

CONSUMO DE LEITE E ÍNDICE DE MASSA CORPORAL: ESTUDO DE RANDOMIZAÇÃO MENDELIANA EM ADULTOS PARTICIPANTES DA COORTE DE NASCIMENTOS DE 1982

Mariana de Toledo Silva¹; Fernando Pires Hartwig², Deise Modesto², Janaína Vieira dos Santos Motta²; Bernardo Lessa Horta³

¹Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Pelotas – msilva_toledo@hotmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia/UFPel-fernandophartwig@gmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia/UFPel-dvmodesto@hotmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia/UFPel e Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento/UCPel- jsantos.epi@gmail.com

³Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia/UFPel- blhorta@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O leite possui diversos nutrientes, incluindo a lactose, um dissacarídeo que é metabolizado pela lactase em glicose e galactose no intestino. A diminuição da atividade da lactase pode ser acompanhada de alguns sintomas relacionados ao consumo de lacticínios, como: diarréia; dor abdominal; inchaço; e flatulência, que caracterizam a intolerância à lactose (MATTAR, 2012) (KETTUNEN, 2010).

O gene da lactase, LCT, é localizado no braço longo do cromossomo 2 e é expresso nas células epiteliais do intestino. O polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) que consiste de uma substituição entre os alelos T e C na posição -13910 antes do LCT é um dos principais determinantes da persistência da lactase (PL). Ter ou não pelo menos uma cópia do alelo T apresenta elevada concordância com o diagnóstico de hipolactasia. Isso indica que o alelo T apresenta um efeito dominante (MATTAR, 2012) (KETTUNEN, 2010) e o polimorfismo está associado a consumo de leite em diversas populações (SMITH, 2011) (LAMRI, 2013).

O excesso de peso está associado ao maior risco de doenças e agravos não transmissíveis como doenças cardiovasculares e diabetes tipo II (KETTUNEN, 2010). Produtos lácteos que possuem elevado teor de gordura podem aumentar quantidade de calorias presente na dieta, aumentando o risco de obesidade.

A randomização mendeliana utiliza variantes genéticas como variáveis instrumentais de uma exposição modificável, aumentando a robustez da inferência causal.

O presente estudo teve por objetivo avaliar a associação entre consumo de leite e IMC através de randomização mendeliana.

2. METODOLOGIA

Em 1982, 5914 crianças que nasceram nas maternidades da cidade de Pelotas e as famílias residiam na zona urbana da cidade foram examinadas e as mães entrevistadas, estes indivíduos tem sido acompanhados por inúmeras vezes. Mais detalhes sobre a metodologia estão disponíveis em outras publicações (BARROS e cols., 2008).

Em 2004-5, foram entrevistados 4297 participantes. Nesse acompanhamento, além da entrevista, foi coletada amostra de sangue. A partir desta amostra, extraiu-se DNA, que foi armazenado a -70º C. Em 2012-13, foi feito novo acompanhamento da coorte, 3701 indivíduos foram entrevistados.

Na presente análise foi selecionado o SNP rs4988235 como proxy genético de consumo de leite, o consumo de produtos lácteos foi aferido através do questionário de frequência alimentar-QFA.

Regressão linear foi utilizada para avaliar a associação do consumo de lacticínios com o SNP e o IMC. A análise de randomização mendeliana visando estimar o efeito do consumo de leite no IMC através do SNP da rs4988235 foi realizada através do método de mínimos quadrados em dois estágios. Para controlar para viés introduzido pela característica multi-étnica da amostra em estudo, foram utilizados componentes principais informativos de ancestralidade (PRICE, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra que o leite foi o produto lácteo mais consumido, média de 204 ml por dia e o consumo de lácteos apresentou associação positiva com nível sócio-econômico.

Tabela1: Consumo médio de lacticínios (e intervalos de confiança de 95%) por dia conforme variáveis sócio-econômicas aos 30-31 anos.

Variáveis sócio-econômicas	Leite (ml)	Logurte (ml)	Queijo (g)	Requeijão (g)
Índice de bens	P=0,013	P=0,047	P=2,3x10 ⁻¹⁶	P=2,8x10 ⁻⁷
1º quintil (mais pobre)	183,5 (159,1; 207,9)	60,3 (47,7; 72,9)	7,4 (6,1; 8,7)	1,5 (1,0; 2,0)
2º quintil	178,6 (143,2; 214,1)	69,7 (51,4; 88,0)	10,2 (8,2; 12,1)	1,9 (1,1; 2,7)
3º quintil	209,6 (176,1; 243,2)	81,3 (64,0; 98,6)	11,6 (9,7; 13,4)	2,5 (1,8; 3,3)
4º quintil	225,4 (181,1; 269,6)	75,3 (52,4; 98,2)	13,3 (10,8; 15,7)	2,3 (1,4; 3,3)
5º quintil (mais rico)	234,0 (197,7; 270,3)	86,8 (68,1; 105,6)	16,2 (14,2; 18,2)	3,8 (3,0; 4,6)
Escolaridade	P=1,3x10 ⁻⁴	P=0,100	P=1,8x10 ⁻¹³	P=7,7x10 ⁻⁷
0-4	192,0 (145,4; 238,6)	63,0 (38,5; 87,5)	8,5 (5,9; 11,1)	1,7 (0,6; 2,7)
5-8	164,1 (110,5; 217,6)	62,8 (34,7; 90,9)	7,4 (4,4; 10,4)	1,8 (0,6; 2,9)
9-11	192,2 (141,1; 243,2)	74,2 (47,4; 101,0)	10,7 (7,8; 13,5)	1,7 (0,6; 2,9)
≥12	232,7 (182,9; 282,4)	82,1 (56,0; 108,3)	14,0 (11,3; 16,8)	3,2 (2,1; 4,3)
Total	204,4 (192,7; 216,1)	74,6 (68,5; 80,7)	11,4 (10,7; 12,0)	2,4 (2,1; 2,6)

Valores P calculados por Análise de Variância (ANOVA) com 4 (índice de bens) e 3 (escolaridade) graus de liberdade.

Tanto nas análises brutas como nas ajustadas, houve associação com o consumo diário médio de leite e o SNP: 178 (IC 95%: 160; 196) ml nos indivíduos C/C (que não tem persistência da lactase) e aproximadamente 223 (IC 95%: 198; 247) ml nos indivíduos portadores do alelo T (com persistência). Houve alguma evidência de associação com consumo de queijo (P=0,035). No entanto, a associação foi mais fraca e não permaneceria caso fosse aplicada uma correção para múltiplos testes. Além disso, genótipos C/C e C/T foram similares entre si e diferentes do genótipo T/T, o que não seria esperado conforme a biologia da persistência da lactase, refletindo em ausência de forte evidência estatística de associação no modelo dominante (P=0,769). Desta forma, a associação – principalmente no modelo dominante – pareceu ser específica ao consumo de leite.

Foi observada associação inversa entre consumo de leite e IMC, e os resultados foram similares entre os modelos brutos e ajustados (Tabela 2). Observou-se uma relação dose-resposta, sendo que cada aumento de 1 decilitro no consumo diário foi associado a redução de 0,3 (IC 95%: -0,3; -0,2) kg/m² no IMC.

Tabela 2: Coeficientes de regressão linear (e intervalos de confiança de 95%) para IMC(kg/m^2) de acordo com consumo diário de leite.

Consumo diário médio de leite	Modelos^a	
	Bruto	Adjustado
Quintis (ml)		
<8	$P=1,8 \times 10^{-12}$ $P_{\text{tend}}=8,1 \times 10^{-14}$ 0 (referência)	$P=1,6 \times 10^{-12}$ $P_{\text{tend}}=9,6 \times 10^{-14}$ 0 (referência)
8-34,2	-0,7 (-1,3; 0,0)	-0,7 (-1,3; 0,0)
34,3-103	-0,9 (-1,6; -0,3)	-1,1 (-1,8; -0,4)
103,1-240	-1,2 (-1,9; -0,6)	-1,3 (-1,9; -0,6)
240,1-2400	-2,6 (-3,3; -1,9)	-2,8 (-3,5; -2,0)
Contínuo decilitros (dl)	$P=2,0 \times 10^{-13}$ -0,3 (-0,3; -0,2)	$P=4,4 \times 10^{-13}$ -0,3 (-0,3; -0,2)

“P” refere-se ao teste com 4 graus de liberdade. “ P_{tend} ” refere-se ao teste com 1 grau de liberdade, no qual cada quintil foi substituído por sua média.

^aModelo bruto: sem covariáveis.

Modelo ajustado: ajustou-se para sexo, escolaridade maternal ao nascer, , renda familiar ao nascer; cor da pele auto-referida (branco, mulato, preto, outras), índice de bens aos 30-31 anos e escolaridade aos 30-31 anos. As variáveis foram categorizadas conforme mostrado na tabela 1.

A randomização mendeliana (tabela 3), não mostrou evidência de associação entre o SNP rs4988235 e IMC. Porém, a média de IMC foi menor nos indivíduos C/C em ambos os genótipos. Isto resultou no modelo dominante estar mais próximo de apresentar associação ($P=0,069$) em relação ao modelo codominante ($P=0,145$), o que seria esperado tendo em vista a biologia da persistência da lactase. Além disso, houve evidência de que as estimativas de efeito do consumo de leite (exposição) no IMC (desfecho) obtidas na análise observacional e na análise de randomização mendeliana são diferentes. Enquanto a análise observacional sugeriu uma relação inversa, a randomização mendeliana sugeriu uma associação direta, com cada aumento de 1 decilitro no consumo de diário estando associado a 0,8 (IC 95%: -0,2; 1,9) mais kg/m^2 de IMC. Isto sugere que o aparente efeito benéfico do leite, neste estudo, pode ser devido a diferentes vieses, como confundimento residual.

Tabela 3: Coeficientes de regressão linear (e intervalos de confiança de 95%) para IMC (kg/m^2) de acordo com rs4988235 e análise de variável instrumental.

Exposição	Modelos	
	Bruto	Ajustado^a
rs4988235		
Codominante	$P=0,288$	$P=0,145$
C/C	0 (referência)	0 (referência)
C/T	0,3 (-0,1; 0,8)	0,5 (0,0; 0,9)
T/T	0,0 (-0,7; 0,7)	0,2 (-0,5; 0,9)
Dominante	$P=0,211$	$P=0,069$
C/T-T/T	0,3 (-0,2; 0,7)	0,4 (0,0; 0,9)
Variável instrumental		$P_{\text{comp}}=0,042$
decilitros (dl)	$P=0,247$ 0,5 (-0,4; 1,4)	$P=0,118$ 0,8 (-0,2; 1,9)

VI: variável instrumental. Corresponde ao efeito do consumo diário de leite (em decilitros) no IMC (kg/m^2), conforme estimado pela análise de variável instrumental.

“ P_{comp} ”: comparação estatística entre as estimativas observacionais e as obtidas através da VI (hipótese nula: as estimativas são iguais).

^aAjustado: controlando para sexo e componentes principais informativos de ancestralidade.

Em relação ao IMC, uma meta-análise européia envolvendo 31720 identificou que portadores do alelo T (ou seja, indivíduos com persistência da lactase) apresentaram um IMC maior em (em média) 0,3 kg/m² do que indivíduos CC(KETTUNEN, 2010) (LAMRI, 2013). Os resultados desta meta-análise foram corroborados em estudos posteriores em populações de diferentes etnias e idades (CORELLA, 2010) (LAMRI, 2013).

4. CONCLUSÕES

O presente estudo detectou que a persistência da lactase definida geneticamente foi associada ao consumo de leite. Além disso, através de uma análise de randomização mendeliana, observou-se que o efeito benéfico do leite na redução do IMC pode ser devido a vieses inerentes a estudos observacionais, e que possivelmente o consumo de leite tenha um efeito contrário – ou seja, uma associação positiva com IMC.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MATTAR R, DE CAMPOS MAZO DF, CARRILHO FJ. Lactose intolerance: diagnosis, genetic, and clinical factors. *Clin Exp Gastroenterol* 5: 113-121. (2012)

CORELLA D, ARREGUI M, COLTELL O, PORTOLES O, GUILLEM-SAIZ P, ET AL. Association of the LCT-13910C>T polymorphism with obesity and its modulation by dairy products in a Mediterranean population. *Obesity* (Silver Spring) 19: 1707-1714. (2011)

KETTUNEN J, SILANDER K, SAARELA O, AMIN N, MULLER M, ET AL. European lactase persistence genotype shows evidence of association with increase in body mass index. *Hum Mol Genet* 19: 1129-1136. (2010)

BARROS, F.C; VICTORA, C.G; HORTA, B.L; GIGANTE, D.P; Methodology of the Pelotas birth cohort study from 1982 to 2004-5, Southern Brazil. *Rev Saúde Pública*, Brasil, v.42, n.2, p.7-15, 2008.

CORELLA D, ARREGUI M, COLTELL O, PORTOLES O, GUILLEM-SAIZ P, ET AL. Association of the LCT-13910C>T polymorphism with obesity and its modulation by dairy products in a Mediterranean population. *Obesity* (Silver Spring) 19: 1707-1714. (2011)

LAMRI A, POLI A, EMERY N, BELLILI N, VELHO G, ET AL. The lactase persistence genotype is associated with body mass index and dairy consumption in the D.E.S.I.R. study. *Metabolism* 62: 1323-1329. (2013)

SMITH G. Use of genetic markers and gene-diet interactions for interrogating population-level causal influences of diet on health. *Genes Nutr*; 6(1):27-43 (2011).

PRICE AL, PATTERSON NJ, PLENGE RM, WEINBLATT ME, SHADICK NA, REICH D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet* 2006; 38(8):904-909 (2006).