterodimers in IDDM susceptibility. *Diabetes* 41:378-384.
  28. Mella I, Garcia de los Rios M, Parker M, Covarrubias A (1981) Prevalencia de la diabetes en el gran Santiago, Chile. *Rev Med Chile* 109:869-872.
  29. Gunczlen P, Lanes R, Layrisse Z, Esparza B, Salas R, Hernandez L, Arnaiz-Villena A (1993) Epidemiology and immunogenetics in recently diagnosed Venezuelan children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol* 6:165-171.
  30. Hyoty H, Hiltunen M, Knip M, Laakkonen M, Vahasalo P, Karjalainen J, Koskela P, Roivanen M, Leinikki P, Hovi T, Akerblom HK (1995) A prospective study of the role of coxsackie B and other enterovirus infections in the pathogenesis of IDDM. *Diabetes* 44:652-657.
  31. Samuelson U, Johansson C, Ludvigsson J (1993) Breast-feeding seems to play a marginal role in the prevention of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 19:203-210.
  32. Virtanen SM, Rasanen L, Ylonen K, Aro A, Clayton D, Langholz B, Pitkaniemi J, Savilahti E, Louranaa R, Tuomilehto J, Akerblom HK (1993) Early introduction of dairy products associated with increased risk of IDDM in Finnish Children. *Diabetes* 42:1786-1790.
  33. Verge CF, Howard NJ, Irwig L, Simpson JM, Mackerras D, Silink M (1994) Environmental factors in childhood diabetes. *Diabetes Care* 17:1381-1389.
  34. Gerstein HC (1994) Cow's milk exposure and type I diabetes mellitus: a critical overview of clinical literature. *Diabetes Care* 17:13-19.
  35. Kostraba JN (1994) What can epidemiology tell us about the role of infant diet in the etiology of IDDM. *Diabetes Care* 17:87-91.
  36. Virtanen SM, Aro A (1994) Dietary factors in the aetiology of diabetes. *Ann Med* 26:469-478.

Tradução: Trajano Ribeiro Filho e Tereza Setsuko Toma  
 Revisão: Marina Ferreira Rea  
 Editoração eletrônica: Nelson Francisco Brandão