

CAIO SANTOS BONILHA

**INVESTIGAÇÃO DA OCORRÊNCIA DO FENÓTIPO LACTASE PERSISTENTE E  
DE SOBREPESO EM PRATICANTES DE ATIVIDADE FÍSICA**

Dissertação apresentada como requisito Parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Curso de Pós-Graduação em Farmácia, área de Concentração Biociências Aplicadas à Farmácia, da UNICENTRO.

Orientador: Prof. Dr. Emerson Carraro

Guarapuava

2015

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

CAIO SANTOS BONILHA

### **INVESTIGAÇÃO DA OCORRÊNCIA DO FENÓTIPO LACTASE PERSISTENTE E DE SOBREPESO EM PRATICANTES DE ATIVIDADE FÍSICA**

Dissertação aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração Biociências Aplicadas à Farmácia, da Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Emerson Carraro  
Instituição: UNICENTRO

Prof. Dr.  
Instituição:

Prof. Dr.  
Instituição:

Prof. Dr.  
Instituição:

Guarapuava, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dedico este trabalho a meu pai, Uacauan Bonilha e à memória de meu falecido avô, Adai Bonilha, os quais me espelho como modelo de figura humana e que sempre estarão presentes, independente de tudo.

## **AGRADECIMENTOS**

À toda minha família de Florianópolis e Santa Maria, a qual amo muito, pelo carinho, paciência e incentivo, em especial ao meu pai e à minha mãe.

Ao meu orientador, por todos os momentos de paciência, compreensão e competência.

Aos colegas do Laboratório de Virologia e Biologia Molecular e do Mestrado, em especial Fernando Seiji, por me receber tão bem, me ajudar durante toda a caminhada e participar deste trabalho.

Ao programa de pós-graduação da UNICENTRO-PR e a todos os professores que fizeram parte desse processo.

Ao professor Dr. Marcus Tartaruga pelo auxílio na coleta de dados.

À Dra. Rosane Souza e à professora Dra. Sandra Beck, da Universidade Federal de Santa Maria, por me ajudarem a chegar até o Mestrado.

*“To the warrior, there's only one goal in life: To be stronger than the previous day.”*

(Autor desconhecido)

## RESUMO

A intolerância à lactose é uma patologia relacionada à distintos sintomas clínicos que acompanham a má digestão da lactose. A prevalência dessa intolerância é estimada em 75% da população mundial. Essa reação adversa à alimento é um problema de saúde pública e está associada a um impacto negativo significativo na qualidade de vida. A genotipagem através do método da detecção do polimorfismo *LCT-12910C>T* e posterior identificação do fenótipo lactase persistente vem sendo amplamente utilizada para fins diagnósticos. Para fornecer melhor compreensão da fisiopatologia dessa doença, torna-se importante o desenvolvimento de novos estudos de avaliação da influência de parâmetros nutricionais, como o sobrepeso, na ocorrência desse fenótipo. A presença de sobrepeso vem aumentando muito nas últimas décadas. Até mesmo em grupos de indivíduos fisicamente ativos esses índices são altos. Neste contexto, insere-se a relevância da utilização de diferentes medidas antropométricas na estimativa do estado nutricional. Os métodos da espessura das dobras cutâneas, índice de massa corporal, circunferência abdominal e relação cintura-altura foram escolhidos para fins de classificação de estado nutricional e presença de outros distúrbios. Foram recrutados 22 praticantes de atividades físicas na Farmácia Escola da Universidade Estadual do Centro-Oeste, com o objetivo de avaliar a ocorrência de sobrepeso através dos índices antropométricos e do fenótipo lactase persistente. A detecção do polimorfismo *LCT-12910C>T* foi realizada através de Reação em Cadeia da Polimerase, com posterior sequenciamento em laboratório externo e análise por software de alinhamento sequencial. Metade dos pacientes apresentaram sobrepeso, enquanto a outra metade apresentou um índice de massa corporal na faixa normal. Oito foram classificados como intolerantes primários, através da presença da característica fenotípica lactase não-persistente. Dez indivíduos apresentaram o fenótipo lactase persistente. Não foi possível realizar o sequenciamento em quatro amostras. Este estudo sugere que a ocorrência do fenótipo lactase persistente é maior em praticantes de atividades físicas com índice de massa corporal na faixa normal do que em indivíduos fisicamente ativos com sobrepeso.

Descritores: intolerância à lactose, polimorfismo genético, sobrepeso, antropometria, índice de massa corporal.

## ABSTRACT

Lactose intolerance is a condition related to distinct clinical symptoms that accompany lactose maldigestion. The prevalence of this intolerance is estimated at 75% of the global population. This adverse reaction to food is a public health problem and is associated with a significant negative impact on quality of life. Genotyping through LCT-12910C>T polymorphism detection method and subsequent identification of the lactase persistent phenotype has been widely used for diagnostic purposes. To provide a better understanding of the pathophysiology of this disease, it is important to develop new studies evaluating the impact of nutritional parameters, such as overweight, in the occurrence of this phenotype. The presence of overweight has grown quickly in recent decades. Even in groups of physically active individuals these rates are high. In this context, it is important to use different anthropometric measurements in the estimation of nutritional status. Methods of skinfold thickness, body mass index, waist circumference and waist-to-height were chosen for classification purposes of nutritional status and the presence of other disorders. We recruited 22 practitioners of physical activities at the school of pharmacy of the Midwest State University, in order to assess the occurrence of lactase persistent phenotype and overweight through anthropometric measures. The detection of the polymorphism was performed by Polymerase Chain Reaction, with subsequent sequencing in external laboratory and analysis with sequential alignment software. Half of the patients were overweight, while the other half had a body mass index in the normal range. Eight were classified as primary intolerant, through the presence of the phenotypic trait lactase non-persistent. Ten subjects had persistent lactase phenotype. It was not possible to perform sequencing on four samples. This study suggests that the occurrence of lactase persistent phenotype is increased in practice physical activities with body mass index in the normal than in physically active overweight individuals range.

Keywords: lactose intolerance, genetic polymorphism, overweight, anthropometry, body mass index.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Apresentação das várias formas de hipersensibilidade alimentar.....	20
Figura 2 - SNPs associados ao fenótipo LP.....	24
Figura 3 - Mapa interpolado do “velho mundo” mostrando a frequência da distribuição do fenótipo lactase persistente.....	26
Figura 4 - Fluxograma da extração de DNA.....	38
Figura 5 - Posicionamento do indivíduo para aferição da estatura.....	40
Figura 6 - Posição da fita métrica corporal para aferição da CA.....	41
Figura 7 - Distribuição de gênero dos pacientes incluídos no estudo.....	43
Figura 8 - Número de pacientes por faixa etária.....	43
Figura 9 - Distribuição da origem étnica.....	44
Figura 10 - Frequência do consumo de leite e/ou derivados.....	44
Figura 11 - Distribuição por sintomatologia e suspeita clínica.....	45
Figura 12 - Perfil eletroforético da amplificação do material genético de quatro amostras.....	46
Figura 13 - Porcentagem de participantes com IL primária de acordo com a etnia.....	47
Figura 14 - Distribuição por presença de sobrepeso, risco cardiovascular aumentado e distúrbio metabólico.....	48
Figura 15 - Porcentagem de pacientes com IL primária.....	48
Figura 16 - Distribuição por fenótipo e sintomatologia.....	49
Figura 17 - Distribuição por fenótipo e classificação do IMC.....	50



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação entre os possíveis genótipos e fenótipos na investigação do polimorfismo LCT-13910C>T.....	25
Tabela 2 - Termociclagem para a PCR.....	39
Tabela 3 - Distribuição genotípica.....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.	antes de Cristo
CA	circunferência abdominal
cDNA	DNA complementar
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DNA	ácido desoxirribonucleico
dNTP	desoxinucleotídeo trifosfatado
DIQ	desvio-interquartil
DP	desvio-padrão
EDC	espessura de dobras cutâneas
EHW	equilíbrio de Hardy-Weinberg
EM	ensino médio
EUA	Estados Unidos da América
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
HNF1 $\alpha$	fator nuclear de hepatócito 1 $\alpha$
IL	intolerância a lactose
IAM	infarto agudo do miocárdio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	índice de massa corporal
IOTF	Força Tarefa Internacional contra a Obesidade
LCT	gene lactase
LMS	<i>Least Mean Squares</i>
LNP	lactase não-persistente
LP	lactase persistente
MCM6	manutenção de minicromossomo-6
NCHS	<i>National Center for Health Statistics</i>
OCT-1	fator 1 de transcrição de octâmero
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	<i>odds ratio</i>
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PR	Paraná
RCA	relação cintura-altura

RFLP	Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição
RM	ressonância magnética
RNA	ácido ribonucleico
SNP	polimorfismo de nucleotídeo único
TC	tomografia computadorizada
UNICENTRO	Universidade Estadual do Centro-Oeste
UNESP	Universidade Estadual Paulista
UV	ultravioleta

## LISTA DE SÍMBOLOS

kb	quilobase
C	citocina
T	timina
bp	par de bases
$\alpha$	alfa
G	guanina
A	adenina
g	grama
mg	miligrama
dL	decilitro
ppm	partes por milhão
>	maior que
kg	quilograma
m	metro
<	menor que
$\geq$	maior ou igual a
km	quilômetro
®	marca registrada
$\mu\text{L}$	microlitro
°C	graus Célsius
rpm	rotações por minuto
mM	milimolar
U	unidade
pmol	picomol
ng	nanograma
nm	nanômetro
cm	centímetros
$\pm$	mais ou menos
$\chi^2$	qui-quadrado
p	nível descritivo

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>19</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Intolerância à lactose.....</b>	<b>20</b>
3.1.1 Definição.....	20
3.1.2 Classificação.....	21
3.1.3 Epidemiologia.....	21
3.1.4 Fatores Genéticos.....	22
3.1.4.1 Fenótipo Lactase Persistente.....	23
3.1.5 Fisiopatologia.....	27
3.1.6 Manifestações Clínicas.....	28
3.1.7 Diagnóstico.....	29
3.1.7.1 Métodos Diagnósticos.....	29
<b>3.2 Antropometria.....</b>	<b>31</b>
3.2.1 Avaliação da Gordura Corporal Total.....	32
3.2.1.1 Espessura das Dobras Cutâneas.....	32
3.2.1.2 Índice de Massa Corporal.....	33
3.2.2 Avaliação da Distribuição de Tecido Adiposo.....	34
3.2.2.1 Circunferência Abdominal.....	34
3.2.2.2 Relação Cintura-Altura.....	34
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Delineamento.....</b>	<b>36</b>
<b>4.2 Local da Pesquisa.....</b>	<b>36</b>
<b>4.3 População de Estudo.....</b>	<b>36</b>
4.3.1 Critérios de Inclusão e Exclusão.....	36
<b>4.4 Desenho do Estudo.....</b>	<b>37</b>
<b>4.5 Teste Genético.....</b>	<b>37</b>
4.5.1 Coleta de Células da Bochecha.....	37
4.5.2 Extração de DNA Genômico.....	38

4.5.3 Detecção do Polimorfismo por Sequenciamento.....	38
<b>4.6 Aferições Antropométricas.....</b>	<b>40</b>
<b>4.7 Aspectos Éticos.....</b>	<b>42</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
<b>5.1 Caracterização da Amostra.....</b>	<b>43</b>
<b>5.2 Padronização da PCR.....</b>	<b>45</b>
<b>5.3 Genotipagem.....</b>	<b>46</b>
<b>5.4 Caracterização Antropométrica.....</b>	<b>47</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>56</b>
<b>APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....</b>	<b>69</b>
<b>APÊNDICE B - Questionário de Anamnese.....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Intolerância alimentar é a denominação que se aplica a qualquer reação adversa a alimentos de caráter não imunológico, podendo ser o resultado de diversos fatores, como contaminação, reações farmacológicas, tóxicas ou neuropsicológicas, incluindo diferentes mecanismos, como a presença de toxinas (intoxicação alimentar por estafilococos), aversões psicológicas ou deficiências de enzimas digestivas, como é o caso da intolerância à lactose (IL) (ORTOLANI; PASTORELLO, 2006).

A IL é uma patologia caracterizada por um conjunto de sintomas clínicos que acompanha a má digestão da lactose. Este composto pertence ao grupo dos carboidratos, incluído no grupo dos açúcares, sendo classificado como um dissacarídeo e popularmente chamado de o “açúcar do leite”. Diversas situações podem causar diminuição da síntese da lactase, também denominada de hipolactasia, havendo assim consequente má absorção de lactose, e são classificadas como: deficiência de lactase primária, secundária ou congênita (HEYMAN, 2006). A deficiência primária é de herança genética e afeta a grande maioria dos indivíduos intolerantes e a deficiência secundária ocorre como consequência de alguma alteração patológica no intestino delgado. Já a deficiência congênita de lactase é uma condição em que bebês apresentam deficiência de lactase desde o seu nascimento (ROBAYO-TORRES; NICHOLS, 2007).

Acredita-se que aproximadamente 75% da população mundial possua IL (SAHI, 1994; SIMOONS, 1978), sendo prevalente em 46 a 67% na população brasileira (FILHO; FURLAN, 2002). A partir de dois meses após a gestação, a atividade de lactase já pode ser detectada na superfície intestinal humana. A partir da 34<sup>a</sup> semana após o nascimento, a atividade dessa enzima alcança seu pico. Entretanto, após esse pico a expressão da lactase começa a diminuir como uma consequência normal do fim da amamentação (BÜLLER et al., 1990; LACEY et al., 1994; SEBASTIO et al., 1989).

O tratamento da IL se baseia na exclusão do leite, que é uma importante fonte de nutrientes. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2013), o leite é um alimento rico em proteínas de alto valor biológico, gorduras (com especial destaque para o ácido linoleico conjugado), vitaminas (A, E e complexo B, com destaque para B2 e B12) e minerais (cálcio e fósforo). A eliminação desse alimento da dieta sem adequada substituição pode prejudicar a qualidade nutricional da dieta, diminuir a ingestão energética, levar à desnutrição proteica, prejudicar a mineralização óssea e causar raquitismo, refletindo um impacto negativo nos índices antropométricos (principalmente peso

e estatura) (DI STEFANO et al., 2002). Portanto, o diagnóstico da IL é fundamental para o tratamento adequado e para que não se instituem restrições alimentares desnecessárias (CHRISTIE et al., 2002; MEDEIROS; LEDERMAN; DE MORAIS, 2012).

Entre os testes disponíveis para avaliar a IL, a técnica mais difundida é o da curva glicêmica. Nesta técnica o paciente tem sua glicemia avaliada em diferentes tempos após a ingestão de determinada quantidade de lactose. Observa-se então o comportamento absorptivo da lactose pela mucosa intestinal proporcional há presença de lactase (RIDEFELT; HÅKANSSON, 2005). Apesar disso, o exame mais confiável para essa intolerância é o teste respiratório do hidrogênio expirado. Esse exame se baseia na produção de hidrogênio pela fermentação da lactose não absorvida, já que este composto não faz parte do metabolismo humano (HOVDE; FARUP, 2009).

O fenótipo lactase persistente (LP) é caracterizado pela capacidade do mamífero persistir a produção de lactase na vida adulta, sendo um traço dominante e comum principalmente em europeus (ITAN et al., 2009). Acredita-se que seu aparecimento seja devido a um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) localizado à aproximadamente 14 kb acima do sítio do gene da lactase, no gene de manutenção de minicromossomo-6 (MCM6). A troca da base C pela T daria origem ao alelo *LCT*-13910\*T, que está relacionado a esse fenótipo. O polimorfismo *LCT*-13910C>T (rs4988235) ocorre em 100% dos europeus que possuem o fenótipo LP. Três genótipos são possíveis neste caso: C/C, associado à hipolactasia; T/T e C/T, associados com lactase persistente (ENATTAH et al., 2002; INGRAM et al., 2009; TISHKOFF et al., 2007).

A descoberta do primeiro polimorfismo relacionado ao fenótipo LP por Enattah et al. (2002) é recente e gerou inúmeras questões à serem debatidas e respondidas. Desde então, observou-se um enorme crescimento nos estudos na área de IL. Nesse contexto, para fornecer melhor compreensão da fisiopatologia dessa doença, torna-se importante o desenvolvimento de novos estudos de caracterização dos polimorfismos associados a parâmetros nutricionais e outros distúrbios, como o sobrepeso e a obesidade.

A hipolactasia pode estar diretamente relacionada ao sobrepeso, obesidade e síndromes metabólicas (SUCHY et al., 2010). A realização de estudos que visem a compreensão da correlação com fatores de risco são de extrema importância para um melhor entendimento dessa reação adversa a alimento. A maioria desses trabalhos são realizados na América do Norte e na Europa (AZADBAKHT et al., 2005; ELWOOD; PICKERING; FEHILY, 2007; MIRMIRAN; ESMAILLZADEH; AZIZI, 2005). Poucos estudos encontram-se disponíveis no Brasil. Quando focamos na região Sul esse número é menor ainda.



A incidência de sobrepeso e obesidade vem aumentando rapidamente na população mundial, com consequências dramáticas para a saúde pública (GRIFFITH et al., 2011). As taxas de obesidade globais costumam ser maiores em adultos do que crianças. Entretanto, a epidemia tem crescido a uma taxa mais rápida na população pediátrica do que na adulta em muitos países, como os Estados Unidos da América (EUA), Brasil e China (POPKIN et al., 2006). Até mesmo em praticantes regulares de atividades físicas, a prevalência de sobrepeso e obesidade na faixa etária pediátrica é alta (NEIVA et al., 2012). Em 20 anos, a porcentagem de crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade aumentou de 4,2% para 6,7%. Estima-se que em 2020 esse número suba para 9,1% (ONIS; BLÖSSNER; BORGHI, 2010).

A obesidade e o sobrepeso na fase adulta, período definido pela Organização Mundial de Saúde como a faixa etária entre 20 e 59 anos (OMS, 1995), são fenômenos complexo. Seus desenvolvimentos são influenciados por um conjunto de fatores, que vai desde predisposição genética e hábitos alimentares até a frequência da prática de exercícios físicos. A atividade física traz diversos benefícios já comprovados, como o aumento do ganho de massa muscular magra, com consequente diminuição da gordura corporal. Dessa forma, indivíduos que praticam menos que o mínimo indicado pela OMS, 30 minutos por cinco dias por semana, estão mais sujeitos ao desenvolvimento do estado de sobrepeso e/ou obesidade (CARVALHO et al., 2003; FERMINO; PEZZINI; REIS, 2010). O excesso de gordura corporal está associado a diversas complicações metabólicas, bem como com problemas físicos psicossociais (KUTCHMAN et al., 2009; MONASTA et al., 2010). Este conjunto de complicações aparece desde cedo em crianças e adolescentes obesos, persistindo até a faixa etária adulta. Além disso, estes fatores representam um aumento no risco do desenvolvimento de doenças cardiovasculares (CSÁBI et al., 2000; HAMIDI et al., 2006; MORENO et al., 2002). Portanto, métodos de referência padronizados para a medição da gordura corporal e seus valores de corte para a definição do sobrepeso são necessários para o rastreamento da obesidade, a fim de gerenciar esse problema de saúde pública e suas consequências.

Diferentes medidas antropométricas podem ser utilizadas na estimação do estado nutricional. A determinação da espessura de dobras cutâneas (EDC) e outras medidas antropométricas são frequentemente utilizadas para prever a gordura corporal total em pacientes de diferentes idades, tanto na pesquisa como na prática clínica. A EDC é uma técnica muito utilizada para o cálculo da densidade e porcentagem de gordura corporal. O índice de massa corporal (IMC) é um método amplamente aceito na definição de excesso de peso e obesidade, apresentando uma boa capacidade para o rastreamento de excesso de gordura corporal (GARCÕ et al., 1998; MORENO et al., 2003). A antropometria também

pode ser utilizada a fim de estimar a distribuição da gordura corporal. A medida da circunferência abdominal (CA) e a relação cintura-altura (RCA) avaliam um padrão de distribuição centralizada da gordura corporal (ASHWELL; GUNN; GIBSON, 2012; FLAVEL et al., 2012; MORENO et al., 2002). A determinação da CA mostra-se um bom preditor antropométrico de risco cardiovascular em jovens e adultos. Já a RCA é muito utilizada para predição de síndrome metabólica (MORENO et al., 2002). Apesar dessas vantagens, a antropometria apresenta alguns vieses, como a falta de padronização das metodologias, a limitação das técnicas e das medições e a dificuldade na determinação do ponto de corte para cada faixa etária e sexo. Essas limitações podem afetar a exatidão e precisão dos métodos e devem ser consideradas (MORENO et al., 2003).

A hipolactasia é um dos possíveis fatores que podem afetar os efeitos do consumo de produtos lácteos sobre a obesidade e sobrepeso. Acredita-se que a lactose não digerida possa ter vários efeitos metabólicos que podem estar relacionadas com a obesidade (SUCHY et al., 2010). Um efeito positivo do consumo de produtos lácteos sobre a incidência de vários componentes da síndrome metabólica (incluindo obesidade, diabetes, hipertensão e dislipidemia) foi relatado em um estudo norte-americano (PEREIRA et al., 2002), replicado em estudos posteriores (AZADBAKHT et al., 2005; ELWOOD; PICKERING; FEHILY, 2007; MIRMIRAN; ESMAILLADEH; AZIZI, 2005), porém contradito por outros (SNIJDER et al., 2008; WENNERSBERG et al., 2009).

A verificação da ocorrência de IL primária e obesidade ou sobrepeso vem sendo foco de estudo nos últimos anos. Um estudo realizado nas Ilhas Canárias envolvendo 1.747 indivíduos relatou que 26,5% dos pacientes que apresentaram sobrepeso tinham o fenótipo LP. No grupo com IMC normal, esse índice foi de 29% (ALMON; ÁLVAREZ-LEÓN; SERRA-MAJEM, 2012). Essas publicações nos levam a questionar a ocorrência desses índices na população brasileira. Além disso, não foi encontrado nenhum estudo avaliando essas condições em grupos de praticantes de atividades físicas. Sendo assim, esse estudo visa avaliar a ocorrência do fenótipo LP em praticantes de atividades físicas normais e com sobrepeso no sul do Brasil.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Verificar a ocorrência do fenótipo LP e do sobrepeso em praticantes de atividades físicas da cidade de Guarapuava - PR.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar sintomas gastrointestinais de pacientes com suspeitas clínicas de hipolactasia;
- Avaliar a frequência do consumo de produtos lácteos na população estudada;
- Verificar a ocorrência de sobrepeso na população de estudo;
- Verificar a presença de síndrome metabólica e de risco cardiovascular aumentado na amostra populacional;
- Determinar a porcentagem de gordura corporal total na população total estudada e por gênero;
- Verificar a ocorrência do fenótipo LP em praticantes de atividades físicas da cidade de Guarapuava - PR;
- Avaliar a influência da presença de sintomas gastrointestinais na ocorrência do fenótipo LP na população de estudo;
- Avaliar a influência do sobrepeso na ocorrência do fenótipo LP na população estudada.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Intolerância à lactose

##### 3.1.1 Definição

Lactose é um carboidrato encontrado exclusivamente no leite e apresenta como funções bem descritas o favorecimento da absorção de cálcio e o estímulo do crescimento de bifidobactérias (lactobacilos) (MALDONADO et al., 1998). Esse açúcar é um produto comum da secreção da glândula mamária humana, representando cerca de 7% da sua composição total, enquanto o leite de vaca apresenta, em média, 5%. Apesar de produzido endogenamente, esse dissacarídeo não pode ser absorvido integralmente, sendo necessário a hidrólise em glicose e galactose pela lactase (lactase-florizina hidrolase ou  $\beta$ -D-galactosidase, EC 3.2.1.23-62), uma enzima que se expressa na borda do escovado do intestino delgado (CAMPBELL; WAUD; MATTHEWS, 2009).

De acordo com a Organização Mundial de Alergia, intolerância alimentar é definida como uma reação adversa a alimento não-mediada imunologicamente (JOHANSSON et al., 2004; SUCHY et al., 2010), e por isso não deve ser confundida com alergia alimentar (Figura 1). A IL, especificamente, é uma intolerância alimentar de fundo metabólico caracterizada pela presença de manifestações clínicas gastrointestinais decorrentes da incapacidade da mucosa intestinal de digerir a lactose (DONALDSON, 1964; SWALLOW, 2003).

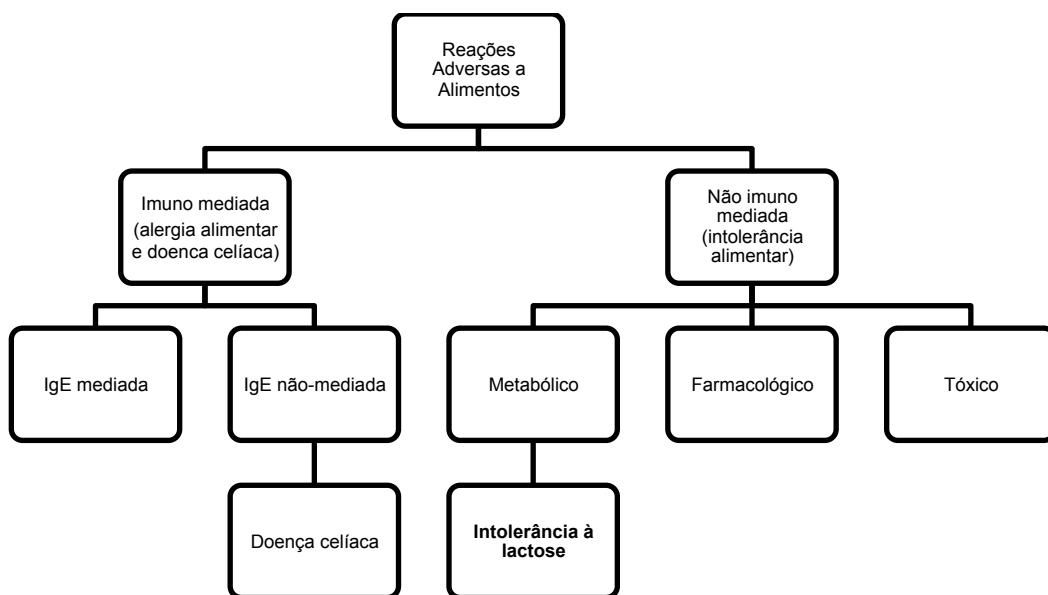


Figura 1 - Apresentação das várias formas de hipersensibilidade alimentar.

Fonte: adaptado de Skypala (2011).

### 3.1.2 Classificação

Diversas situações podem causar diminuição da síntese da lactase, com consequente má absorção de lactose, sendo classificadas como: deficiência de lactase primária, secundária ou congênita. A deficiência primária é de herança genética e apresenta característica autossômica recessiva que resulta na redução fisiológica da ação da lactase, afetando a grande maioria dos indivíduos intolerantes e podendo se manifestar em qualquer etapa da vida (HEYMAN, 2006; VESA; MARTEAU; KORPELA, 2000).

A deficiência secundária ocorre como consequência de alguma alteração patológica no ID, e que pode se manifestar em qualquer idade. O dano que é causado à parede intestinal propicia uma diminuição das suas microvilosidades, devido à reação inflamatória local, o que ocasiona uma dificuldade das células entéricas em produzir lactase (USAI-SATTA et al., 2012; VESA; MARTEAU; KORPELA, 2000). Entre as doenças intestinais mais comuns capazes de causar esse tipo de deficiência estão as infecções virais, bacterianas, parasitárias e tratamentos farmacológicos, porém diversas outras doenças incluem-se nesta lista, como doença celíaca, síndrome de *Crohn*, colite ulcerativa, radiação, deficiências imunológicas e síndrome do intestino irritável. Na hipolactasia secundária, a maioria dos casos apresenta deficiência temporária ou parcial de lactase, dependendo do dano causado à mucosa, sendo os sintomas gastrointestinais semelhantes aos da primária (USAI-SATTA et al., 2012).

Deficiência congênita de lactase é uma condição grave, rara e irreversível, que acomete mais bebês, por apresentarem deficiência de lactase jejunal desde o seu nascimento (ROBAYO-TORRES; NICHOLS, 2007; SAVILAHTI; LAUNIALA, 1983). Assim como a deficiência primária, esse tipo de hipolactasia é de herança autossômica recessiva e requer a exclusão da lactose na dieta durante toda a vida. Esses recém-nascidos apresentam um quadro diarreico característico até mesmo quando aleitados com leite materno, manifestando-se desde o primeiro contato do bebê com o açúcar do leite (FREIBURGHAUS et al., 1976; KUOKKANEN et al., 2006a; MAMELAK; ESCRIU; HOSPITAL, 1973; TORNIAINEN et al., 2009).

### 3.1.3 Epidemiologia

A IL acomete em torno de 75% da população mundial (SAHI, 1994; SIMOONS, 1978). A incidência no Brasil é de aproximadamente 44,11%, sendo que o maior número de casos novos foi encontrado em crianças de zero a dez anos, com 23,71% de incidência. A

ocorrência de menor frequência foi de indivíduos com mais de 60 anos, que apresentaram uma incidência de 6,71% (FILHO; FURLAN, 2002). Tanto no ponto de vista clínico, como patogênico, intolerâncias alimentares apresentam maior incidência nos primeiros anos de vida, diminuindo com a idade (SKYPALA, 2011). A partir de 8 semanas após a gestação, a atividade de lactase pode ser detectada na superfície da mucosa intestinal humana, sendo intensificada nas semanas seguintes. Entretanto, desde o primeiro mês de vida, a expressão da lactase começa a diminuir como uma consequência normal da diminuição da atividade da lactase com o decorrer da maturação (KRETCHMER, 1971; MATTHEWS et al., 2005; VESA; MARTEAU; KORPELA, 2000). Em humanos, aproximadamente 30% da população apresenta atividade contínua da lactase após a amamentação e na vida adulta (LOMER; PARKES; SANDERSON, 2008; SAVAIANO; LEVITT, 1987). Apesar da hipolactasia ocorrer geralmente antes dos 7 anos de idade, algumas vezes manifesta-se bem mais tarde, mostrando uma prevalência significativa até mesmo em grupos de pessoas ao redor dos 65 anos (DI STEFANO et al., 2001; SEPPO et al., 2008). Percebe-se, portanto, que os indivíduos podem adquirir a intolerância em qualquer época da vida.

A prevalência de má digestão da lactose varia de acordo com a localização geográfica das populações e características de raça e gênero (INGRAM et al., 2009). Os grupos mais afetados são negros, africanos, índios e asiáticos, o que contrasta com a baixa prevalência que apresentam os norte-americanos caucasianos e os europeus escandinavos (KRETCHMER, 1971; SIMOONS, 1978). A prevalência é mínima no norte e no centro da Europa e seus descendentes (KRÜTTLI et al., 2014), e particularmente alta na Ásia, África e Oceania (INGRAM et al., 2009; JONES et al., 2013). Apesar da baixa prevalência europeia, alguns países apresentam alta incidência de intolerantes, como é o caso da Itália, onde a prevalência é de 50-60%, sendo o sul do país a parte menos afetada, com aproximadamente 30% da população local (BURGIO et al., 1984; DE RITIS et al., 1970).

Estudos epidemiológicos mostram que as populações que, nos seus primórdios, dependiam mais da pecuária do que da agricultura e eram grandes consumidoras de leite e laticínios em geral, apresentam menor prevalência de intolerância à lactose em relação àquelas que dependiam mais da agricultura para sobreviver. No mundo Ocidental, a IL é estimada em cerca de 25%, com variação de 5 a 50% (INGRAM et al., 2009; ITAN et al., 2009).

#### 3.1.4 Fatores Genéticos

A enzima lactase-florizina hidrolase é codificada pelo gene lactase (LCT) que está localizado no cromossomo 2q21. Esse gene compreende 17 éxons e ocupa aproximadamente 49 kb (KRUSE et al., 1988). A diminuição da expressão do gene da lactase nas microvilosidades intestinais após a amamentação é um fenótipo normal em mamíferos e conhecido como lactase não-persistente (LNP). Em contrapartida, o fenótipo LP é caracterizado pela capacidade do mamífero em digerir eficientemente a lactose, sendo um traço dominante e comum em europeus, africanos e populações do oriente médio (ENATTAH et al., 2002; TISHKOFF et al., 2007).

#### 3.1.4.1 Fenótipo Lactase Persistente

Duas hipóteses surgiram para explicar a origem do fenótipo LP e sua associação com o consumo de leite não-fermentado e produtos lácteos: a hipótese cultural-histórica (MCCRACKEN, 1971) e a hipótese da causa inversa (NEI; SAITOU, 1986). A primeira sugere que o alelo tenha surgido no início do período Neolítico com o surgimento da pecuária leiteira, e que a frequência tenha aumentado através de uma seleção natural em povos com um longo histórico de consumo de laticínios. Já a segunda hipótese defende que esse alelo já existia previamente, sendo comum em determinadas populações devido à trocas genéticas. Além disso, somente essas populações teriam adotado a prática cultural da produção de gado leiteiro, devido à facilidade da digestão da lactose pelo favorecimento genético. Complementarmente, um potencial genético poderia ter existido em locais de clima árido, onde o leite é uma das únicas fontes de água potável (COOK; AL-TORKI, 1975). Esse potencial poderia ter existido também em regiões setentrionais, em que, devido à baixa exposição solar e consequente falta de vitamina D, a presença da lactose facilitaria a absorção do cálcio pela mucosa intestinal, reduzindo o risco de raquitismo e osteomalácia (FLATZ; ROTTHAUWE, 1973; KUOKKANEN et al., 2003).

Um estudo demonstrou que a sequência de ácido desoxirribonucleico (DNA) do gene e do cDNA que codifica a enzima lactase em indivíduos com hipolactasia, e naqueles com persistência da enzima lactase na idade adulta, é semelhante. Dessa forma, ambos os grupos apresentaram lactases idênticas, mostrando que a diferença entre os fenótipos não estava na sequência da enzima (BOLL; WAGNER; MANTEI, 1991). A partir desse achado, em 2002, Enattah et al. descobriram vários SNP que estão associados ao aparecimento do fenótipo LP.

O principal polimorfismo relacionado ao fenótipo LP está localizado à aproximadamente 14 kb acima do sítio do gene da lactase, mais especificamente à 13910 bp

do início do códon do gene lactase, dentro do íntron 13 do gene de manutenção de minicromossomo-6 (MCM6) (Figura 2). A troca da base C pela T daria origem ao alelo *LCT*-13910\*T, que está relacionado à um aumento da transcrição da lactase. Três genótipos são possíveis neste caso: C/C, associado à hipolactasia; T/T, associado com o fenótipo LP e C/T, que predispõe a presença de níveis intermediários de expressão de lactase, mas ainda considerado como LP (Tabela 1) (ENATTAH et al., 2002; INGRAM et al., 2009; TISHKOFF et al., 2007).

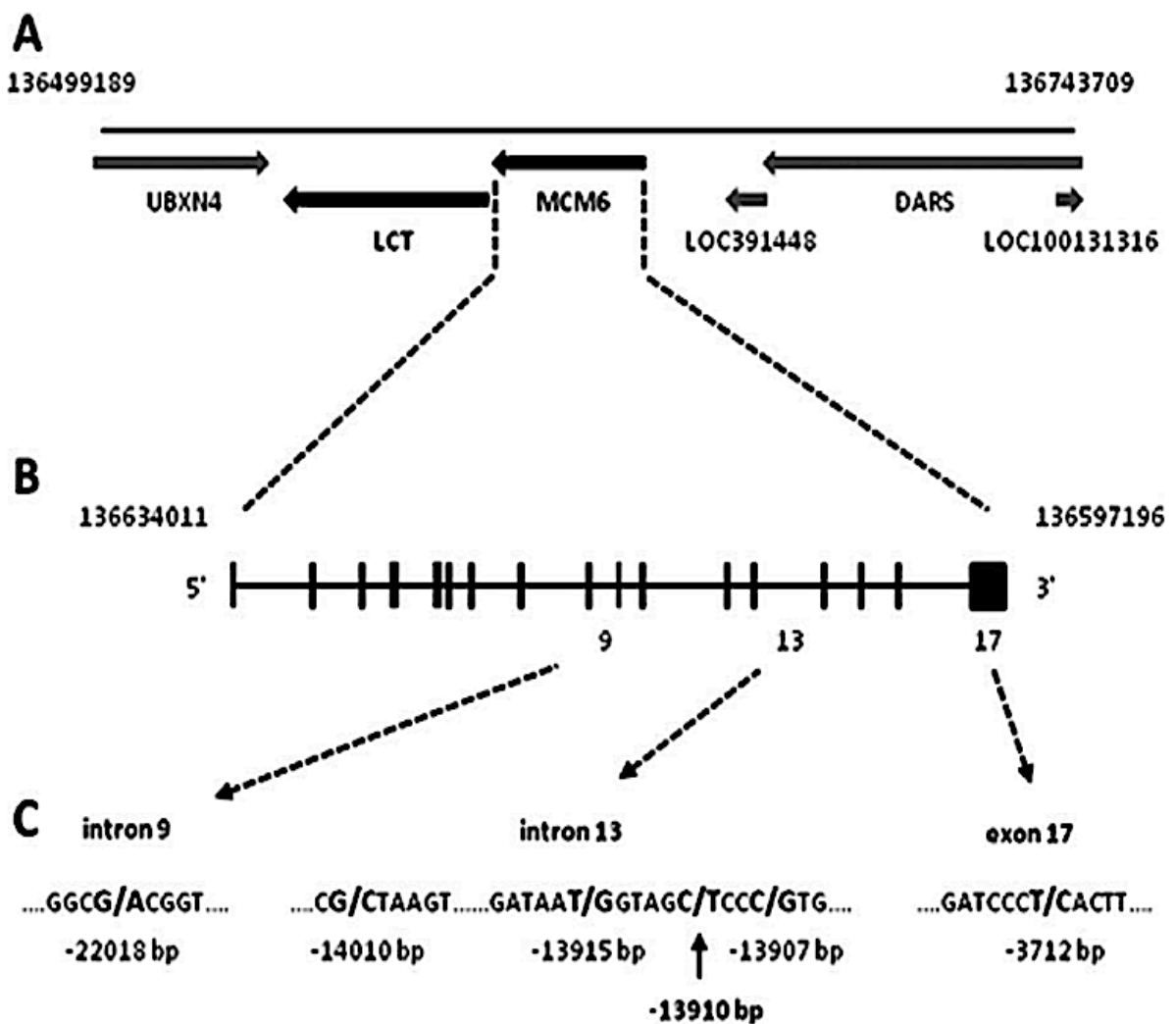


Figura 2 - SNPs associados ao fenótipo LP.

Fonte: Schultheis & Bowling (2011).



Tabela 1 - Relação entre os possíveis genótipos e fenótipos na investigação do polimorfismo *LCT*-13910C>T.

<b>Genótipo</b>	<b>Fenótipo</b>
C/C	LNP (intolerante à lactose)
T/T	LP (tolerante à lactose)
C/T	LP (tolerante à lactose)

Fonte: Enattah et al. (2002).

A ligação entre fatores de transcrição, necessários para o funcionamento correto e eficiente da RNA polimerase II, e elementos regulatórios da ação *cis* está diretamente ligada à diminuição da expressão do gene *LCT*. O fator de transcrição mais importante nessa regulação, OCT-1 (fator 1 de transcrição de octâmero), somente é capaz de estimular a transcrição quando expresso juntamente com outro fator de transcrição, o HNF1 $\alpha$  (fator nuclear de hepatócito 1  $\alpha$ ). Após se ligar com o fragmento de DNA contendo a variante *LCT*-13910\*T, o primeiro fator de transcrição interage com o segundo e ativa a RNA polimerase II, aumentando a transcrição do gene *LCT*. Relacionando esse mecanismo com as variantes polimórficas, o OCT-1 mostrou se ligar mais fortemente com fragmentos de DNA contendo o nucleotídeo T do que o C. Esses achados sugerem que a troca dessas bases aumentaria a afinidade da ligação do fragmento de ácido nucléico com o fator octamérico, o que, teoricamente, preveniria a diminuição da expressão da lactase após o fim da amamentação (LEWINSKY et al., 2005).

Na Europa, o fenótipo LP geralmente é atribuído ao polimorfismo *LCT*-13910C>T, cuja correlação é de 100% (ITAN et al., 2009). Por ser um traço dominante, a análise da distribuição geográfica do genótipo nos continentes de origem torna-se relevante. A frequência da persistência de lactase na Europa e na África variam de acordo com as condições geográficas, conforme mostrado na figura 3. No continente Europeu, é maior no noroeste europeu, gradualmente diminuindo a incidência através do caminho até o sul (ITAN et al., 2010; KRÜTTLI et al., 2014). No centro-oeste europeu (Alemanha e Áustria), a frequência reportada desse polimorfismo é de 71-79,8% (BODLAJ et al., 2006; BÜNING et al., 2003; CLAR et al., 2008; OBERMAYER-PIETSCH et al., 2004; TAG et al., 2008).

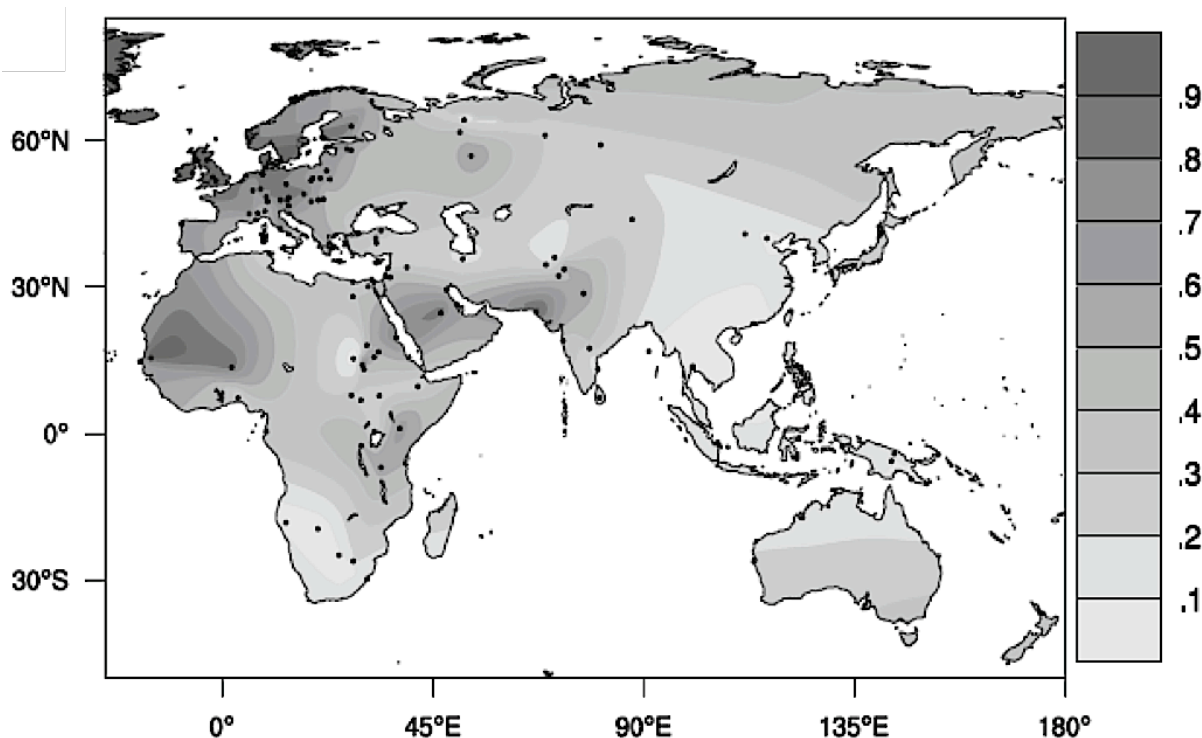


Figura 3 - Mapa interpolado do “velho mundo” mostrando a frequência da distribuição do fenótipo lactase persistente.

Fonte: Ingram et al. (2009).

Na África, o fenótipo LP é mais frequente nos povos com tradição de pecuária em relação aos agricultores, e diferentes variantes alélicas podem ser encontradas (TISHKOFF et al., 2007). Embora no Brasil haja miscigenação racial com africanos, as evidências obtidas por análises de DNA mitocondrial apontam que os africanos trazidos para o país vieram de regiões na África onde o alelo *LCT*-13910\*T é prevalente (GONÇALVES et al., 2008).

Em 2009 um estudo realizado no Brasil mostrou que aproximadamente 43% dos brancos (descendentes de europeus) e pardos (descendentes miscigenados de europeus e africanos) e 20% dos negros apresentaram o alelo *LCT*-13910\*T, porém esse número foi insignificante nos grupos de nipo-brasileiros analisados (MATTAR et al., 2009). Um ano depois, o mesmo grupo de estudo mostrou que o polimorfismo *LCT*-22018G>A (rs182549), localizado no íntron 9 do gene *MCM6* e caracterizado pela troca da base G pela A, apresenta uma melhor predição do fenótipo LP em brasileiros descendentes de japoneses do que o *LCT*-13910C>T (MATTAR et al., 2010). Esses estudos demonstram a importância da pesquisa de outros alelos no diagnóstico de IL por biologia molecular e que, para estudos

epidemiológicos, a população deve ser muito bem caracterizada, para que haja confiabilidade nos dados obtidos.

### 3.1.5 Fisiopatologia

A IL foi descrita desde os anos 400 antes de Cristo (a.C.), porém os mecanismos envolvidos só começaram a ser identificados há algumas décadas atrás. Essa patologia é caracterizada por um conjunto de sintomas clínicos que acompanha a má digestão do açúcar do leite (BOHMER; TUYNMAN, 2001; COOK; KAJUBI, 1966; CUATRECASAS; LOCKWOOD; CALDWELL, 1965; DISPARITIES, 2002; SRINIVASAN; MINOCHA, 1998). A lactose mal digerida causa um aumento da pressão osmótica no lúmen intestinal, levando a um aumento da excreção de eletrólitos e outros fluidos. A fermentação da lactose não absorvida pela flora intestinal produz ácidos graxos de cadeia curta e gases, como o gás carbônico, o gás hidrogênio e o gás metano, além de acetato, butirato e propionato. A produção desses gases provoca uma distensão do cólon com consequente aceleração do trânsito intestinal, causando assim os sintomas característicos, como a diarreia osmótica. Apesar desse sintoma característico, em alguns casos a produção de metano pode causar constipação, pelo retardamento da velocidade do trânsito intestinal (DISPARITIES, 2002; KRETCHMER, 1971; SRINIVASAN; MINOCHA, 1998).

O leite e outros produtos lácteos são as principais fontes de cálcio em dietas ocidentais. Alguns autores têm associado a aversão ao consumo do leite e seus derivados com a baixa estatura na população pediátrica (BLACK et al., 2002; STALLINGS et al., 1994). A literatura mostra que o consumo do leite de vaca pode estimular o crescimento longitudinal em crianças e adolescentes (HOPPE; MØLGAARD; MICHAELSEN, 2006; WILEY, 2011). Os responsáveis por esse efeito estimulante seriam constituintes bioativos de promoção de crescimento, os quais influenciam diretamente os fatores de crescimento semelhantes à insulina tipo I (IGF-I), levando a maiores níveis circulantes desse polipeptídeo (BERKEY et al., 2013; DU et al., 2006; HOPPE et al., 2004; TAKAHASHI, 1984; ZHU et al., 2008). O estudo dos efeitos potenciais do consumo de leite no crescimento longitudinal de crianças e adolescentes torna-se relevante a medida que são relatadas altas prevalências de persistência da lactase no Brasil (BULHÕES et al., 2007; FRIEDRICH et al., 2012; MATTAR et al., 2009), e por conta da presença de altas taxas de consumo de leite per capita na América do Sul e no mundo (DOUPHRATE et al., 2013; PEREIRA et al., 2013).

### 3.1.6 Manifestações Clínicas

Apesar de haver variações entre grupos étnicos e os diferentes tipos de hipolactasia, geralmente a redução de até 50% da lactase intestinal ainda é suficiente para garantir a efetiva digestão desse açúcar, sendo necessário uma diminuição ainda maior de seus níveis para que os sintomas relativos à intolerância se manifestem (SWALLOW, 2003). Além disso, as manifestações clínicas estão diretamente relacionadas com a quantidade de lactose ingerida e com o grau de deficiência da produção da lactase (JELLEMA et al., 2010). Os sintomas manifestam-se de 30 minutos a 2 horas após a ingestão do açúcar. Normalmente, a quantidade de lactose ingerida necessária para que os sintomas apareçam é de 12 g, o equivalente a um copo de leite, em um intervalo de até 24 horas. Relatos sugerem que, quando ingerida juntamente com outros alimentos, até 18 g podem ser toleradas (SAVAIANO; BOUSHEY; MCCABE, 2006; SHAUKAT et al., 2010; SUAREZ; SAVAIANO; LEVITT, 1995).

Os sintomas típicos da IL incluem dor abdominal, sensação de inchaço no abdômen, flatulência, borborigmo, diarreia, e em alguns casos, vômitos. A dor abdominal geralmente se localiza na região ao redor do umbigo. O borborigmo é facilmente audível tanto para o clínico, no exame físico, como para o paciente. As fezes apresentam-se volumosas, aquosas e com presença de espumosa. Apesar de diarreia ser o sintoma mais comum, os indivíduos acometidos não costumam apresentar perda de peso (DISPARITIES, 2002; KRETCHMER, 1971; SRINIVASAN; MINOCHA, 1998).

As manifestações clínicas são variáveis entre os pacientes com IL. Entre os fatores responsáveis por esta variabilidade estão a osmolalidade, a quantidade de gordura do alimento no qual o açúcar é ingerido, o esvaziamento gástrico, a sensibilidade à distensão abdominal produzida pela carga osmótica da lactose fermentada no ID superior, o trânsito intestinal e a resposta do intestino grosso (IG) à carga de carboidrato. De uma maneira geral, os alimentos com alta osmolalidade e conteúdo de gordura diminuem o esvaziamento gástrico, reduzindo também a severidade dos sintomas induzidos pela ingestão do açúcar (LOMER; PARKES; SANDERSON, 2008; SUCHY et al., 2010).

As consequências da IL não se restringem somente a sintomas locais no IG e no ID. Alguns autores acreditam que a hipolactasia seja responsável por diversos sintomas sistêmicos. Entre os relatos estão dores de cabeça, vertigens, perda de concentração, dificuldade de memória de curto prazo, dores musculares e articulares, cansaço intenso, alergias diversas, arritmia cardíaca, úlceras orais, dor de garganta e aumento da frequência de micção. A produção de metabólitos tóxicos pela fermentação da lactose também pode alterar

mecanismos de sinalização celular. Dessa forma, sintomas neurológicos podem ser observados. Esses casos não são raros e podem se manifestar em até 20% dos pacientes intolerantes (GRIMBACHER; PETERS; PETER, 1997; MATTHEWS et al., 2005; TREUDLER et al., 2002). A presença desses sintomas sistêmicos evidencia a importância do diagnóstico diferencial entre IL e alergia à proteína do leite de vaca, já que esse tipo de manifestação é mais característico de alergia alimentar (BAHNA, 2002; GOPALAN, 2011; WILSON, 2005).

### 3.1.7 Diagnóstico

Diferentes métodos podem ser utilizados para o diagnóstico da IL. O padrão-ouro para o diagnóstico de hipolactasia adulta primária é a avaliação da atividade da lactase através de biópsia intestinal. O teste consiste na quantificação de lactase, sacarase e maltase. O resultado é expresso pela proporção entre lactase e sacarase encontrada na biópsia (DAHLQVIST, 1968; DI RIENZO et al., 2013; USAI-SATTA et al., 2012). Esse método é invasivo e restringe a avaliação da atividade enzimática a uma pequena área da superfície da mucosa intestinal. Dessa forma, o resultado desse teste pode ser influenciado pela distribuição irregular da atividade da lactase pela mucosa do ID (SHAW; DAVIES, 1999; USAI-SATTA et al., 2012).

O método da biópsia intestinal pode trazer alguns inconvenientes ao paciente, devido à necessidade da retirada de uma pequena porção do intestino delgado para avaliação, como sangramento e infecções (SHAW; DAVIES, 1999; USAI-SATTA et al., 2012). Somado à isso, é um teste dispendioso e não está disponível na rotina laboratorial. Alguns exames podem ser mais vantajosos ao modo que, além de propiciarem um melhor custo-benefício ao paciente, possuem alta sensibilidade e especificidade, auxiliando com confiabilidade no diagnóstico da IL (MATTAR et al., 2013; RIDEFELT; HÅKANSSON, 2005).

#### 3.1.7.1 Métodos Diagnósticos

##### *Teste de tolerância oral à lactose*

Entre os testes disponíveis para avaliar a tolerância à lactose, a técnica mais difundida é o da curva glicêmica. Nesta técnica o paciente ingere de 25 a 50 g de lactose dissolvida em água e tem seu sangue coletado 5 minutos antes, em jejum e após 15, 30, 45 e 60 minutos da

ingestão do açúcar. A curva glicêmica é então montada e analisada. Se o paciente absorver a lactose, a glicemia deverá apresentar um aumento de 20 mg/dL ou mais. A ausência desse aumento indica falha da absorção de lactose. Entre as desvantagens desse método está o desencadeamento de sintomas gastrointestinais severos em pacientes intolerantes ao açúcar (HERMANS et al., 1997; RIDEFELT; HÅKANSSON, 2005).

#### *Teste rápido para intolerância à lactose*

Um novo método diagnóstico através de biópsia endoscópica para hipolactasia adulta foi desenvolvido por uma empresa finlandesa. Esse teste se baseia na reação colorimétrica que surge quando um fragmento do duodeno pós-bulbar é incubado com lactose em uma placa de teste. O tempo total de reação é de aproximadamente 20 minutos. A reação colorimétrica é evidenciada após a hidrólise da lactose em pacientes com normolactasia, sendo considerado um resultado positivo. Em pacientes com hipolactasia severa essa reação não é observada, apresentando assim um resultado negativo e confirmando o diagnóstico (KUOKKANEN et al., 2006b).

#### *Teste respiratório do hidrogênio expirado*

O teste respiratório do hidrogênio expirado representa um método indireto para a detecção da má absorção de lactose. É considerado o teste mais confiável para o diagnóstico dessa intolerância, além de não ser invasivo e apresentar um baixo custo, podendo ser indicado tanto para adultos como crianças com suspeita de hipolactasia. Apresenta uma sensibilidade e especificidade médias de 77,5% e 97,6%, respectivamente (BRADEN, 2009; GASBARRINI et al., 2009; RANA; MALIK, 2014). Apesar disso, devido a necessidade da ingestão do açúcar para fins diagnósticos, o teste apresenta os mesmos inconvenientes do teste de tolerância oral à lactose (HERMANS et al., 1997; RIDEFELT; HÅKANSSON, 2005).

É necessário um preparo do paciente na véspera que consiste em uma dieta não fermentativa com restrição total de lactose, sem o uso de cigarro, sem a prática de exercício físico e com um jejum de 10 a 12 horas. Tanto o cigarro como a prática de exercícios físicos aumentam o hidrogênio expirado. Além disso, deve-se evitar o uso de antibióticos no mês antecedente ao exame, para preservação da flora bacteriana. O exame se baseia na produção de hidrogênio pela fermentação da lactose não absorvida, já que este gás não faz parte do metabolismo humano. O paciente sopra no tempo 0, ingere o açúcar, e sopra novamente após

60, 90, 120, 150 e 180 minutos do consumo da lactose, sendo considerado um resultado positivo quando ocorre aumento de 20 ppm ou mais do hidrogênio expirado em relação ao valor basal. A leitura é feita em cromatógrafo gasoso específico para o hidrogênio (BRADEN, 2009; GASBARRINI et al., 2009; RANA; MALIK, 2014). Um resultado falso-negativo pode ser observado em aproximadamente 15% dos pacientes em que predominam flora produtora de metano. Nesses casos, não há elevação do hidrogênio, já que essas bactérias utilizam o hidrogênio para reduzir o dióxido de carbono em metano (ROMAGNUOLO; SCHILLER; BAILEY, 2002).

### *Detecção de polimorfismos de nucleotídeo único*

Com a descoberta do fenótipo LP, o exame genético foi incorporado à rotina laboratorial para o auxílio do diagnóstico da hipolactasia. A grande vantagem da detecção desse polimorfismo em comparação a outros métodos diagnósticos é a possibilidade da diferenciação dos tipos de intolerâncias. Por permitir um diagnóstico diferencial entre intolerância primária e secundária, esse teste é uma ferramenta de extrema importância para o clínico (DI STEFANO et al., 2009; HOVDE; FARUP, 2009; MATTAR et al., 2013).

Na Europa, o exame é feito utilizando métodos moleculares como a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) em tempo real (TAG et al., 2007), ou que se baseiam na hibridização dos produtos da PCR com sondas selvagens e mutantes aderidas às tiras de nitrocelulose (DI STEFANO et al., 2009). Já no Brasil, o método mais utilizado é a PCR convencional somada a um tratamento dos seus produtos com enzima de restrição, também chamada de PCR-Polimorfismo no Comprimento de Fragmento de Restrição (RFLP). Em opção à etapa de restrição enzimática, pode ser realizado um sequenciamento dos produtos da PCR, com posterior análise da sequência de nucleotídeos do fragmento de DNA isolado (KRÜTTLI et al., 2014; VITALIS et al., 2014). Esse método possui uma alta concordância pelo Índice Kappa com o teste respiratório do hidrogênio, apresentando 100% de sensibilidade e 96% de especificidade (MATTAR et al., 2008).

## **3.2 Antropometria**

As medidas antropométricas (medição comparativa do corpo humano) estimam a quantidade de tecido adiposo humano e são amplamente utilizadas até os dias de hoje. São uma prática bem estabelecida para muitos propósitos clínicos, incluindo triagem e avaliação

de riscos à saúde. Um de seus principais usos são para a avaliação nutricional de diferentes faixas etárias. A antropometria é uma importante ferramenta cotidiana para educadores físicos e profissionais da área da saúde pois pode ser utilizada como ferramenta de prognóstico de fatores de risco ou doenças. Apesar disso, ainda não há consenso de critérios e pontos de corte bem definidos que estejam vinculados a cada fator específico (OMS, 1995).

Várias técnicas antropométricas foram desenvolvidas com o intuito de avaliar a gordura visceral, embora a grande maioria delas forneçam somente uma medida indireta da gordura corporal. Dentre essas técnicas, apenas a tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) podem fornecer medições volumétricas diretas da gordura visceral. Por esses métodos é possível quantificar tanto o tecido adiposo visceral distribuído em diferentes regiões corporais, como o tórax, abdômen e pelve, quanto o tecido subcutâneo, entre a pele e a fáscia muscular (SHEN et al., 2003).

Apesar de fornecerem resultados de forma mais fidedigna, as técnicas avançadas, TC e RM, não são facilmente aplicáveis. Em alguns casos são necessários procedimentos de extração de um volume moderado de tecido adiposo e uma fração de tecido magro, o que podem trazer inconvenientes ao paciente. Somado a isso, essas técnicas requerem o uso de softwares complexos e a fase de processamento dos dados muitas vezes é limitada a consultores especializados (HU; NAYAK; GORAN, 2011). Devido a essas limitações, até hoje a maioria dos estudos que avaliam a quantidade de gordura corporal total e localizada utilizam índices antropométricos de fácil obtenção, como a determinação da EDC, o IMC, a CA e a RCA (AMATO; GUARNOTTA; GIORDANO, 2013).

### 3.2.1 Avaliação da Gordura Corporal Total

#### 3.2.1.1 Espessura das Dobras Cutâneas

Tanto na prática clínica como em vários estudos epidemiológicos, a determinação da EDC tem sido amplamente utilizada para a estimativa da gordura corporal. Essa determinação se baseia na medição da EDC em áreas do corpo pré-selecionadas, e através da avaliação da gordura sub-epitelial, fornece uma medida indireta da massa total de gordura (DURNIN; WOMERSLEY, 1974). No entanto, apesar da determinação da EDC ser um método muito utilizado na rotina de avaliações físicas, esse método apresenta alguns vieses. Sua fundamentação teórica baseia-se no pressuposto da presença de uma relação constante entre a gordura subcutânea superficial e a profunda, o que pode não ocorrer devido às diferenças



entre sexo e idade. Além disso, este método tem grandes limitações metodológicas relacionadas à falta de reprodutibilidade e à individualidade da espessura do tecido subcutâneo nas diferentes áreas do corpo humano (NAZARE et al., 2012).

Apesar disso, a EDC continua sendo um dos métodos mais utilizados para a estimação da densidade corporal (DC) e da porcentagem de gordura do corpo humano. A fórmula preconizada por Jackson & Pollock (1980; 1978) é a mais amplamente utilizada no Brasil para o cálculo da DC. Esse método utiliza fórmulas de regressão que incluem de 3 a 7 medições. Para 7 dobras utilizam-se as medidas obtidas do tórax, axila média, tríceps, subescapular, abdômen, supra-íliaca e coxa. Já para 3 dobras utilizam-se tórax, abdômen e coxa para homens e tríceps, supra-íliaca e coxa para mulheres. À partir da estimação da DC, utiliza-se a fórmula de Siri (1993) para a estimação da porcentagem de gordura corporal.

### 3.2.1.2 Índice de Massa Corporal

O IMC é uma medida sumária da altura e do peso de um indivíduo, calculada pela divisão do peso, em quilos, pelo quadrado da altura, em metros. Acredita-se que o IMC tenha sido desenvolvido à cerca de 150 anos atrás pelo belga Adolphe Quételet, que concluiu que este seria um indicador mais fiel do estado de peso do que apenas o próprio peso, embora sejam desconhecidos registros históricos de sua descoberta (BURTON, 2013). É universalmente considerado um preditor satisfatório da porcentagem de gordura corporal, sendo a forma mais utilizada para medir a prevalência de sobrepeso e obesidade em uma população. É também um método relativamente fácil de ser aplicado, barato e não-invasivo para o estabelecimento da condição de peso (GALLAGHER et al., 2000; KREBS et al., 2007).

Em adultos, os valores de corte do IMC geralmente aceitos para a definição de sobrepeso e obesidade são  $>25$  e  $>30$   $\text{kg}/\text{m}^2$ , respectivamente. Já a magreza é classificada como o equivalente a um IMC  $<18,5$  (COLE et al., 2007). Esses valores de referência não podem ser utilizados para a avaliação de crianças e adolescentes. Para esta faixa etária, a Organização Mundial de Saúde (OMS) (ONIS et al., 2007), e a Força Tarefa Internacional contra a Obesidade (IOTF) (COLE et al., 2000), definiram diferentes padrões internacionais que permitem a triagem de indivíduos com sobrepeso e obesidade. Esses padrões correspondem a pontos de corte para cada mês de idade pelo padrão da OMS e para cada seis meses de idade pelo padrão sugerido pela IOTF, que relacionam-se aos valores de IMC para

adultos com 18 anos de idade, com base em curvas percentuais de IMC (COLE et al., 2007; MONASTA et al., 2011).

Apesar de sua importância na prática clínica e nas pesquisas, o IMC é apenas um indicador de gordura corporal. Outros fatores como o gênero, massa muscular, origem étnica e o estado de hidratação podem alterar a relação entre o IMC e a gordura corporal e devem ser levados em consideração. Em pessoas mais velhas, mudanças significativas ocorrem tanto no numerador como no denominador de sua fórmula e podem levar a interpretações equivocadas desse índice (GALLAGHER et al., 2000; PRENTICE; JEBB, 2001).

### 3.2.2 Avaliação da Distribuição de Tecido Adiposo

#### 3.2.2.1 Circunferência Abdominal

A medida da CA tem sido considerado o melhor índice para avaliação da distribuição regional de tecido adiposo e é um forte preditor de morbidade e mortalidade relacionadas à obesidade. Vários estudos têm mostrado que essa medida está mais fortemente relacionada com a gordura visceral e a adiposidade abdominal do que o IMC e a RCA (HU, 2007; LAU, 2007; SMITH; HASLAM, 2007). O ponto de corte estabelecido pela OMS para risco cardiovascular aumentado é igual ou superior a 94 cm para homens e 80 cm para mulheres (OMS, 2000).

Embora seja válido, este método requer uma metodologia precisa, de modo a fornecer informação reprodutível e confiável. Na literatura existem muitas metodologias para aferição da CA, usando diferentes pontos de referência. Entre esses pontos estão o espaço imediatamente abaixo da última costela, o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, o ponto imediatamente acima da crista ilíaca e o ponto entre a última costela e a crista ilíaca (WANG et al., 2003). Em 2008, uma revisão sistemática englobando 120 estudos mostrou que os diferentes protocolos de determinação da CA não influenciam substancialmente a associação entre essa medida e a morbidade e mortalidade. A única limitação aparente dessa medida é a distinção imprecisa entre a distribuição do tecido adiposo visceral e do tecido adiposo subcutâneo, na região abdominal. O erro técnico da medição da circunferência abdominal, quando realizada corretamente, e independente do ponto de referência tomado é de cerca de 2 a 4% (ROSS et al., 2008).

#### 3.2.2.2 Relação Cintura-Altura

O uso da RCA foi proposto pela primeira vez na década de 90, para a detecção de obesidade abdominal e o seu risco associado à saúde. Esse índice é definido pelo perímetro abdominal do indivíduo, dividido pela sua altura, ambos em centímetros (ASHWELL; LEJEUNE; MCPHERSON, 1996; HSIEH; YOSHINAGA, 1995). Embora os mecanismos que explicam o risco à saúde previsto pela RCA não estejam completamente elucidados, sugere-se que esse risco seja explicado pela associação desse fator com a elevação da obesidade abdominal (ASHWELL; COLE; DIXON, 1996). O interesse da eficácia dessa medição vem aumentando, tanto para adultos como crianças e adolescentes de diferentes grupos étnicos, já que muitos autores defendem que esse índice é o mais prático e conveniente para avaliar a distribuição do tecido adiposo no corpo humano (ASHWELL; GIBSON, 2009; ASHWELL; HSIEH, 2005; BROWNING; HSIEH; ASHWELL, 2010; FREEDMAN et al., 2007; SCHNEIDER et al., 2007).

Apesar deste índice não levar em conta as grandes variações no nível do tecido adiposo visceral do abdômen (POULIOT et al., 1994), a RCA tem sido considerada uma forte ferramenta na triagem de adultos com risco cardiovascular aumentado (LEE et al., 2008). O índice cintura-altura também tem sido amplamente utilizado na investigação das relações entre distribuição regional do tecido adiposo e o perfil metabólico do indivíduo. O ponto de corte amplamente utilizado para prever distúrbios metabólicos é 0,5 (ASHWELL; GIBSON, 2009; DEURENBERG; YAP, 1999). Uma meta-análise considerando vários fatores de risco, concluiu através de evidências estatísticas que as medidas de adiposidade centralizada, principalmente a RCA, são superiores ao IMC (NAMBIAR et al., 2009). Outra revisão sistemática publicada mais recentemente mostrou que a RCA é um preditor melhor do que a CA para diabetes, dislipidemia e hipertensão arterial em ambos os sexos e em diferentes grupos étnicos (AMATO et al., 2010). Isto demonstra a importância do uso desse índice em adultos, já que essa faixa etária é a mais acometida por esses diferentes distúrbios.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Delineamento**

Trata-se de um estudo transversal, realizado na Farmácia Escola da UNICENTRO, durante o mês de março de 2015. Este tipo de estudo é indicado para detectar a ocorrência de doenças e de fatores de risco desconhecidos, bem como caracterizar grupos populacionais afetados ou não por determinadas doenças ou condições, pois possibilita levantar hipóteses de associação entre exposição e efeito.

### **4.2 Local de Pesquisa**

O estudo foi realizado na cidade de Guarapuava, situada no estado do Paraná (PR). Segundo a estimativa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010) para 2015, a cidade possui uma população de aproximadamente 176.973 habitantes, sendo o nono município mais populoso do PR. Localiza-se na região centro-sul paranaense, situando-se a 264 km da capital Curitiba. Guarapuava possui uma área territorial de 3.117,011 km<sup>2</sup>, sendo considerado o maior município em extensão do PR. Possui uma altitude de 1.120 m acima do nível do mar, sendo a segunda cidade com maior altitude do estado do PR e a 36<sup>a</sup> mais alta do Brasil. A cidade possuía 92.847 adultos em 2010, sendo desconhecido dados exatos de 2014.

### **4.3 População Alvo**

Constituem a população alvo desse estudo, adultos praticantes de atividades físicas da cidade de Guarapuava. Foram considerados praticantes de atividades físicas os indivíduos que praticavam no mínimo 30 minutos por cinco vezes por semana de exercícios físicos (CARVALHO et al., 2003). Os participantes foram recrutados na Farmácia Escola da UNICENTRO. As coletas foram realizadas no mês de março de 2015. A partir da auto-declaração, os participantes foram classificados com relação à sua etnia como branco, afro-brasileiro, indígena ou asiático.

#### **4.3.1 Critérios de Inclusão e Exclusão**

Foram incluídos no estudo indivíduos praticantes de atividade física de ambos os

sexos, com idade entre 20 e 59 anos, que corroboraram sua participação na pesquisa. Indivíduos que se encontraram impossibilitados de participar da aferição das medidas antropométricas, ou da coleta do material biológico, não foram incluídos na pesquisa, bem como os que não souberam ou não quiseram responder ao Questionário de Anamnese.

#### **4.4 Desenho do Estudo**

Durante a visita à Farmácia Escola, os pacientes foram convidados a participar do estudo. Assim, na ocasião, o participante assinava o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A), conforme resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996), e recebiam informações de como deveriam proceder durante todas as etapas do estudo. Após isso, os pacientes foram submetidos ao Questionário de Anamnese (APÊNDICE B), em que foi avaliado a origem étnica declarada, a coloração do olho, a frequência da ingestão de leite e derivados, a sintomatologia gastrointestinal e a suspeita de intolerância. O questionário foi preenchido pelo participante com acompanhamento dos auxiliares de pesquisa e leitura de todas as questões, para esclarecimentos detalhados. Após essas etapas, os pacientes foram submetidos à coleta de células da bochecha e de suas medidas antropométricas, conforme detalhado nos itens seguintes.

Vale ressaltar que a duração máxima para coleta e avaliação de cada paciente foi de 1 hora. O material biológico coletado era armazenado em recipiente protegido da exposição solar e em refrigeração, até que fosse congelado.

#### **4.5 Teste Genético**

##### **4.5.1 Coleta de Células da Bochecha**

Nos 90 minutos que antecederam a coleta, todos os pacientes foram mantidos em jejum, para diminuir a presença de interferentes nas amostras. As amostras foram coletadas entre as 9 e as 17 horas. As células da bochecha foram coletadas através do uso de escova citológica estéril (Labor Import®), que foi utilizada para a raspagem da parede interna das bochechas do paciente. Foi padronizado um total de 10 raspagens verticais para cada lado da bochecha, de modo que resultasse em amostras com DNA suficiente para a visualização da PCR, mas que não apresentasse um número de células muito elevado, a ponto de inibir a PCR. A escova foi então mergulhada e levemente agitada em um microtubo de centrifugação

contendo 180  $\mu\text{L}$  de tampão ATL e 20  $\mu\text{L}$  de proteinase K, por 30 segundos. Após isso, o microtubo foi rapidamente agitado para frente e para trás entre o polegar e o indicador da mão esquerda por 30 segundos e armazenado para transporte. Foram coletadas duas amostras para cada paciente, sendo uma delas armazenada a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por tempo indeterminado, a fim de garantir a possibilidade de uma repetição do teste, caso fosse necessário.

#### 4.5.2 Extração de DNA Genômico

Para a extração do DNA total usando o DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen®) foram seguidas as recomendações do fabricante (Figura 4). Um pré-tratamento da amostra a  $56\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos foi utilizado. À amostra, previamente homogeneizada em vórtex por 15 segundos, foi acrescentado 200  $\mu\text{L}$  de tampão AL e homogeneizado imediatamente após a adição, por 10 segundos. Repetiu-se a etapa anterior com 200  $\mu\text{L}$  de etanol 95%. A mistura foi aplicada em uma coluna montada sobre tubo coletor e centrifugada por 1 minuto a 8.000 rpm. O líquido que passou da coluna para o tubo coletor foi descartado e à coluna contendo o DNA foi adicionado 500  $\mu\text{L}$  do tampão AW1. O tubo foi submetido à centrifugação a 8.000 rpm por 1 minuto para lavagem do DNA. O líquido que passou pela coluna foi novamente descartado. Uma nova lavagem foi feita da mesma maneira da anterior, porém utilizando o tampão AW2 e uma centrifugação a 14.000 rpm por 3 minutos. A coluna foi transferida para um novo microtubo e uma nova centrifugação a 8.000 rpm por 1 minuto foi realizada. A coluna foi então transferida para um novo microtubo para eluição do DNA com 200  $\mu\text{L}$  de tampão AE, deixada em repouso por 1 minuto à temperatura ambiente e centrifugada por 1 minuto a 8.000 rpm. A coluna foi finalmente descartada e o DNA extraído contido no microtubo foi armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ .



Figura 4 - Fluxograma da extração de DNA.

#### 4.5.3 Detecção do Polimorfismo por Sequenciamento

A sequência do gene MCM6 (Genbank accession #NM\_005915) e dos primers utilizados foram obtidas através de uma pesquisa no banco de dados de SNPs (dbSNP) da NCBI. Para identificação dos alelos do SNP -13910C/T, um fragmento de 448 bp foi primeiramente amplificado utilizando como *forward* primer 5'-GGATGCACTGCTGTGATGAG-3' e *reverse* primer 5'-CCCACTGACCTATCCTCGTG-3'. A reação de amplificação foi realizada em um volume total de 25  $\mu$ L, através da utilização de 18  $\mu$ L do kit comercial PCR SuperMix da Invitrogen® (22 mM Tris-HCl pH 8.4, 55 mM KCl, 1.65 mM MgCl<sub>2</sub>, 220  $\mu$ M dGTP, 220  $\mu$ M dATP, 220  $\mu$ M dTTP, 220  $\mu$ M dCTP, 22 U/ml Taq DNA Polymerase e estabilizadores) e 10 pmol de cada primer. Para cada reação de amplificação foram utilizados aproximadamente 100 ng do DNA extraído anteriormente. Os tubos de reação foram incubados no termociclador (Esco® Swift MaxPro Block 4) a 94 °C por 2 minutos, para que ocorresse a desnaturação inicial e ativação da enzima, conforme descrito na tabela 2. Após isso, 35 ciclos de amplificação de PCR foram feitos, da seguinte forma: 94 °C por 15 segundos (desnaturação), 56 °C por 30 segundos (anelamento), 72 °C por 1 minuto (extensão). Após esses ciclos, as amostras foram submetidas a um ciclo final de 10 minutos a 72 °C.

Tabela 2 - Termociclagem para a PCR.

<b>Etapa</b>		<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo</b>
	Desnaturação inicial	94	2 minutos
35 ciclos	Desnaturação	94	15 segundos
	Anelamento	56	30 segundos
	Extensão	72	1 minuto
	Extensão final	72	10 minutos

Dos produtos da PCR, 7,5  $\mu$ L foram aplicados no gel de agarose a 2% e submetidos a corrida eletroforética (PWSys® PW3000) em cuba horizontal a 110 V durante 50 minutos. O gel foi corado com 0,5 ng/mL de brometo de etídio e os fragmentos de DNA visualizados através de um transiluminador com luz ultravioleta (UV), no comprimento de onda de 302 nm. O perfil eletroforético foi fotografado com uma câmera acoplada ao transiluminador. Todas as revelações no gel de agarose são acompanhadas pelo uso do marcador 100 bp DNA Ladder (Invitrogen®). Os produtos com bom rendimento foram então separados e enviados para o sequenciamento do fragmento de DNA isolado, no Laboratório de Diagnóstico

Molecular e Sequenciamento da Universidade Estadual Paulista (UNESP) de Botucatu-SP. As duas sequências de cDNA de cada amostra foram editadas e alinhadas utilizando o software MEGA para localizar o polimorfismo na posição 13910 do gene MCM6.

#### 4.6 Aferições Antropométricas

A coleta dos dados antropométricos foi realizada nas dependências da Farmácia Escola. A aferição do peso foi realizada em balança digital, portátil, com capacidade de pesagem até 150 kg e precisão de 100 g, segundo Jelliffe (1966). Para a estatura foi utilizado fita métrica inextensível, dividida em centímetros e subdividida em milímetros, afixada em parede lisa, sem rodapé, a um metro do piso, com visor de plástico e esquadro acoplado a uma das extremidades, segundo as normas preconizadas pelo mesmo autor e ilustradas na figura 5. As medidas de peso e estatura foram coletadas com o paciente vestindo roupas leves, descalço e sem adornos. Uma segunda aferição da altura foi efetuada por outro avaliador em 10% dos pacientes avaliados, o que garantiu o rigor da padronização dessas medidas.

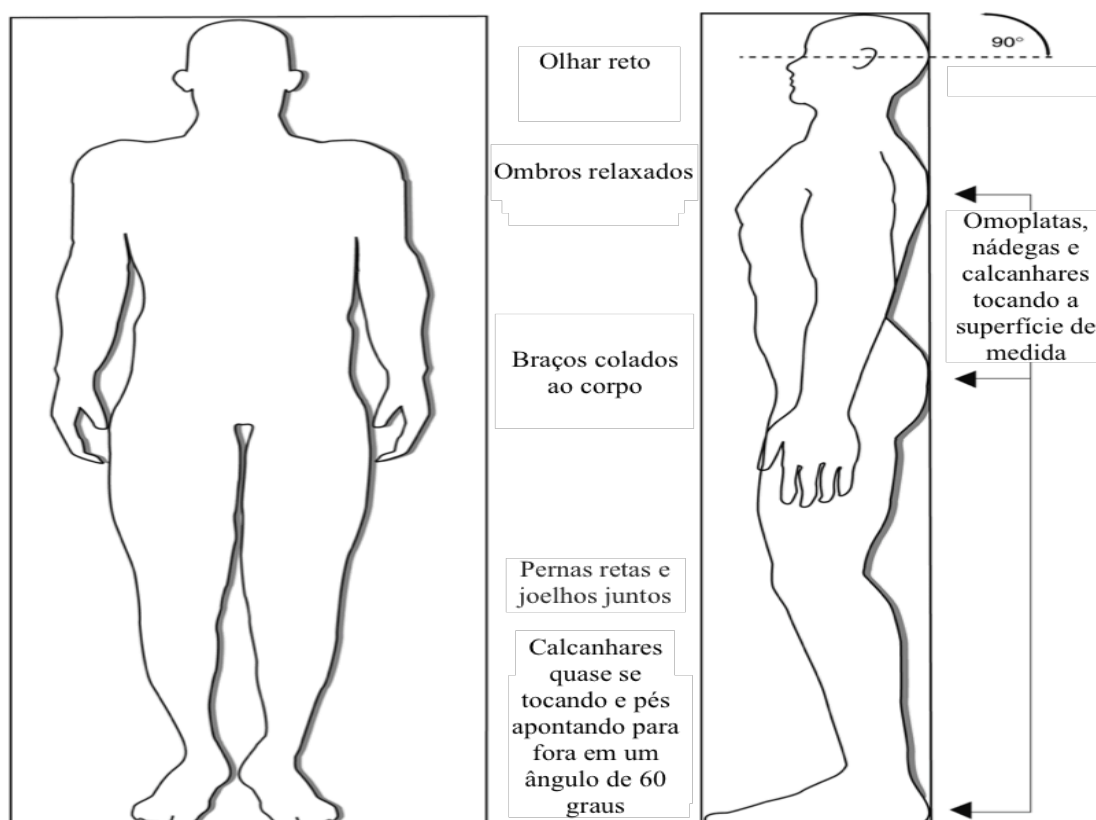


Figura 5 - Posicionamento do indivíduo para aferição da estatura.

Fonte: Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2007).



O IMC foi calculado com as medidas de peso e altura, de acordo com a fórmula  $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (cm)}$ . Como padrão de referência para a classificação da subnutrição, normalidade, sobrepeso e obesidade foram utilizados o da OMS, conforme descrito anteriormente. A magreza foi definida como o equivalente a um  $IMC < 18,5$  e sobrepeso e obesidade a um  $IMC \geq 25$  e  $\geq 30$ , respectivamente (COLE et al., 2007).

A CA foi obtida na menor curvatura localizada entre as costelas e a crista íliaca com fita métrica flexível e inelástica sem comprimir os tecidos (Figura 6). Quando não foi possível identificar a menor curvatura, obteve-se a medida 2 cm acima da cicatriz umbilical. Para a CA o ponto de corte utilizado foi  $\geq 94$  cm para homens e  $\geq 80$  cm para mulheres (OMS, 2000). Para a RCA, calculada pela razão da circunferência abdominal pela estatura, o ponto de corte utilizado para a definição de obesidade abdominal, tanto para homens como mulheres, foi de 0,5 (BROWNING; HSIEH; ASHWELL, 2010; MCCARTHY; ASHWELL, 2006).

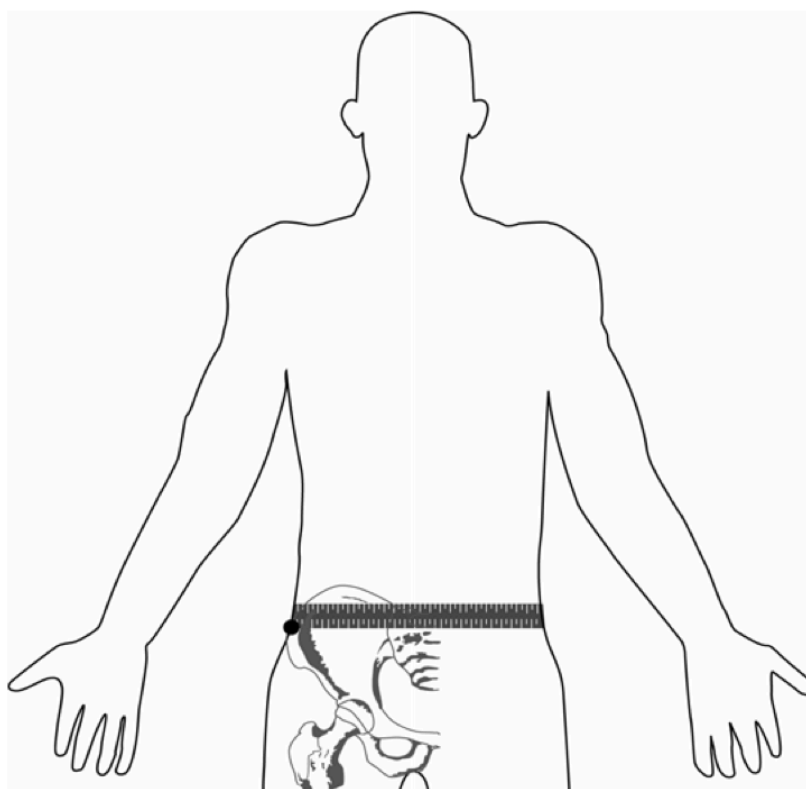


Figura 6 - Posição da fita métrica corporal para aferição da CA.

Fonte: Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2007).

As medidas de espessura de dobras cutâneas foram obtidas por meio de um adipômetro (Lange®, Cambridge Scientific Instruments, Cambridge, Maryland), com precisão de 1 mm, seguindo os procedimentos descritos por Jackson & Pollock (1980; 1978). As medidas das espessuras das dobras cutâneas foram obtidas por único avaliador, em triplicata, no sentido rotacional, sendo considerada a mediana das três medidas. Foi utilizada a equação das 3 dobras cutâneas para o cálculo da DC, corrigida pela idade, conforme abaixo:

Para homens:

$$DC = 1,10938 - 0,0008267 (X) + 0,0000016 (X)^2 - 0,0002574 (Z)$$

Para mulheres:

$$DC = 1,0994921 - 0,0009929 (Y) + 0,0000023 (Y)^2 - 0,0001392 (Z)$$

Aonde X é a soma das dobras do tórax, abdômen e coxa, Y é a soma das dobras do tríceps, supra-iliaca e coxa e Z é a idade, em anos. Em seguida, o resultado da DC foi submetido ao modelo matemático proposto por Siri (1993), para estimar a gordura corporal relativa (%G), conforme abaixo:

$$\%G = [(4,95/DC) - 4,50] \times 100$$

#### **4.7 Aspectos Éticos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual do Centro-Oeste (324/2014) e todas as questões éticas foram obedecidas, por todos os integrantes da pesquisa. A participação neste estudo foi absolutamente voluntária. Todos os pacientes receberam duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, com informações sobre justificativas, objetivos, procedimentos, riscos e benefícios da pesquisa. Foram fornecidos contatos dos pesquisadores para que os pacientes pudessem revogar sua participação a qualquer momento, sem qualquer prejuízo ou constrangimento, bem como solicitar informações sobre resultados e andamento da pesquisa. Foi assegurado o sigilo das informações e estas serão utilizadas estritamente com o intuito de atender aos objetivos da pesquisa, sem causar prejuízos à instituição ou seres humanos nela envolvidos.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Caracterização da Amostra

Foram coletadas amostras de células da bochecha e de dados antropométricos de 22 adultos praticantes de atividade física, frequentadores da Farmácia Escola da UNICENTRO. Com relação ao gênero, 31,82% (7) são do gênero feminino e 68,18% (15) do masculino, conforme demonstrado na figura 7.

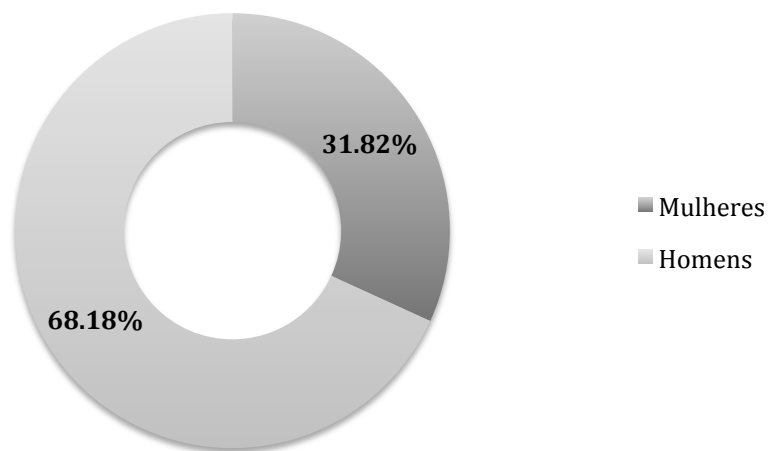


Figura 7 - Distribuição de gênero dos pacientes incluídos no estudo.

A idade média dos pacientes foi de 39,04 anos e a mediana de 37,5 anos. As idades variaram entre 24 a 59 anos de idade. A distribuição conforme a faixa etária esta representada na figura 8, onde é segmentada em seis faixas. O maior número de pacientes encontra-se na faixa de 24 a 29 anos. Já o menor número de participantes possui entre 42 e 47 anos.

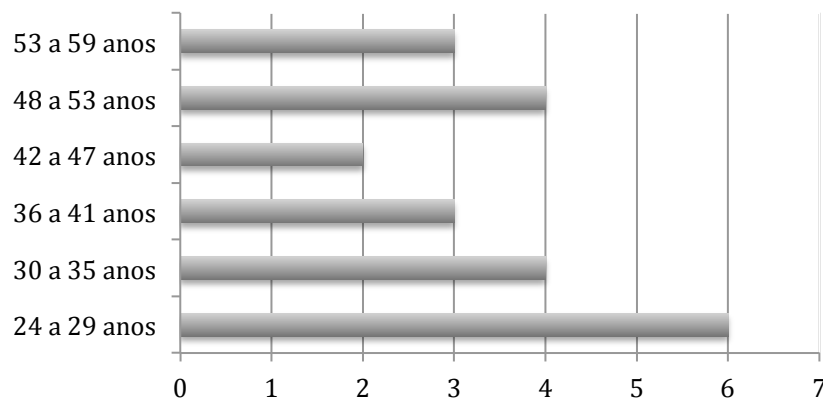


Figura 8 - Número de pacientes por faixa etária.

Quanto à origem étnica, 22,73% (5) dos pacientes declararam serem afro-brasileiros e 77,27% (17) brancos. Nenhum participante declarou ser indígena ou asiático, conforme demonstrado na figura 9. Este dado mostra a característica de colonização europeia da região, sendo um local atrativo para coleta de amostras em estudos de polimorfismos com alta correlação com essa origem. Em ambos os casos, a maioria constituiu-se de homens, representando 70,59% dos brancos e 60% dos afro-brasileiros.

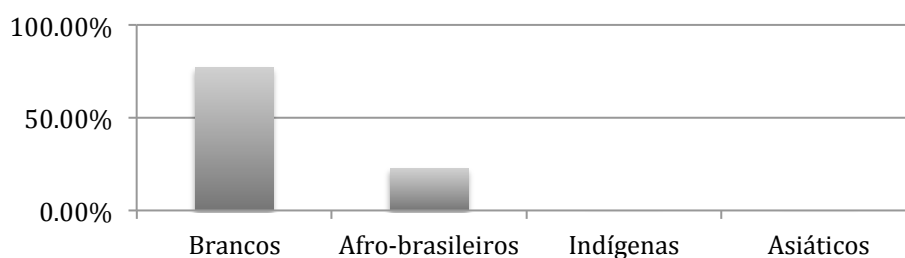


Figura 9 - Distribuição da origem étnica.

A caracterização pela frequência de ingestão de lactose, representado pelo consumo de leites e/ou derivados, revelou o alto consumo desses produtos na população estudada (Figura 10). A metade dos pacientes consomem esses produtos de cinco a sete dias por semana. Oito pacientes (36,36%) responderam consumir produtos lácteos de forma moderada, de um a quatro dias na semana. Somente três pacientes (13,64%) responderam consumir esses produtos menos de um dia por semana, ou seja, raramente.

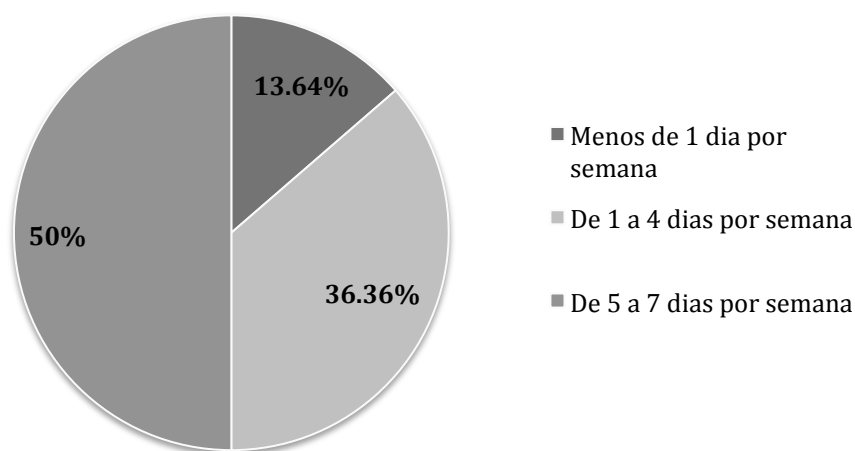


Figura 10 - Frequência do consumo de leite e/ou derivados.

Sintomas gastrointestinais foram relatados em cinco pacientes (22,73%). O sintoma mais relatado foi diarreia (80%), seguido por dor abdominal (40%). Os pacientes não relataram outro tipo de sintoma. Entre os pacientes sintomáticos, 80% acusaram suspeita de serem intolerantes à lactose (Figura 11). Apesar de baixa ocorrência de sintomas do grupo estudado, muitos pacientes intolerantes podem ser assintomáticos. Portanto, esse achado não descarta a necessidade do teste genético nesses pacientes.

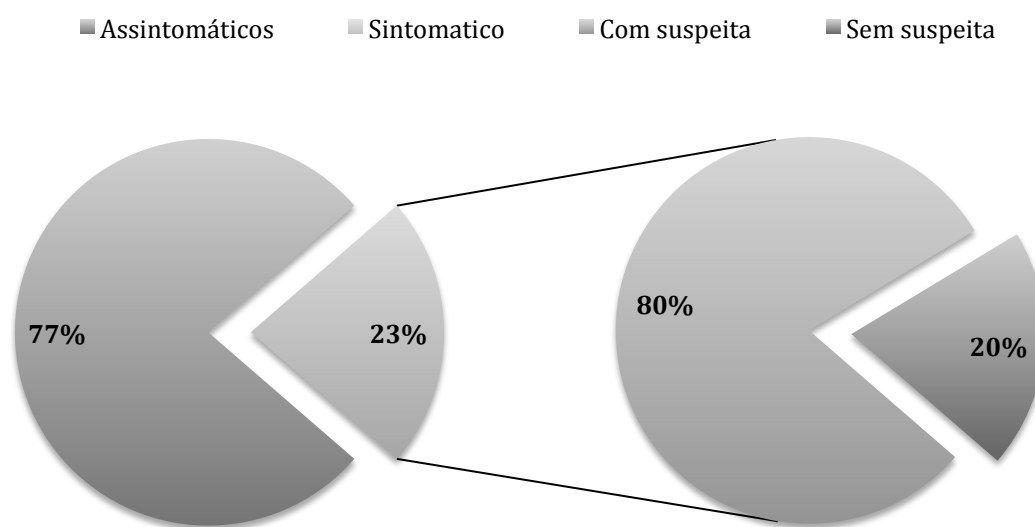


Figura 11 - Distribuição por sintomatologia e suspeita clínica.

## 5.2 Padronização da PCR

A PCR foi padronizada com amostras de raspado da bochecha obtidas da equipe do laboratório de Biologia Molecular e Virologia da UNICENTRO. A eletroforese dos produtos da PCR gerou uma banda brilhosa de 448 bp, relativo ao fragmento de DNA isolado. A figura 12 mostra o perfil eletroforético da amplificação do material de genético de quatro amostras, obtidas de dois pacientes diferentes. Foram utilizadas 20 raspagens na primeira coleta e o dobro na segunda obtenção do material biológico. Para todas as amostras mostradas na figura, a quantidade de reagentes e o ciclo de termociclagem foram os mesmos.

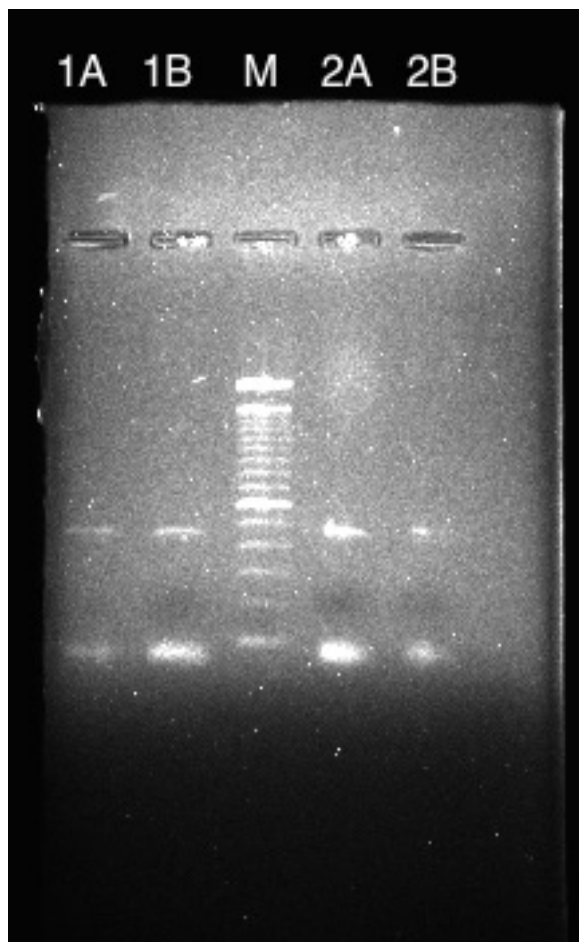


Figura 12 - Perfil eletroforético da amplificação do material genético de quatro amostras.

Coluna 1A: material obtido de 20 raspagens no primeiro paciente. Coluna 1B: material obtido de 40 raspagens no primeiro paciente. Coluna M: marcador de peso molecular de 100 bp (Invitrogen®). Coluna 2A: material obtido de 20 raspagens no segundo paciente. Coluna 2B: material obtido de 40 raspagens no segundo paciente.

Os produtos da PCR respectivos à cada amostra foram enviados para laboratório externo, onde foi feito o sequenciamento do fragmento de DNA isolado, com o auxílio do software MEGA.

### 5.3 Genotipagem

O sequenciamento das duas fitas de cDNA e o posterior alinhamento das sequências permitiram a detecção dos polimorfismos, conforme mostra a tabela 3. Das 22 amostras, quatro não foram passíveis de sequenciamento. O laboratório externo não especificou os motivos da incapacidade da obtenção dos resultados respectivos à estas amostras.

Tabela 3 - Distribuição genotípica.

Genótipo	Número de Amostras
C/C	8
T/T	7
C/T	3

À partir da análise da distribuição genotípica, foi possível identificar a distribuição dos fenótipos, pela presença ou ausência da base nitrogenada T. Dos indivíduos em que foi possível realizar o teste genético, 8 (45%) foram classificados como intolerantes primários, através da presença da característica fenotípica LNP e 10 (55%) apresentaram o fenótipo LP. A porcentagem de afrodescendentes intolerantes foi de 75%, enquanto a de brancos foi 36%, como ilustra a figura 13.

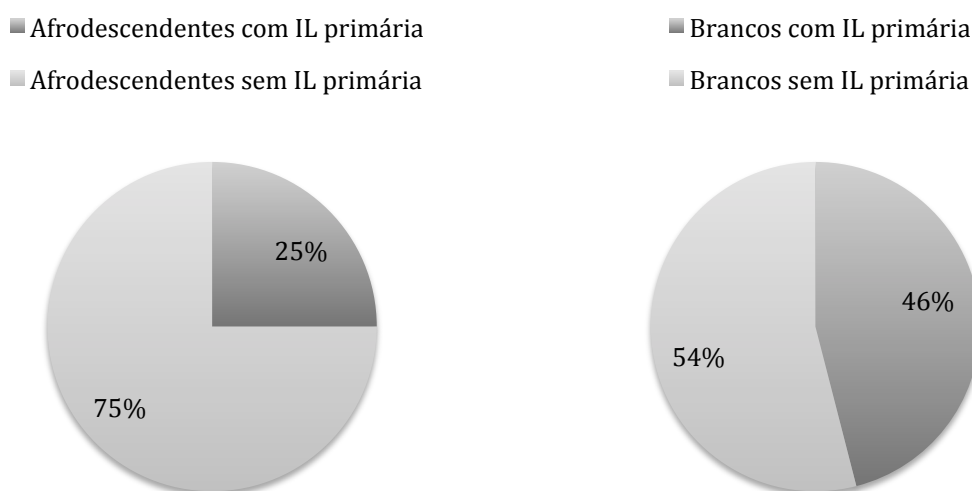


Figura 13 - Porcentagem de participantes com IL primária de acordo com a etnia.

#### 5.4 Caracterização Antropométrica

O cálculo do IMC dos pacientes revelou que metade dos pacientes do grupo estudado está com sobrepeso (Figura 14). Nenhum paciente foi classificado como obeso ou apresentou magreza extrema. A RCA mostrou que 36,36% do total de pacientes possuem algum distúrbio metabólico, como resistência à insulina. Todos esses pacientes apresentaram sobrepeso. Já a medida da CA isolada revelou que, dos pacientes com distúrbio metabólico, 62,5% também

apresentam risco cardiovascular aumentado. A média da CA total foi de 81,1 cm. Enquanto nas mulheres a média foi de 74,5 cm, nos homens foi de 84,2 cm.

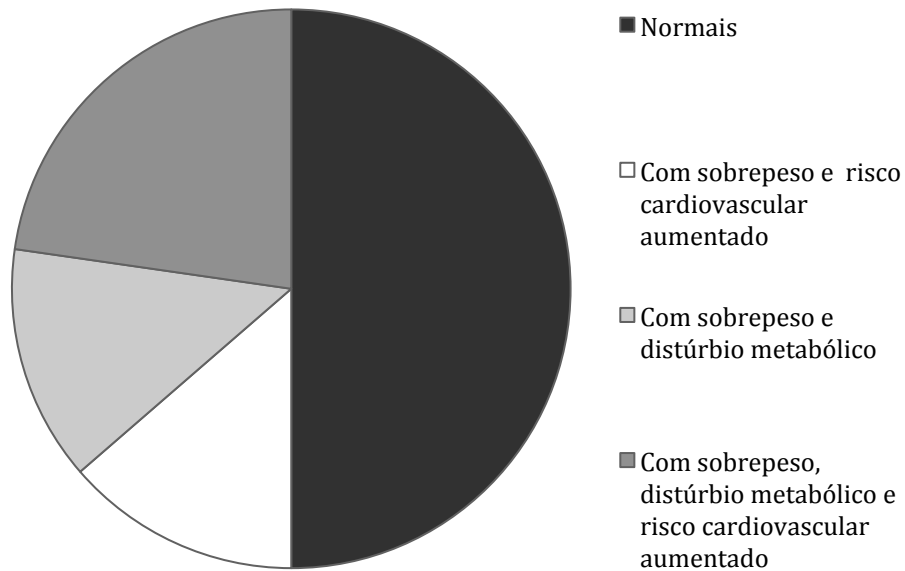


Figura 14 - Distribuição por presença de sobrepeso, risco cardiovascular aumentado e distúrbio metabólico.

Quanto à porcentagem de gordura corporal, a amostra populacional apresentou uma média de 17,42% e uma mediana de 16,76. Nas mulheres a média foi de 21,22%, enquanto os homens apresentaram 15,65% de gordura corporal (Figura 15).

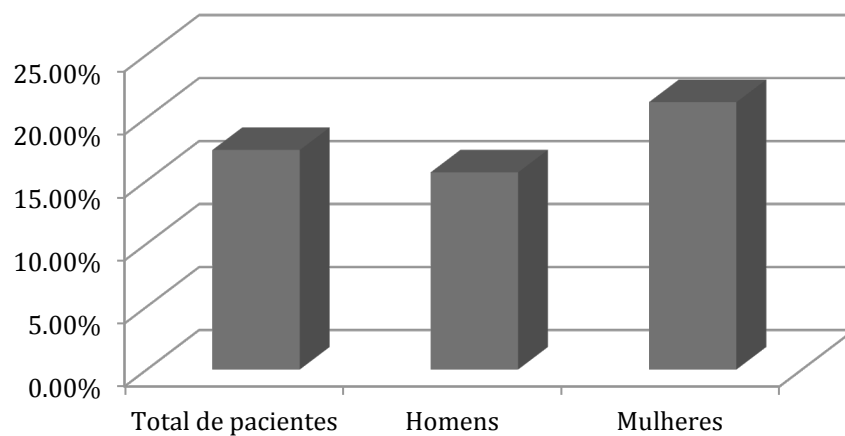


Figura 15 - Porcentagem de gordura corporal na amostra populacional total e por gênero.



Entre os participantes que apresentaram IL primária, caracterizada pela presença do fenótipo LNP, a média da CA foi de 82 cm. Em pacientes com o fenótipo LP, a média da CA foi de 82,35 cm. Já com relação à distribuição de gordura corporal total, os pacientes com IL primária apresentaram uma média de 16,2%, enquanto os participantes com o perfil LP tiveram uma média de 17,9%. Entre os indivíduos com o fenótipo LP, a média foi 0,49. Para indivíduos com o fenótipo LNP, a média foi de 0,48.

A avaliação da influência da presença de sintomas gastrointestinais na ocorrência do fenótipo LP mostrou que 11,1% dos pacientes apresentaram sintomas gastrointestinais e o fenótipo LP. O mesmo índice foi encontrado em pacientes sintomáticos com o fenótipo LNP. Do total de pacientes avaliados, 33,4% descreveram sintomatologia gastrointestinal e apresentaram o fenótipo LNP simultaneamente. Entretanto, mais de 2/5 dos pacientes apresentaram o fenótipo LP sem ter relatado sintomas gastrointestinais (Figura 16).

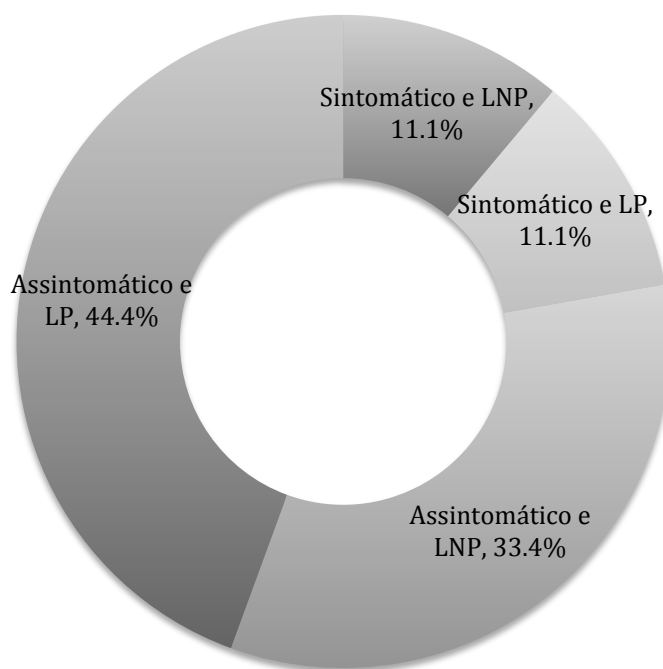


Figura 16 - Distribuição por fenótipo e sintomatologia.

Quanto à influência do sobrepeso na ocorrência do fenótipo LP, a maior parte dos indivíduos avaliados (33,4%) apresentaram IMC na faixa normal e fenótipo LP. Foi relatado que 22,2% dos pacientes apresentaram IMC na mesma faixa que a anterior e o fenótipo LNP.

O mesmo índice foi encontrado tanto em pacientes com sobrepeso e fenótipo LP, como em indivíduos com sobrepeso e fenótipo LNP.

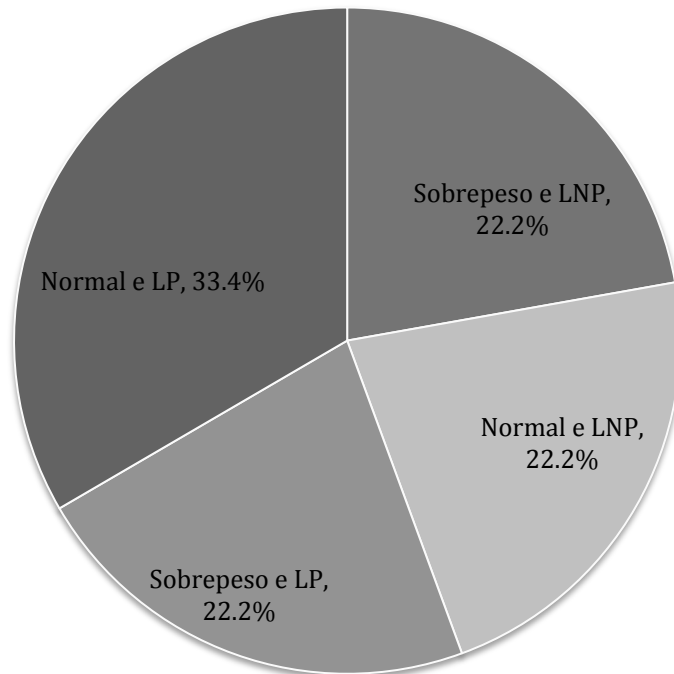


Figura 17 - Distribuição por fenótipo e classificação do IMC.

## 6 DISCUSSÃO

Nos últimos anos, o sobrepeso vem aumentando cada vez mais na população mundial (GRIFFITH et al., 2011; NEIVA et al., 2012), o que coincide com o aumento no consumo de produtos lácteos (FAO, 2013). Além disso, tanto a população mundial como a brasileira apresentam altos índices de intolerantes primários à lactose (FILHO; FURLAN, 2002; SAHI, 1994; SIMOONS, 1978). Todos esses fatos somados foram motivadores para a realização desse estudo, que descreve a ocorrência destes parâmetros em uma população de indivíduos praticantes de exercício físico, na cidade de Guarapuava-PR.

Um estudo brasileiro com 567 adultos mostrou que 62,8% deles apresentaram o genótipo C/C, ou seja, o fenótipo LNP, o que caracteriza o diagnóstico de IL primária. Essa condição foi maior em negros, representando uma porcentagem de 80%. Já em brancos e mulatos, 57% apresentaram IL primária (MATTAR et al., 2009). Em Portugal, o total de indivíduos com o fenótipo LNP foi de 63% (COELHO et al., 2005). No nordeste da Itália a frequência foi de ainda maior, de 76,3% (ANAGNOSTOU et al., 2009). Nosso estudo encontrou uma ocorrência de 45% de intolerantes primários. Essa ocorrência diferiu dos outros estudos. Quando analisamos com relação à etnia, 75% dos afrodescendentes e 36% dos brancos apresentaram IL primária. Em comparação ao primeiro estudo, no grupo de afrodescendentes o achado foi aproximado. Entretanto, no grupo de brancos foi diferente. Um dos fatos que pode justificar a diferença nessa ocorrência é que o primeiro estudo incluiu brancos e mulatos na mesma categoria, o que nosso estudo não fez.

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2013), o consumo de leite vem aumentando substancialmente em todo o mundo, principalmente na América Latina. Esse dado tende a continuar aumentando, à medida que o consumo mundial de alimentos vem crescendo. A média per capita da ingestão energética de produtos lácteos cresceu de 1.861 kcal em 1961 para 2.651 em 2007. Apesar desse presente estudo não ter feito um levantamento energético, o dado do alto consumo pôde ser confirmado, já que 50% dos pacientes afirmaram que ingerem leite e/ou derivados no mínimo cinco dias por semana.

Nesse estudo foi possível detectar significativa ocorrência de pacientes com sobrepeso (50%), distúrbios metabólicos (36,36%) e risco cardiovascular aumentado (22,73%). De acordo com estudos realizados no Brasil, a estimativa de sobrepeso em adultos praticantes de atividade física é em torno de 46% (MENDES; MUNDIM; TAVARES, 2012; PONTES; SOUSA, 2009; ROMBALDI et al., 2014). Outro estudo com 9.211 brasileiros, entre 30 e 69

anos de idade, em que a maioria (59,7%) dos participantes eram praticantes de atividades físicas, mostrou um índice superior a 25% de pacientes com risco cardiovascular aumentado (PEREIRA; BARRETO; PASSOS, 2009). Além disso, a frequência de síndrome metabólica em praticantes de atividades físicas, no Brasil, é estimada em aproximadamente 35,6% (PONTES; SOUSA, 2009; PONTES; SOUZA, 2008), sendo mais prevalente em faixas etárias mais elevadas (PINHO et al., 2014). O aumento da frequência de fatores de risco cardiovascular costuma acompanhar o aumento do IMC e da CA (CARNEIRO et al., 2003; REZENDE et al., 2006). Da mesma forma, é estimado que um maior consumo de produtos lácteos acompanhe a incidência desses fatores de risco (AZADBAKHT et al., 2005; ELWOOD; PICKERING; FEHILY, 2007; MIRMIRAN; ESMAILLZADEH; AZIZI, 2005; PEREIRA et al., 2002).

Um estudo realizado no Brasil em que a maioria dos participantes eram praticantes de atividade física mostrou um índice de 26,72% de gordura corporal total. Enquanto os homens apresentaram um percentual de 28,19%, as mulheres tiveram um percentual de 24,73% (REZENDE et al., 2006). Neste presente estudo, a média de gordura corporal no total de participantes avaliados foi de 17,42%. Nas mulheres a média foi de 21,22%, enquanto os homens apresentaram 15,65% de gordura corporal total. Com relação à distribuição de gordura corporal total em pacientes com IL primária, a média apresentada foi de 16,2%, enquanto os participantes com o perfil LP apresentaram uma média de 17,9%. Apesar da grande gama de estudos que avaliaram as correlações de obesidade, o fenótipo LP e o consumo de produtos lácteos, não foi encontrado nenhum estudo na literatura que descrevesse comparativamente a porcentagem de gordura corporal segmentada pela frequência genotípica ou fenotípica.

Em Portugal, um estudo mostrou que 60% dos pacientes que relataram sintomas gastrointestinais relacionados à ingestão de lactose apresentaram o fenótipo LP. Curiosamente, no grupo assintomático esse índice foi de 38,8%. Essa diferença sugere que muitos sintomas gastrointestinais inespecíficos associados à ingestão de leite e/ou derivados não estejam associados à presença do fenótipo LNP (MANCO et al., 2013). Anteriormente, um estudo realizado na Rússia revelou 66% dos pacientes que apresentaram o fenótipo LP também descreveram sintomas gastrointestinais. No grupo que não relatou sintomatologia, o achado foi muito próximo, já que 65,7%% dos pacientes avaliados apresentaram o perfil LP (KHABAROVA et al., 2011). No presente estudo foi possível detectar que 44,44% dos pacientes assintomáticos apresentaram o fenótipo LP, enquanto somente 11,11% dos indivíduos com sintomas gastrointestinais apresentaram o esse mesmo fenótipo. Esse achado

sugere que o fenótipo LP tem menor ocorrência em pacientes com sintomas gastrointestinais do que em indivíduos assintomáticos, o que contradiz o resultado encontrado em ambos os estudos citados.

Um estudo realizado no sul do Brasil com praticantes de atividades físicas revelou uma média de CA de 92,3 cm (PONTES; SOUZA, 2008). A média da CA da população estudada deste presente estudo foi de 81,1 cm. Em 2010 um estudo relatou uma média de CA de 101,1 cm em indivíduos intolerantes primários e de 103,5 cm em indivíduos com o fenótipo LNP (CORELLA et al., 2010). O presente estudo encontrou uma média de 82 cm na CA dos participantes com IL primária e de 82,35 cm nos participantes com o fenótipo LNP. Tanto o presente estudo como o estudo citado mostraram valores muito próximos para ambos indivíduos com o fenótipo LP e com o fenótipo LNP, com uma leve tendência à valores maiores em indivíduos tolerantes primários à lactose.

Em 2013, um estudo português realizado com 580 crianças relatou uma média de RCA de 0,86 nos indivíduos que possuíam o fenótipo LP. A média nos indivíduos com o fenótipo LNP foi de 0,85 (ALBUQUERQUE; NÕBREGA; MANCO, 2013). No presente estudo, entre os indivíduos com o fenótipo LP, a média foi 0,49. Os indivíduos com o fenótipo LNP apresentaram uma média de 0,48. Embora haja uma grande diferença entre os índices dos dois estudos, quando comparados entre os grupos essa diferença se torna ínfima. Sendo assim, ambos os trabalhos não encontraram diferenças de RCA entre indivíduos com o fenótipo LP ou LNP. Não foi encontrado nenhum estudo na literatura que fizesse o levantamento da RCA em indivíduos sabidamente intolerantes primários ou não.

Um estudo realizado nas Ilhas Canárias envolvendo 1.747 indivíduos relatou que 26,5% dos pacientes avaliados apresentaram sobrepeso e o fenótipo LP. Do total de indivíduos avaliados, 29% encontravam-se na faixa de IMC normal e apresentaram o mesmo perfil fenotípico anterior (ALMON; ÁLVAREZ-LEÓN; SERRA-MAJEM, 2012). Em nosso estudo, a ocorrência de indivíduos LP e com sobrepeso foi de 22,2%, enquanto a porcentagem de pacientes com o fenótipo LP e IMC normal foi de 33,4%. Em ambos os estudos, a ocorrência do fenótipo LP foi maior em pacientes normais do que em pacientes com sobrepeso. A maior parte dos estudos disponíveis na literatura avaliam a obesidade e o fenótipo LP. Somente um estudo foi encontrado avaliando a condição de sobrepeso com a ocorrência do fenótipo

Este é conhecidamente o primeiro estudo que faz um levantamento da ocorrência dos fenótipos LP e LNP na cidade de Guarapuava-PR e um dos primeiros estudos a avaliar a influência do sobrepeso na ocorrência do fenótipo LP. Não foi possível localizar nenhum

trabalho que descrevesse essa ocorrência fenotípica em indivíduos praticantes de atividades físicas na literatura disponível. Apesar do número amostral limitado e da característica do grupo estudado, os resultados encontrados neste estudo corroboraram com a maioria dos resultados disponíveis na literatura descrita.

## 7 CONCLUSÃO

A padronização da PCR apresentou bom rendimento, e o sequenciamento dos produtos da PCR mostrou-se um instrumento útil para a detecção do polimorfismo *LCT-12910C>T*. A avaliação do fenótipo mostrou que oito indivíduos apresentaram-se como intolerantes primários, enquanto dez apresentaram o fenótipo LP. O sintoma gastrointestinal mais relatado pelos participantes foi diarreia, seguido por dor abdominal. A metade dos pacientes afirmaram que ingerem leite e/ou derivados no mínimo cinco dias por semana. Oito pacientes apresentaram algum distúrbio metabólico, e dentre esses, cinco também apresentam risco cardiovascular aumentado. Metade dos pacientes apresentaram sobrepeso, e a outra metade apresentou um índice de massa corporal na faixa normal. A maioria dos pacientes que apresentaram o fenótipo LP foram assintomáticos. Este estudo sugere também que a ocorrência do fenótipo LP é maior em praticantes de atividades físicas com IMC na faixa normal do que em indivíduos fisicamente ativos com sobrepeso.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, D.; NÔBREGA, C.; MANCO, L. The lactase persistence -13910C>T polymorphism shows indication of association with abdominal obesity among Portuguese children. **Acta Paediatrica**, v. 102, n. 4, p. 153–157, 2013.

ALMON, R.; ÁLVAREZ-LEÓN, E. E.; SERRA-MAJEM, L. Association of the European lactase persistence variant (LCT-13910 C>T polymorphism) with obesity in the Canary Islands. **PloS One**, v. 7, n. 8, p. e43978, jan. 2012.

AMATO, M. C. et al. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. **Diabetes Care**, v. 33, n. 4, p. 920–922, abr. 2010.

AMATO, M. C.; GUARNOTTA, V.; GIORDANO, C. Body composition assessment for the definition of cardiometabolic risk. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 36, n. 7, p. 537–543, 2013.

ANAGNOSTOU, P. et al. Tracing the distribution and evolution of lactase persistence in southern Europe through the study of the T-13910 variant. **American Journal of Human Biology**, v. 21, n. 2, p. 217–219, 2009.

ASHWELL, M.; COLE, T. J.; DIXON, A. K. Ratio of waist circumference to height is strong predictor of intra-abdominal fat. **BMJ**, v. 313, n. 7056, p. 559–560, 1996.

ASHWELL, M.; GIBSON, S. Waist to height ratio is a simple and effective obesity screening tool for cardiovascular risk factors: analysis of data from the British National Diet And Nutrition Survey of adults aged 19-64 years. **Obesity Facts**, v. 2, n. 2, p. 97–103, jan. 2009.

ASHWELL, M.; GUNN, P.; GIBSON, S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: systematic review and meta-analysis. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 3, p. 275–286, 2012.

ASHWELL, M.; HSIEH, S. D. Six reasons why the waist-to-height ratio is a rapid and effective global indicator for health risks of obesity and how its use could simplify the international public health message on obesity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 56, n. 5, p. 303–307, ago. 2005.

ASHWELL, M.; LEJEUNE, S.; MCPHERSON, K. Ratio of waist circumference to height may be better indicator of need for weight management. **BMJ**, v. 312, n. 7027, p. 377, 1996.

AZADBAKHT, L. et al. Dairy consumption is inversely associated with the prevalence of the metabolic syndrome in Tehranian adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 3, p. 523–530, 2005.

BAHNA, S. L. Cow's milk allergy versus cow milk intolerance. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 89, n. 6 Suppl 1, p. 56–60, 2002.

BERKEY, C. S. et al. Dairy consumption and female height growth: prospective cohort study. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 18, n. 6, p. 1881–1887, 2013.



BLACK, R. E. et al. Children who avoid drinking cow milk have low dietary calcium intakes and poor bone health. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 3, p. 675–680, 2002.

BODLAJ, G. et al. Genotyping of the lactase-phlorizin hydrolase -13910 polymorphism by LightCycler PCR and implications for the diagnosis of lactose intolerance. **Clinical Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 148–151, jan. 2006.

BOHMER, C. J. M.; TUYNMAN, H. A. R. E. Journal of the National Medical Association. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 13, n. 8, p. 941–944, 2001.

BOLL, W.; WAGNER, P.; MANTEI, N. Structure of the chromosomal gene and cDNAs coding for lactase-phlorizin hydrolase in humans with adult-type hypolactasia or persistence of lactase. **The American Journal of Human Genetics**, v. 48, n. 5, p. 889–902, 1991.

BRADEN, B. Methods and functions: breath tests. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 23, n. 3, p. 337–352, jan. 2009.

BRASIL. **Resolução 196, de 10 de outubro de 1996. Conselho Nacional de Saúde.** Disponível em: <[conselho.saude.gov.br/docs/Reso196.doc](http://conselho.saude.gov.br/docs/Reso196.doc)>. Acesso em: 10 out. 2014.

BROWNING, L. M.; HSIEH, S. D.; ASHWELL, M. A systematic review of waist-to-height ratio as a screening tool for the prediction of cardiovascular disease and diabetes: 0.5 could be a suitable global boundary value. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 2, p. 247–69, dez. 2010.

BULHÕES, A. C. et al. Correlation between lactose absorption and the C/T-13910 and G/A-22018 mutations of the lactase-phlorizin hydrolase (LCT) gene in adult-type hypolactasia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 11, p. 1441–1446, 2007.

BÜLLER, H. A. et al. Coordinate expression of lactase-phlorizin hydrolase mRNA and enzyme levels in rat intestine during development. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 12, p. 6978–6983, 1990.

BÜNING, C. et al. The C/C(-13910) and G/G(-22018) genotypes for adult-type hypolactasia are not associated with inflammatory bowel disease. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 38, n. 5, p. 538–542, 2003.

BURGIO, G. R. et al. Prevalence of primary adult lactose malabsorption and awareness of milk intolerance in Italy. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 39, n. 1, p. 100–104, 1984.

BURTON, R. F. Adolphe Quetelet and the BMI: fact, fiction, and childhood growth. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 21, n. 1, p. 6, jan. 2013.

CAMPBELL, A. K.; WAUD, J. P.; MATTHEWS, S. B. The molecular basis of lactose intolerance. **Science Progress**, v. 92, n. 3-4, p. 241–287, 2009.

CARNEIRO, G. et al. Influência da distribuição da gordura corporal sobre a prevalência de hipertensão arterial e outros fatores de risco cardiovascular em indivíduos obesos. **Journal of the Brazilian Medical Association**, v. 49, n. 3, p. 306–311, 2003.

CARVALHO, T. DE et al. Dietary changes, water replacement, food supplements and drugs: evidence of ergogenic action and potential health risks. **Brazilian Journal of Sports Medicine**, v. 9, n. 2, p. 43–56, 2003.

CDC. **National Health and Nutrition Examination Survey. Anthropometry Procedures Manual**. Disponível em:

<[http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes\\_07\\_08/manual\\_an.pdf](http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_07_08/manual_an.pdf)>. Acesso em: 10 out. 2014.

CHRISTIE, L. et al. Food allergies in children affect nutrient intake and growth. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1648–1651, 2002.

CLAR, H. et al. The LCT 13910 C/T polymorphism as a risk factor for osteoporosis, has no impact on metastatic bone disease in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 112, n. 2, p. 363–365, nov. 2008.

COELHO, M. et al. Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. **Human Genetics**, v. 117, n. 4, p. 329–339, 2005.

COLE, T. J. et al. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. **BMJ**, v. 320, n. 7244, p. 1240, 2000.

COLE, T. J. et al. Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: international survey. **BMJ**, v. 335, n. 7612, p. 194, 28 jul. 2007.

COOK, G. C.; AL-TORKI, M. T. High intestinal lactase concentrations in adult Arabs in Saudi Arabia. **BMJ**, v. 3, n. 5976, p. 135–136, 1975.

COOK, G. C.; KAJUBI, S. K. Tribal incidence of lactase deficiency in Uganda. **The Lancet**, v. 1, n. 7440, p. 725–730, 1966.

CORELLA, D. et al. Association of the LCT-13910C>T polymorphism with obesity and its modulation by dairy products in a Mediterranean population. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 19, n. 8, p. 1707–1714, ago. 2010.

CSÁBI, G. et al. Presence of metabolic cardiovascular syndrome in obese children. **European Journal of Pediatrics**, v. 159, n. 1-2, p. 91–94, 2000.

CUATRECASAS, P.; LOCKWOOD, D. H.; CALDWELL, J. R. Lactase deficiency in the adult: a common occurrence. **The Lancet**, v. 285, n. 7375, p. 14–18, 1965.

DAHLQVIST, A. Assay of intestinal disaccharidases. **Analytical Biochemistry**, v. 22, p. 99–107, 1968.

DE RITIS, F. et al. High frequency of lactase activity deficiency in small bowel of adults in the Neapolitan area. **Enzymologia Biologica et Clinica**, v. 11, n. 3, p. 263–267, 1970.

- DEURENBERG, P.; YAP, M. The assessment of obesity: Methods for measuring body fat and global prevalence of obesity. **Bailliere's Best Practice in Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 13, n. 1, p. 1–11, 1999.
- DI RIENZO, T. et al. Lactose intolerance: from diagnosis to correct management. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 17, n. Suppl 2, p. 18–25, 2013.
- DI STEFANO, M. et al. Lactose malabsorption and intolerance in the elderly. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 36, n. 12, p. 1274–1278, 2001.
- DI STEFANO, M. et al. Lactose malabsorption and intolerance and peak bone mass. **Gastroenterology**, v. 122, n. 7, p. 1793–1799, jun. 2002.
- DI STEFANO, M. et al. Genetic test for lactase non-persistence and hydrogen breath test: is genotype better than phenotype to diagnose lactose malabsorption? **Digestive and Liver Disease**, v. 41, n. 7, p. 474–479, jul. 2009.
- DISPARITIES, H. Overcoming the barrier of lactose intolerance to reduce health disparities. **Journal of the National Medical Association**, v. 94, n. 2, p. 55–66, 2002.
- DONALDSON, R. M. Normal bacterial populations of the intestine and their relation to intestinal function. **New England Journal of Medicine**, v. 270, n. 20, p. 1050–1056, 1964.
- DOUPHRATE, D. I. et al. The dairy industry: a brief description of production practices, trends, and farm characteristics around the world. **Journal of Agromedicine**, v. 18, n. 3, p. 187–197, jan. 2013.
- DU, X. Q. et al. Milk consumption and bone mineral content in Chinese adolescent girls. **Bone**, v. 30, n. 3, p. 521–528, 2006.
- DURNIN, J. V.; WOMERSLEY, J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. **British Journal of Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 77–97, 1974.
- ELWOOD, P. C.; PICKERING, J. E.; FEHILY, A. M. Milk and dairy consumption, diabetes and the metabolic syndrome: the Caerphilly prospective study. **Journal of Epidemiology and Community Health**, v. 61, n. 8, p. 695–698, ago. 2007.
- ENATTAH, N. S. et al. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. **Nature Genetics**, v. 30, n. 2, p. 233–237, fev. 2002.
- FAO. Milk and dairy product composition. In: **Milk and Dairy Products in Human Nutrition**. [s.l: s.n.].
- FERMINO, R. C.; PEZZINI, M. R.; REIS, R. S. Reasons for physical activity practice and body image among health clubs users. **Brazilian Journal of Sports Medicine**, v. 16, n. 1, p. 18–23, 2010.

- FILHO, D. P.; FURLAN, S. A. Prevalência de intolerância à lactose em função da faixa etária e do sexo: experiência do Laboratório Dona Francisca, Joinville (SC). **Health and Environment Journal**, v. 5, n. 1, p. 24–30, 2002.
- FLATZ, G.; ROTTHAUWE, H. W. Lactose nutrition and natural selection. **The Lancet**, v. 2, n. 7820, p. 76–77, 1973.
- FLAVEL, N. A. et al. Anthropometric estimates of total and regional body fat in children aged 6-17 years. **Acta Paediatrica**, v. 101, n. 12, p. 1253–1259, dez. 2012.
- FREEDMAN, D. S. et al. Relation of body mass index and waist-to-height ratio to cardiovascular disease risk factors in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, n. 1, p. 33–40, 2007.
- FREIBURGHAUS, A. U. et al. Protein patterns of brush-border fragments in congenital lactose malabsorption and in specific hypolactasia of the adult. **New England Journal of Medicine**, v. 294, n. 19, p. 1030–1032, 1976.
- FRIEDRICH, D. C. et al. Several different lactase persistence associated alleles and high diversity of the lactase gene in the admixed Brazilian population. **PloS One**, v. 7, n. 9, p. e46520, jan. 2012.
- GALLAGHER, D. et al. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 3, p. 694–701, 2000.
- GARCÕ, L. A. et al. Skinfold thickness measurements are better predictors of body fat percentage than body mass index in male Spanish children and adolescents. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 52, n. 8, p. 573–576, 1998.
- GASBARRINI, A. et al. Methodology and indications of H<sub>2</sub>-breath testing in gastrointestinal diseases: the Rome Consensus Conference. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 29, n. Suppl 1, p. 1–49, 30 mar. 2009.
- GONÇALVES, V. F. et al. The phylogeography of African Brazilians. **Human Heredity**, v. 65, n. 1, p. 23–32, jan. 2008.
- GOPALAN, S. Cow's milk protein allergy and intolerance—practical issues in diagnosis. **Apollo Medicine**, v. 8, n. 4, p. 305–306, 2011.
- GRIFFITH, D. M. et al. Race, SES, and Obesity Among Men. **Race and Social Problems**, v. 3, n. 4, p. 298–306, 1 dez. 2011.
- GRIMBACHER, B.; PETERS, T.; PETER, H. H. Lactose-intolerance may induce severe chronic eczema. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 113, n. 4, p. 516–518, 1997.
- HAMIDI, A. et al. Metabolic syndrome and leptin concentrations in obese children. **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 73, n. 7, p. 593–596, jul. 2006.

HERMANS, M. M. et al. The relationship between lactose tolerance test results and symptoms of lactose intolerance. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 92, n. 6, p. 981–984, 1997.

HEYMAN, M. B. Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. **Pediatrics**, v. 118, n. 3, p. 1279–1286, set. 2006.

HOPPE, C. et al. High intakes of skimmed milk, but not meat, increase serum IGF-I and IGFBP-3 in eight-year-old boys. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, n. 9, p. 1211–6, set. 2004.

HOPPE, C.; MØLGAARD, C.; MICHAELSEN, K. F. Cow's milk and linear growth in industrialized and developing countries. **Annual Review of Nutrition**, v. 26, p. 131–173, jan. 2006.

HOVDE, Ø.; FARUP, P. G. A comparison of diagnostic tests for lactose malabsorption--which one is the best? **BMC Gastroenterology**, v. 9, p. 82, jan. 2009.

HSIEH, S. D.; YOSHINAGA, H. Abdominal fat distribution and coronary heart disease risk factors in men--waist/height ratio as a simple and useful predictor. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 19, n. 8, p. 585–589, 1995.

HU, F. B. Obesity and mortality: watch your waist, not just your weight. **Archives of Internal Medicine**, v. 167, n. 9, p. 875–876, 2007.

HU, H. H.; NAYAK, K. S.; GORAN, M. I. Assessment of abdominal adipose tissue and organ fat content by magnetic resonance imaging. **Obesity Reviews**, v. 12, n. 501, p. e504–e515, 2011.

IBGE. **Censo Demográfico de 2010**. Disponível em: <<http://censo2010.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 10 out. 2014.

INGRAM, C. J. E. et al. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. **Human Genetics**, v. 124, n. 6, p. 579–591, jan. 2009.

ITAN, Y. et al. The origins of lactase persistence in Europe. **PloS Computational Biology**, v. 5, n. 8, p. e1000491, 2009.

ITAN, Y. et al. A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. **BMC Evolutionary Biology**, v. 10, p. 36, 2010.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **British Journal of Nutrition**, v. 40, p. 497–504, 1978.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L.; WARD, A. Generalized equations for predicting body density of women. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 12, n. 3, p. 175–181, 1980.

JELLEMA, P. et al. Lactose malabsorption and intolerance: a systematic review on the diagnostic value of gastrointestinal symptoms and self-reported milk intolerance. **QJM**, v. 103, n. 8, p. 555–572, ago. 2010.

JELLIFFE, D. B. The assessment of the nutritional status of the community. **WHO Monograph Series**, v. 53, p. 271, 1966.

JOHANSSON, S. G. O. et al. Revised nomenclature for allergy for global use: report of the nomenclature review committee of the World Allergy Organization, October 2003. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 113, n. 5, p. 832–836, maio 2004.

JONES, B. L. et al. Diversity of lactase persistence alleles in Ethiopia: signature of a soft selective sweep. **The American Journal of Human Genetics**, v. 93, n. 3, p. 538–544, 5 set. 2013.

KHABAROVA, Y. et al. Lactase non-persistent genotype influences milk consumption and gastrointestinal symptoms in Northern Russians. **BMC Gastroenterology**, v. 11, n. 1, p. 124, 2011.

KREBS, N. F. et al. Assessment of child and adolescent overweight and obesity. **Pediatrics**, v. 120 Suppl, p. S193–S228, dez. 2007.

KRETCHMER, N. Lactose and lactase--a historical perspective. **Gastroenterology**, v. 61, n. 6, p. 805–813, 1971.

KRUSE, T. A. et al. The human lactase-phlorizin hydrolase gene is located on chromosome 2. **FEBS Letters**, v. 240, n. 1-2, p. 123–126, 1988.

KRÜTTLI, A. et al. Ancient DNA analysis reveals high frequency of European lactase persistence allele (T-13910) in medieval Central Europe. **PloS One**, v. 9, n. 1, p. e86251, jan. 2014.

KUOKKANEN, M. et al. Transcriptional regulation of the lactase-phlorizin hydrolase gene by polymorphisms associated with adult-type hypolactasia. **Gut**, v. 52, n. 5, p. 647–652, 2003.

KUOKKANEN, M. et al. Mutations in the translated region of the lactase gene (LCT) underlie congenital lactase deficiency. **The American Journal of Human Genetics**, v. 78, n. 2, p. 339–344, 2006a.

KUOKKANEN, M. et al. A biopsy-based quick test in the diagnosis of duodenal hypolactasia in upper gastrointestinal endoscopy. **Endoscopy**, v. 38, n. 7, p. 708–712, 2006b.

KUTCHMAN, E. et al. Proximal causes and behaviors associated with pediatric obesity. In: SMOLAK, L.; THOMPSON, J. K. (Eds.). . **Body Image, Eating Disorders, and Obesity in Youth: Assessment, Prevention, and Treatment**. [s.l.] American Psychological Association, 2009. p. 157–173.

LACEY, S. W. et al. Expression of lactase-phlorizin hydrolase in sheep is regulated at the RNA level. **The Biochemical journal**, v. 302, p. 929–935, 15 set. 1994.

LAU, D. C. W. Synopsis of the 2006 Canadian clinical practice guidelines on the management and prevention of obesity in adults and children. **Canadian Medical Association Journal**, v. 176, n. 8, p. 1103–1106, 2007.

LEE, C. M. Y. et al. Indices of abdominal obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI: a meta-analysis. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 61, n. 7, p. 646–653, jul. 2008.

LEWINSKY, R. H. et al. T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. **Human Molecular Genetics**, v. 14, n. 24, p. 3945–3953, 15 dez. 2005.

LOMER, M. C. E.; PARKES, G. C.; SANDERSON, J. D. Review article: lactose intolerance in clinical practice--myths and realities. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 93–103, 15 jan. 2008.

MALDONADO, J. et al. Special formulas in infant nutrition: a review. **Early Human Development**, v. 53, n. Suppl 1, p. S23–S32, dez. 1998.

MAMELAK, M.; ESCRIU, M.; HOSPITAL, S. Complete deficiency of brush-border lactase in congenital lactose malabsorption. **The Lancet**, v. 2, n. 7824, p. 329–330, 1973.

MANCO, L. et al. Distribution of the -13910C>T polymorphism in the general population of Portugal and in subjects with gastrointestinal complaints associated with milk consumption. **Annals of Human Biology**, v. 40, n. 2, p. 205–209, mar. 2013.

MATTAR, R. et al. Single nucleotide polymorphism C/T(-13910), located upstream of the lactase gene, associated with adult-type hypolactasia: validation for clinical practice. **Clinical Biochemistry**, v. 41, n. 7-8, p. 628–630, maio 2008.

MATTAR, R. et al. Frequency of LCT -13910C>T single nucleotide polymorphism associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Brazilians of different ethnic groups. **Nutrition Journal**, v. 8, p. 46, jan. 2009.

MATTAR, R. et al. LCT-22018G>A single nucleotide polymorphism is a better predictor of adult-type hypolactasia/lactase persistence in Japanese-Brazilians than LCT-13910C>T. **Clinics**, v. 65, n. 12, p. 1399–1400, 2010.

MATTAR, R. et al. Comparison of Quick Lactose Intolerance Test in duodenal biopsies of dyspeptic patients with single nucleotide polymorphism LCT -13910C>T associated with primary hypolactasia/lactase-persistence. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 28, n. Suppl 1, p. 77–82, 2013.

MATTHEWS, S. B. et al. Systemic lactose intolerance: a new perspective on an old problem. **Postgraduate Medical Journal**, v. 81, n. 953, p. 167–173, mar. 2005.

MCCARTHY, H. D.; ASHWELL, M. A study of central fatness using waist-to-height ratios in UK children and adolescents over two decades supports the simple message--'keep your waist circumference to less than half your height'. **International Journal of Obesity**, v. 30, n. 6, p. 988–992, jun. 2006.

MCCRACKEN, R. D. Lactase deficiency: an example of dietary evolution. **Current Anthropology**, v. 12, n. 4/5, p. 479, 1971.

MEDEIROS, L. C. DA S.; LEDERMAN, H. M.; DE MORAIS, M. B. Lactose malabsorption, calcium intake, and bone mass in children and adolescents. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 54, n. 2, p. 204–209, fev. 2012.

MENDES, A. V.; MUNDIM, S. M.; TAVARES, B. M. Nutritional status of practitioners and race walk city Coari-Amazon. **Brazilian Journal of Sports Nutrition**, v. 6, n. 34, p. 283–291, 2012.

MIRMIRAN, P.; ESMAILLZADEH, A.; AZIZI, F. Dairy consumption and body mass index: an inverse relationship. **International Journal of Obesity**, v. 29, n. 1, p. 115–121, jan. 2005.

MONASTA, L. et al. Early-life determinants of overweight and obesity: a review of systematic reviews. **Obesity Reviews**, v. 11, n. 10, p. 695–708, out. 2010.

MONASTA, L. et al. Defining overweight and obesity in pre-school children: IOTF reference or WHO standard? **Obesity Reviews**, v. 12, n. 4, p. 295–300, abr. 2011.

MORENO, L. A. et al. Waist circumference for the screening of the metabolic syndrome in children. **Acta Paediatrica**, v. 91, n. 12, p. 1307–1312, 2002.

MORENO, L. A. et al. Harmonization of anthropometric measurements for a multicenter nutrition survey in Spanish adolescents. **Nutrition**, v. 19, n. 6, p. 481–486, jun. 2003.

NAMBIAR, S. et al. Validating the waist-height ratio and developing centiles for use amongst children and adolescents. **Acta Paediatrica**, v. 98, n. 1, p. 148–152, jan. 2009.

NAZARE, J.-A. et al. Ethnic influences on the relations between abdominal subcutaneous and visceral adiposity, liver fat, and cardiometabolic risk profile: the International Study of Prediction of Intra-Abdominal Adiposity and Its Relationship With Cardiometabolic Risk/Intra-. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, n. 4, p. 714–726, 2012.

NEI, M.; SAITOU, N. Genetic relationship of human populations and ethnic differences in reaction to drugs and food. **Progress in Clinical and Biological Research**, v. 214, p. 21–37, 1986.

NEIVA, K. M. A. et al. Prevalence of overweight and obesity in adolescents practitioners of physical activity for private school of the municipality of Belo Horizonte - MG. **Brazilian Journal of Obesity, Nutrition and Weightloss**, v. 6, n. 36, p. 357–363, 2012.

OBERMAYER-PIETSCH, B. M. et al. Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 19, n. 1, p. 42–7, jan. 2004.

OMS. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. **WHO Technical Report Series**, v. 854, n. 4, p. 452, 1995.



OMS. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **WHO Technical Report Series**, v. 894, p. i–xii, 1–253, 2000.

ONIS, M. DE et al. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, n. 9, p. 660–667, 2007.

ONIS, M. DE; BLÖSSNER, M.; BORGHI, E. Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 92, n. 5, p. 1257–1264, nov. 2010.

ORTOLANI, C.; PASTORELLO, E. A. Food allergies and food intolerances. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 20, n. 3, p. 467–483, jan. 2006.

PEREIRA, J. C.; BARRETO, S. M.; PASSOS, V. M. D. A. Cardiovascular risk profile and health self-evaluation in Brazil: a population-based study. **Pan American Journal of Public Health**, v. 25, n. 6, p. 491–498, 2009.

PEREIRA, M. A. et al. Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults. **The Journal of the American Medical Association**, v. 287, n. 16, p. 2081–2089, 24 abr. 2002.

PEREIRA, R. A. et al. Most consumed foods in Brazil: National Dietary Survey. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 1 Supl, p. 190S–199S, 2013.

PINHO, P. M. DE et al. Metabolic syndrome and its relationship with cardiovascular risk scores in adults with non-communicable chronic diseases. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 12, n. 1, p. 22–30, 2014.

PONTES, L. M. DE; SOUSA, M. D. S. C. DE. Nutritional status and prevalence of metabolic syndrome in amateur soccer players. **Brazilian Journal of Sports Medicine**, v. 15, n. 3, p. 185–189, 2009.

PONTES, L. M.; SOUZA, M. DO S. C. Prevalence and association between the components of the metabolic syndrome and excessive weight in physical activity practioners. **Revista da AMRIGS**, v. 52, n. 2, p. 86–92, 2008.

POPKIN, B. M. et al. Is there a lag globally in overweight trends for children compared with adults? **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 14, n. 10, p. 1846–1853, out. 2006.

POULIOT, M. C. et al. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. **The American Journal of Cardiology**, v. 73, n. 7, p. 460–468, 1994.

PRENTICE, A. M.; JEBB, S. A. Beyond body mass index. **Obesity Reviews**, v. 2, n. 3, p. 141–147, ago. 2001.

RANA, S. V.; MALIK, A. Hydrogen breath tests in gastrointestinal diseases. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 29, n. 4, p. 398–405, 2014.

REZENDE, F. A. C. et al. Body mass index and waist circumference: association with cardiovascular risk factors. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, n. 6, p. 728–734, 2006.

RIDEFELT, P.; HÅKANSSON, L. D. Lactose intolerance: lactose tolerance test versus genotyping. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 40, n. 7, p. 822–826, jul. 2005.

ROBAYO-TORRES, C. C.; NICHOLS, B. L. Molecular differentiation of congenital lactase deficiency from adult-type hypolactasia. **Nutrition Reviews**, v. 65, n. 2, p. 95–98, fev. 2007.

ROMAGNUOLO, J.; SCHILLER, D.; BAILEY, R. J. Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 97, n. 5, p. 1113–26, maio 2002.

ROMBALDI, A. J. et al. Prevalence and factors associated with injuries during leisure-time physical activity practice. **Brazilian Journal of Sports Medicine**, v. 20, n. 3, p. 190–194, 2014.

ROSS, R. et al. Does the relationship between waist circumference, morbidity and mortality depend on measurement protocol for waist circumference? **Obesity Reviews**, v. 9, p. 312–325, 2008.

SAHI, T. Hypolactasia and lactase persistence. Historical review and the terminology. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 202, p. 1–6, 1994.

SAVAIANO, D. A.; BOUSHEY, C. J.; MCCABE, G. P. Lactose intolerance symptoms assessed by meta-analysis: a grain of truth that leads to exaggeration. **The Journal of Nutrition**, v. 136, n. 4, p. 1107–1113, 2006.

SAVAIANO, D. A.; LEVITT, M. D. Milk intolerance and microbe-containing dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 2, p. 397–406, fev. 1987.

SAVILAHTI, E.; LAUNIALA, K. Congenital lactase deficiency. **Archives of Disease in Childhood**, v. 58, n. 4, p. 246–252, 1983.

SCHNEIDER, H. J. et al. Accuracy of anthropometric indicators of obesity to predict cardiovascular risk. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 92, n. 2, p. 589–94, fev. 2007.

SCHULTHEIS, P. J.; BOWLING, B. V. Analysis of a SNP linked to lactase persistence: an exercise for teaching molecular biology techniques to undergraduates. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 39, n. 2, p. 133–140, 2011.

SEBASTIO, G. et al. Control of lactase in human adult-type hypolactasia and in weaning rabbits and rats. **The American Journal of Human Genetics**, v. 45, n. 4, p. 489–497, out. 1989.

SEPPÖ, L. et al. Can primary hypolactasia manifest itself after the age of 20 years? A two-decade follow-up study. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 43, n. 9, p. 1082–1087, jan. 2008.

SHAUKAT, A. et al. Systematic review: effective management strategies for lactose intolerance. **Annals of Internal Medicine**, v. 152, n. 12, p. 797–803, 2010.

SHAW, A. D.; DAVIES, G. J. Lactose intolerance: problems in diagnosis and treatment. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 28, n. 3, p. 208–216, 1999.

SHEN, W. et al. Adipose tissue quantification by imaging methods: a proposed classification. **Obesity Reviews**, v. 11, n. 1, p. 5–16, 2003.

SIMOONS, F. J. The geographic hypothesis and lactose malabsorption. A weighing of the evidence. **The American Journal of Digestive Diseases**, v. 23, n. 11, p. 963–980, 1978.

SIRI, W. E. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. 1961. **Nutrition**, v. 9, n. 5, p. 480–492, 1993.

SKYPALA, I. Adverse food reactions--an emerging issue for adults. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 111, n. 12, p. 1877–1891, dez. 2011.

SMITH, S. C.; HASLAM, D. Abdominal obesity, waist circumference and cardio-metabolic risk: awareness among primary care physicians, the general population and patients at risk--the Shape of the Nations survey. **Current Medical Research and Opinion**, v. 23, n. 1, p. 29–47, jan. 2007.

SNIJDER, M. B. et al. A prospective study of dairy consumption in relation to changes in metabolic risk factors: the Hoorn Study. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 16, n. 3, p. 706–709, mar. 2008.

SRINIVASAN, R.; MINOCHA, A. When to suspect lactose intolerance. Symptomatic, ethnic, and laboratory clues. **Postgraduate Medicine**, v. 104, n. 3, p. 109–111, 115–116, 122–123, 1998.

STALLINGS, V. A. et al. Bone mineral content and dietary calcium intake in children prescribed a low-lactose diet. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 18, n. 4, p. 440–445, 1994.

SUAREZ, F. L.; SAVAIANO, D. A.; LEVITT, M. D. A comparison of symptoms after the consumption of milk or lactose-hydrolyzed milk by people with self-reported severe lactose intolerance. **The New England Journal of Medicine**, v. 333, n. 1, p. 1–4, 1995.

SUCHY, F. J. et al. National Institutes of Health consensus development conference: lactose intolerance and health. **Annals of Internal Medicine**, v. 152, n. 12, p. 792–796, 2010.

SWALLOW, D. M. Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. **Annual Review of Genetics**, v. 37, p. 197–219, jan. 2003.

- TAG, C. G. et al. A novel proximal -13914G>A base replacement in the vicinity of the common-13910T/C lactase gene variation results in an atypical LightCycler melting curve in testing with the MutaREAL Lactase test. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 146–148, jan. 2007.
- TAG, C. G. et al. Evaluation of a novel reverse-hybridization StripAssay for typing DNA variants useful in diagnosis of adult-type hypolactasia. **Clinica Chimica Acta**, v. 392, n. 1-2, p. 58–62, jun. 2008.
- TAKAHASHI, E. Secular trend in milk consumption and growth in Japan. **Human Biology**, v. 56, n. 3, p. 427–437, 1984.
- TISHKOFF, S. A. et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. **Nature Genetics**, v. 39, n. 1, p. 31–40, 2007.
- TORNIAINEN, S. et al. Four novel mutations in the lactase gene (LCT) underlying congenital lactase deficiency (CLD). **BMC Gastroenterology**, v. 9, p. 8, jan. 2009.
- TREUDLER, R. et al. Familial aquagenic urticaria associated with familial lactose intolerance. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 47, n. 4, p. 611–613, 2002.
- USAI-SATTA, P. et al. Lactose malabsorption and intolerance: what should be the best clinical management? **World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics**, v. 3, n. 3, p. 29–33, 6 jun. 2012.
- VESA, T. H.; MARTEAU, P.; KORPELA, R. Lactose intolerance. **The Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 2 Suppl, p. 165S–175S, 2000.
- VITALIS, R. et al. Detecting and measuring selection from gene frequency data. **Genetics**, v. 196, n. 3, p. 799–817, 2014.
- WANG, J. et al. Comparisons of waist circumferences measured at 4 sites. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 2, p. 379–384, 2003.
- WENNERSBERG, M. H. et al. Dairy products and metabolic effects in overweight men and women: results from a 6-mo intervention study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 4, p. 960–968, 2009.
- WILEY, A. S. Milk intake and total dairy consumption: associations with early menarche in NHANES 1999-2004. **PloS One**, v. 6, n. 2, p. e14685, jan. 2011.
- WILSON, J. Milk intolerance: lactose intolerance and cow's milk protein allergy. **Newborn and Infant Nursing Reviews**, v. 5, n. 4, p. 203–207, 2005.
- ZHU, K. et al. Growth and bone mineral accretion during puberty in Chinese girls: a five-year longitudinal study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 23, n. 2, p. 167–172, fev. 2008.

**APÊNDICE A****UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE  
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
BIOCIÊNCIAS APLICADAS À FARMÁCIA****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu, Dr. Emerson Carraro, docente do curso de Farmácia da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO venho convidá-lo a participar do projeto “Investigação do Fenótipo Lactase Persistente e Possíveis Mecanismos Imunológicos em Pacientes com Suspeita Clínica de Hipolactasia”, que tem por finalidade verificar se há correlação direta entre polimorfismos lactase persistente e baixos níveis de IgA secretora, apresentando como benefício ao participante a disponibilização do livre acesso à todos os resultados dos testes realizados, diagnóstico laboratorial e resultados da pesquisa.

A participação no projeto correrá da seguinte forma: os participantes serão submetidos à um questionário de anamnese para avaliar seu histórico de saúde pessoal e familiar e após isso serão realizadas coletas de saliva e das células da bochecha, ambos em recipientes descartáveis. A doação de sangue não é obrigatória. O paciente que concordar em ter seu sangue coletado será submetido à coleta de 2 mL de sangue, podendo ser em um segundo momento, alguns dias após o primeiro encontro. Os riscos possíveis associados à participação neste estudo são aqueles inerentes às coletas de sangue e saliva, como sangramento, infecções e desmaios, riscos esses considerados mínimos. Todos os cuidados serão realizados para que não ocorra nenhum dano ao paciente, porém em caso de possíveis indenizações, encaminhamento e tratamento de saúde por dano físico ou psíquico a responsabilidade será do coordenador do projeto. Os dados do projeto serão publicados sem prejuízos aos envolvidos e será garantida a confidencialidade das informações geradas e a privacidade do participante. É importante que o participante fique ciente de que a sua participação não irá gerar nenhum custo para si, e é totalmente voluntária, podendo recusar-se a participar, ou mesmo desistir em qualquer momento sem que isso lhe traga algum prejuízo. Caso o participante tenha alguma dúvida poderá entrar em contato a qualquer momento com a equipe técnica. Este termo deverá ser preenchido em duas vias idênticas, sendo que uma delas ficará no Laboratório de Virologia e Biologia Molecular/UNICENTRO/PR e outra com o participante.

Eu, \_\_\_\_\_, RG N°: \_\_\_\_\_  
declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa  
acima descrito.

ou

Eu, \_\_\_\_\_, RG N°: \_\_\_\_\_,  
responsável legal por \_\_\_\_\_, RG N°: \_\_\_\_\_,  
declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa  
acima descrito.

\_\_\_\_\_ Guarapuava, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

**Assinatura do participante**

\_\_\_\_\_  
Emerson Carraro  
Coordenador

\_\_\_\_\_  
Testemunha 1

\_\_\_\_\_  
Testemunha 2

Qualquer dúvida com relação ao projeto poderá ser esclarecida com o coordenador conforme  
o contato abaixo:

Emerson Carraro: (42) 3629-8152

**APÊNDICE B****UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE  
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
BIOCIÊNCIAS APLICADAS À FARMÁCIA****QUESTIONÁRIO DE ANAMNESE**

**Nome:**..... **RG N°:**.....

**Data de Nascimento:**...../...../..... **Idade:**..... **Sexo:** ( ) M ( ) F

**Telefone:** (.....)..... **E-mail:**.....

**1. Declaro ser:** ( ) Branco ( ) Afro-brasileiros ( ) Indígena ( ) Asiático

**2. Cor do olho:** ( ) Azul ( ) Verde ( ) Castanho ( ) Preto

**3. Fumante:** ( ) Sim ( ) Não

**4. Quantas vezes por semana ingere leite ou derivados do leite (Ex: queijo, iogurte)?**

( ) De 5 a 7 dias por semana ( ) De 1 a 4 dias por semana ( ) Menos de 1 dia por semana

**5. Você acha que possui intolerância a lactose?** ( ) Sim ( ) Não

**6. No mínimo 1 vez por semana apresenta o (s) sintoma (s): (pode marcar mais de uma**

**opção)** ( ) Diarreia ( ) Náusea ( ) Dor abdominal ( ) Constipação ( ) Nenhum

**Caso tenha marcado algum dos sintomas acima, responda a essa pergunta:**

**6a. Esses sintomas aparecem logo após a ingestão de leite ou derivados?** ( ) Sim ( ) Não