

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM
GASTROENTEROLOGIA E HEPATOLOGIA

**ANÁLISE MOLECULAR DOS POLIMORFISMOS ASSOCIADOS À
HIPOLACTASIA PRIMÁRIA DO TIPO ADULTO EM DISPÉPTICOS
FUNCIONAIS E CONTROLES ASSINTOMÁTICOS**

ANDRÉ CASTAGNA WORTMANN

TESE DE DOUTORADO

Porto Alegre, Brasil

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM
GASTROENTEROLOGIA E HEPATOLOGIA

**ANÁLISE MOLECULAR DOS POLIMORFISMOS ASSOCIADOS À
HIPOLACTASIA PRIMÁRIA DO TIPO ADULTO EM DISPÉPTICOS
FUNCIONAIS E CONTROLES ASSINTOMÁTICOS**

ANDRÉ CASTAGNA WORTMANN

Orientadora: Prof^a. Dra. Themis Reverbel da Silveira

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Simon

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção de título de Doutor

Porto Alegre, Brasil

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

Wortmann, André Castagna

Análise molecular dos polimorfismos associados à hipolactasia primária do tipo adulto em dispépticos funcionais e controles assintomáticos / André Castagna Wortmann. -- 2014.
92 f.

Orientadora: Themis Reverbél da Silveira.
Coorientador: Daniel Simon.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Lactase. 2. Intolerância à lactose. 3. Dispepsia. 4. Polimorfismo de nucleotídeo único. 5. Diagnóstico. I. da Silveira, Themis Reverbél, orient. II. Simon, Daniel, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Ney e Maria Lúcia, à minha esposa Maritza, e em especial, à minha filha Luiza: tua existência iluminou nossas vidas, tua presença alegra nossos dias, e teu sentimento em relação à chegada da mana Joana fortalece a nossa fé no futuro.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, de forma muito especial, à Professora Themis Reverbel da Silveira. Me faltam palavras para expressar os sentimentos de admiração e gratidão. Sua determinação para superar obstáculos, energia para trilhar novos caminhos e humildade para ampliar seu vasto conhecimento transcendem o âmbito científico e servem de inspiração para a vida daqueles que tem o privilégio de conhecê-la. Obrigado pela sua Orientação, compartilhando comigo sua sabedoria, capacidade de realização, generosidade, amizade e carinho durante a nossa jornada.

Ao Professor, Orientador e amigo Daniel Simon. Obrigado por todo o apoio na elaboração do projeto e execução da pesquisa, pelos conhecimentos transmitidos, pela disponibilidade incondicional em todas as etapas e, acima de tudo, pela coragem, persistência e determinação em desenvolver novos projetos envolvendo a Genética e a Gastroenterologia.

Aos integrantes dos Laboratórios de Genética Molecular Humana e de Diagnóstico Molecular da ULBRA, pela incansável e inestimável colaboração. Em especial, a Débora Dreher Nabinger, Camila Schultz Grott, Tássia Flores Rech, Julia do Amaral Gomes, Camila Fernanda da Silveira Alves, Camila Guerra Marangon e Fernanda Kieling Moreira Lehmann.

Aos Professores Luiz Edmundo Mazzoleni e Carlos Fernando de Magalhães Francesconi, marcantes presenças em minha formação médica e até hoje referências para mim como Professores, Médicos e Gastroenterologistas. Agradeço a oportunidade de trabalhar novamente em sua

equipe e colaborar com o seu Projeto HEROES, além da participação e importante apoio à concepção e ao desenvolvimento do presente projeto.

Ao colega e amigo Guilherme Becker Sander, pela amizade e parceria de longa data, que iniciaram juntamente com as primeiras idéias de projetos científicos envolvendo a Gastroenterologia durante nossa formação como acadêmicos de Medicina, e que hoje resultam em mais uma Tese de Doutorado. Obrigado pela oportunidade de colaborar com o estudo HEROES, e pelo teu apoio, estímulo e participação, fundamentais para a concepção, elaboração e desenvolvimento do presente projeto.

Aos biomédicos Laura Renata de Bona e Tobias Cancian Milbradt, profissionais dedicados e competentes, pela amizade e o apoio sempre presentes.

A todos os demais colegas e estudantes de Medicina cuja dedicação viabilizou a concretização de uma proposta grandiosa como o Projeto HEROES.

À toda a Equipe do Serviço de Hemoterapia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial ao Professor Doutor Tor Gunnar Hugo Onsten, e aos Doutores Clarice Arisio Juckowsky e Leo Sekine, pela oportunidade de desenvolver o trabalho naquela Unidade e pelo apoio irrestrito à nossa equipe.

Aos Professores Maria Helena Itaqi Lopes, Úrsula da Silveira Matte, Fernando Herz Wolff e Fernando Fornari, cujas participações na revisão crítica do presente projeto por ocasião das apresentações do mesmo na disciplina “Seminários de Pesquisa” muito contribuíram para o seu aprimoramento, bem como para a redação do artigo científico e para a elaboração da presente Tese.

Às Professoras Cristina Targa Ferreira, Úrsula da Silveira Matte e Luíse Meurer, pela participação na Banca do Exame Geral de Qualificação, com importantes contribuições para o aprimoramento do artigo científico resultante do presente trabalho.

Ao meu antigo e eterno Mestre, Professor Sérgio Buttes Cordeiro, cuja competência, dedicação e contagiante entusiasmo no ensino da Biologia são um exemplo da capacidade de transformação que a Educação pode exercer sobre as pessoas. Seus ensinamentos e sua forma de ensinar foram determinantes para a minha escolha pela carreira médica e grande estímulo para o meu interesse pelo conhecimento científico.

Aos ex-colegas de docência do Curso de Medicina da Universidade de Caxias do Sul, Professores Raul Ângelo Balbinotti e Silvana Sartori Balbinotti, pelo permanente apoio ao meu crescimento profissional e pela amizade, fruto da saudosa convivência no período em que tive o prazer de trabalhar naquela querida Instituição.

Ao colega e amigo Doutor Jorge Ilha Guimarães, pelo incentivo de longa data e valiosos conselhos relacionados à minha carreira médica e crescimento profissional.

Ao colega e amigo Eduardo André Ott, médico coordenador do Centro de Endoscopia do Hospital Nossa Senhora da Conceição, cujo apoio foi muito importante para viabilizar a conclusão desta importante etapa da minha vida profissional.

Aos Professores, Mestrandos, Doutorandos e funcionárias do Programa de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina

da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo seu apoio na trajetória do meu Doutorado.

Aos pacientes e voluntários que participaram do presente estudo, sem os quais não poderíamos desenvolver nosso projeto científico. Seus exemplos de despreendimento e altruísmo consistem em nobres virtudes do ser humano e são fundamentais para o crescimento da Ciência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo apoio financeiro concedido através do Edital Pesquisador Gaúcho, de 2010.

À CAPES, pelo apoio financeiro concedido através de Bolsa de Doutorado durante parte do curso.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 HIPOLACTASIA PRIMÁRIA DO TIPO ADULTO (HPTA)	
2.1.1 Conceitos: Má absorção, intolerância à lactose e hipolactasia.....	17
2.1.2 Biologia celular e molecular da lactose.....	17
2.1.3 Aspectos fisiopatológicos.....	18
2.1.4 Aspectos genéticos.....	19
2.1.5 Aspectos epidemiológicos.....	22
2.1.6 Aspectos clínicos.....	25
2.1.7 Diagnóstico diferencial da HPTA.....	27
2.1.8 Métodos diagnósticos.....	28
2.2 DISPEPSIA	
2.2.1 Conceito e aspectos epidemiológicos.....	31
2.2.2 Tipos de dispepsia.....	32
2.2.3 Dispepsia funcional.....	33
2.3 ASSOCIAÇÃO DA HPTA COM DISTÚRBIOS FUNCIONAIS DO APARELHO DIGESTIVO.....	35
3 JUSTIFICATIVA.....	37
4 OBJETIVOS.....	39
4.1 Objetivo geral.....	40
4.2 Objetivos específicos.....	40
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
6 ARTIGO ORIGINAL.....	51
7 CONCLUSÕES.....	67
8 PERSPECTIVAS.....	69
9 ANEXOS.....	72
9.1 Anexo 1.....	73
9.2 Anexo 2.....	77
9.3 Anexo 3.....	82
9.4 Anexo 4.....	84

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<i>GNB3</i>	<i>G protein β3 subunit gene polymorphism</i>
HPTA	Hipolactasia primária do tipo adulto
<i>IL-17F</i>	Interleucina 17F
<i>LCT</i>	Gene da lactase humana
LPH	Lactase-florizina hidrolase
ppm	Partes por milhão
PADYQ	<i>Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire</i>
ROMA III	Consenso ROMA III
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês, <i>single nucleotide polymorphisms</i>)
<i>SERT</i>	<i>Serotonin transporter protein</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Polimorfismos do gene da lactase-florizina hidrolase, genótipos e implicações quanto à atividade da lactase	20
Tabela 2 - Prevalência de HPTA, má absorção e intolerância à lactose no Brasil.....	22
Tabela 3 - Métodos diagnósticos para investigação de intolerância á lactose	26

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Conceitos importantes	16
Quadro 2 - Manifestações clínicas freqüentes de intolerância à lactose	24

RESUMO

Dispepsia funcional e hipolactasia primária do tipo adulto (HPTA) são duas condições altamente prevalentes na prática clínica. Ambas podem coexistir ou até mesmo serem confundidas devido à sobreposição de alguns dos seus sintomas, principalmente a sensação de distensão abdominal. No entanto, a literatura é escassa em relação a estudos que tenham avaliado a associação entre a dispepsia funcional e a HPTA. O presente trabalho tem o objetivo investigar a associação entre a HPTA e a dispepsia funcional, através da análise molecular da HPTA em pacientes dispépticos funcionais e controles assintomáticos. Pacientes dispépticos funcionais (conforme os critérios de Roma III) e voluntários assintomáticos foram convidados para participar do estudo. Indivíduos com genótipo CC do polimorfismo de nucleotídeo único -13910C/T eram considerados portadores de HPTA. Os sintomas dispépticos (dor em abdômen superior, náuseas, vômitos, sensação de distensão abdominal e saciedade precoce) foram avaliados através de um questionário validado (*Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire*). Foram incluídos 408 indivíduos no estudo (197 dispépticos funcionais e 211 controles). HPTA foi identificada em 88 (44,7%) dispépticos funcionais e 107 controles (50,7%) ($P=0,468$). No grupo dos dispépticos funcionais, os escores dos sintomas dispépticos foram comparados entre os pacientes classificados como portadores de HPTA e aqueles classificados como “não portadores de HPTA”. Foi observado maior escore da sensação de distensão abdominal em dispépticos funcionais com HPTA do que em dispépticos sem HPTA ($P=0,014$). Não foram observadas diferenças entre os grupos em relação aos escores dos demais sintomas. Em conclusão, a ausência de diferença na frequência de HPTA entre todos os dispépticos funcionais e o grupo de indivíduos assintomáticos indica que não há uma associação entre a HPTA e a dispepsia funcional como um todo. No entanto, o maior escore da sensação de distensão abdominal entre os dispépticos funcionais com HPTA sugere um papel da HPTA em uma parcela dos pacientes com dispepsia funcional.

ABSTRACT

Functional dyspepsia and Adult Type Hypolactasia (ATH) are frequent conditions that may coexist or even be confounded. There may be some overlap between their symptoms, especially abdominal bloating. Studies on this association are scarce. The aim of the study is to investigate the association between functional dyspepsia and ATH, through molecular analysis of ATH in functional dyspeptics and asymptomatic individuals. Patients with functional dyspepsia according to Rome III criteria and volunteers for blood donation were invited to participate in the study. A CC genotype for -13910C/T SNP was diagnostic of ATH. Five symptoms of functional dyspepsia (upper abdominal pain, nausea, vomiting, abdominal bloating and early satiety) were evaluated using a validated questionnaire (Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire). A total of 408 subjects were included in the study (197 functional dyspeptics and 211 controls). Eighty-eight dyspeptic patients (44.7%) had ATH, compared to 107 individuals (50.7%) in the control group ($P=0.468$). In the group of dyspeptic patients, mean scores of symptoms were compared between those classified as ATH and non-ATH. Dyspeptic patients with ATH had higher scores for abdominal bloating, compared to non-ATH patients ($P=0.014$). The scores of the other dyspeptic symptoms were not statistically different between those two groups. In conclusion, the similar frequency of ATH in patients with functional dyspepsia and asymptomatic individuals indicate an absence of association between functional dyspepsia and ATH. However, our data of higher bloating scores among functional dyspeptics with ATH suggest a possible role of ATH in a subset of patients with functional dyspepsia.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A intolerância ao leite de vaca e seus derivados acomete a maioria da população mundial (Sahi, 1994). No Brasil, também se observa elevada prevalência dessa condição (Wortmann *et al.*, 2013). A principal causa de intolerância à lactose é a hipolactasia primária do tipo adulto (HPTA), objeto do presente estudo. Esta condição caracteriza-se pela redução da atividade da enzima lactase a partir dos primeiros anos de vida, sendo determinada geneticamente (Simoons, 1980; Wang *et al.*, 1998). Na última década, foram identificados alguns polimorfismos de nucleotídeo único localizados próximo ao gene da lactase, os quais estão associados à HPTA (Enattah *et al.*, 2002). A análise molecular desses polimorfismos é o método mais atual para o estabelecimento desse diagnóstico (Rasinpera *et al.*, 2002; Buning *et al.*, 2005; Krawczyk *et al.*, 2008; Haberkorn *et al.*, 2012). No entanto, observa-se variações no padrão desses marcadores genéticos de acordo com as características genéticas das diferentes populações (Mattar *et al.*, 2010; Suchy *et al.*, 2010).

Devido ao caráter inespecífico dos sintomas, a intolerância à lactose pode ser confundida com outras condições clínicas (Bodlaj *et al.*, 2006; Papadia *et al.*, 2014), como os distúrbios funcionais do aparelho digestivo, entre os quais a dispepsia funcional (Mishkin *et al.*, 1997; Hasler WL *et al.*, 2006). Tanto a dispepsia funcional quanto a intolerância à lactose são problemas freqüentes na população em geral e podem ser encontrados concomitantemente em um mesmo paciente, sem que seja possível estabelecer uma relação causal aparente. Além disso, intolerâncias alimentares são frequentemente observadas em pacientes com dispepsia funcional (Feinle-Bisset & Horowitz, 2006; Chey, 2013). Assim, do ponto de vista clínico, é importante identificar os fatores potencialmente causadores dos sintomas dos pacientes, o que pode se traduzir em benefícios no seu manejo terapêutico.

Dessa forma, a utilização da análise molecular da HPTA na investigação de pacientes com queixas dispépticas pode contribuir para a sua elucidação diagnóstica. Particularmente, não foi identificado na literatura nacional e internacional nenhum estudo que tenha avaliado os polimorfismos associados

à HPTA exclusivamente em pacientes com diagnóstico de dispepsia funcional, comparativamente com indivíduos assintomáticos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HIPOLACTASIA PRIMÁRIA DO TIPO ADULTO (HPTA)

2.1.1 Conceitos: hipolactasia, má absorção e intolerância à lactose

Os termos hipolactasia, intolerância à lactose e má absorção de lactose são frequentemente empregados como sinônimos, fazendo-se necessária a sua adequada conceitualização (Quadro 1).

Quadro 1: Conceitos importantes

Conceitos importantes
<p>Hipolactasia: diminuição da atividade da enzima lactase na mucosa intestinal; podendo ser primária (causada, na grande maioria dos casos, pela hipolactasia primária do tipo adulto, ou mais raramente, pela hipolactasia congênita) ou secundária (decorrente do acometimento da mucosa por outras doenças).</p>
<p>Má absorção de lactose: dificuldade de digerir e/ou absorver a lactose, independentemente da causa que a determinou; trata-se de um fenômeno constatado através de exames complementares que detectam alterações no metabolismo da lactose.</p>
<p>Intolerância à lactose: presença de sintomas digestivos provocados pela ingestão de leite de vaca e/ou seus derivados.</p>

2.1.2 Biologia celular e molecular da lactase

A lactose é um dissacarídeo presente no leite de mamíferos. O processo de digestão da lactose é realizado pela lactase-florizina hidrolase (LPH), comumente chamada de lactase, que hidrolisa a molécula de lactose em dois monossacarídeos: a galactose e a glicose (Troelsen, 2005). A lactase se encontra localizada na extremidade das vilosidades da mucosa do intestino delgado e possui fundamental importância no metabolismo da lactose, uma vez

que as moléculas de lactose intactas não são absorvidas pelas células intestinais (Troelsen, 2005).

O gene da lactase humana, denominado gene *LCT*, está localizado no braço longo do cromossomo 2, mais especificamente no locus 2q21. Possui 17 exons, ao longo de aproximadamente 55 kb (Swallow, 2003). Este gene é expresso somente pelos enterócitos, e codifica um polipeptídeo formado por 1972 aminoácidos. A lactase é sintetizada inicialmente sob a forma de um peptídeo precursor com 210-220 kDa pelos enterócitos, e sofre glicosilação e clivagem, originando um dímero de 160 kDa, que passa a se localizar na membrana das células da borda em escova da mucosa intestinal (Naim *et al.*, 1987; Troelsen, 2005).

2.1.3 Aspectos fisiopatológicos

A lactase é extremamente importante para a sobrevivência dos mamíferos, uma vez que o leite é o alimento essencial dos recém-nascidos. Fisiologicamente, a lactase já se encontra presente em fetos durante a gestação, observando-se um progressivo aumento de sua atividade até o termo, sendo que os níveis desta enzima no recém-nascido equivalem àqueles observados em crianças com um ano de idade (Wang *et al.*, 1998; Swallow, 2003). Em seres humanos, até os 2 anos de idade, há uma elevada produção de lactase, em quantidade suficiente para digerir a lactose ingerida. A partir desta faixa etária, observa-se um progressivo declínio da atividade desta enzima mais pronunciado durante a infância e a adolescência, quando chega a atingir apenas 5% a 10% daqueles níveis apresentados ao nascimento, configurando um estado de hipolactasia ou não-persistência da lactase (Simoons, 1980; Wang *et al.*, 1998). Esse tipo de fenômeno caracteriza a HPTA.

Foram observadas diferenças na história natural dessa condição de acordo com características étnicas. Enquanto chineses e japoneses perdem 80 a 90% da atividade da lactase em até 4 anos após o desmame, populações asiáticas de outras etnias e judeus podem manter até 20 a 30% da atividade desta enzima, levando vários anos até atingir o seu nadir (Lomer *et al.*, 2008). Por outro lado, em países do norte da Europa, observou-se que esse fenômeno pode demorar cerca de 18 a 20 anos (Swallow, 2003). Além disso, Goulding e

Di Stefano também observaram prevalências de má absorção de lactose mais elevadas em adultos com idade mais avançada, particularmente a partir dos 60 e dos 74 anos, respectivamente (Goulding *et al.*, 1999; Di Stefano *et al.*, 2001).

Uma vez que a digestão e a absorção da lactose são prejudicadas, a lactose não hidrolisada tem atividade osmótica na luz intestinal, estimulando o trânsito. Após fermentação da lactose pelas bactérias anaeróbicas colônicas, ocorre produção de ácidos orgânicos de cadeia curta e liberação de gases, como hidrogênio, dióxido de carbono, nitrogênio e metano. Esses gases, em sua maior parte, são eliminados como flatos, sendo também absorvidos e eliminados através da expiração (Romagnuolo *et al.*, 2002; Lomer *et al.*, 2008; Mattar *et al.*, 2012). Esses princípios constituem o racional de alguns métodos diagnósticos, como o teste do hidrogênio expirado e outros métodos de medicina nuclear.

A capacidade de digerir e absorver a lactose depende, além da atividade da lactase presente na mucosa intestinal, de outras variáveis como a quantidade de lactose ingerida, da sua ingestão em jejum ou concomitante com outros alimentos, do tipo de alimento ingerido, e da capacidade fermentativa das bactérias que compõem a microbiota intestinal (Lomer *et al.*, 2008; Suchy *et al.*, 2010).

2.1.4 Aspectos genéticos

A persistência da atividade da lactase na vida adulta, também chamada de estado “lactase persistente”, é determinada por padrão de transmissão autossômico dominante, enquanto que a hipolactasia (estado “lactase não persistente”) tem herança autossômica (Swallow, 2003). Assim, os indivíduos homozigotos ou heterozigotos para o alelo dominante são absorvedores de lactose (lactase persistentes), enquanto os homozigotos para o alelo recessivo tem fenótipo compatível com hipolactasia.

O fenótipo “lactase não persistente”, que corresponde à HPTA, é o tipo ancestral, enquanto a persistência da atividade da lactase é decorrente de uma mutação (Enattah *et al.*, 2002; Swallow, 2003; Lomer *et al.*, 2008). A diminuição da atividade da lactase é determinada pela menor expressão do gene da lactase-florizina hidrolase (LPH), denominado gene *LCT*, o qual está localizado no braço longo do cromossoma 2. Sabe-se hoje que esses diferentes fenótipos

relacionados à atividade da lactase estão associados a alguns polimorfismos genéticos localizados a uma distância de milhares de pares de bases *upstream* ao gene *LCT*, mais precisamente no gene *MCM6* (figura 1).

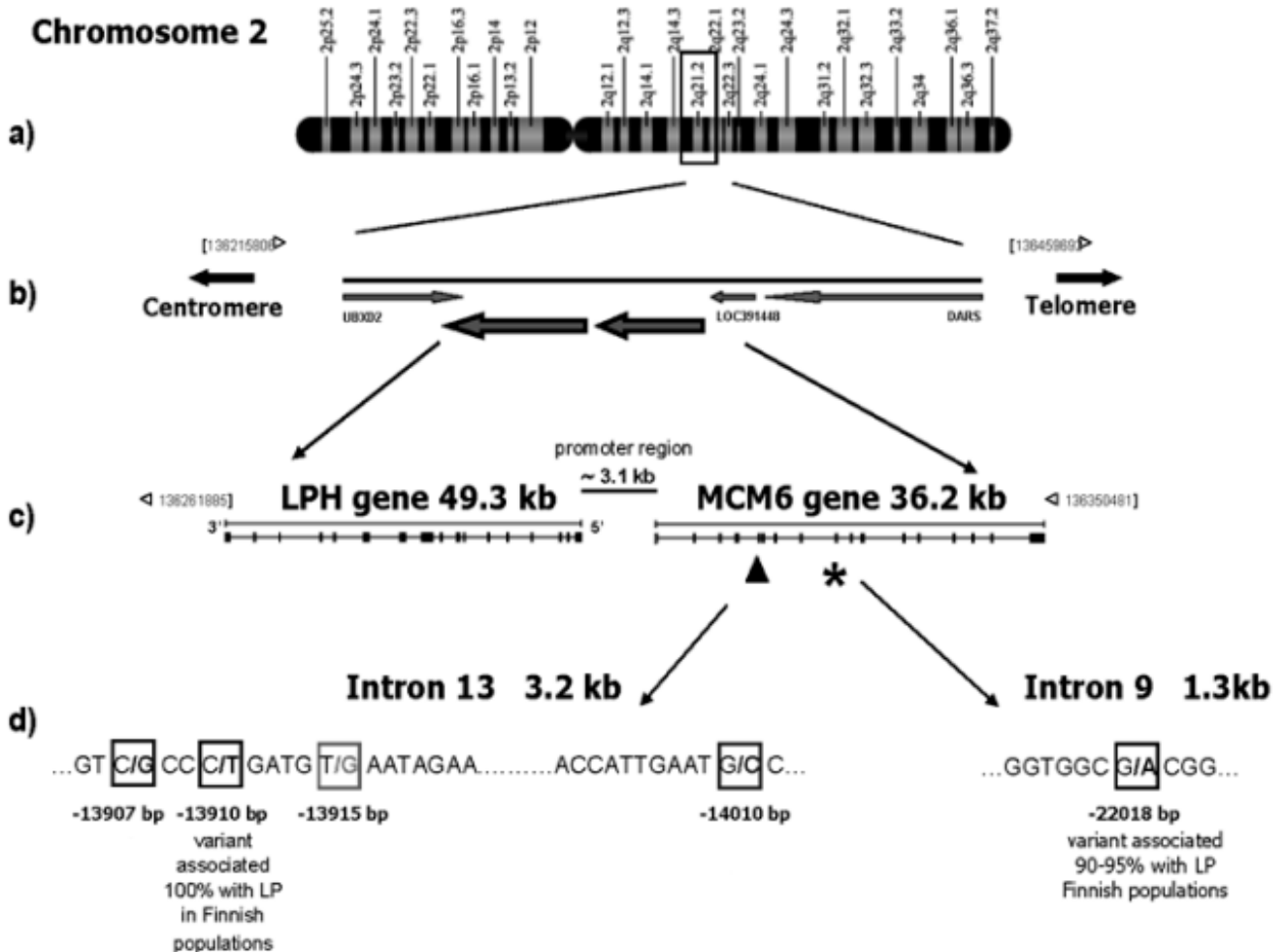


Figura 1: Representação esquemática dos polimorfismos associados à hipolactasia primária do tipo adulto e suas respectivas posições em relação ao gene da lactase (adaptado de NIH Consensus Development Conference on Lactose intolerance and Health - February 2010 <http://consensus.nih.gov/2010/lactoseabstracts.htm>).

Em 2002, foram descritos dois polimorfismos de nucleotídeo único (cuja sigla “SNPs”, se refere ao termo em inglês “*Single Nucleotide Polymorphisms*”) associados à hipolactasia primária do tipo adulto; estes achados foram descritos originalmente em uma amostra de adultos finlandeses (Enattah *et al.*, 2002; Poulter *et al.*, 2003). Posteriormente, observou-se a sua presença em

populações com características étnicas distintas nos diferentes continentes, inclusive através de estudos feitos no Brasil (Bernardes-Silva *et al.*, 2007; Bulhoes *et al.*, 2007; Mattar *et al.*, 2008; Mattar *et al.*, 2009).

O principal polimorfismo, denominado -13910C/T (rs4988235), está localizado na posição -13910 *upstream* ao gene *LCT* e envolve as bases C e T; resulta no estado “lactase não persistente” (HPTA) quando o alelo C está em homozigose (genótipo CC, o qual possui penetrância de 100%) (Enattah *et al.*, 2002). Outro polimorfismo considerado importante (-22018G/A; rs182549) está localizado na posição -22018 da região promotora do gene *LCT*, e confere um fenótipo compatível com a HPTA em mais de 95% dos casos quando ocorre a presença de dois alelos G (homozigotos GG) (Enattah *et al.*, 2002). De maneira inversa, a presença dos alelos -13910T e -22018A está associada com o fenótipo compatível com a persistência da atividade da lactase na fase adulta. A tabela 1 ilustra os genótipos dos polimorfismos -13910C/T e -22018G/A e os respectivos fenótipos.

Tabela 1: Polimorfismos do gene da lactase-florizina hidrolase, genótipos e implicações quanto à atividade da lactase.

Polimorfismo / Genótipo	Atividade da lactase
-13910C/T	
CC	Lactase não-persistente (HIPOLACTASIA)
CT	Lactase persistente
TT	Lactase persistente
-22018G/A	
GG	Lactase não-persistente (HIPOLACTASIA)
GA	Lactase persistente
AA	Lactase persistente

(Fonte: Wortmann *et al.*, 2013)

Cabe, no entanto, comentar que, segundo alguns autores, os heterozigotos CT do SNP -13910 e GA do SNP -22018 possuiriam atividade intermediária de lactase (Matthews *et al.*, 2005; Enattah *et al.*, 2007; Di Stefano *et al.*, 2009). Estes indivíduos seriam mais suscetíveis a desenvolver intolerância à lactose secundária a eventuais eventos associados à lesão da

mucosa intestinal (Swallow, 2003; Matthews *et al.*, 2005; Di Stefano *et al.*, 2009).

Além dos polimorfismos -13910C/T e -22018G/A, outros três polimorfismos associados à HPTA foram identificados em indivíduos africanos: -14010G/C, -13915T/G e -13907C/G (Ingram *et al.*, 2007; Tishkoff *et al.*, 2007). As variações na apresentação genotípica dos polimorfismos associados à HPTA em diferentes regiões geográficas adquire particular importância no continente africano, onde as observações contribuíram para o entendimento atual sobre a origem desses polimorfismos nas populações (Tishkoff *et al.*, 2007).

Historicamente, a distribuição geográfica do traço “lactase-persistente” nas populações está relacionada a fatores culturais, particularmente associada a atividades relacionadas à criação de gado e a produção e consumo do leite e seus derivados (Swallow, 2003; Matthews *et al.*, 2005; Di Stefano *et al.*, 2009). Geograficamente, sabe-se hoje que este fenótipo “lactase-persistente” é observado em maior frequência em populações caucasóides descendentes de povos do norte europeu, onde a cerca de 10.000 anos, foi introduzida a atividade de pecuária com produção e consumo de leite e seus derivados (Misselwitz *et al.*, 2013). Em contraste, em regiões onde as populações dependiam fundamentalmente da agricultura no passado, esse fenótipo é infrequente (Swallow, 2003; Lomer *et al.*, 2008; Mattar *et al.*, 2012). Além dos polimorfismos -13910C/T e -22018G/A, outros três polimorfismos associados à HPTA foram identificados, em indivíduos africanos, por Tishkoff *et al.* (2007): -14010G/C, -13915 T/G e -13907C/G.

Considerando o alto grau de miscigenação da população brasileira (Pena & Bortolini, 2004), e o fato de que a maioria dos trabalhos brasileiros publicados contemplou a avaliação dos polimorfismos -13910C/T e -22018G/A (Bernardes-Silva *et al.*, 2007; Mattar *et al.*, 2009), a pesquisa dos polimorfismos descritos na África em nosso meio merece ser investigada.

2.1.5 Aspectos epidemiológicos

Observa-se marcada variação na prevalência da HPTA de acordo com características étnicas das populações em diferentes países e continentes (Mattar *et al.*, 2012). Em alguns países da Ásia e do Oriente Médio, a

prevalência da HPTA se aproxima de 100%. Também são observados elevados índices de prevalência no continente africano, em populações de nativos das Américas e na região mediterrânea que envolve o sul da Itália, a Grécia e Israel (Levitt *et al.*, 2013). Por outro lado, estima-se que em países do norte europeu (e nos seus descendentes na América do Norte e Oceania), a prevalência da HPTA seja de aproximadamente 5% (Misselwitz *et al.*, 2013).

No Brasil, os estudos existentes confirmam as variações na prevalência em relação à etnia dos indivíduos (Seva-Pereira & Beiguelman, 1982; Sparvoli, 1989; Sparvoli, 1990; Alves *et al.*, 2002; Pretto *et al.*, 2002; Escoboza *et al.*, 2004; Pereira Filho & Furlan, 2004; Mattar *et al.*, 2009). No entanto, observa-se a utilização de diferentes métodos diagnósticos (Wortmann *et al.*, 2013), conforme ilustra a tabela 2.

Tabela 2: Prevalência de HPTA, má absorção e intolerância à lactose no Brasil

Autor (Ano)	Método diagnóstico	Prevalência (%)	Etnia/cor*	N	Faixa etária (anos)	Região do país
Sevá-Pereira (1982)	Teste de tolerância à lactose	45	Caucasóides	80	20 - 52	Sudeste
		85	Negróides			
		100	Mongolóides			
Sparvoli (1989)	Teste de tolerância à lactose	75,7	Triíbridos (Caucasóides Negróides Mongolóides)	37	18 - 59	Nordeste
Sparvoli (1990)	Teste de tolerância à lactose	46 73	Caucasóides Negróides	70	19 - 59	Sul
Pretto (2002)	Teste do hidrogênio expirado	5,2 15,5	Branca Não-branca	225	8 - 18	Sul
Alves (2002)	Teste do hidrogênio expirado	89,3	Indígenas	251	0 a 10	Centro-Oeste
Escoboza (2004)	Imunohistoquímica de biópsias intestinais (endoscópicas)	53,2	Branca	115	5 - 60	Sudeste
		91,3	Não-branca			
Mattar (2009)	Teste genético (SNP -13910C/T)	57 57 80 100	Branca Mulatos Negra Orientais	567	Idade média=42,1 (± 16,8) Limites não informados	Sudeste

* conforme descrito originalmente no artigo

(Adaptada de Wortmann *et al.*, 2013)

Sevá-Pereira e Beiguelman estudaram 80 indivíduos saudáveis da região Sudeste com a realização do Teste de tolerância à lactose, e encontraram uma prevalência de má absorção da lactose em 71% na amostra. Foram observadas diferenças da prevalência quanto à raça: 50% nos indivíduos caucasóides, 85% naqueles classificados como negróides e 100% nos denominados mongolóides (Seva-Pereira & Beiguelman, 1982). Sparvoli encontrou uma prevalência de 75,7% de má absorção de lactose em indivíduos nordestinos, e em um estudo posterior, também observou diferenças da prevalência nos diferentes grupos étnicos estudados (Sparvoli, 1989; Sparvoli, 1990). Em estudo realizado no Rio Grande do Sul, Pretto e colaboradores avaliaram a prevalência da má absorção de lactose através do teste do hidrogênio expirado, encontrando uma prevalência de 8,4% em uma amostra

de escolares com idade entre 8 e 18 anos; a prevalência nos indivíduos de cor branca foi de 5,2%, contrastando com a de 15,5%, observada em não-brancos (Pretto *et al.*, 2002). Um estudo conduzido por Alves e colaboradores, em crianças índias Terenas, encontrou uma prevalência de 89,3% (Alves *et al.*, 2002).

Em uma amostra de 115 indivíduos com suspeita clínica de intolerância à lactose, Escoboza e colaboradores encontraram uma prevalência de hipolactasia primária do tipo adulto em 60,8%, através da análise imunohistoquímica de biópsias intestinais endoscópicas. Quando analisada a cor dos indivíduos, a prevalência foi de 53,2% nos brancos, e de 91,3% nos não-brancos (Escoboza *et al.*, 2004). Recentemente, Mattar *et al.* (2009) avaliaram a frequência do polimorfismo -13910C/T em 567 brasileiros, entre os quais indivíduos assintomáticos e pacientes dispépticos, encontrando uma prevalência de hipolactasia primária do tipo adulto em cerca de 57% dos indivíduos brancos, 57% dos mulatos, 80% dos negros e 100% dos descendentes de japoneses.

2.1.6 Aspectos clínicos

A lactase é extremamente importante para a sobrevivência dos mamíferos, uma vez que o leite é o alimento essencial dos recém-nascidos. Nos indivíduos com HPTA, características genóticas determinam uma progressiva diminuição da atividade da lactase na mucosa intestinal, já a partir dos primeiros anos de vida. Nas crianças, adolescentes e adultos acometidos, a redução da atividade da lactase pode determinar sintomas que comprometem a qualidade de vida dos indivíduos, mas que não acarretam maiores riscos.

A suspeita clínica inicial de intolerância à lactose costuma ser estabelecida a partir da observação de que o leite e/ou seus derivados desencadeia manifestações clínicas. O espectro de dessas manifestações inclui sintomas como desconforto abdominal, sensação de distensão abdominal, flatulência, diarreia e borboríngos (Vesa *et al.*, 2000; Gugatschka *et al.*, 2005; Matthews *et al.*, 2005); náuseas e vômitos também podem estar presentes (Matthews *et al.*, 2005). Segundo Levitt *et al.* (2013), queixas relacionadas à produção de gás (sensação de distensão abdominal, dor

abdominal e flatulência) são mais freqüentes que diarréia. O quadro 2 ilustra as manifestações clínicas frequentemente associadas à intolerância à lactose.

Quadro 2 – Manifestações clínicas freqüentes de intolerância à lactose

Manifestações clínicas de intolerância à lactose
Desconforto abdominal
Sensação de distensão abdominal
Dor abdominal tipo cólica
Flatulência
Diarréia
Borborignos
Eliminação de “fezes ácidas”
Náuseas / vômitos

Adaptado de Matthews *et al.*, 2005.

No entanto, cabe ressaltar que tais manifestações são inespecíficas, podendo também estar associadas a outros transtornos, orgânicos ou funcionais, do aparelho digestivo (Hasler *et al.*, 2006; Jellema *et al.*, 2010; Papadia *et al.*, 2014). A identificação da ingestão de leite ou seus derivados como desencadeante dos sintomas nem sempre é percebida pelos pacientes (Tolliver *et al.*, 1994).

A presença de manifestações clínicas de intolerância ou evidências de exames compatíveis com má digestão da lactose não tem relação precisa com o grau da deficiência da enzima na mucosa intestinal. Há relatos de pacientes com hipolactasia confirmada que toleram a ingestão de diferentes quantidades de leite/derivados, sem apresentarem manifestações clínicas (Vesa *et al.*, 1996). Por outro lado, Peuhkuri e colaboradores demonstraram que um quarto dos indivíduos com teste do hidrogênio expirado normal apresentaram sintomas após a ingestão de lactose, chamando a atenção para a discrepância

entre os sintomas associados à ingestão de leite/derivados e o efetivo diagnóstico de intolerância à lactose (Peuhkuri *et al.*, 2000).

2.1.7 Diagnóstico diferencial da HPTA

A hipolactasia congênita é uma forma rara de deficiência congênita de lactase, que se manifesta com quadro grave de diarreia nas primeiras horas ou dias de vida, assim que o recém nascido ingere o leite materno ou fórmulas contendo lactose. Dessa forma, a distinção desta condição em relação à HPTA é relativamente simples.

Já os estados de hipolactasia secundários podem estar associados a condições clínicas relativamente comuns, e frequentemente tem caráter transitório, com potencial de resolução (Levitt *et al.*, 2013). Assim, possuem implicações prognósticas e terapêuticas distintas em relação à HPTA (Labayen *et al.*, 2001). Nos países em desenvolvimento como o Brasil, tem particular importância as parasitoses intestinais e gastroenterites agudas, além de condições menos frequentes mas igualmente importantes, como a doença celíaca e as doenças inflamatórias intestinais (Ojetti *et al.*, 2005; Bodlaj *et al.*, 2006; Papadia *et al.*, 2010).. A sobreposição dos sintomas da intolerância à lactose com os sintomas da dispepsia funcional, e principalmente, da síndrome do intestino irritável, merece uma consideração especial, haja visto que estas duas condições também possuem elevada prevalência. Cabe destacar que se faz necessário o diagnóstico diferencial, uma vez que o manejo da intolerância à lactose possui peculiaridades e se distingue daquele dos transtornos funcionais do aparelho digestivo. Apesar disso, existe a possibilidade da intolerância à lactose ocorrer concomitantemente com tais condições, o que pode trazer eventuais dificuldades no estabelecimento do diagnóstico e no manejo clínico.

2.1.8 Métodos diagnósticos

A Tabela 3 apresenta os principais métodos empregados na investigação da intolerância à lactose e salienta algumas peculiaridades importantes de cada um deles (Wortmann *et al.*, 2013).

Tabela 3 – Métodos diagnósticos para investigação de intolerância à lactose

Método diagnóstico	Princípios / procedimentos	Significado do resultado alterado	Comentários
Curva glicêmica (Teste de tolerância à lactose)	Glicemia de jejum e dosagens seriadas após a administração de lactose	Má absorção de lactose	Não permitem distinguir intolerância à lactose decorrente da HPTA de intolerância à lactose secundária
Teste do hidrogênio expirado	Concentração do H ₂ no ar expirado em jejum e medidas seriadas após a administração de lactose	Má absorção de lactose	
Teste da atividade da lactase intestinal	Avalia a atividade da lactase na mucosa intestinal	Hipolactasia	Utilização na prática clínica restrita pelo seu caráter invasivo e pela heterogeneidade na distribuição de lactase na mucosa intestinal
Teste genético (Análise molecular da HPTA: SNPs -13910C/T e -22018G/A)	Genotipagem dos polimorfismos da região promotora do gene <i>LCT</i>	HPTA	Genótipo compatível com HPTA não é sinônimo da presença de sintomas de intolerância à lactose (necessária correlação com informações clínicas)

Fonte: Wortmann *et al.*, 2013

O teste da medida da atividade da lactase intestinal tem como maior limitação o seu caráter invasivo. O método originalmente descrito empregava biópsias jejunais, enquanto que o teste utilizado atualmente, cujo kit se chama *Quick lactase test*, necessita da realização de endoscopia digestiva alta com biópsias da segunda porção duodenal (Kuokkanen *et al.*, 2006). Além disso, o fato da lactase não se distribuir de maneira homogênea ao longo do intestino também prejudica a aceitação da utilização na prática clínica (Maiuri *et al.*, 1991; Hovde & Farup, 2009).

O teste do hidrogênio expirado, apesar do seu caráter não invasivo e de ser muito valorizado em outros países, tem sua disponibilidade bastante restrita no Brasil. Este método requer um aparelho de cromatografia gasosa, e tem como desvantagens a necessidade de um rigoroso preparo prévio, o prolongado tempo ocupado para a sua realização (de 2 a 6 horas) e o fato de poder desencadear sintomas naqueles pacientes intolerantes à lactose (Romagnuolo *et al.*, 2002; Simren & Stotzer, 2006). O diagnóstico de má absorção de lactose é estabelecido quando a concentração do hidrogênio expirado aumenta em 20 partes por milhão (ppm) em relação aos valores basais. Além disso, este método possibilita observar se ocorreram sintomas após a administração de lactose e correlacionar tais informações com a avaliação da absorção da mesma. Quando comparado à medida da atividade da lactase a partir de biópsias intestinais, a sensibilidade do método varia de 69 a 100%, e a sua especificidade, de 96 e 100% (Newcomer *et al.*, 1975; Sahi, 1994; Romagnuolo *et al.*, 2002). Utilizando-se uma dose de 25 g de lactose, a sensibilidade varia de 80 a 92,3%, e a especificidade atinge 100% (Mattar & Mazzo, 2010). No entanto, segundo Levitt *et al.* (2013), a frequência de falsos negativos não é desprezível (provavelmente em torno de 10%), enquanto a de falsos positivos não está determinada.

A curva glicêmica, também chamada de teste de tolerância à lactose (TTL), é um método simples e amplamente disponível em nosso meio (Mattar & Mazzo 2010). No entanto, à semelhança do teste do hidrogênio expirado, demanda algumas horas para a sua execução e pode causar desagradáveis sintomas pela ingestão da lactose, além do inconveniente de necessitar repetidas punções venosas para coleta de sangue, somadas a menores sensibilidade e especificidade (Levitt *et al.*, 2013). A má absorção da lactose é

observada quando o pico de glicemia após a ingestão de lactose não excede em 20 a 25 mg/dl a glicemia de jejum, caracterizando a chamada “curva plana” (Mattar & Mazzo, 2010). A dose convencional de lactose a ser ingerida tanto para o teste do hidrogênio expirado quanto para o TTL é de 50 g; atualmente, alguns autores recomendam a administração de uma dose menor (25 g) de lactose, a fim de reduzir os sintomas de intolerância desencadeados pela realização do exame (Mattar *et al.*, 2012). Uma limitação dos métodos baseados na expressão fenotípica da má absorção à lactose, tanto o teste do hidrogênio expirado quanto o TTL, é a possibilidade de resultados alterados na presença daquelas condições causadoras de intolerância secundária à lactose (Ojetti *et al.*, 2005; Rana *et al.*, 2005; Misselwitz *et al.*, 2013).

Apesar de pouco utilizados na prática clínica, existem também outros métodos, como o teste de tolerância à lactose com etanol, e métodos de Medicina Nuclear que empregam o carbono marcado (testes respiratórios com C13 ou C14) (Lomer *et al.*, 2008; Mattar *et al.*, 2012). Um novo método diagnóstico não invasivo, recém apresentado por pesquisadores espanhóis, mostrou resultados animadores em um estudo multicêntrico que incluiu mais de 200 pacientes. Trata-se do teste da galactosilxilose (ou gaxilose), um análogo sintético da lactose; essa molécula é clivada pela lactase intestinal, resultando em galactose e D-xylose, a qual é absorvida passivamente através da mucosa intestinal, sendo que a sua concentração sérica ou urinária pode ser determinada de forma bastante simples, por métodos colorimétricos (Aragón *et al.*, 2013). Neste recente estudo, os testes de gaxilose urinária e sanguínea foram avaliados em pacientes com sintomas de intolerância à lactose, e comparados com outros métodos diagnósticos (como o teste da medida da lactase intestinal, o teste do hidrogênio expirado, o TTL e o teste genético do SNP -13910C/T). Ambos os testes de gaxilose apresentaram excelentes sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo (todos acima de 90%) (Aragón *et al.*, 2013).

Os testes genéticos permitem o estabelecimento do diagnóstico de HPTA com a coleta de uma única amostra de sangue, a partir da qual é extraído DNA (Buning *et al.*, 2005; Schirru *et al.*, 2007; Mattar & Mazzo, 2010). Os SNPs associados à HPTA são identificados/genotipados através de técnicas de biologia molecular como PCR em tempo real, PCR convencional

com tratamento do produto do PCR por enzima de restrição (PCR-RFLP), além de seqüenciamento genético (Ingram *et al.*, 2007; Mattar *et al.*, 2012).

Vários autores observaram excelente correlação entre a análise molecular da HPTA e o teste do hidrogênio expirado, sugerindo que a análise molecular exerce um papel importante no diagnóstico atual da HPTA (Rasinpera *et al.*, 2004; Hogenauer *et al.*, 2005; Ridefelt & Hakansson, 2005; Anthoni *et al.*, 2007; Bulhoes *et al.*, 2007; Usai Satta *et al.*, 2008). Pohl e colaboradores, em estudo que envolveu cerca de 200 pacientes, encontraram sensibilidade e especificidade do teste genético superiores a 95%, reforçando a impressão de que a análise molecular da HPTA tem condições de substituir o teste do hidrogênio expirado na investigação diagnóstica dessa condição (Pohl *et al.*, 2010). Apesar disso, alguns pesquisadores discordam, argumentando que o teste genético identifica indivíduos com as alterações genéticas predisponentes à má absorção de lactose, e que isso, na ausência de manifestações clínicas, não permite classificar esses indivíduos como intolerantes (Di Stefano *et al.*, 2009). Entretanto, deve-se levar em conta que o teste da medida da lactase a partir de biópsias intestinais também não permite qualquer avaliação referente aos sintomas de intolerância à lactose (Hogenauer *et al.*, 2005).

Em suma, uma vez que não há consenso na literatura em relação a um padrão áureo para o diagnóstico da HPTA, a realização do teste genético oferece vantagens como a praticidade de obtenção de material e a elevada especificidade do método.

2.2 DISPEPSIA

2.2.1 Conceito e aspectos epidemiológicos

Dispepsia, palavra derivada do idioma grego (no qual "dys" significa difícil, e "peptein", digestão) é um termo usado para caracterizar sintomas digestivos localizados na região superior do abdômen, não obrigatoriamente restritos ao período pós-prandial (Drossman *et al.*, 1990). De maneira geral, define-se como dispepsia aqueles sintomas recorrentes ou persistentes de desconforto e/ou dor no abdômen superior (Talley *et al.*, 1999). O desconforto pode representar sensações desagradáveis não interpretadas como dor, que podem ser caracterizadas como plenitude epigástrica, sensação de distensão

abdominal, saciedade pós-prandial precoce, náuseas, vômitos, entre outros sintomas (Stanghellini *et al.*, 1996; Tack *et al.*, 1998; Tack *et al.*, 2002; Sarnelli *et al.*, 2003; Tack *et al.*, 2004). Tais manifestações clínicas podem ser contínuas ou intermitentes, e estarem ou não associadas às refeições. Caracteristicamente, os sintomas dispépticos apresentam grandes flutuações ao longo do tempo (Agreus, 2002).

A dispepsia tem elevada prevalência globalmente, acometendo entre 15% e 40% da população em diferentes países (Kay & Jorgensen, 1994; Talley, 2001; Olmos *et al.*, 2006; Okumura *et al.*, 2010). No nosso meio, Sander e colaboradores observaram uma prevalência de dispepsia não investigada em 48% da população brasileira (Sander *et al.*, 2007). No Rio Grande do Sul, um estudo de base populacional apontou uma prevalência de 44% de dispepsia entre os habitantes da cidade de Pelotas (Oliveira *et al.*, 2006).

É provável que grande parte da população adulta experimente sintomas dispépticos ao longo da vida. Os sintomas dispépticos determinam importante impacto sobre a qualidade de vida dos pacientes e frequentemente motivam consultas médicas, representando até 5% do total de consultas, e 40% das consultas com gastroenterologistas (Lydeard & Jones, 1989; Knill-Jones, 1991). Além disso, acarretam significativos custos referentes a exames complementares e à terapêutica, juntamente com custos indiretos decorrentes de abstenções ao trabalho (Mones *et al.*, 2002; Aro *et al.*, 2009).

2.2.2- Tipos de dispepsia

As dispepsias podem ser subdivididas em três categorias:

1. Aquelas com causas definidas para explicar os sintomas, quando os mesmos melhoram ou desaparecem com a eliminação da doença. São chamadas de dispepsias “orgânicas”; os exemplos mais comuns são as úlceras pépticas, as neoplasias e as doenças bíleo-pancreáticas.
2. As que apresentam alterações de relevância incerta na gênese dos sintomas. Exemplos usuais são as duodenites histológicas, litíase biliar (sem quadros clínicos de cólicas biliares) e as gastrites associadas à infecção pelo *Helicobacter pylori*.

3. As dispepsias sem explicações definidas para a presença dos sintomas.

As categorias “2” e “3” supra-citadas representam a dispepsia funcional, uma condição na qual não são encontradas explicações estruturais ou bioquímicas que justifiquem os sintomas.

2.2.3 Dispepsia funcional

A utilização da endoscopia digestiva alta na investigação de quadros dispépticos tem mostrado que a maioria dos pacientes não apresenta alterações anatômicas ou estruturais em esôfago, estômago ou duodeno. Três grandes estudos de pacientes dispépticos demonstraram que apenas cerca de 30% apresentavam anormalidades orgânicas que justificassem os sintomas (Williams *et al.*, 1988; Hallissey *et al.*, 1990; Johannessen *et al.*, 1990). Conclui-se, então, que grande parte dos sintomas dispépticos tem origem em distúrbios funcionais.

Historicamente, esta condição tem sido relatada na literatura de forma pouco uniforme, sendo denominada ora como dispepsia funcional, ora como dispepsia não ulcerosa, ou também como dispepsia idiopática. A principal diretriz diagnóstica referente aos distúrbios funcionais do aparelho digestivo, conhecida como Consenso ROMA III, preconiza a utilização do termo Dispepsia Funcional, por considerar ser este o mais utilizado na literatura (Tack *et al.*, 2006).

Apresentação clínica e critérios diagnósticos

Clinicamente, a dispepsia funcional se caracteriza pela presença de sintomas como dor epigástrica, plenitude pós-prandial, náuseas, sensação de distensão abdominal e saciedade precoce (Talley *et al.*, 1999; Thompson *et al.*, 1999; Tack *et al.*, 2006). Além do caráter inespecífico de tais manifestações clínicas, cabe ressaltar que não há um exame complementar específico para o estabelecimento do diagnóstico.

Segundo o Consenso ROMA III, os critérios para o diagnóstico da dispepsia funcional devem incluir (Talley *et al.*, 1999; Thompson *et al.*, 1999; Tack *et al.*, 2006):

- I- Um ou mais dos seguintes sintomas:
- a. Plenitude pós-prandial desconfortável
 - b. Saciedade precoce
 - c. Dor epigástrica
 - d. Queimação epigástrica

Além disso, é necessário preencher o requisito referente ao seguinte critério de exclusão:

II- Nenhuma evidência de doenças estruturais que possam explicar os sintomas (incluindo investigação com endoscopia digestiva alta).

Para o diagnóstico de dispepsia funcional, os critérios deverão estar presentes nos últimos 3 meses, com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

Embora a dispepsia funcional não esteja associada com aumento de mortalidade, o caráter crônico desta condição está associado a um importante comprometimento da qualidade de vida dos pacientes, além de gerar custos econômicos substanciais (Mones *et al.*, 2002; El-Serag & Talley, 2003; Aro *et al.*, 2009).

Sobreposição da Dispepsia Funcional com a Síndrome do Intestino Irritável (SII)

Existe considerável sobreposição de manifestações da síndrome do intestino irritável, outro distúrbio funcional do aparelho digestivo, com os sintomas da dispepsia funcional. Corsetti e colaboradores (2004) observaram que 46% dos pacientes portadores de dispepsia funcional acompanhados em um centro de referência também preenchiam critérios diagnósticos para a síndrome do intestino irritável, principalmente as mulheres, os que apresentavam hipersensibilidade gástrica e aqueles que apresentavam maior intensidade dos sintomas (Corsetti *et al.*, 2004). Outra característica importante, conforme observado por Agreus, diz respeito à alternância no padrão sintomático, sendo que muitos pacientes que inicialmente apresentam sintomas predominantemente dispépticos passaram a manifestar sintomas “tipo-intestinais”, ou vice-versa, ao longo de um período de seguimento de um ano (Agreus *et al.*, 1995). Conforme ROMA III, sintomas da síndrome do intestino irritável frequentemente se associam com sintomas de dispepsia

funcional. Esse Consenso considera que a presença de síndrome do intestino irritável não exclui o diagnóstico de nenhum dos distúrbios funcionais gastroduodenais. De acordo com Tack *et al.* (2006) a coexistência com esta síndrome demonstrou ter pequeno impacto nos sintomas e no suposto mecanismo fisiopatológico da dispepsia funcional.

2.3 ASSOCIAÇÃO DA HIPOLACTASIA PRIMÁRIA DO TIPO ADULTO COM DISTÚRBIOS FUNCIONAIS DO APARELHO DIGESTIVO

Existem evidências que apontam para uma freqüente sobreposição do quadro clínico da Intolerância à lactose (decorrente da HPTA) com alguns transtornos funcionais do aparelho digestivo (como a dispepsia funcional e a síndrome do intestino irritável), e vice-versa (Bohmer & Tuynman, 1996; Mishkin *et al.*, 1997; Goldstein *et al.*, 2000; Bernardes-Silva *et al.*, 2007; Heizer *et al.*, 2009; Mattar *et al.*, 2009). Isso se justifica devido às possíveis semelhanças em suas apresentações clínicas, inespecificidade dos sintomas e elevadas prevalências de tais condições. Por sua vez, intolerâncias alimentares ocorrem mais freqüentemente em pacientes com dispepsia funcional do que em indivíduos saudáveis, mas a relação entre dieta e sintomas dispépticos, assim como a instituição de medidas dietéticas terapêuticas ainda carecem de maior investigação (Feinle-Bisset & Vozzo, 2004; Feinle-Bisset & Horowitz, 2006).

A associação entre a Intolerância à lactose e a síndrome do intestino irritável vem sendo objeto de extensa investigação. Uma possível relação dos sintomas com a presença de intolerância a lactose foi sugerida por vários autores (Bohmer & Tuynman, 1996; Goldstein *et al.*, 2000; Bernardes-Silva *et al.*, 2007; Heizer *et al.*, 2009). Em 1996, Bohmer & Tuynman (1996) sugeriram que a investigação da intolerância à lactose fosse incorporada à investigação de rotina na SII, como critério de exclusão. No entanto, dois estudos maiores, um dos quais controlado, não confirmaram esta associação (Hamm *et al.*, 1999; Vernia *et al.*, 2001). Em recente revisão sobre o assunto, Lomer *et al.* (2008) observaram que ambas as condições são freqüentes e possuem manifestações clínicas semelhantes, sem chegar a conclusão sobre a sua associação. Convém ressaltar, porém, que a grande maioria dos estudos disponíveis até o momento utilizaram o teste do hidrogênio expirado ou o teste

de tolerância à lactose como método diagnóstico da Intolerância à lactase, ao invés da análise molecular.

A intolerância à lactose resultante da HPTA também pode se apresentar clinicamente de forma semelhante à dispepsia funcional. A sobreposição do quadro clínico dessas duas condições também tem como principal elemento a sensação de distensão abdominal (Hasler WL, 2006). Outros sintomas, como dor abdominal, náuseas e vômitos, também podem ser atribuíveis a ambas condições (Suarez *et al.*, 1995).

Dados referentes à prevalência de intolerância a lactose em pacientes inicialmente diagnosticados como portadores de dispepsia funcional são escassos, e não permitem uma adequada caracterização desta questão (Mishkin *et al.*, 1997). Alguns estudos recentes que avaliaram a análise molecular da hipolactasia primária do tipo adulto na suspeita clínica de Intolerância à lactose incluíram em suas amostras pacientes com queixas dispépticas, juntamente com outros com sintomas fortemente sugestivos de intolerância à lactose e também indivíduos assintomáticos (Goldstein *et al.*, 2000; Mattar *et al.*, 2008; Di Stefano *et al.*, 2009). No entanto, as frequências dos polimorfismos compatíveis com o estado lactase não-persistente entre os distintos grupos não foram comparadas, uma vez que os estudos não foram concebidos com tal finalidade (Mishkin *et al.*, 1997).

Não há na literatura nenhum estudo sobre a avaliação da HPTA através de teste genético comparando um grupo exclusivamente formado por pacientes dispépticos funcionais com indivíduos assintomáticos.

3. JUSTIFICATIVA

3. JUSTIFICATIVA

A dispepsia funcional pode apresentar-se clinicamente de forma semelhante à Intolerância à lactose. Apesar disso, a intolerância à lactose não é contemplada entre as condições orgânicas a serem excluídas para a confirmação do diagnóstico de dispepsia funcional, de acordo com o Consenso ROMA III. Assim, a possibilidade de que alguns dos pacientes diagnosticados como dispépticos funcionais sejam, na realidade, portadores de HPTA, merece ser considerada. Além disso, o papel da ingestão do leite e seus derivados na dieta dos dispépticos não é conhecido, podendo ser até mesmo prejudicial naqueles dispépticos funcionais que também apresentarem intolerância à lactose. A realização do presente estudo, que tem o objetivo de estudar a associação entre a hipolactasia primária do tipo adulto e a dispepsia funcional, se justifica pela eventual sobreposição de suas manifestações clínicas e pela inexistência de estudos realizados especificamente para avaliar esta associação. A investigação de cinco polimorfismos contempla uma avaliação abrangente das variações genéticas relacionadas à HPTA. Por fim, trata-se de um problema extremamente relevante na prática clínica, dadas as elevadas prevalências tanto da HPTA quanto da dispepsia funcional.

4. OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a eventual associação entre a hipolactasia primária do tipo adulto (HPTA) através da análise molecular e a dispepsia funcional.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar a prevalência da HPTA em pacientes dispépticos funcionais com aquela observada em controles assintomáticos.

Avaliar as frequências genotípicas e alélicas de cinco polimorfismos do gene da lactase (-13910C/T, -22018G/A, -14010G/C, -13915T/G e -13907C/G) em pacientes dispépticos funcionais e controles assintomáticos.

Comparar o escore de cinco sintomas dispépticos (dor epigástrica, náuseas, vômitos, sensação de distensão abdominal e saciedade precoce) entre pacientes dispépticos funcionais com HPTA e aqueles classificados como “lactase persistentes” (sem HPTA).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agreus L. Natural history of dyspepsia. *Gut*. 2002;50 Suppl 4: iv2-9.
- Agreus L, Svardsudd K, Nyren O, Tibblin G. Irritable Bowel syndrome and dyspepsia in the general population: overlap and lack of stability over time. 1995; 109: 671-680.
- Alves GMS, Moraes MB, Fagundes Neto U. Nutritional status and breath hydrogen test with lactose and lactulose in Terena Indian children. *J Ped*. 2002; 78:113-19.
- Anthoni SR, Rasinpera HA, Kotamies AJ, Komu HA, Pihlajamaki HK, Kolho KL, et al. Molecularly defined adult-type hypolactasia among working age people with reference to milk consumption and gastrointestinal symptoms. *World J Gastroenterol*. 2007;13(8):1230-5.
- Aragón JJ, Hermida C, Martinez-Costa OH, Sanchez V, Martin I, Sanchez JJ, et al. Noninvasive Diagnosis of Hypolactasia With 4-Galactosylxylose: A Multicentre, Open-Label, Phase IIB-III Nonrandomized Trial. *J Clin Gastroenterol*. 2013; 48(1): 29-36.
- Aro P, Ronkainen J, Storskrubb T, Bolling-Sternevald E, Talley NJ, Agreus L. Quality of life impairment in community subjects with functional dyspepsia according to the Rome III criteria. 2009. *Digestive Disease Week 2009 (AGA abstracts)*. Chicago, IL. USA.
- Aro P, Talley NJ, Ronkainen J, Storskrubb T, Vieth M, Johansson SE, et al. Anxiety is associated with uninvestigated and functional dyspepsia (Rome III criteria) in a Swedish population-based study. 2009. *Gastroenterology*; 137(1):94-100.
- Bernardes-Silva CF, Pereira AC, Mota GFA, Krieger JE, Laudanna AA. Lactase persistence/non-persistence variants, C/T-13910 and G/A-22018, as a diagnostic tool for lactose intolerance in IBS patients. *Clin Chim Acta*. 2007;386(1-2):7-11.
- Bodlaj G, Stocher M, Hufnagl, Hubmann R, Biesenbach G, Stekel H, Berg J. Genotyping of the Lactase-Phlorizin Hydrolase -13910 Polymorphism by LightCycler PCR and Implications for the Diagnosis of Lactose Intolerance. *Clin Chem* 2006; 52(1): 148-151.

- Bohmer CJ, Tuynman HA. The clinical relevance of lactose malabsorption in irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1996; 8(10): 1013-6.
- Bulhões AC, Goldani HA, Oliveira FS, Matte US, Mazzuca RB, Silveira TR. 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. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(11):1441-6.
- Buning C, Genschel J, Jurga J, Fielder T, Voderholzer W, Fielder EM, et al. Introducing genetic testing for adult-type hypolactasia. *Digestion*. 2005;71(4):245-50.
- Chey WD. The role of food in the functional gastrointestinal disorders: introduction to a manuscript series. *Am J Gastro*. 2013; 108: 694-7.
- Corsetti M, Caenepeel P, Fischler B, Janssens J, Tack J. Impact of coexisting irritable bowel syndrome on symptoms and pathophysiological mechanisms in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99(6): 1152-9.
- Di Stefano M, Terulla V, Tana P, Mazzocchi S, Romero E, Corazza GR. Genetic test for lactase non-persistence and hydrogen breath test: is genotype better than phenotype to diagnose lactose malabsorption?. 2009; 41(7):474-9.
- Di Stefano M, Veneto G, Malservisi S, Strocchi A, Corazza GR. Lactose malabsorption in the elderly. *Scand J Gastroenterol*. 2001;36(12):1274-8.
- Drossman DA, Thompson WG, Talley NJ, Funch-Jensen P, Janssens J, Whitehead WE. Identification of subgroups of functional bowel disorders. *Gastroenterology International* 1990; 3:159-72.
- El-Serag HB, Talley NJ. Health-related quality of life in functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 18(4):387-93.
- Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Tervilliger JD, Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet*. 2002;30(2):233-7.
- Enattah NS, Nielsen M, Lewinski R, Kuokkanen M, Rasinpera H, et al. Correlation of intestinal disaccharidase activities with the C/T-13910 variant and age. *World J Gastroenterol*. 2007;13(25):3508-12.
- Escoboza PM, Fernandes MI, Peres LC, Einerhand AW, Galvão LC. Adult-type hypolactasia: clinical, morphologic and functional characteristics in Brazilian patients at a University Hospital. *J Ped Gastroenterol Nutr*. 2004;39(4):361-5.

- Feinle-Bisset C, Horowitz M. Dietary factors in functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil.* 2006;18(8):608-18.
- Feinle-Bisset C, Vozzo R. Diet, food intake, and disturbed physiology in the pathogenesis of symptoms in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol.* 2004;99(1):170-81.
- Goldstein R, Bravermann D, Stankiewicz H. Carbohydrate malabsorption and the effect of dietary restriction on symptoms of irritable bowel syndrome and functional bowel complaints. *Isr Med Assoc J.* 2000;2(8):583-7.
- Goulding A, Taylor RW, Keil D, Gold E, Lewis-Barned NJ, Williams SM. Lactose malabsorption and rate of bone loss in older women. *Age Ageing.* 1999;28(2):175-80.
- Gugatschka M, Dobnig H, Fahrleitner-Pammer A, Pietschmann P, Kudlacek S, Strele A et al, Molecularly-defined lactose malabsorption, milk consumption and anthropometric differences in adult males. *QJM.* 2005;98(12):857-63.
- Haberkorn BC, Ermens AA, Koeken A, Cobbaert CM, van Guldener C. Improving diagnosis of adult-type hypolactasia in patients with abdominal complaints. *Clin Chem Lab Med* 2011;50:119–123
- Hallissey MT, Allum WH, Jewkes AJ, Ellis DJ, Fielding JW. Early detection of gastric cancer. *BMJ.* 1990;301(6751):513-5.
- Hamm LR, Sorrels SC, Harding JP, Northcutt AR, Heath AT, Kapke GF, et al. Additional investigations fail to alter the diagnosis of irritable bowel syndrome in subjects fulfilling the Rome criteria. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(5):1279-82.
- Hasler WL. Gas and bloating. *Gastroenterology & Hepatology.* 2006; 2(9):654-62.
- Heizer WD, Southern S, McGovern S. The role of diet in symptoms of irritable bowel syndrome in adults: a narrative review. *J Am Diet Assoc.* 2009;109(7):1204-14.
- Hogenauer C, Hammer HF, Mellitzer K, Renner W, Krejs GJ, Toplak H. Evaluation of a new DNA test compared with the lactose hydrogen breath test for the diagnosis of lactose non-persistence. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005;17(3):371-6.
- Hovde O, Farup PG. A comparison of diagnostic tests for lactose malabsorption – which one is the best? *BMC Gastroenterol.* 2009;9:82.

- Ingram CJ, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekegn A, Raga TO, et al. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in África: multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet.* 2007;120(6):779-88.
- Jellema P, Schellevis FG, Windt DA van der, Kneepkens CM, Horst HE van der. Lactose malabsorption and intolerance: a systematic review on the diagnostic value of gastrointestinal symptoms and self-reported milk intolerance. *QJM.* 2010; 103(8): 555-72.
- Johannessen T, Petersen H, Kleveland PM, Dvbdahl JH, Sandvik AK, Brenna E, et al. The predictive value of history in dyspepsia. *Scand J Gastroenterol.* 1990; 25(7):689-97.
- Kay L, Jorgensen T. Epidemiology of upper dyspepsia in a random population. Prevalence, incidence, natural history, and risk factors. *Scand J Gastroenterol.* 1994; 29(1):2-6.
- Knill-Jones RP. Geographical differences in the prevalence of dyspepsia. *Scand J Gastroenterol.* 1991; Suppl. 182:17-24.
- Kuokkanen M, Myllyniemi M, Vauhkonen M, Helske T, Kaariainen I, Karesvuori S et al. A biopsy-based quick test in the diagnosis of duodenal hypolactasia in upper gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy.* 2006;38(7):708-12.
- Krawczyk M, Wolska M, Schwartz S, Gruenhagen F, Terjung B, Portincasa P, Sauerbruch T, Lammert F. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2008; 117 (2): 135-9.
- Labayen I, Forga L, Gonzalez A, Lenoir-Wijnkoop I, Nutr R, Martinez JA. Relationship between lactose digestion, gastrointestinal transit time and symptoms in lactose malabsorbers after dairy consumption. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001; 15(4):543-9.
- Levitt MW, Wilt T, Shaukat A. Clinical Implications of Lactose Malabsorption versus Lactose Intolerance. *J Clin Gastroenterol.* 2013; 47(6):471-80.
- Lomer MC, Parkes GC, Sanderson JD. Review article: Lactose intolerance in clinical practice-myths and realities. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;27(2):93-103.
- Lydeard S, Jones R. Factors affecting the decision to consult with dyspepsia: comparison of consulters and non-consulters. *J R Coll Gen Pract.* 1989;39(329):495-8.

- Maiuri L, Raia V, Potter J, Swallow D, Ho MW, Fiocca R, et al. Mosaic pattern of lactase expression by villous enterocytes in human adult-type hypolactasia. *Gastroenterology*. 1991. 100(2):359-69.
- Mattar R, Mazzo DFC, Carilho FJ. Lactose intolerance: diagnosis, genetic, and clinical factors. *Clin Exp Gastroenterol*. 2012;5:113-21.
- Mattar R, Mazzo DFC. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. *Rev Assoc Med Brás*. 2010; 56(2):230-236.
- Mattar R, Monteiro MS, Villares CA, Santos AF, Carrilho FJ. Single nucleotide polymorphism C/T-13910, located upstream of the lactase gene, associated with adult-type hypolactasia: validation for clinical practice. *Clin Biochem*. 2008;41(7-8):628-30.
- Mattar R, Monteiro MS, Villares CA, Santos AF, Silva JM, Carrilho FJ. Frequency of LCT -13910C>T single nucleotide polymorphism associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Brazilians of different ethnic groups. *Nutr J*. 2009;8:46.
- Matthews SB, Waud JP, Roberts AP, Campbell AK. Systemic lactose intolerance: a new perspective of an old problem. *Postgrad Med J*. 2005;81(953):167-73.
- Mishkin D, Sablauskas L, Yalovsky M, Mishkin S. Fructose and sorbitol malabsorption in ambulatory patients with functional dyspepsia: comparison with lactose maldigestion/malabsorption. *Dig Dis Sci*. 1997;42(12):2591-8.
- Misselwitz B, Pohl D, Fruhauf H, Fried M, Vavricka SR, Fox M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European Gastroenterology Journal*. 2013; 1(3):151-9.
- Mones J, Adan A, Segu JL, Lopez JS, Artes M, Guerrero T. Quality of life in functional dyspepsia. *Dig Dis Sci*. 2002;47(1):20-6.
- Naim HY, Sterchi EE, Lentze MJ. Biosynthesis and maturation of lactase-phlorizin hydrolase in the human small intestinal epithelial cells. *Bioch J*. 1987;241(2):427-434.
- Newcomer AD, McGill DB, Thomas PJ, Hofmann AF. Prospective comparison of indirect methods for detecting lactase deficiency. *N Engl J Med*. 1975;293(24):1232-6

- Ojetti V, Nucera G, Migneco A, Gabrielli M, Lauritano C, Danese S, et al. High prevalence of celiac disease in patients with lactose intolerance. *Digestion*. 2005;71(2):106-10.
- Okumura T, Tanno S, Ohhira M, Tanno S. Prevalence of functional dyspepsia in an outpatient clinic with primary care physicians in Japan. *J Gastroenterol*. 2010;45(2):187-94.
- Oliveira SS, Santos IS, Silva JFP, Machado EC. Prevalência de dispepsia e fatores sócio-demográficos. *Rev Saúde Pública*. 2006; 40(3):420-7.
- Olmos JA, Pogorelsky V, Tobal F, Marcolongo M, Salis G, Higa R, et al. Uninvestigated dyspepsia in Latin America: a population-based study. *Dig Dis Sci*. 2006;51(11):1922-9.
- Papadia C, Sabatino AD, Corazza GR, Forbes A. Diagnosing small bowel malabsorption: a review. *Intern Emerg Med*. 2014; 9: 3-8.
- Pena SB, Bortolini MC. Pode a genética definir quem pode se beneficiar das cotas universitárias e demais ações afirmativas? *Estudos Avançados*. 2004;18(50):31-50.
- Pereira Filho D, Furlan AS. Prevalência de intolerância à lactose em função da faixa etária e do sexo: experiência do Laboratório Dona Francisca, Joinville (SC). *Ver Saúde e Ambiente* 2004: 24-30.
- Peuhkuri K, Vapaatalo H, Korpela R. Lactose intolerance – a confusing clinical diagnosis. *AM J Clin Nutr*. 2000;71(2):600-2.
- Pohl D, Savarino E, Hersberger M, Behlis Z, Stutz B, Goetze O, et al. Excellent agreement between genetic and hydrogen breath tests for lactase deficiency and the role of extended symptom assessment. *Br J Nutr*. 2010; 104(6):900-7.
- Poulter M, Hollox E, Harvey CB, Mulcare C, Peuhkuri K, Kajander K, et al. The causal element for the lactase persistence/non-persistence polymorphism is located in a 1 Mb region of linkage disequilibrium in Europeans. *Ann Hum Genet*. 2003;67(4):298-311.
- Pretto FM, Silveira TR, Menegaz V, Oliveira J. Má absorção de lactose em crianças e adolescentes: diagnóstico através do teste do hidrogênio expirado com o leite de vaca como substrato. *J Ped*. 2002;78(3):213-18.
- Rana SV, Bhasin DK, Vinayak VK. Lactose hydrogen breath test in *Giardia lamblia*-positive patients. *Dig Dis Sci*. 2005;50(2):259-61.

- Rasinpera H, Savilahti E, Enattah NS, Kuokkanen M, Totterman N, Lindahl H, et al. A genetic test which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children. *Gut*. 2004;53(11):1571-6.
- Ridefelt P, Hakansson LD. Lactose intolerance: lactose tolerance test versus genotyping. *Scand J Gastroenterol*. 2005;40(7):822-6.
- Romagnuolo JD, Schiller D, Bailey RJ. Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(5):1113-26.
- Sahi T. Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. *Scand J Gastroenterol*. 1994;Suppl 202:7-20.
- Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni LE, Lopes MHI, Madi J. An unexpected high prevalence of non-investigated dyspepsia in Brazil: a population-based study. *Anais do Congresso "15th United European Gastroenterology Week"*. 2007. Paris, França.
- Sarnelli G, Caenepeel P, Geypens B, Janssens J, Tack J. Symptoms associated with impaired gastric emptying of solids and liquids in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol*. 2003;98(4):783-8.
- Schirru E, Corona V, Usai-Satta P, Scarpa M, Oppia F, Loriga F, et al. Genetic testing improves the diagnosis of adult type hypolactasia in the Mediterranean population of Sardinia. *Eur J Clin Nutr*. 2007;61(10):1220-5.
- Seva-Pereira A, Beiguelman B. Primary adult hypolactasia in healthy Brazilian adult caucasoid, negroid and mongoloid subjects. *Arq Gastroenterol*. 1982;19(3):133-8.
- Simoons FJ. Age of onset of lactose malabsorption. *Pediatrics*. 1980;66(4):646-8.
- Simren M, Sotzer PO. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut*. 2006;55(3):297-303.
- Sparvoli AC. Malabsorção de lactose do adulto em uma população nordestina. *Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)*. 1989. Campinas, SP. 100f.
- Sparvoli AC. Malabsorção de lactose do adulto. Prevalência na população sulina. Aspectos genéticos e evolutivos do polimorfismo da atividade da lactase. *Tese de Doutorado - Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)*. 1990. Campinas, SP. 134f.

- Stanghellini V, Tosetti C, Paternico A, Barbara G, Morselli-Labate AM, Monetti N, et al. Risk indicators of delayed gastric emptying of solids in patients with functional dyspepsia. *Gastroenterology*. 1996;110(4):1036-42.
- Suarez FL, Savaiano D, Arbisi P, Levitt MD. Tolerance to the daily ingestion of two cups of milk by individuals claiming lactose intolerance. *Am J Clin Nutr*. 1997;65(2):1502-6.
- Suarez FL, Savaiano DA, Levitt MD. A comparison of symptoms after the consumption of milk or lactose-hydrolyzed milk by people with self-reported severe lactose intolerance. *N Engl J Med*. 1995;333(1):1-4.
- Suchy FJ, Brannon PM, Carpenter TO, Fernandez JR, Gilsanz V, Gould JB, et al. National Institutes of Health Consensus Development Conference: lactose intolerance and health. *Ann Intern Med*. 2010;152(12):792-6.
- Swallow DM. Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Ann Rev Genet*. 2003;37:197-219.
- Tack J, Bisschops R, Sarenlli G. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. *Gastroenterology*. 2004;127(4):1239-55.
- Tack J, Demedts I, Dehondt G, Caenepeel P, Fischler B, Zandecki M, et al. Clinical and pathophysiological characteristics of acute-onset functional dyspepsia. *Gastroenterology*. 2002;122(7):1738-47.
- Tack J, Piessevaux H, Coulie B, Caenepeel P, Janssens J. Role of impaired accommodation to a meal in functional dyspepsia. *Gastroenterology*. 1998;115(6):1346-52.
- Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, et al. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology*. 2006;130(5):1466-79.
- Talley NJ. Therapeutic options in nonulcer dyspepsia. *J Clin Gastroenterol*. 2001;32(4):286-93.
- Talley NJ, Stanghellini V, Heading RC, Koch KL, Malagelada JR, Tytgat GN. Functional gastroduodenal disorders. *Gut*. 1999;45 Suppl 2:II37-42.
- Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Muller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut*. 1999;45 Suppl 2:II43-7.

- Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman JS, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet.* 2007;39(1):31-40.
- Tolliver BA, Herrera JL, Di Palma JA. Evaluation of patients who meet clinical criteria for irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol.* 1994;89(2):176-8.
- Troelsen, JT. Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1723(1-3):19-32.
- Usai Satta P, Congia M, Schirru E, Scarpa M, Mura G. Genetic testing is ready to change the diagnostic scenario of lactose malabsorption. *Gut.* 2008;57(1):137-8;autor reply 138.
- Vernia P, Di Camillo M, Marinaro V. Lactose malabsorption, irritable bowel syndrome and self-reported milk intolerance. *Dig Dis Sci.* 2001;33(3):234-9.
- Vesa TH, Korpela RA, Sahi T. Tolerance to small amounts of lactose in lactose maldigesters. *Am J Clin Nutr.* 1996;64(2):197-201.
- Vesa TH, Marteau P, Korpela R. Lactose intolerance. *J Am Coll Nutr.* 2000;19(2 Suppl):165S-175S.
- Wang Y, Harvey CB, Hollox EJ, Phillips AD, Poulter M, Clay P, Walter-Smith JA, Swallow DM. Genetically programmed down-regulation of lactase in children. *Gastroenterology.* 1998;114(6):1230-6.
- Williams B, Luckas M, Ellingham JH, Dain A, Wicks AC. Do young patients with dyspepsia need investigation? *Lancet.* 1988;2(8624):1349-51.
- Wortmann AC, Simon D, Silveira TR. Análise molecular da hipolactasia primária do tipo adulto: uma nova visão do diagnóstico de um problema antigo e freqüente. *Revista AMRIGS.* 2013;57(4): 335-43.

6. ARTIGO ORIGINAL

Artigo pré-submissão ao periódico ALIMENTARY PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS

Manuscript title: Is there a role for Adult Type Hypolactasia in symptoms of Functional Dyspepsia?

Manuscript authors: WORTMANN AC, SIMON D, MAZZOLENI LE, SANDER GB, FRANCESCONI CFM, NABINGER DD, GROTT CS, RECH TF, MAZZOLENI F, LUNGE VR, DEBONA LR, MILBRADT TC, SILVEIRA TR.

Summary:

Background: Functional dyspepsia and adult type hypolactasia (ATH) are common conditions that may coexist or even be confounded. Studies on the association between functional dyspepsia and ATH are scarce.

Aim: To compare the frequency of ATH between patients with functional dyspepsia and asymptomatic patients.

Methods: Patients fulfilling the Rome III diagnostic criteria for functional dyspepsia and healthy volunteers underwent genetic testing for ATH. The diagnostic criteria for ATH was a CC genotype for a single nucleotide polymorphism (-13910C/T) located upstream of the lactase gene locus. Dyspeptic symptoms (upper abdominal pain, nausea, vomiting, bloating and early satiety) were scored according to a validated questionnaire (Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire).

Results: A total of 408 subjects were included in the study (197 functional dyspeptics and 211 controls). Eighty-eight dyspeptic patients (44.7%) and 107 individuals from the control group (50.7%) had ATH ($P=0.468$). In the functional dyspeptic group, the mean symptom scores were compared between those patients classified as ATH and non-ATH. Abdominal bloating scores were higher in ATH patients compared to the non-

ATH patients ($P=0.014$). The other dyspeptic symptom scores were not significantly different between those two groups.

Conclusion: The frequency of ATH was similar between patients with functional dyspepsia and asymptomatic individuals. However, the higher bloating scores in patients with functional dyspepsia and ATH suggest a possible role of ATH in this patient subset.

INTRODUCTION:

The majority of the world's population has deficiency of lactase activity in adulthood (1). This deficiency is due to a genetically determined condition known as Adult Type Hypolactasia (ATH), which is the main cause of lactose intolerance (2). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) located upstream of the lactase gene are associated with ATH (3-5), and genetic testing is currently available as a non-invasive method to diagnose this condition (2, 6-9). The most important SNPs are known as -13910C/T and -22018G/A.

The most common symptoms of lactose intolerance are abdominal bloating, diarrhea, flatulence, nausea and vomiting (10). However, these symptoms are not specific and may be caused by other conditions, such as functional gastrointestinal disorders (11, 12).

Lactose intolerance and functional gastrointestinal disorders are both common conditions that may coexist or even be confounded. Indeed, there may be some overlap between the symptoms of lactose intolerance and functional dyspepsia. A few particular symptoms, such as abdominal bloating, nausea and vomiting, may be attributed to both conditions. Moreover, food intolerances are frequently reported by patients with functional gastrointestinal disorders (13-15).

According to the ROME III International Consensus, the inclusion criteria for the diagnosis of functional dyspepsia must be fulfilled, and structural disease must be excluded (16). However, the investigation of lactose intolerance is not currently part of the diagnostic testing for dyspepsia. Data on the association between lactose intolerance and functional dyspepsia is scarce (17, 18). Therefore, this association needs additional investigation.

The aim of the present study is to compare the frequency of ATH in patients with functional dyspepsia and asymptomatic individuals. We hypothesized that there is

a higher frequency of ATH among patients with functional dyspepsia compared to asymptomatic individuals.

MATERIALS AND METHODS

Study population and procedures

The patients with functional dyspepsia were recruited from the sample of the Helicobacter Eradication Relief of Dyspeptic Symptoms trial (HEROES trial - [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00404534) No. [NCT00404534](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00404534)) (19). This trial was a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial carried out in a single academic hospital (Hospital de Clínicas de Porto Alegre) located in Porto Alegre, Southern Brazil. Briefly, the patients with dyspeptic symptoms were recruited from referrals from community and primary care settings and through media advertising in the Porto Alegre area newspaper, radio and television. Patients of either sex over 18 years old or older were included if they had a diagnosis of functional dyspepsia according to the Roma III criteria (symptoms must have been present for more than six months with at least one episode per week of epigastric pain, burning, discomfort, postprandial fullness, or early satiety during the past three months). All patients underwent an esophagogastroduodenoscopy with gastric and duodenal biopsies, and only those who tested positive for *Helicobacter pylori* (from both histopathological examination and urease tests) were included in the trial. Patients with findings suggestive of organic diseases, such as cancer in the upper gastrointestinal tract, erosive esophagitis, peptic ulcer disease, and celiac disease, were excluded. Other exclusion criteria were: predominant symptoms of heartburn or irritable bowel syndrome; alarm symptoms (weight loss > 10% of the previous weight, anemia, bleeding, or positive physical examination findings suggesting organic disease); history of peptic ulcer, upper gastrointestinal surgery, or biliary colic; relevant

comorbidities; and alcohol or drug abuse. Patients unable to answer the study questionnaires were also excluded.

Dyspeptic symptoms were evaluated through a previously structured and validated questionnaire (Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire - PADYQ) (20). This 11-item instrument assesses the frequency, intensity and duration of the following symptoms in the preceding 30 days: upper abdominal pain, nausea, vomiting, abdominal bloating and early satiety. The total score may range from 0 (absence of symptoms) to 44 (severe symptoms).

All patients with dyspepsia had stored blood samples, which were used for DNA extraction and subsequent analysis of ATH-associated polymorphisms. The local Institutional Review Board approved the study protocol, and informed consent was obtained from all patients prior to enrollment.

The group of asymptomatic individuals was formed by blood donors without upper gastrointestinal complaints. Blood donation volunteers from the Hospital de Clínicas de Porto Alegre were invited to participate in the study. They were screened in order to exclude present digestive complaints and a past history of gastrointestinal disease or surgery. Other exclusion criteria were a total score in the Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire (PADYQ) higher than 7 and being a relative with any patient previously included in the study sample. All individuals had a blood sample withdrawn during their blood donation procedure, which was subsequently used for molecular analysis. Written informed consent to participate in the study was obtained from all asymptomatic individuals.

Molecular analysis

DNA extraction from the blood samples was followed by polymerase chain reaction (PCR) amplification. Genotyping of the -13910C/T SNP (rs4988235) was performed by DNA sequencing as described by Ingram et al. (5). The diagnostic

criterion for ATH was a CC genotype at SNP -13910C/T (whereas CT or TT indicated the absence of ATH, which corresponds to lactase persistence). This choice is justified because this SNP has a 100% penetrance and is considered to be the most important ATH-associated SNP (2, 3).

Statistical analysis:

The quantitative data were described as the means and standard deviations (SDs), and the qualitative data were described as frequencies and percentages. The allele frequencies were determined by a direct count of the alleles, and the deviations of the Hardy-Weinberg equilibrium were evaluated by a chi-square test. Continuous variables were analyzed by a Kolmogorov-Smirnov test to determine the distribution type. Those with a normal distribution were analyzed by a Student T test, while those with a non-parametric distribution were analyzed by Mann-Whitney U test. A *P* value of < 0.05 was considered significant.

The statistical analyses were performed using PASW 18.0. (SPSS Inc., Chicago, USA).

RESULTS:

Study sample

A total of 197 patients with functional dyspepsia and 211 asymptomatic individuals were included in our sample. Both groups had a similar mean age and sex distribution. The mean age was 47.7 (SD ± 11.9) for the patients with functional dyspepsia and 47.0 (SD ± 11.1) for the controls (*P*=0.537). There were 163 women

(82.7%) among the patients with functional dyspepsia and 176 women (83.4%) in the control group ($P=0.857$). The total score of dyspeptic symptoms/PADYQ total score was significantly different between both groups (19.0 ± 7.1 in functional dyspeptics versus 0.8 ± 1.9 in controls; $P < 0.01$).

Frequencies of Adult Type Hypolactasia and -13910 C/T alleles between functional dyspeptics and controls

The frequencies of ATH and the -13910C/T allele were compared between patients with functional dyspepsia and controls. In total, 88/197 patients with functional dyspepsia (44.7%) had ATH compared to 107/211 (50.7%) individuals in the control group ($P=0.468$). The allele and genotype frequencies of the -13910C/T SNP in both functional dyspeptics and controls are shown in Table 1.

PADYQ scores according to lactase genotypes among patients with functional dyspepsia

Among the patients with dyspepsia, the mean scores for upper abdominal pain, nausea, vomiting, abdominal bloating and early satiety were compared between those classified as ATH and non-ATH, as shown in Table 2.

The patients with dyspepsia and ATH had higher abdominal bloating scores compared to non-ATH patients ($P=0.014$). Patients with ATH also had higher nausea scores compared to non-ATH patients. Although this difference did not reach statistical significance, the P value was nearly significant ($P=0.063$). The other three dyspeptic symptom scores were not significantly different between the two groups.

DISCUSSION:

In the present study, we compared the frequency of ATH in a group consisting exclusively of functional dyspeptics and a control group of asymptomatic individuals with a similar age and sex distribution. We observed similar ATH frequencies between patients with dyspepsia and controls. Moreover, these frequencies are in accordance with the prevalence rates previously described in Western populations (22-24). An interesting finding is that among functional dyspeptics, those with ATH had significantly higher bloating scores than those classified as non-ATH (lactase persistent ones).

A total of 408 individuals were evaluated in the present study, including a well-selected group of patients with functional dyspepsia (that underwent an upper gastrointestinal endoscopy with duodenal biopsies to exclude celiac disease) and another group of well-characterized, healthy volunteers without dyspeptic symptoms (similar age and gender distributions). A clinical evaluation was performed with a structured, validated questionnaire, warranting an effective and reproducible assessment of functional dyspepsia symptoms (20). Modern diagnostic techniques were performed for the molecular analysis of ATH. An excellent genotype-phenotype correlation has been reported for the -13910C/T SNP (6, 7, 9, 21, 25-27). Because genetic testing is a non-invasive diagnostic approach and ATH is ultimately the major cause of lactose intolerance, we considered this to be an appropriate method for a preliminary investigation of an association between functional dyspepsia and lactose intolerance. Thus, our results are supported by an adequate study design and these highlighted features.

Very little is known about the association between functional dyspepsia and ATH. While the vast majority of published studies on the association between ATH and functional gastrointestinal disorders have focused on irritable bowel syndrome, only a few studies have specifically addressed the issue of functional dyspepsia and ATH. Particularly, the main problems of these published studies are poor study designs and

heterogeneous sample compositions (17, 18, 22, 29). In 1997, Mishkin and colleagues published a study of 520 patients with functional dyspepsia from a single center in Canada and found a 56.3% prevalence of lactose malabsorption through hydrogen breath testing (17). Because this study did not have a control group, the association between these two conditions cannot be evaluated. However, it is worth noting that the authors emphasize that the term functional dyspepsia was used to describe “patients with postcibal bloating”. In fact, there was a strikingly high (62%) concomitance with irritable bowel syndrome. A Brazilian study conducted by Mattar *et al.* included both asymptomatic individuals and functional dyspepsia patients who underwent genetic testing for the -13910C/T SNP (22). However, they did not perform a comparison between the different groups according to the presence or absence of symptoms. Instead, they assessed the genotypic frequencies among different ethnic groups. In a small study by Di Stefano and colleagues, 32 functional dyspepsia patients underwent both hydrogen breath testing and lactase polymorphism analysis (for the SNPs -13910C/T and -22018G/A) (29). However, only 11 patients had a diagnosis of functional dyspepsia, and these patients were analyzed together with patients with other conditions, such as irritable bowel syndrome and gastroesophageal reflux disease. In a recent study, Wilder-Smith *et al.* evaluated 1372 patients with functional gastrointestinal disorders according to the Rome III criteria (functional dyspepsia, functional bloating and irritable bowel syndrome) for lactose and fructose intolerance and malabsorption (18). A total of 606 functional dyspepsia patients were included. In total, 49.7% of these patients were classified as lactose intolerant, and lactose malabsorption was detected in 30.8%. A limitation of that study is that there was no control group.

According to our results, there was no difference in the ATH frequencies between patients with functional dyspepsia and asymptomatic individuals. On the other hand, the higher bloating scores in patients with functional dyspepsia and ATH compared to non-ATH patients, and a tendency for higher nausea scores among

patients with functional dyspepsia and ATH, may suggest an underlying mechanism related to lactose intolerance in the clinical setting of functional dyspepsia. In fact, the main clinical feature that may represent an overlap between functional dyspepsia and ATH is bloating as well as nausea and vomiting. However, some issues need to be addressed. First, these findings were observed in a secondary analysis, which limits further conclusive statements from our work. As a consequence of our observation, we rationalize that bloating, and also nausea, may be due to or be influenced by lactose malabsorption and maldigestion as determined by ATH. This raises a potentially relevant clinical question: should we look for ATH as the underlying cause of bloating and nausea in patients with functional dyspepsia with these symptoms? Unfortunately, we are unable to answer this question. We cannot explain the physiopathology of these symptoms based on genotypic information. Thus, bloating, and possibly nausea, can either be resultant from lactose malabsorption, or alternatively, be related to other mechanisms. Finally, we would like to emphasize that our study sample included only *H. pylori* positive patients with functional dyspepsia. This represents a clear limitation of the study, although there appears to be no influence of *H. pylori* status on the presence or absence of ATH.

In conclusion, when we compared all patients with functional dyspepsia to asymptomatic individuals, there was no association between ATH and functional dyspepsia. However, our finding of higher bloating scores among patients with dyspepsia and ATH suggest a possible role of this frequent genetically determined condition in a subset of patients with functional dyspepsia.

Table 1: ATH and allele frequencies of the -13910C/T SNP in patients with functional dyspepsia and controls

-13910C/T SNP	Dyspeptics (n=197)	Controls (n=211)	P
Alleles			0.300
C	265 (67.3)	298 (70.6)	
T	129 (32.7)	124 (29.4)	
Genotypes			0.468
CC (ATH)	88 (44.7)	107 (50.7)	
CT (non-ATH)	89 (45.2)	84 (39.8)	
TT (non-ATH)	20 (10.2)	20 (9.5)	

Data are presented in absolute frequencies (and respective percentages)

Table 2: PADYQ* scores in patients with dyspepsia according to the genotypes of the -13910C/T SNP (ATH versus non-ATH patients)

	ATH	non-ATH	
PADYQ score / -13910 genotype	CC (n=88)	CT + TT (n=109)	P
Upper abdominal pain	7.17 ± 3.31	7.06 ± 3.59	0.867
Nausea	4.85 ± 3.94	3.73 ± 4.06	0.063
Vomiting	0.37 ± 0.73	0.41 ± 0.97	0.458
Abdominal bloating	9.06 ± 2.55	8.32 ± 2.71	0.014
Early satiety	2.06 ± 1.55	1.96 ± 1.50	0.634
Total score	19.94 ± 6.32	18.31 ± 7.67	0.134

Data are presented as the mean ± standard deviation. * PADYQ: Porto Alegre Dyspeptic Symptoms

Questionnaire (20).

Acknowledgments: We are thankful for Dr. Tor Gunnar Hugo Onsten and the staff of the Hemotherapy and Blood Bank of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. We are also thankful for the staff of the Sequencing Laboratory of ULBRA and especially the young investigators of Molecular and Human Genetics Laboratory of ULBRA.

Financial support: FAPERGS, CAPES.

REFERENCES:

1. Mattar R, de Campos Mazo DF, Carrilho FJ. Lactose intolerance: diagnosis, genetic, and clinical factors. *Clin Exp Gastroenterol*. 2012;5:113-21.
2. Misselwitz B, Pohl D, Frühauf H, Fried M, Vavricka SR, Fox M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European Gastroenterology Journal*. 2013;1(3):151-9.
3. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Tervilliger JD, Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet*. 2002;30(2):233-7.
4. Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman JS et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet*. 2007; 39(1):3140.
5. Ingram CJE, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekgn A, Raga TO, et al. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet*. 2007; 120: 779-788.
6. Rasinperä H, Savilahti E, Enattah NS, Kuokkanen M, Tötterman N, Lindahl H, et al. A genetic test which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children. *Gut*. 2004;53(11):1571-6.
7. Högenauer C, Hammer HF, Mellitzer K, Renner W, Krejs GJ, Toplak H. Evaluation of a new DNA test compared with the lactose hydrogen breath test for the diagnosis of lactase non-persistence. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005;17(3):371-6.
8. Krawczyk M, Wolska M, Schwartz S, Gruenhagen F, Terjung B, Portincasa P, Sauerbruch T, Lammert F. Concordance of genetic and breath tests for lactose intolerance in a tertiary referral centre. *J Gastrointest Liver Dis*. 2008; 17: 135-139.
9. Pohl D, Savarino E, Hersberger M, Behlis Z, Stutz B, Goetze O, Eckardstein Av, Fried M, Tutuian R. Excellent agreement between genetic and hydrogen breath tests

for lactase deficiency and the role of extended symptom assessment. *Br J Nutr.* 2010; 104(6): 900-7.

10. Levitt M, Wilt T, Shaukat A. Clinical implications of lactose malabsorption versus lactose intolerance. *J Clin Gastroenterol.* 2013; 47(6):471-80.

11. Jellema P, Schellevis FG, van der Windt DA, Kneepkens CMF, van der Horst HE. Lactose malabsorption and intolerance: a systematic review on the diagnostic value of gastrointestinal symptoms and self-reported milk intolerance. *QJM.* 2010; 103(8): 555-72.

12. Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology.* 2006; 130:1377-90.

13. Feinle-Bisset C, Vozzo R, . Diet, food intake, and disturbed physiology in the pathogenesis of symptoms in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol.* 2004;99(1):170-81.

14. Feinle-Bisset C, Horowitz M. Dietary factors in functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil.* 2006;18(8):608-18.

15. Eswaran S, Tack J, Chey W. Food: the forgotten factor in the Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterol Clin North Am.* 2011; 40:141-62.

16. Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology* 2006;130(5):1466-79.

17. Mishkin D, Sablauskas L, Yalovsky M, Mishkin S. Fructose and sorbitol malabsorption in ambulatory patients with functional dyspepsia: comparison with lactose maldigestion/malabsorption. *Dig Dis Sci.* 1997;42(12):2591-8.

18. Wilder-Smith CH, Materna A, Wermelinger C, Schuler J. Fructose and lactose intolerance and malabsorption testing: the relationship with symptoms in functional gastrointestinal disorders. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 37: 1074-83.

19. Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi CFM, Mazzoleni F, Uchoa DM, De Bona LR, Cancian TM, et al. Helicobacter pylori eradication in functional dyspepsia: Heroes trial. *Arch Int Med.* 2011; 171 (21): 1929-36.

20. Sander GB, Mazzoleni LE, Francesconi CFM, Wortmann AC, Ott EA, Theil AL, et al. Development and validation of a cross-cultural questionnaire to evaluate functional dyspepsia: the Porto-Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire (PADYQ). *Dig Dis Sci.* 2004; 49 (11/12): 1822-9.
21. Bulhões A, Goldani HS, Oliveira FS, Matte US, Mazzuca RB, Silveira TR. Correlation between lactose absorption and C/T-13910 and G/A-22018 mutations of the lactase phlorizin-hydrolase (LCT) gene in adult-type hypolactasia. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 1441-6
22. Mattar R, Monteiro MS, Villares CA, Santos AF, Silva JM, Carrilho FJ. Frequency of LCT -13910C>T single nucleotide polymorphism associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Brazilians of different ethnic groups. *Nutr J.* 2009;8:46.
23. Friedrich DC, Santos SEB, Ribeiro-dos-Santos A[^] KC, Hutz MH (2012) Several Different Lactase Persistence Associated Alleles and High Diversity of the Lactase Gene in the Admixed Brazilian Population. *PLoS ONE* 7(9): e46520. doi:10.1371/journal.pone.0046520.
24. Bernardes-Silva CF, Pereira AC, Mota GFA, Krieger JE, Laudanna AA. Lactase persistence/non-persistence variants, C/T-13910 and G/A-22018, as a diagnostic tool for lactose intolerance in IBS patients. *Clin Chim Acta.* 2007; 386(1-2):7-11.
25. Usai Satta P, Congia M, Schirru E, Scarpa M, Mura G. Genetic testing is ready to change the diagnostic scenario of lactose malabsorption. *Gut.* 2008;57(1):137-8; author reply 8.
26. Anthoni SR, Rasinperä HA, Kotamies AJ, Komu HA, Pihlajamäki HK, Kolho KL, et al. Molecularly defined adult-type hypolactasia among working age people with reference to milk consumption and gastrointestinal symptoms. *World J Gastroenterol.* 2007;13(8):1230-5.
27. Ridefelt P, Håkansson LD. Lactose intolerance: lactose tolerance test versus genotyping. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40(7):822-6.

28. Gasbarrini A, Corazzo GR, Gasbarrini G. Methodology and indications of H₂-breath testing in gastrointestinal diseases: a Rome Consensus Conference. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; 29 (Suppl 1): 1-49.
29. Di Stefano M, Terulla V, Tana P, Mazzocchi S, Romero E, Corazza GR. Genetic test for lactase non-persistence and hydrogen breath test: is genotype better than phenotype to diagnose lactose malabsorption? *Dig Liv Dis.* 2009; 41(7):474-9.
30. Mimidis K, Tack J. Pathogenesis of dyspepsia. *Dig Dis.* 2008; 26:194-202.

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

1. A ausência de diferença na frequência de HPTA entre o grupo de pacientes dispépticos funcionais e o grupo de indivíduos assintomáticos indica não haver associação entre a HPTA e a dispepsia funcional como um todo.
2. O achado referente ao maior escore da sensação de distensão abdominal observado entre os dispépticos funcionais com HPTA sugere um possível papel da HPTA em uma parcela de pacientes com dispepsia funcional.
3. Parece haver uma tendência em relação a um maior escore de náuseas pelos dispépticos funcionais com HPTA, comparativamente àqueles sem HPTA.
4. Dos cinco *SNPs* avaliados, somente dois (-13910C/T e -22018G/A) apresentaram distribuição polimórfica na amostra estudada. A análise dos demais *SNPs* investigados (-14010G/C, -13915T/G e -13907C/G) não acrescentou informações relevantes na amostra estudada.

8. PERSPECTIVAS

8. PERSPECTIVAS

A questão de pesquisa do presente estudo, que contemplou a associação entre a dispepsia funcional e a HPTA, obteve uma resposta negativa, pois a frequência da HPTA foi similar entre pacientes dispépticos funcionais e indivíduos assintomáticos. No entanto, os resultados observados na análise específica dos escores dos sintomas em pacientes dispépticos classificados como hipolactásicos comparativamente com os não-hipolactásicos revelou maior escore do sintoma de sensação de distensão abdominal entre os pacientes dispépticos com HPTA. Essa observação vai ao encontro da base teórica do tema em questão, uma vez que o principal elemento da sobreposição entre a dispepsia funcional e a HPTA é a sensação de distensão abdominal. É provável, assim, que estudos envolvendo especificamente pacientes dispépticos com esse tipo de apresentação clínica, permitam uma maior elucidação do papel da HPTA em uma parcela de pacientes com diagnóstico de dispepsia funcional.

Particularmente no que se refere à análise molecular da HPTA, a avaliação do *SNP* -13910C/T é suficiente como teste genético a ser empregado em futuros estudos. A genotipagem do *SNP* -22018G/A pode se constituir em alternativa, uma vez que a frequência da sua associação com a HPTA é muito próxima daquela observada com o *SNP* -13910C/T. O estudo dos demais *SNPs* avaliados no presente trabalho parecem ter sua aplicação prática restrita a algumas populações africanas, conforme descrito na literatura.

De maneira mais abrangente, existe um vasto campo para a investigação sobre potenciais fatores associados aos mecanismos fisiopatológicos da dispepsia funcional. A dispepsia funcional é uma condição heterogênea do ponto de vista clínico, o que reflete mecanismos fisiopatológicos multifatoriais, complexos, e ainda pouco conhecidos. Além disso, a abordagem terapêutica disponível tem eficácia pouco satisfatória (Lacy, 2012). Dessa forma, a busca pela compreensão dos seus

mecanismos fisiopatológicos consiste em um desafio altamente relevante, sobretudo considerando o grande número de indivíduos acometidos. Particularmente, pouco se conhece acerca dos fatores genéticos envolvidos. Conforme comentado anteriormente, a possibilidade da HPTA desempenhar alguma influência sobre os sintomas da dispepsia funcional se restringe a um subgrupo de pacientes. Os estudos genéticos existentes revelam alguns *SNPs* potencialmente associados à dispepsia funcional, tais como *GNB3 C825T*, *SERT* e *IL-17F*, entre outros (Oshima, 2011). No entanto, faz-se necessário mais pesquisas. Nesse sentido, deve-se considerar a possibilidade da descoberta de novos “genes candidatos”, através de estudos de associação genômica ampla, denominados *GWAS* (“*genome-wide association studies*”) (Cho, 2010). Todavia, alguns requisitos essenciais desse tipo de estudo dificultam significativamente a sua realização, como a necessidade de grandes amostras e os elevados custos operacionais relacionados à tecnologia de ponta.

Acreditamos que estudos interdisciplinares envolvendo a Gastroenterologia e a Genética possa buscar as respostas necessárias para a evolução do conhecimento sobre um assunto tão relevante.

Referências adicionais.

Lacy BE, Talley NJ, Locke III GE, Bouras EP, DiBaise JK, El-Serag HB, Abraham BP, Howden CW, Moayyedi P, Prather C. Review article: current treatment options and management of functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012; 36: 3–15.

Oshima T, Toyoshima F, Nakajima S, Fukui H, Watari J, Miwa H. Genetic factors for functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011; 26 Suppl 3: 83-7.

Cho JH. Genome-wide association studies: present status and future directions. *Gastroenterology.* 2010; 138(5): 1668-1672.

9. ANEXOS

Convite para participação no estudo:

Influências genéticas na taxa de erradicação do *Helicobacter pylori* e nos sintomas clínicos em pacientes com dispepsia funcional

Projeto vinculado ao Estudo Clínico “ERRADICAÇÃO DO *HELICOBACTER PYLORI* NA DISPEPSIA FUNCIONAL” aprovado no GPPG do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (n° 05-422)

A dispepsia funcional é uma das doenças mais freqüentes da medicina. Vários trabalhos de pesquisa, em diferentes países, demonstraram que os pacientes com dispepsia funcional com muita freqüência possuem uma bactéria no estômago, chamada *Helicobacter pylori*. Ainda não está definido cientificamente se essa bactéria é uma das causas dos sintomas da dispepsia funcional e se a eliminação da infecção melhora os sintomas desses pacientes.

O Hospital de Clínicas de Porto Alegre está realizando um trabalho de pesquisa sobre a eliminação da bactéria *Helicobacter pylori* nos pacientes com dispepsia funcional, do qual você está participando. O objetivo principal do estudo é observar se o tratamento melhora os sintomas digestivos dos pacientes. Assim, se pretende obter conclusões que poderão beneficiar os pacientes com dispepsia funcional. Visando obter maiores informações sobre fatores que podem influenciar no tratamento da dispepsia funcional, estamos realizando um novo estudo junto aos pacientes participantes do projeto inicial. Este novo estudo envolverá a análise de regiões do seu material genético (DNA) que podem estar influenciando a resposta à medicação utilizada no estudo, bem como a melhora nos sintomas clínicos após o tratamento.

Para a análise dos genes será feita uma coleta sangue. Essa quantidade é pequena (5 mL), e por isso, dificilmente causará algum mal-estar, no entanto poderá haver um pequeno incômodo ou dor no momento da coleta (introdução da agulha para retirada do sangue).

As informações individuais levantadas pela pesquisa são de caráter estritamente confidencial. Os dados coletados serão agrupados e expressos através de resultados numéricos, sem qualquer referência a elementos que possam identificar os participantes do estudo.

Todas as despesas relacionadas ao custo das medicações, consultas e exames diagnósticos serão cobertas por verbas próprias do Projeto de Pesquisa.

Caso você quiser se retirar do estudo durante o seu andamento, terá total liberdade para fazê-lo, sem que isso prejudique a continuidade do seu acompanhamento médico no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, caso você já seja paciente desse hospital.

Os médicos responsáveis estão à sua disposição para o esclarecimento de quaisquer dúvidas.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PESQUISA: Influências genéticas na taxa de erradicação do *Helicobacter pylori* e nos sintomas clínicos em pacientes com dispepsia funcional

G.P.P.G: _____ FICHA # _____

PACIENTE _____

JUSTIFICATIVA:

A dispepsia funcional é uma doença muito freqüente, assim como a infecção pela bactéria *Helicobacter pylori*. Ainda não foi definido se a erradicação da bactéria beneficia os sintomas da doença. Essa pesquisa irá avaliar se fatores genéticos interferem na erradicação do *Helicobacter pylori* e na melhora dos sintomas de pacientes com dispepsia funcional.

Os participantes deste estudo serão pacientes com dispepsia funcional, portadores do *Helicobacter pylori*, atendidos no HCPA e participantes do estudo clínico "Erradicação do *Helicobacter pylori* na dispepsia funcional" aprovado no GPPG do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (n° 05-422). Será realizada uma coleta de sangue para obtenção de material genético (DNA) e realizadas análises moleculares de segmentos do DNA (genes) que podem influenciar na terapia de erradicação do *Helicobacter pylori*.

A assinatura desse consentimento informado dará autorização aos pesquisadores do estudo de utilizarem os dados obtidos somente para fins científicos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a identidade dos pacientes.

DECLARAÇÃO:

Eu, _____, fui informado(a) dos objetivos e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada, conforme especificados no "Convite para Participar do Estudo" (em anexo).

Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa durante o andamento da mesma.

O profissional _____ certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Fui informado(a) que minha participação no estudo é isenta de despesas, não acarretando qualquer custo com relação aos procedimentos laboratoriais efetuados com o estudo.

Quanto ao material genético (DNA) coletado para esta pesquisa, declaro que:

() autorizo seu armazenamento e utilização em outras pesquisas, aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, sem a necessidade de que o pesquisador responsável entre em contato comigo para obtenção de novo consentimento.

() autorizo seu armazenamento, sendo que a sua utilização em outras pesquisas, aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, somente poderá ocorrer se o pesquisador responsável entrar em contato comigo para obtenção de novo consentimento

() não autorizo o seu armazenamento.

Tenho a garantia, caso autorize o armazenamento do material genético (DNA), de que este será armazenado no Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre,

sob responsabilidade do Dr. Luiz Edmundo Mazzoleni, e será identificado por um número de amostra, sem nome, ficando a codificação sob responsabilidade da equipe de pesquisa.

Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

Porto Alegre, ____ de _____ de 200__.

Assinatura dos participantes:

PACIENTE

TESTEMUNHA (nos casos especiais)

INVESTIGADOR

ORIENTADOR / COORDENADOR DO PROJETO

Identificação dos pesquisadores responsáveis:

Dr. Luiz Edmundo Mazzoleni
Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre
R. Ramiro Barcelos, 2350
90035-003 – Porto Alegre – RS
e-mail:
Telefone: (51) 21018307

Daniel Simon

Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular - Universidade Luterana do Brasil

Av. Farroupilha, 8001 – Prédio 22 – 5 andar

92425-900 – Canoas – RS

e-mail: daniel.simon@ulbra.br

Telefone: 34774000 r. 2668 / (51) 9203 7607

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa intitulado **“Análise molecular da hipolactasia primária do tipo adulto em dispépticos funcionais e controles assintomáticos da região metropolitana de Porto Alegre: avaliação de cinco polimorfismos do gene da lactase-florizina hidrolase e sua associação com sintomas digestivos”**.

Nesta pesquisa, nosso grupo de pesquisadores do Hospital de Clínicas de Porto Alegre está interessado em estudar a intolerância à lactose (dificuldade em digerir leite e derivados), que é um problema muito frequente na população, e que é determinado geneticamente. Em alguns casos, os sintomas desta doença podem ser confundidos com outros distúrbios, como a dispepsia funcional (também conhecida entre os leigos como “má digestão”). Estas duas condições (intolerância à lactose e “má digestão”) podem ocorrer simultaneamente, ou em algumas situações, os sintomas de “má digestão” podem ser consequência da intolerância à lactose. Cientificamente, nada disso foi comprovado, o que torna importante a realização de pesquisas sobre o assunto.

Estamos convidando voluntários que não apresentem problemas digestivos, que farão parte do chamado grupo controle da pesquisa. Este convite está sendo feito para candidatos à doação de sangue do Hospital de Clínicas e para acompanhantes de pacientes dos ambulatórios do Hospital. A parte da pesquisa que incluiu pessoas com problemas digestivos já foi realizada. O objetivo da pesquisa é comparar as características genéticas do grupo controle com aquelas do grupo de indivíduos com sintomas digestivos. Caso concorde em participar, necessitamos a sua autorização para a coleta de uma amostra de sangue (para a realização dos testes genéticos de intolerância à lactose) e para a aplicação de um breve questionário. No caso dos voluntários que estiverem realizando doação de sangue, o sangue poderá ser obtido do material já coletado para a doação, não sendo necessária fazer nova coleta ou qualquer outro procedimento; o volume de

sangue utilizado na pesquisa não trará qualquer prejuízo na doação de sangue realizada.

O nosso interesse é realizar uma pesquisa nos seus genes que nos ajude a entender se você é portador de características genéticas que estão relacionadas com a intolerância à lactose. Em outras palavras, os genes representam o material das células do seu corpo que é responsável pela manifestação de uma determinada característica relacionada a ele. A forma de coletar este tipo de material é através da coleta de sangue.

Não haverá nenhum tipo de custo para você realizar o exame que faz parte desta pesquisa. A realização do exame pode provocar um pequeno desconforto doloroso pela punção (como se fosse uma injeção) para a coleta do sangue. Algumas vezes, o local onde a agulha penetrou pode ficar um pouco azulado e doloroso (presença de hematoma). Em cerca de uma semana, este desconforto (hematoma) deve desaparecer totalmente.

Caso você não desejar participar da pesquisa, terá total liberdade para optar desta forma, sem que isso prejudique a continuidade do seu acompanhamento médico no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, caso você já seja paciente deste hospital; o mesmo ocorrendo caso seja doador de sangue deste hospital.

Os médicos responsáveis estão à sua disposição para o esclarecimento de quaisquer dúvidas.

Você poderá optar para ser comunicado sobre o resultado dos exames que serão realizados no presente estudo, que poderá indicar se você pode ser intolerante à lactose ou não.

A assinatura deste termo de consentimento informado dará autorização aos pesquisadores do estudo de utilizarem os dados obtidos somente para fins científicos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a identidade dos pacientes.

Caso você tenha qualquer dúvida com relação a esta pesquisa, poderá entrar em contato com os pesquisadores devidamente

identificados no final deste Termo, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, que aprovou esta pesquisa, através do telefone 3359-7640.

Materiais biológicos, como o sangue coletado, são recursos importantes para a realização dos estudos. Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido poderá permitir o armazenamento da amostra coletada para utilização em pesquisas futuras relativas à dispepsia. Os resultados obtidos em outras análises a partir de sua amostra ficarão à sua disposição. Assim, seu consentimento pode ser retirado a qualquer momento; se você mudar de idéia, a amostra será descartada. Em nenhuma hipótese haverá quebra de sigilo quanto aos dados pessoais do paciente ou à liberação da amostra identificada para terceiros sem sua autorização.

Quanto ao material genético (DNA) coletado para esta pesquisa, declaro que:

() autorizo seu armazenamento e utilização em outras pesquisas, aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, sem a necessidade de que o pesquisador responsável entre em contato comigo para obtenção de novo consentimento.

() autorizo seu armazenamento, sendo que a sua utilização em outras pesquisas, aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, somente poderá ocorrer se o pesquisador responsável entrar em contato comigo para obtenção de novo consentimento

() não autorizo o seu armazenamento.

Tenho a garantia de que, caso autorize o armazenamento do material genético (DNA), este será identificado por um número de amostra, sem nome, ficando a codificação sob responsabilidade da equipe de pesquisa.

Com relação aos resultados dos exames para intolerância à lactose:

() Tenho interesse em saber dos resultados. Favor entrar em contato através de:

() telefone: _____

() ou e-mail: _____

Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

Porto Alegre, _____ de _____ de 201__.

Nome _____

Assinatura _____

TESTEMUNHA (nos casos especiais)

Nome _____

Assinatura _____

Nome do pesquisador _____

Assinatura do pesquisador _____

Pesquisadores:

Dra. Themis Reverbel da Silveira
Programa de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia
R. Ramiro Barcelos, 2400 2º andar
90035-003 – Porto Alegre – RS
e-mail: tsilveira@hcpa.ufrgs.br
Telefone: (51) 3359-8749

André Castagna Wortmann
Programa de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia e
Hepatologia
R. Ramiro Barcelos, 2400 2º andar
90035-003 – Porto Alegre – RS
e-mail: wortmanngastro@gmail.com
Telefone: (51) 9270-3245

Anexo I - Questionário de Sintomas Dispépticos

Com relação aos últimos 30 dias

DOR

Qual a intensidade da dor abdominal (superior) na maioria dos dias neste período?

()

0. Ausente
1. Muito leve
2. Leve
3. Moderada
4. Forte
5. Muito forte

Qual a duração da dor na maioria dos dias neste período? ()

0. Não se aplica
1. Alguns minutos (menos que 30 minutos)
2. Menor que 2 horas
3. Maior que 2 horas

Com que frequência os Sr./Sra. apresentou dor abdominal nos últimos 30 dias? ()

0. Não se aplica
1. Raramente
2. 1 a 2 dias/semana
3. Quase diariamente
4. Diariamente

ESCORE TOTAL DOR _____ (máximo 12 pontos)

NÁUSEAS/VÔMITOS

Qual a intensidade das náuseas na maioria dos dias deste período? ()

0. Ausente
1. Muito leve
2. Leve
3. Moderada
4. Forte
5. Muito forte

Qual a duração aproximada da maioria dos episódios de náuseas? ()

0. Não se aplica
1. Alguns minutos (menos que 30 minutos)
2. Menor que 2 horas
3. Maior que 2 horas

Com que frequência o Sr./Sra. apresentou náuseas nos últimos 30 dias? ()

0. Não se aplica
1. Raramente
2. 1 a 2 dias/semana
3. Quase diariamente
4. Diariamente

Com que frequência o Sr./Sra. apresentou vômitos nos últimos 30 dias? ()

0. Não se aplica
1. Raramente
2. 1 a 2 dias/semana
3. Quase diariamente
4. Diariamente

ESCORE TOTAL NÁUSEAS/VÔMITOS: _____ (máximo 16 pontos)

DISTENSÃO/SACIEDADE

Qual a intensidade da sensação de distensão (“estufamento”/inchaço) nos últimos 30 dias? ()

0. Ausente
1. Muito leve
2. Leve
3. Moderada
4. Forte
5. Muito forte

Qual a duração destes episódios nestes períodos? ()

0. Não se aplica
1. Alguns minutos (menos que 30 minutos)
2. Menor que 2 horas
3. Maior que 2 horas

Com que frequência os Sr./Sra. apresentou esses episódios de distensão/inchaço no abdômen superior nos últimos 30 dias? ()

0. Não se aplica
1. Raramente
2. 1 a 2 dias/semana
3. Quase diariamente
4. Diariamente

Com que frequência o Sr./Sra. apresentou sensação de estar com o estômago cheio logo após começar a comer, nos últimos 30 dias? ()

0. Sem saciedade precoce
1. Raramente
2. 1 a 2 dias/semana
3. Quase diariamente
4. Diariamente

ESCORE TOTAL DISTENSÃO/SACIEDADE _____ (máximo 16 pontos)

PONTUAÇÃO TOTAL DOS SINTOMAS DISPÉPTICOS: _____ (máximo 44 pontos)

Análise molecular da hipolactasia primária do tipo adulto: uma nova visão do diagnóstico de um problema antigo e frequente

Molecular analysis of adult-type hypolactasia: a new view into the diagnosis of an old frequent condition

André Castagna Wortmann¹, Daniel Simon², Themis Reverbel da Silveira³

RESUMO

A intolerância ao leite de vaca e seus derivados acomete grande parte da população mundial. No Brasil, também se observa elevada prevalência dessa condição. A principal causa de intolerância à lactose é a Hipolactasia Primária do Tipo Adulto (HPTA), uma condição determinada geneticamente e que se caracteriza pela redução da atividade da enzima lactase a partir dos primeiros anos de vida. As bases genéticas da HPTA estão relacionadas à identificação de polimorfismos de nucleotídeo único na região promotora do gene LCT (que codifica a lactase). Conforme o genótipo, haverá persistência ou não da atividade desta enzima na idade adulta. No presente artigo, são abordados aspectos clínicos e diagnósticos desta frequente condição, à luz dos conhecimentos atuais de suas bases genético-moleculares. Os autores ressaltam a importância da análise molecular da HPTA na estratégia atual de investigação diagnóstica frente a sintomas de intolerância à lactose.

UNITERMOS: Lactase, Intolerância à Lactose, Diagnóstico, Técnicas de Diagnóstico Molecular, Polimorfismo de Nucleotídeo Único.

ABSTRACT

Intolerance to cow's milk and its derivatives affects a great part of the world's population. In Brazil, there is also a high prevalence of this condition. The main cause of lactose intolerance is primary hypolactasia (or adult-type hypolactasia - ATH), a genetically determined condition characterized by reduction of lactase activity from the first years of life. The genetic basis of ATH is related to the identification of single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the LCT gene (encoding lactase). Depending on genotype, the activity of this enzyme will persist or not into adulthood. In this article, clinical and diagnostic aspects of this condition are discussed in light of current knowledge of its molecular genetic bases. The authors emphasize the importance of molecular analysis of ATH in the current strategy of diagnostic investigation upon symptoms of lactose intolerance.

KEYWORDS: Lactase, Lactose Intolerance, Diagnosis, Molecular Diagnostic Techniques, Single Nucleotide Polymorphism.

INTRODUÇÃO

A lactose é um dissacarídeo presente no leite de mamíferos. Na espécie humana, o processo de digestão da lactose é realizado pela lactase-florizina hidrolase (LPH), comumente chamada de lactase (1). Esta enzima hidrolisa a molécula de lactose em dois monossacarídeos: a galactose

e a glicose. A lactase encontra-se presente na extremidade das vilosidades da mucosa do intestino delgado e possui fundamental importância no metabolismo da lactose, uma vez que as moléculas de lactose intactas não são absorvidas pelas células intestinais (1).

O gene da lactase humana, denominado gene *LCT*, está localizado no braço longo do cromossomo 2, mais

¹ Mestrado. Médico Gastroenterologista. Aluno de Doutorado do Programa de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

² Doutor. Professor do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA).

³ Doutora. Professora do Curso de Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da UFRGS. Diretora Médica do Hospital da Criança Santo Antônio.

especificamente no *locus* 2q21; possui 17 exons, ao longo de aproximadamente 55 kb (2). Este gene é expresso somente pelos enterócitos, e codifica um polipeptídeo formado por 1972 aminoácidos. A lactase é sintetizada inicialmente sob a forma de um peptídeo precursor com 210-220 kDa pelos enterócitos, e sofre glicosilação e clivagem, originando um dímero de 160 kDa, que passa a se localizar na membrana das células da borda em escova da mucosa intestinal (1, 3).

A Hipolactasia Primária do Tipo Adulto (HPTA) é a principal causa de intolerância à lactose. Trata-se de uma condição determinada geneticamente, que acomete cerca de 75% da população mundial (2, 4). O diagnóstico da intolerância à lactose costuma ser estabelecido através de testes que avaliam a absorção da lactose, como o teste do hidrogênio expirado e a curva glicêmica. Sabe-se hoje que a atividade da lactase na fase adulta está associada a polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), localizados próximo ao gene *LCT*, cujos genótipos podem ser identificados através de técnicas de biologia molecular (5). Com base nesses conhecimentos, a análise molecular da HPTA surgiu como uma ferramenta diagnóstica inovadora na investigação da intolerância à lactose (6).

REVISÃO DA LITERATURA

Lactose e lactase: aspectos fisiopatológicos

A lactase é extremamente importante para a sobrevivência dos mamíferos, uma vez que o leite é o alimento essencial dos recém-nascidos. Fisiologicamente, a lactase já se encontra presente em fetos durante a gestação, observando-se um progressivo aumento de sua atividade até o termo, sendo que os níveis desta enzima no recém-nascido equivalem àqueles observados em crianças com um ano de idade (2, 7). Em seres humanos, até os 2 anos de idade, há uma elevada produção de lactase, em quantidade suficiente para digerir a lactose ingerida. A partir desta faixa etária, observa-se um progressivo declínio da atividade desta enzima mais pronunciado durante a infância e a adolescência, quando chega a atingir apenas 5% a 10% daqueles níveis apresentados ao nascimento, configurando um estado de hipolactasia ou não persistência da lactase (7, 8). Esse tipo de fenômeno caracteriza a HPTA.

Uma vez que a digestão e a absorção da lactose são prejudicadas, a lactose não hidrolisada tem atividade osmótica na luz intestinal, estimulando o trânsito. Após fermentação da lactose pelas bactérias anaeróbicas colônicas, ocorre produção de ácidos orgânicos de cadeia curta e liberação de gases, como hidrogênio, dióxido de carbono, nitrogênio e metano. Esses gases, em sua maior parte, são eliminados como flatos, sendo também absorvidos e eliminados através da expiração (6, 9, 10). Esses princípios constituem o racional de alguns métodos diagnósticos, como o teste do hidrogênio expirado e outros métodos de medicina nuclear.

A capacidade de digerir e absorver a lactose depende, além da atividade da lactase presente na mucosa intestinal, de outras variáveis como a quantidade de lactose ingerida, da sua ingestão em jejum ou concomitante com outros alimentos, do tipo de alimento ingerido, e da capacidade fermentativa das bactérias que compõem a microbiota intestinal (9, 11).

Conceitos importantes

Os termos hipolactasia, intolerância à lactose e má absorção de lactose são frequentemente empregados de forma equivocada como sinônimos, fazendo-se necessária a sua adequada conceitualização.

O termo hipolactasia se refere à diminuição da atividade da enzima lactase, podendo se tratar de uma condição primária ou secundária. Existem dois tipos de hipolactasia primária: a HPTA e a Hipolactasia Congênita (um tipo raro de deficiência congênita de lactase). Por sua vez, a hipolactasia secundária é decorrente do acometimento da mucosa do intestino delgado em condições, como gastroenterite aguda, giardíase, doença celíaca, doenças inflamatórias intestinais, entre outras. A má absorção de lactose consiste na dificuldade de digerir e/ou absorver a lactose, independentemente da causa que a determinou; trata-se de um fenômeno constatado através de exames complementares que detectam alterações no metabolismo da lactose. E a intolerância à lactose é uma entidade caracterizada pela presença de sintomas digestivos provocados pela ingestão de leite de vaca e/ou seus derivados.

Aspectos genéticos da hipolactasia primária do tipo adulto

A persistência ou não da atividade da lactase na vida adulta é determinada geneticamente. O estado "lactase persistente" é determinado por padrão de transmissão autossômico dominante, enquanto que a "não persistência" (ou hipolactasia) tem herança autossômica recessiva (2). Assim, os indivíduos homo ou heterozigotos para o alelo dominante são absorvedores de lactose, enquanto os homozigotos para o alelo recessivo têm fenótipo não absorvedor de lactose.

Sabe-se hoje, ao contrário do que se pensou durante muitos anos, que o fenótipo "lactase não persistente", que corresponde à HPTA, é o tipo ancestral, enquanto a persistência da atividade da lactase é decorrente de uma mutação (2, 9). Esses diferentes fenótipos estão associados a alguns polimorfismos genéticos localizados a uma distância de milhares de pares de bases *upstream* ao gene *LCT*, mais precisamente no gene *MCM6*. Em 2002, foram descritos dois polimorfismos de nucleotídeo único ("SNPs", do termo inglês "*Single Nucleotide polymorphism*") associados à HPTA em estudos conduzidos na Finlândia (5, 12). Posteriormente, estes achados foram observados também em populações com características étnicas distintas nos diferentes continentes, inclusive através de estudos feitos no Brasil (13 - 16).

O principal polimorfismo, denominado polimorfismo C/T-13910, está localizado na posição -13910 *upstream* ao gene *LCT* e envolve as bases C e T; resulta no estado "lactase não persistente" (HPTA) quando o alelo C está em homozigose (genótipo CC, o qual possui penetrância de 100%) (5). O outro polimorfismo (G/A-22018) está localizado na posição -22018 da região promotora do gene *LCT*, e confere um fenótipo compatível com a HPTA em mais de 95% dos casos quando ocorre a presença de dois alelos G em homozigose (5). De maneira inversa, a presença dos alelos T -13910 e A -22018 está associada com o fenótipo compatível com a persistência da atividade da lactase na fase adulta. A Tabela 1 ilustra os genótipos dos polimorfismos C/T-13910 e G/A -22018 e os respectivos fenótipos.

Cabe, no entanto, comentar que, segundo alguns autores, os heterozigotos CT do SNP-13910 e GA -22018 possuíam atividade intermediária de lactase (17-19). Estes indivíduos seriam mais suscetíveis a desenvolver intolerância à lactose secundária a eventuais eventos associados à lesão da mucosa intestinal (2, 17, 19).

Historicamente, a distribuição geográfica do traço "lactase-persistente" nas populações está relacionada a fatores culturais, particularmente associada a atividades relacionadas à criação de gado e à produção e ao consumo do leite e seus derivados (2, 17, 19). Geograficamente, sabe-se hoje que este fenótipo, "lactase-persistente", é observado em maior frequência em populações caucasoides descendentes de povos do norte europeu, onde, há cerca de 10.000 anos, foi introduzida a atividade pecuária, com produção e consumo de leite e seus derivados (20). Em contraste, em regiões onde as populações dependiam fundamentalmente da agricultura no passado, esse fenótipo é infrequente (2, 6, 9). Além dos polimorfismos C/T-13910 e G/A-22018, outros três polimorfismos associados à HPTA foram identificados, em indivíduos africanos, por Tishkoff *et al.*: G/C-14010, T/G-13915 e C/G-13907 (21).

Considerando o alto grau de miscigenação da população brasileira (22), e o fato de que, até o presente momento, os dados epidemiológicos são escassos e restritos aos polimorfismos C/T-13910 e G/A-22018 (13, 15), a pesquisa

dos polimorfismos descritos na África em nosso meio merece ser investigada.

Magnitude do problema: a prevalência da hipolactasia primária do tipo adulto em diferentes populações

A HPTA é uma condição de elevada prevalência no mundo, variando de acordo com as características étnicas da população nos diferentes países (6). Em países do norte europeu, esta condição está presente em cerca de 5% da população em geral, com baixa prevalência observada em populações de origem caucasóide do norte europeu e seus descendentes na América do Norte e Oceania. A maioria dos indivíduos de populações do sul da Europa e região mediterrânea (habitantes do sul da Itália, gregos e judeus) é hipolactásica (23). Observam-se maiores taxas de prevalência de HPTA no continente africano e também em populações de nativos das Américas. A prevalência de HPTA se aproxima de 100% em alguns países da Ásia e do Oriente Médio.

No Brasil, os estudos existentes confirmam os achados de variações na prevalência em relação à etnia dos indivíduos (13, 24-30). No entanto, constata-se a utilização de diferentes métodos diagnósticos, conforme ilustra a Tabela 2.

Sevá-Pereira e Beiguelman estudaram 80 indivíduos saudáveis da região Sudeste com a realização do teste de tolerância à lactose, e encontraram uma prevalência de má absorção da lactose em 71% na amostra. Foram observadas diferenças da prevalência quanto à raça: 50% nos indivíduos caucasóides, 85% nos negróides e 100% nos mongolóides (24). Sparvoli encontrou uma prevalência de 75,7% de má absorção de lactose em indivíduos nordestinos que residiam no Rio Grande do Sul, e, em um estudo posterior, também observou diferenças da prevalência nos diferentes grupos étnicos estudados (28, 29). No Rio Grande do Sul, Pretto e colaboradores avaliaram a prevalência da má absorção de lactose através do teste do hidrogênio expirado, encontrando uma prevalência de 8,4% em uma amostra de escolares com idade entre 8 e 18 anos; a prevalência nos indivíduos de cor branca foi de 5,2%, contrastando com a de 15,5%, observada em não brancos (27). Um estudo conduzido por Alves e colaboradores, em crianças índias Terenas, encontrou uma prevalência de 89,3% (26).

Em uma amostra de 115 indivíduos com suspeita clínica de intolerância à lactose, Escoboza e colaboradores encontraram uma prevalência de hipolactasia primária do tipo adulto em 60,8%, através da análise imuno-histoquímica de biópsias intestinais endoscópicas. Quando analisada a cor dos indivíduos, a prevalência foi de 53,2% nos brancos, e de 91,3% nos não brancos (25). Recentemente, Mattar *et al.* avaliaram a frequência do polimorfismo C/T-13910 em 567 brasileiros, assintomáticos ou dispépticos, encontrando uma prevalência de hipolactasia primária do tipo adulto em cerca de 57% dos indivíduos brancos, 57% dos mulatos, 80% dos negros e 100% dos descendentes de japoneses (13).

Tabela 1 – Polimorfismos do gene da lactase-florizina hidrolase, genótipos e implicações quanto à atividade da lactase.

Polimorfismo / Genótipo	Atividade da lactase
<i>C/T-13910</i>	
CC	Lactase não persistente (HIPOLACTASIA)
CT	Lactase persistente*
TT	Lactase persistente
<i>G/A-22018</i>	
GG	Lactase não persistente (HIPOLACTASIA)
GA	Lactase persistente*
AA	Lactase persistente

* ver comentário no texto a seguir.

Tabela 2 – Prevalência de HPTA, má absorção e intolerância à lactose no Brasil.

Autor / Ano / (#referência bibliográfica)	Método diagnóstico	Prevalência (%)	Etnia/cor	N	Faixa etária (anos)	Região do país
Sevá-Pereira 1982 (24)	Teste de tolerância  lactose	45 85 100	Caucasoides Negroides Mongoloides	80	20 - 52	Sudeste
Sparvoli 1989 (29)	Teste de tolerância  lactose	75,7	Tri-híbridos (Caucasoides Negroides Mongoloides)	37	18 - 59	Nordeste
Sparvoli 1990 (28)	Teste de tolerância  lactose	46 73	Caucasoides Negroides	70	19 - 59	Sul
Pretto 2002 (27)	Teste do hidrogênio expirado	5,2 15,5	Branca Não branca	225	8 - 18	Sul
Alves 2002 (26)	Teste do hidrogênio expirado	89,3	Indigenas	251	0 - 10	Centro-Oeste
Escoboza 2004 (25)	Imuno-histoquímica de biópsias intestinais (endoscópicas)	53,2 91,3	Branca Não branca	115	5 - 60	Sudeste
Pereira-Filho 2004 (30)	Teste de tolerância  lactose	44,1	Não mencionada	1088	0 a > 60 (limite máximo não informado)	Sul
Mattar 2009 (13)	Teste genético (SNP C/T-13910)	57 57 80 100	Branca Mulatos Negra Orientais	567	Idade mdia=42,1 (\pm 16,8) Limites não informados	Sudeste

História natural da intolerância  lactose

Nem todos os indivíduos com genótipos compatíveis com HPTA manifestam comprometimento da capacidade de absorver a lactose. Foram observadas diferenças na história natural dessa condio de acordo com características étnicas. Enquanto chineses e japoneses perdem 80 a 90% da atividade da lactase em até 4 anos após o desmame, populaes asiáticas de outras tnias e judeus podem manter até 20 a 30% da atividade desta enzima, levando vários anos até atingir o seu nadir (9). Por outro lado, em países do norte da Europa, verificou-se que esse fenômeno pode demorar cerca de 18 a 20 anos (2). Além disso, Goldring e Di Stefano também observaram prevalências de má absoro de lactose mais elevadas em adultos com idade mais avançada, particularmente a partir dos 60 e dos 74 anos, respectivamente (31, 32).

Manifestaes clínicas de intolerância  lactose

A suspeita clínica de intolerância  lactose costuma ser estabelecida a partir da observao de que a ingestão de leite e/ou seus derivados desencadeia a presença de manifestaes clínicas, as quais estão listadas no Quadro 1.

O espectro de manifestaes clínicas associadas  intolerância  lactose inclui sintomas como desconforto abdominal, sensao de distensão abdominal, dor abdominal tipo cólicas, flatulência, diarreia, borborigmos e eliminao de "fezes ácidas" (19, 23, 33, 34). Náuseas e vômitos também podem

estar presentes (19). Segundo Levvit, queixas relacionadas  produo de gás (sensao de distensão abdominal, dor abdominal e flatulência) são mais frequentes que diarreia (23). Outra observao interessante, feita por Matthews e colaboradores em sua casutica de 133 pacientes, foi que 30% dos intolerantes  lactose relatavam história de constipao (19).

Os sintomas de intolerância  lactose podem comprometer a qualidade de vida de crianças, adolescentes e adultos acometidos, mas não costumam acarretar morbidade significativa (9, 11). Também estão descritas algumas manifestaes sistmicas associadas  intolerância  lactose, conforme ilustra o Quadro 2.

No entanto, o conceito de "intolerância sistmica  lactose"  controverso (20). Lomer e colaboradores ponderam que a associao entre a intolerância  lactose e as manifestaes sistmicas pode ser meramente casual, e consideram que alguns sintomas teriam sido equivocadamente atribuídos  intolerância  lactose. Na verdade, tais manifestaes podem ser decorrentes de uma outra condio, que  a alerga  proteína do leite de vaca, a qual pode coexistir com a intolerância  lactose em 20% dos casos (9); cabe ressaltar que esse diagnóstico  raro em adultos.

Aspectos práticos do manejo clínico da intolerância  lactose

Considerando a elevada prevalência global da HPTA, suas variaes de acordo com as características étnicas e o

Quadro 1 – Manifestações clínicas frequentes de intolerância à lactose.

Manifestações clínicas de intolerância à lactose
Desconforto abdominal
Sensação de distensão abdominal
Dor abdominal tipo cólica
Flatulência
Diarreia
Borboríngos
Eliminação de "fezes ácidas"
Náuseas / vômitos
Constipação

Quadro 2 – Manifestações sistêmicas relatadas como associadas à intolerância à lactose – adaptada de Matthews e colaboradores (19)

Manifestações sistêmicas de intolerância à lactose
Cefaleia, tonturas
Queixas depressivas, diminuição de memória, dificuldade de concentração
Astenia
Eczemas cutâneos
Arritmias cardíacas
Mialgias, artralgias
Aumento da frequência miccional

padrão de transmissão genético, um breve questionamento sobre a ascendência étnica do paciente é de simples obtenção com a anamnese e pode ser útil para uma estimativa preliminar sobre a probabilidade de tratar-se de HPTA (23).

A expressão clínica da má absorção de lactose é extremamente variável. Muitos indivíduos com hipolactasia confirmada toleram a ingestão de diferentes quantidades de leite/derivados, sem apresentarem manifestações clínicas (35); na maioria dos casos, essa quantidade tolerada pode chegar até um a dois copos de leite durante o dia (sendo que um copo de 240 ml contém 11 g de lactose) (11). Em contraste, há pessoas que apresentam sintomas com a ingestão de apenas 2-3 g de lactose, como, por exemplo, a quantidade correspondente a uma barra de chocolate (36). Conforme mencionado anteriormente (9, 11), a quantidade de lactose ingerida é um dos fatores que contribui para a ocorrência de sintomas. Observa-se importante variação na concentração de lactose conforme o tipo de alimento ingerido (Tabela 3).

Outro problema bastante atual é a adição de lactose a muitos alimentos industrializados, sem que isso conste, necessariamente, em seus rótulos: a presença da chamada "lactose oculta" (9, 19, 20). Essa questão tem especial importância no manejo de pacientes intolerantes que apresentam sintomas com ingestão de pequena quantidade de lactose. Além disso, do ponto de vista epidemiológico, a questão da lactose oculta tem potencial implicação sobre a saúde de milhões de pessoas em todo o mundo, em função da elevada prevalência da HPTA. Merece menção também o fato de a lactose ser o excipiente utilizado na composição de inúmeros medicamentos (9, 37). Em especial, esse fato

Tabela 3 – Quantidade de lactose em diferentes alimentos – adaptada de Misselwitz e colaboradores (20)

Alimento	Medida	Conteúdo de lactose
Leite (baixo teor de gordura)	1 copo (250 ml)	13 g
Leite integral	1 copo (250 ml)	12 g
iogurte (baixo teor de gordura)	200 g	12 g
iogurte integral	200 g	9 g
Sorvete cremoso	50 g (2 bolas)	3 g
Queijo cremoso	30 g	0,1 g
Manteiga	1 colher de chá	0,03 g
Queijo tipo cheddar	30 g	0,02 g

deve ser lembrado quando do aconselhamento dos pacientes intolerantes à lactose, no que se refere à restrição da ingestão desse dissacarídeo, a qual comumente se limita às fontes dietéticas.

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

A Tabela 4 apresenta os principais métodos empregados na investigação da intolerância à lactose e salienta algumas peculiaridades importantes de cada um deles.

O teste da medida da atividade da lactase intestinal tem como maior limitação o seu caráter invasivo; o método originalmente descrito empregava biópsias jejunais, enquanto que o teste utilizado atualmente, cujo kit se chama "*Quick lactase test*", necessita da realização de endoscopia digestiva alta, com biópsias da segunda porção duodenal (38). Além disso, o fato de a lactase não se distribuir de maneira homogênea ao longo do intestino também prejudica a aceitação da utilização na prática clínica (39, 40).

O teste do hidrogênio expirado, apesar do seu caráter não invasivo e de ser muito valorizado em outros países, tem sua disponibilidade bastante restrita no Brasil (sendo utilizado principalmente no âmbito da pesquisa). Este método requer um aparelho de cromatografia gasosa e tem como desvantagens a necessidade de um rigoroso preparo prévio, um prolongado tempo ocupado para a sua realização (de 2 a 6 horas) e o fato de poder desencadear sintomas naqueles pacientes intolerantes à lactose (10, 41). O diagnóstico de má absorção de lactose é estabelecido quando a concentração do hidrogênio expirado aumenta em 20 partes por milhão (ppm) em relação aos valores basais; a sensibilidade varia de 80 a 92,3%, e a especificidade atinge 100%, com dose de 25 g de lactose (4). Além disso, é possível avaliar os sintomas após a administração de lactose.

A curva glicêmica, também chamada de teste de tolerância à lactose (TTL), é um método simples e amplamente disponível em nosso meio (4). No entanto, à semelhança do teste do hidrogênio expirado, demanda algumas horas para a sua execução e pode causar desagradáveis sintomas pela ingestão da lactose, além do inconveniente de neces-

Tabela 4 – Métodos diagnósticos para investigação de intolerância à lactose.

Método diagnóstico	Princípios / procedimentos	Significado do resultado alterado	Comentários
Curva glicêmica (Teste de tolerância à lactose)	Glicemia de jejum e dosagens seriadas após a administração de lactose	Má absorção de lactose	Não permitem distinguir intolerância à lactose decorrente da HPTA de intolerância à lactose secundária
Teste do hidrogênio expirado	Concentração do H ₂ no ar expirado em jejum e medidas seriadas após a administração de lactose	Má absorção de lactose	
Teste da atividade da lactase intestinal	Avalia a atividade da lactase na mucosa intestinal	Hipolactasia	Utilização na prática clínica restrita pelo seu caráter invasivo e pela heterogeneidade na distribuição de lactase na mucosa intestinal
Teste genético (Análise molecular da HPTA: SNPs C/T-13910 e G/A-22018)	Genotipagem dos polimorfismos da região promotora do gene LCT	HPTA	Genótipo compatível com HPTA não é sinônimo da presença de sintomas de intolerância à lactose (necessária correlação com informações clínicas)

sitar repetidas punções venosas para coleta de sangue, somadas a menores sensibilidade e especificidade (23). A má absorção da lactose é observada quando o pico de glicemia após a ingestão de lactose não excede em 20 a 25 mg/dl a glicemia de jejum, caracterizando a chamada “curva plana” (4). A dose convencional de lactose a ser ingerida tanto para o teste do hidrogênio expirado quanto para o TTL é de 50 g; atualmente, alguns autores recomendam a administração de uma dose menor (25 g) de lactose, a fim de reduzir os sintomas de intolerância desencadeados pela realização do exame (6).

Apesar de pouco utilizados na prática clínica, existem também outros métodos, como o teste de tolerância à lactose com etanol, e métodos de Medicina Nuclear, que empregam o carbono marcado (testes respiratórios com C13 ou C14) (6, 9, 42). Um novo método diagnóstico não invasivo, recém-apresentado por pesquisadores espanhóis, mostrou resultados animadores em um estudo multicêntrico, que incluiu mais de 200 pacientes. Trata-se do teste da galactosylxylose (ou gaxilose), um análogo sintético da lactose; essa molécula é clivada pela lactase intestinal, resultando em galactose e D-xylose, a qual é absorvida passivamente através da mucosa intestinal, sendo que a sua concentração sérica ou urinária pode ser determinada de forma bastante simples, por métodos colorimétricos (42). Neste recente estudo, os testes de gaxilose urinária e sanguínea foram avaliados em pacientes com sintomas de intolerância à lactose, e comparados com outros métodos diagnósticos (como o teste da medida da lactase intestinal, o teste do hidrogênio expirado, o TTL e o teste genético do SNP C/T-13910). Ambos os testes de gaxilose apresentaram excelentes sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo (todos acima de 90%) (42).

Os testes genéticos permitem o estabelecimento do diagnóstico de HPTA com a coleta de uma única amostra de sangue, a partir da qual é extraído DNA (4, 43, 44). Os SNPs associados à HPTA são identificados/genotipados através de técnicas de biologia molecular como PCR

em tempo real, PCR convencional com tratamento do produto do PCR por enzima de restrição (PCR-RFLP), além de sequenciamento genético (6, 45, 46).

Em estudos recentes, observou-se excelente correlação entre a análise molecular da HPTA com o teste do hidrogênio expirado, sugerindo que a análise molecular exerce um papel importante no diagnóstico atual da HPTA (16, 47-51). Pohl e colaboradores, em estudo que envolveu cerca de 200 pacientes, encontraram sensibilidade e especificidade do teste genético superiores a 95%, reforçando a impressão de que a análise molecular da HPTA tem condições de substituir o teste do hidrogênio expirado na investigação diagnóstica dessa condição (52). Apesar disso, alguns pesquisadores discordam, argumentando que o teste genético identifica indivíduos com as alterações genéticas predisponentes à má absorção de lactose, e que isso, na ausência de manifestações clínicas, não permite classificar esses indivíduos como intolerantes (17). Entretanto, deve-se levar em conta que o teste da medida da lactase a partir de biópsias intestinais também não permite qualquer avaliação referente aos sintomas de intolerância à lactose (50). O teste genético tem sua utilização justificada, na opinião dos autores da presente revisão, frente à forte suspeita clínica de intolerância à lactose primária, a partir dos 2 anos de idade.

Dificuldades na abordagem diagnóstica da intolerância à lactose

Algumas questões podem dificultar a abordagem diagnóstica frente à suspeita de intolerância à lactose, e confundir o clínico.

A subjetividade da percepção dos sintomas por parte dos pacientes é um dos fatores que interfere nas variações observadas no quadro clínico da intolerância à lactose (11), o que pode dificultar a avaliação clínica. Cabe comentar que a avaliação da relação causal entre a ingestão de leite/derivados e o desencadeamento dos sintomas está sujeita

a um forte componente de subjetividade (20). Assim, na prática clínica, pode-se ter dificuldade em obter uma informação fidedigna que reflita um estado de má absorção da lactose somente pela anamnese. A percepção dos pacientes de que os sintomas são desencadeados pela ingestão de lactose pode não se confirmar com a investigação de má absorção de lactose (23, 53). Nesse caso, a ausência de má absorção de lactose descarta a suspeita de intolerância à lactose.

A constatação da má absorção de lactose através de exames complementares, sem que, no entanto, os sintomas sejam desencadeados pela ingestão de leite/derivados é uma situação que merece ser comentada. Segundo alguns autores, isso pode refletir o fato de que a dose de 50 g de lactose para a realização tanto do TTL quanto do teste do hidrogênio expirado (utilizada com frequência até recentemente) é superior à quantidade de lactose ingerida em tomada única pela maioria da população (6, 10). Isso reforça a necessidade de valorizar as informações clínicas quando da elaboração das hipóteses diagnósticas e consequente condução da investigação, pois uma investigação deflagrada equivocadamente pode gerar novos fatores de confusão que dificultarão o estabelecimento do diagnóstico (54, 55).

O clínico deve manter em mente que a suspeita do diagnóstico de intolerância à lactose deve ser embasada não só pela presença de manifestações clínicas compatíveis, mas também pela observação de que as mesmas apresentam aparente associação com a ingestão de leite/derivados.

A importância do diagnóstico diferencial: hipolactasia primária do tipo adulto versus hipolactasia secundária a outras condições

Na prática clínica, quando diante de um paciente com sintomas sugestivos de intolerância à lactose, o mais importante é diferenciar a HPTA de outras condições que possam causar hipolactasia secundária (20). Condições clínicas relativamente comuns, como parasitoses intestinais e gastroenterites agudas, as quais têm particular importância em países em desenvolvimento, podem levar à diminuição da lactase secundariamente ao acometimento da mucosa intestinal (56). De forma semelhante, outras condições menos frequentes mas igualmente importantes, como o supercrescimento bacteriano intestinal, a doença celíaca e as doenças inflamatórias intestinais (D.I.I.) também podem determinar hipolactasia secundária (20, 57); mais raramente, a redução da capacidade absorptiva ou da expressão da lactase intestinal pode ser decorrente de cirurgias gastrointestinais, síndrome do intestino curto, enterite actínica, ou uso de medicações (20). Em todas essas situações, os exames que detectam a má absorção de lactose (como, por exemplo, o teste do hidrogênio expirado e o TTL) podem revelar resultados alterados, como consequência do estado de hipolactasia secundária. Considerando que as condições infectoparasitárias têm caráter transitório, e que o manejo terapêutico específico da doença celíaca e das D.I.I. pode corrigir a hipolactasia, essas

condições possuem implicações prognósticas e terapêuticas distintas em relação à HPTA.

É importante lembrar ainda que, diante do caráter inespecífico das suas manifestações clínicas, a intolerância à lactose pode ser confundida, ou coexistir, com dois frequentes transtornos funcionais do aparelho digestivo: a dispepsia funcional e a síndrome do intestino irritável (13, 15, 58-60). Isso se torna especialmente relevante na prática clínica devido à elevada prevalência tanto da intolerância à lactose quanto desses transtornos funcionais, podendo trazer dificuldades no diagnóstico e na abordagem terapêutica desses pacientes.

COMENTÁRIOS FINAIS

1. A HPTA acomete grande parte da população mundial. A maior parte dos indivíduos com HPTA irá se manifestar como intolerante à lactose até a vida adulta. Diferenças na prevalência desta condição estão relacionadas à etnia dos indivíduos. No Rio Grande do Sul, uma parcela significativa da população possui intolerância à lactose.

2. É importante diferenciar a intolerância à lactose primária (causada pela HPTA) da intolerância à lactose secundária a doenças com acometimento da mucosa intestinal.

3. A incorporação da análise molecular da HPTA como teste diagnóstico frente à suspeita de intolerância à lactose é recente e tem crescente potencial de utilização. Permite estabelecer este diagnóstico de forma simples e pouco invasiva.

4. Os testes genéticos que contemplam a genotipagem dos polimorfismos C/T-13910 e/ou G/A-22018 são suficientes para o diagnóstico de HPTA em populações caucásicas. A genotipagem dos demais polimorfismos descritos merece ainda maior investigação no âmbito da pesquisa clínica, particularmente em indivíduos afrodescendentes.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e CAPES.

REFERÊNCIAS

1. Troelsen, JT. Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1723(1-3):19-32.
2. Swallow DM. Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Ann Rev Genet*. 2003;37:197-219.
3. Naim HY, Sterchi EE, Lentze MJ. Biosynthesis and maturation of lactase-phlorizin hydrolase in the human small intestinal epithelial cells. *Bioch J*. 1987;241(2):427-434.
4. Mattar R, Mazzo DFC. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. *Rev Assoc Med Brás*. 2010; 56(2):230-236.
5. Enattah NS, Sahi T, Savilähti E, Terviliger JD, Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *at Genet*. 2002;30(2):233-7.
6. Mattar R, Mazzo DFC, Carilho FJ. Lactose intolerance: diagnosis, genetic, and clinical factors. *Clin Exp Gastroenterol*. 2012;5:113-21.
7. Wang Y, Harvey CB, Hollox EJ, Phillips AD, Poulter M, Clay P, Walter-Smith JA, Swallow DM. Genetically programmed down-regulation of lactase in children. *Gastroenterology*. 1998;114(6):1230-6.

8. Simoons-Swift FJ. Age of onset of lactose malabsorption. *Pediatrics*. 1980;66(4):646-8.
9. Lomer MC, Parkes GC, Sanderson JD. Review article: Lactose intolerance in clinical practice-myths and realities. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;22(2):93-103.
10. Romagnuolo JD, Schaller D, Bailey RJ. Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(5):1113-26.
11. Suchy FJ, Brannon PM, Carpenter TC, Fernandez JR, Gilsanz V, Gould JB, et al. National Institutes of Health Consensus Development Conference: lactose intolerance and health. *Ann Intern Med*. 2010;152(12):792-6.
12. Poulter M, Hollox E, Harvey CB, Mulcare C, Peuhkuri K, Kajander K, et al. The causal element for the lactase persistence/non-persistence polymorphism is located in a 1 Mb region of linkage disequilibrium in Europeans. *Ann Hum Genet*. 2003;67(4):298-311.
13. Mattar R, Monteiro MS, Villares CA, Santos AF, Silva JM, Carrilho FJ. Frequency of LCT-13910C>T single nucleotide polymorphism associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Brazilians of different ethnic groups. *Nutr J*. 2009;8:46.
14. Mattar R, Monteiro MS, Villares CA, Santos AF, Carrilho FJ. Single nucleotide polymorphism C/T-13910, located upstream of the lactase gene, associated with adult-type hypolactasia: validation for clinical practice. *Clin Biochem*. 2008;41(7-8):628-30.
15. Bernardes-Silva CF, Pereira AC, Mota GFA, Krieger JE, Laudanna AA. Lactase persistence/non-persistence variants, C/T-13910 and G/A-22018, as a diagnostic tool for lactose intolerance in IBS patients. *Clin Chim Acta*. 2007;386(1-2):7-11.
16. Bulhões AC, Goldani HA, Oliveira FS, Matte US, Mazzuca RB, Silveira TR. 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. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(11):1441-6.
17. Di Stefano M, Terulla V, Tana P, Mazzocchi S, Romero E, Corazza GR. Genetic test for lactase non-persistence and hydrogen breath test: is genotype better than phenotype to diagnose lactose malabsorption? *Dig Liver Dis*. 2009;41(7):474-9.
18. Enattah NS, Nielsen M, Lewinski R, Kuokkanen M, Rasinpera H, et al. Coelation of intestinal disaccharidase activities with the C/T-13910 variant and age. *World J Gastroenterol*. 2007;13(25):3508-12.
19. Matthews SB, Waud JP, Roberts AP, Campbell AK. Systemic lactose intolerance: a new perspective of an old problem. *Postgrad Med J*. 2005;81(953):167-73.
20. Misselwitz B, Pohl D, Fruhauf H, Fried M, Vavricka SR, Fox M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European Gastroenterology Journal*. June 2013; 1(3): 151-9.
21. Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman JS, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet*. 2007;39(1):31-40.
22. Pena SB, Bortolini MC. Pode a genética definir quem pode se beneficiar das cotas universitárias e demais ações afirmativas? *Estudos Avançados*. 2004;18(50):31-50.
23. Levitt MW, Wilt T, Shaikat A. Clinical Implications of Lactose Malabsorption versus Lactose Intolerance. *J Clin Gastroenterol*. 2013; 47(6): 471-80.
24. Seva-Pereira A, Beiguelman B. Primary adult hypolactasia in healthy Brazilian adult caucasoid, negroid and mongoloid subjects. *Arq Gastroenterol*. 1982;19(3):133-8.
25. Escoboza PM, Fernandes MI, Peres LC, Einerhand AW, Galvão LC. Adult-type hypolactasia: clinical, morphologic and functional characteristics in Brazilian patients at a University Hospital. *J Ped Gastroenterol Nutr*. 2004;39(4):361-5.
26. Alves GMS, Moraes MB, Fagundes Neto U. Nutritional status and breath hydrogen test with lactose and lactulose in Terena Indian children. *J Ped*. 2002; 78:113-19.
27. Pretto FM, Silveira TR, Menegaz V, Oliveira J. Má absorção de lactose em crianças e adolescentes: diagnóstico através do teste do hidrogênio expirado com o leite de vaca como substrato. *J Ped*. 2002;78(3):213-18.
28. Sparvoli AC. Malabsorção de lactose do adulto. Prevalência na população sulina. Aspectos genéticos e evolutivos do polimorfismo da atividade da lactase. Tese de Doutorado – Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). 1990. Campinas, SP. 134f.
29. Sparvoli AC. Malabsorção de lactose do adulto em uma população nordestina. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). 1989. Campinas, SP. 100f.
30. Pereira Filho D, Furlan SA. Prevalência de intolerância à lactose em função da faixa etária e do sexo. *Experiência do Laboratório Dona Francisca, Joinville-SC. Revista Saúde e Ambiente*. 2004;5(1):24-30.
31. Goulding A, Taylor RW, Keil D, Gold E, Lewis-Barned NJ, Williams SM. Lactose malabsorption and rate of bone loss in older women. *Age Ageing*. 1999;28(2):175-80.
32. Di Stefano M, Veneto G, Malservisi S, Strocchi A, Corazza GR. Lactose malabsorption in the elderly. *Scand J Gastroenterol*. 2001;36(12):1274-8.
33. Gugatschka M, Dobnig H, Fahrleitner-Pammer A, Pietschmann P, Kudlacek S, Strele A et al. Molecularly-defined lactose malabsorption, milk consumption and anthropometric differences in adult males. *QJM*. 2005;98(12):857-63.
34. Vesa TH, Marteau P, Korpela R. Lactose intolerance. *J Am Coll Nutr*. 2000;19(2 Suppl):165S-175S.
35. Vesa TH, Korpela RA, Sahi T. Tolerance to small amounts of lactose in lactose maldigesters. *Am J Clin Nutr*. 1996;64(2):197-201.
36. Suarez FL, Savaiano D, Arbis P, Levitt MD. Tolerance to the daily ingestion of two cups of milk by individuals claiming lactose intolerance. *Am J Clin Nutr*. 1997;65(2):1502-6.
37. Eadala P, Waud JP, Matthews SB, Green JT, Campbell AK. Quantifying the "hidden" lactose in drugs used for the treatment of gastrointestinal conditions. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(6):677-87.
38. Koukkanen M, Myllyniemi M, Vauhkonen M, Helske T, Kaariainen I, Karesvuo S et al. A biopsy-based quick test in the diagnosis of duodenal hypolactasia in upper gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy*. 2006;38(7):708-12.
39. Hovde O, Farup PG. A comparison of diagnostic tests for lactose malabsorption – which one is the best? *BMC Gastroenterol*. 2009;9:82.
40. Maiuri L, Raia V, Potter J, Swallow D, Ho MW, Fiocca R, et al. Mosaic pattern of lactase expression by villous enterocytes in human adult-type hypolactasia. *Gastroenterology*. 1991. 100(2):359-69.
41. Simren M, Sotzer PC. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut*. 2006;55(3):297-303.
42. Aragón JJ, Hermida C, Martínez-Costa OH, Sánchez V, Martín I, Sánchez JJ, et al. Noninvasive Diagnosis of Hypolactasia With 4-Galactosylxylose: A Multicentre, Open-Label, Phase IIB-III Non-randomized Trial. *J Clin Gastroenterol*. 2013; May 29 (versão online disponível previamente à publicação - acessado em 8/6/2013).
43. Schirru E, Corona V, Usai-Satta P, Scarpa M, Oppia F, Longa F, et al. Genetic testing improves the diagnosis of adult type hypolactasia in the Mediterranean population of Sardinia. *Eur J Clin Nutr*. 2007;61(10):1220-5.
44. Buning C, Genschel J, Jurga J, Fielder T, Voderholzer W, Fielder EM, et al. Introducing genetic testing for adult-type hypolactasia. *Digestion*. 2005;71(4):245-50.
45. Wortmann AC, Simon D, Mazzoleni LE, Sander GB, Lunge VR, Nabinger DD, et al. Molecular analysis of Adult Type Hypolactasia in patients with Functional Dyspepsia: evaluation of five associated single nucleotide polymorphisms. *Gastroenterology*. 2013;144(5) Suppl 1:S-683.
46. Ingram CJ, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekn A, Raga TC, et al. A novel polymorphism associated with lactose intolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet*. 2007;120(6):799-88.
47. Usai Satta P, Congia M, Schirru E, Scarpa M, Mura G. Genetic testing is ready to change the diagnostic scenario of lactose malabsorption. *Gut*. 2008;57(1):137-8; author reply 138.
48. Anthoni SR, Rasinpera HA, Kotamies AJ, Komu HA, Pihlajamäki HK, Kolho KL, et al. Molecularly defined adult-type hypolactasia among working age people with reference to milk consumption and gastrointestinal symptoms. *World J Gastroenterol*. 2007;13(8):1230-5.
49. Ridefelt P, Hakansson LD. Lactose intolerance: lactose tolerance test versus genotyping. *Scand J Gastroenterol*. 2005;40(7):822-6.
50. Hogenauer C, Hammer HF, Mellitzer K, Renner W, Krejs GJ, Toplak H. Evaluation of a new DNA test compared with the lactose hydrogen breath test for the diagnosis of lactose non-persistence. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005;17(3):371-6.

51. Rasinpera H, Savilahti E, Enattah NS, Kuokkanen M, Totterman N, Lindahl H, et al. A genetic test which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children. *Gut*. 2004;53(11):1571-6.
52. Pohl D, Savarino E, Hersberger M, Behlis Z, Stutz B, Goetze C, et al. Excellent agreement between genetic and hydrogen breath tests for lactase deficiency and the role of extended symptom assessment. *Br J Nutr*. 2010;104(6):900-7.
53. Casellas F, Aparici A, Casaus M, Rodriguez P, Malagelada JR. Subjective perception of lactose intolerance does not always indicate lactose malabsorption. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010; 8(7):581-6.
54. Suarez FL, Savaiano DA, Levitt MD. A comparison of symptoms after the consumption of milk or lactose-hydrolyzed milk by people with self-reported severe lactose intolerance. *N Engl J Med*. 1995;333(1):1-4.
55. Peuhkuri K, Vapaatalo H, Korpela R. Lactose intolerance - a confusing clinical diagnosis. *AM J Clin Nutr*. 2000;71(2):600-2.
56. Rana SV, Bhasin DK, Vinayak VK. Lactose hydrogen breath test in Giardia lamblia positive patients. *Dig Dis Sci*. 2005;50(2):259-61.
57. Ojetti V, Nucera G, Migneco A, Gabrielli M, Lauritano C, Danese S, et al. High prevalence of celiac disease in patients with lactose intolerance. *Digestion*. 2005;71(2):106-10.
58. Goldstein R, Bravermann D, Stankiewicz H. Carbohydrate malabsorption and the effect of dietary restriction on symptoms of irritable bowel syndrome and functional bowel complaints. *Isr Med Assoc J*. 2000;2(8):583-7.
59. Mischkin D, Sablauskas L, Yalovsky M, Mishkin S. Fructose and sorbitol malabsorption in ambulatory patients with functional dyspepsia: comparison with lactose maldigestion/malabsorption. *Dig Dis Sci*. 1997;42(12):2591-8.
60. Bohmer CJ, Tuynman HA. The clinical relevance of lactose malabsorption in irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1996. 8(10): 1013-6.

✉ Endereço para correspondência

André Castagna Wortmann

Rua Cel. Bordini, 830/503

90.440-003 – Porto Alegre, RS – Brasil

☎ (51) 3328-4681 / (51) 9270-3245

✉ wortmannastro@gmail.com

Recebido: 14/6/2013 – Aprovado: 17/6/2013