



Universidade Federal de Pelotas
Programa de Pós-graduação em Epidemiologia
Mestrado em Epidemiologia



**Intolerância à lactose: prevalência, determinantes e associação com
consumo de laticínios e osteoporose**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

FERNANDO PIRES HARTWIG

Pelotas, RS

Novembro de 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA

**INTOLERÂNCIA À LACTOSE: PREVALÊNCIA, DETERMINANTES E
ASSOCIAÇÃO COM CONSUMO DE LACTICÍNIOS E OSTEOPOROSE**

Mestrando: Fernando Pires Hartwig

Orientador: Cesar Gomes Victora

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas para obtenção do título de Mestre.

Pelotas, RS

Novembro de 2014

H337i Hartwig, Fernando Pires

Intolerância à lactose: : prevalência, determinantes e associação com consumo de laticínios e osteoporose / Fernando Pires Hartwig ; Cesar Gomes Victora, orientador. — Pelotas, 2014.

116 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Epidemiologia. 2. Intolerância à lactose. 3. Consumo de laticínios. 4. Osteoporose. I. Victora, Cesar Gomes, orient. II. Título.

CDD : 614.4

Elaborada por Elionara Giovana Rech CRB: 10/1693

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas para obtenção do título de mestre.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Fernando César Wehrmeister
Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Janaína dos Santos Motta
Universidade Católica de Pelotas

Prof. Dr. Cesar Gomes Victora (orientador)
Universidade Federal de Pelotas

Pelotas, 24 de novembro de 2014.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os colegas do Mestrado pelo empenho e dedicação na realização da pesquisa que originou a presente dissertação. Agradeço, também, pelos momentos de parceria e coleguismo, bem como pelos momentos mais turbulentos, que foram importantes no amadurecimento de todos. Certamente foi um privilégio e uma oportunidade de aprendizado muito grande ter convivido com vocês durante estes dois anos.

Agradeço a todos os professores do programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da UFPel (PPGE) por terem passado seus conhecimentos a mim e aos meus colegas de forma tão hábil.

Agradeço às professoras Elaine Tomasi, Helen Denise Gonçalves da Silva e Maria Cecília Formoso Assunção pela orientação e condução do consórcio, sempre buscando desenvolver nossa pró-atividade, empenho, rigor metodológico, consideração pelos entrevistados e capacidade de resolver problemas.

Agradeço aos professores Ana Maria Baptista Menezes, Fernando César Whermeister, Mariângela Freitas da Silveira e Pedro Curi Hallal pela oportunidade de participar em pesquisas paralelas às atividades do mestrado. Esta confiança que recebi de vocês foi fundamental para me motivar a ser pró-ativo e a amadurecer cientificamente, potencializando o aprendizado oriundo das aulas e do trabalho de campo.

Agradeço aos demais membros da equipe que compõe o PPGE. O bom-humor, a atenção e o trabalho de vocês sempre favoreceu um ambiente de trabalho mais leve, produtivo e prazeroso.

Agradeço aos professores e funcionários do curso de graduação em Biotecnologia da UFPel pela formação que me foi concedida e que foi fundamental para chegar até este momento. Agradeço ao grupo de pesquisa em oncologia, onde realizei iniciação científica e que me permitiu utilizar sua estrutura para as análises genéticas.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de estudos recebida ao longo destes dois anos.

Agradeço ao professor George Davey-Smith, da Universidade de Bristol, pelo generoso fornecimento de material que possibilitou a coleta de saliva para extração de material genético. Agradeço, também, pela colaboração em trabalhos que complementam os resultados aqui apresentados.

Agradeço ao professor Bernardo Lessa Horta pela revisão do projeto que é parte desta dissertação. Porém, agradeço principalmente por oportunizar minha participação em diversas pesquisas do grupo EPIGEN, as quais têm acrescentado muito à minha formação. São desafios, porém prazerosos de serem enfrentados, principalmente com tua orientação e confiança.

Agradeço imensamente ao professor Cesar Gomes Victora, que aceitou orientar um egresso de uma área um tanto quanto “diferente” do perfil geral dos alunos do PPGE. Agradeço pela paciência em me conduzir nesta até então nova área e pela confiança no meu trabalho, me concedendo liberdade para participar de outras pesquisas (que contaram, também, com tua orientação). Além de epidemiologia e estatística (em que teu brilhantismo é incontestável), me ensinaste a estabelecer as prioridades certas, a ser crítico, a questionar meus próprios métodos e a manter o bom-humor, a humildade e a humanidade. Foi um grande privilégio ter convivido e aprendido contigo, um dos maiores exemplos profissionais que já conheci.

Agradeço especialmente aos meus familiares, cujo apoio e amor incondicional estiveram presentes não só durante o Mestrado, mas durante toda a minha vida. Agradeço ao aporte material, psicológico, familiar e espiritual recebido dos meus pais Dari e Cynthia, e à amizade e companheirismo dos meus irmãos Marcelo e Felipe. Agradeço, também, à Marcelle, pela paciência, cumplicidade e apoio.

Agradeço, de forma póstuma, a minha avó Erna. Da sua maneira, ela acompanhou o início da jornada que resultou nesta dissertação. Ficam as lembranças e os ensinamentos desta pessoa humilde, batalhadora e carinhosa.

Agradeço aos demais que, direta ou indiretamente, contribuíram neste trabalho.

Agradeço principalmente a Deus, por me ter permitido chegar até este momento, e a ser uma pessoa realizada profissionalmente e feliz.

Apresentação

A presente dissertação de mestrado, exigência para obtenção do título de mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, é composto pelos seguintes itens:

1) Projeto de Pesquisa, apresentado e defendido no dia 11 de setembro de 2013, com incorporação das sugestões do revisor, professor Bernardo Lessa Horta.

2) Relatório do trabalho de campo, realizado pela turma do Consórcio de Mestrado 2013-14;

3) Artigo original *Self-perceived lactose intolerance and its association with sociodemographic characteristics, dairy intake and osteoporosis: a population-based cross-sectional study in Southern Brazilian elderly* a ser submetido para o periódico *PLOS ONE*;

4) Comunicado para a imprensa.

SUMÁRIO

1. Projeto de Pesquisa.....	9
2. Relatório do trabalho de campo	67
3. Artigo original.....	87
4. Comunicado para a imprensa	114

1 – Projeto de Pesquisa

SUMÁRIO

1. Introdução.....	12
1.1. Definição de termos	15
1.2. Revisão de literatura	16
1.2.1. Epidemiologia da hipolactasia	17
1.2.2. Intolerância à lactose: consumo de leite e desfechos em saúde.....	21
2. Objetivos.....	24
2.1. Objetivo geral.....	24
2.2. Objetivos específicos	24
3. Hipóteses.....	25
4. Justificativa	25
5. Modelo conceitual e marco teórico.....	27
5.1. Modelo conceitual	27
5.2. Explicação do modelo	27
6. Materiais e Métodos	29
6.1. Delineamento	29
6.2. População alvo.....	29
6.3. Critérios de inclusão e exclusão	30
6.4. Seleção da amostra	30
6.5. Definição operacional dos desfechos	30
6.6. Definição operacional das exposições	31
6.7. Cálculo do tamanho de amostra.....	31
7. Logística	39
7.1. Controle de qualidade	39
8. Coleta de DNA e análises laboratoriais.....	40
9. Aspectos éticos.....	40
10. Análise estatística	40
11. Financiamento.....	42
	10

12.	Cronograma	43
13.	Referências bibliográficas	43
14.	Apêndices	54
14.1.	Apêndice A. Randomização mendeliana: princípios e aplicações.....	54
14.2.	Apêndice B. Marco teórico.....	57
14.3.	Apêndice C. Instrumento de pesquisa	63

1. Introdução

As morbidades crônicas são entendidas hoje, de maneira geral, como condições resultantes de processos multicausais altamente complexos, onde a interação entre diversos fatores de diferentes níveis hierárquicos e de diferentes naturezas (biológicas, sociais e psicológicas), ao longo do tempo, é priorizada sobre teorias mais clássicas, tais como a busca por determinantes suficientes e/ou necessários de doenças. Neste sentido, fatores genéticos vêm recebendo atenção crescente como importantes componentes dos mecanismos causais de doenças ou outras condições de saúde, os quais apresentam grande potencial para explicar a variabilidade intra-populacional observada para, virtualmente, qualquer desfecho em saúde^{1,2}.

Pelo menos em termos teóricos, a genética apresenta um potencial importante na identificação precoce de indivíduos com maior predisposição ao desenvolvimento de doenças^{2,3}. Neste sentido, podem ser apontadas algumas das principais contribuições da epidemiologia genética para melhorias em saúde: o conhecimento de perfis genéticos associados à susceptibilidade a doenças pode ser traduzido em direcionamento de estratégias de prevenção primária a indivíduos com determinada bagagem genética; este mesmo conhecimento é importante no sentido de aumentar a compreensão das limitações das intervenções populacionais no combate a doenças, visto que a maioria destas (principalmente doenças não-comunicáveis) apresenta algum componente genético que pode apresentar efeitos independentes e/ou modificar o efeito de determinado fator de risco ou proteção⁴. Não obstante, alguns autores têm questionado até que ponto é possível prever a ocorrência da maioria das doenças com base em perfis genéticos⁵.

No que se refere ao risco de doenças, costuma-se creditar a influência da pré-disposição genética a um número reduzido de casos onde a doença apresenta um óbvio componente de herdabilidade, sendo estes casos chamados de familiares. Esta aparente pequena importância da genética é, para algumas doenças, desfeita quando efeitos mais moderados da genética são apropriadamente avaliados, bem como perfis genéticos mais abrangentes

(em lugar do estudo de apenas um ou dois marcadores genéticos) são considerados⁶. Neste sentido, as doenças entendidas como herdáveis representam uma pequena parcela do total de casos, na qual onde o indivíduo apresenta uma bagagem genética de alta penetrância, ou seja, altamente associada ao desfecho em questão independentemente de outras exposições. Nos casos esporádicos, a contribuição da genética se dá através de uma relação complexa entre perfis genéticos de baixa penetrância (dentre os quais se destacam os SNPs: *Single Nucleotide Polymorphisms*) e exposições ambientais, bem como as possíveis interações entre estes fatores. Apesar de perfis genéticos de baixa penetrância conferirem um risco reduzido a um indivíduo desenvolver determinada doença, fatores genéticos como SNPs ocorrem em maior frequência na população quando comparados a perfis genéticos de alta penetrância, o que os torna de grande interesse para o estudo da doença no âmbito epidemiológico².

Dentro da epidemiologia genética, uma condição muito interessante de ser estudada é a hipolactasia. Popularmente conhecida por intolerância à lactose, a hipolactasia caracteriza-se pela incapacidade de digerir a lactose, um dissacarídeo comum no leite e em seus derivados. A hipolactasia apresenta-se em três formas principais:

- 1) Hipolactasia adulta, que é a forma mais comum⁷;
- 2) Deficiência transitória de lactase, causada por injúrias agudas ao intestino delgado (incluindo gastroenterite, quimioterapias, parasitas intestinais e diarreia), geralmente ocorridas na infância;
- 3) Deficiência congênita de lactase, que é extremamente rara e incapacita o indivíduo a digerir a lactase desde o nascimento⁸.

O que caracteriza a doença (em todas as suas formas) é a perda de expressão da enzima lactase (codificada pelo gene *LCT*) nos enterócitos do intestino delgado. Esta enzima é responsável pela hidrólise da lactose em galactose e glicose, o que é essencial para o metabolismo deste açúcar⁹.

A hipolactasia adulta é extremamente prevalente no mundo inteiro, e compõe a maioria dos casos envolvendo persistência ou não de lactase¹⁰. Na verdade, a perda da atividade desta enzima após o desmame é programada geneticamente, o que resulta (ainda que o início e a intensidade desta perda sejam variáveis) na maioria das pessoas como apresentando algum nível de hipolactasia¹¹. Os sintomas mais comuns, mediante consumo de laticínios, são de origem gastrointestinal, caracterizados por distensão abdominal, flatulência, dores abdominais e diarreia. Estas manifestações são decorrentes da fermentação de lactose não digerida pela flora do cólon, produzindo hidrogênio, dióxido de carbono e metano¹². Os métodos diagnósticos mais comuns incluem o teste sanguíneo de tolerância à lactose e o teste de hidrogênio expirado (sendo este o método preferível), os quais requerem um preparo de pelo menos oito horas em jejum e evitar atividade física vigorosa no mesmo período. No teste de hidrogênio expirado, os níveis de hidrogênio expirados são comparados antes e após o consumo de uma dosagem específica de lactose, sendo que um aumento de menos de 12 partes por milhão é considerado normal¹³.

Um estudo publicado em 2002 alterou radicalmente o paradigma dos papéis da genética na hipolactasia. Neste estudo, dois SNPs presentes em uma região regulatória do gene *LCT* (denominados -13910C>T e -22018G>A) mostraram uma associação extremamente forte com hipolactasia, sendo que o primeiro foi completamente associado com a verificação bioquímica de não persistência de lactase em nove famílias finlandesas e uma amostra de 236 indivíduos de diferentes populações¹⁴. Esta nomenclatura se refere à posição do SNP em relação ao início do gene *LCT* (-13910 significando que o mesmo ocorre 13910 pares de bases antes da região codificante do gene), bem como os alelos detectáveis (C e T, sendo C – o alelo associado à hipolactasia - o mais prevalente).

A partir deste estudo, muitos outros foram realizados, sendo que todos corroboraram com os resultados originais. Trabalhos mais recentes vêm demonstrando a validade do teste genético analisando destas variantes (especialmente o SNP -13910C>T) como método diagnóstico definitivo em

diferentes populações, pois há uma grande concordância entre este método e o teste de hidrogênio expirado. No Brasil, um estudo envolvendo 10 indivíduos com hipolactasia auto-percebida e 10 indivíduos sem esta percepção (todos acima de 18 anos, sendo 18 do sexo feminino) demonstrou uma alta correlação entre os dois SNPs e o teste de hidrogênio expirado¹⁵. Estes resultados foram corroborados em outro estudo brasileiro, realizado em 40 pessoas com média de idade acima de 50 anos, composto por brancos e afrodescendentes¹⁶. É importante considerar que o SNP -22018G>A vem se mostrando mais adequado do que o -13910C>T na predição de intolerância a lactose em alguns grupos étnicos^{17,18}. A partir destes conhecimentos, a prevalência de hipolactasia no mundo vem sendo medida preferencialmente através de marcadores genéticos, e a compreensão sobre as populações e grupos étnicos de risco tem aumentado rapidamente^{17,18}. A população brasileira, por apresentar grande diversidade e miscigenação étnica, apresenta uma maior complexidade do estudo da hipolactasia, sendo que estudos recentes identificaram novos SNPs na mesma região dos SNPs -13910C>T e -22018G>A¹⁹.

Os estudos brasileiros sobre este tema são escassos e abordam amostras não representativas da população. No presente projeto, propõem-se a realização de um estudo de base populacional em adultos com 60 anos ou mais para a aferição de sintomas e marcadores genéticos relacionados à hipolactasia.

1.1. Definição de termos

Hipolactasia – incapacidade de produzir (ou redução na produção) da enzima lactase.

Má absorção de lactose – consequência direta da hipolactasia, que pode ou não ser percebida pelo indivíduo, sendo diagnosticado pelo teste do hidrogênio expirado ou por teste genético.

Intolerância auto-percebida à lactose – percepção que um indivíduo tem quanto a sua capacidade de absorver lactose, podendo ou não concordar com seus status de absorção deste açúcar.

Perfil genético – características do DNA que variam entre indivíduos; apesar de não ser necessário, em geral refere-se a características herdáveis (presentes nas células germinativas, que originam os gametas).

Penetrância – o quanto um perfil genético encontra-se associado a um fenótipo ou desfecho.

Genoma – conjunto de sequências de DNA de uma espécie, geralmente considerando os aspectos funcionais das mesmas.

Cromossomo – molécula de DNA linear; em seres humanos, cada cromossomo diferente (com exceção dos cromossomos sexuais) ocorre em pares (chamados alelos), exceto para os gametas.

Locus (plural *loci*) – posição específica em um dado cromossomo, podendo representar a localização de um gene ou mesmo de um único par de bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina ou guanina).

Alelos – Formas variantes detectáveis em um *locus*.

SNP – um tipo de variação genética germinativa que consiste de uma posição em um cromossomo em que os alelos consistem de uma variação de um único par de bases na população, a qual deve ocorrer a uma taxa de pelo menos 1% para assim serem consideradas polimórficas.

Haplótipo – é um conjunto de alelos presentes em uma série de conectados, de modo que uma pessoa tem dois haplótipos para uma série de *loci*, um do alelo paterno e outro do alelo materno.

Enhancer – é uma sequência funcional de DNA que atua na regulação da expressão de um ou mais genes.

1.2. Revisão de literatura

Com o objetivo de embasar o presente projeto, realizou-se uma revisão de literatura sobre hipolactasia. Buscou-se abranger na revisão: a epidemiologia e características principais da doença; o papel de perfis genéticos na sua determinação; sua relação com consumo de leite e derivados; e outros desfechos associados à hipolactasia.

1.2.1. Epidemiologia da hipolactasia

Estima-se que em torno de 75% da população mundial apresenta perda da capacidade de digerir lactose, com intensidade variável, ao entrar na fase adulta, pois os níveis da enzima lactase sofrem uma grande redução a partir do desmame. Assim, a própria base biológica desta condição evidencia que hipolactasia tem uma alta correlação positiva com a idade, sendo muito mais frequente na fase adulta do que durante a infância^{20,21}. Um estudo verificou, por exemplo, que pessoas com 50 anos ou mais de idade apresentaram prevalência de má absorção de lactose de 46%, enquanto que a prevalência foi de 26% no outro grupo etário²². No entanto, a relevância desta perda depende tanto da quantidade de lactose consumida (através de leite e produtos lácteos) quanto da atividade da enzima lactase realmente encontra-se reduzida²³.

Uma das facilidades do estudo da hipolactasia é a altíssima concordância entre o teste de hidrogênio expirado e o teste genético, o que permite o uso de marcadores genéticos como indicadores altamente eficientes para o estudo da prevalência desta condição. Com o desenvolvimento de técnicas de análise de DNA, os testes genéticos se tornaram mais simples e baratos do que o teste de hidrogênio para pesquisas epidemiológicas.

Observa-se ainda que a prevalência de intolerância ou má absorção de lactose é extremamente variável entre diferentes grupos étnicos, variando entre menos de 5% para o norte europeu (em países como Dinamarca, Grã-Bretanha e Suécia) e atingindo até 70% a 80% no sul deste continente e mesmo acima de 90% no sudeste asiático^{22,24}. Um grupo brasileiro resumiu os dados acerca das prevalências de hipolactasia no mundo em uma tabela²⁵, a qual é mostrada abaixo.

Tabela 1. Prevalência de hipolactasia primária adulta no mundo

Local	Prevalência (%)	Método
Alemanha	14,8	Hidrogênio Expirado
Áustria	20,1	Hidrogênio Expirado
Brasil (brancos)	57,0	Genético
Brasil (crianças índias Terenas)	89,3 (após 4 anos)	Hidrogênio Expirado
Brasil (japoneses)	100	Genético
Brasil (mulatos)	57,0	Genético
Brasil (negros)	80,0	Genético
China (Norte)	87,3	Genético
Estônia (ligados aos finlandeses)	24,8	Genético
França	23,4	Hidrogênio Expirado
Hungria	37,0	Genético
Índia (Norte)	67,5	Genético
Índia (sul)	86,8	Genético
Itália	51,0 (Norte) 71,0 (Sicília)	Hidrogênio Expirado
Japão (adultos)	89,0	Hidrogênio Expirado
Jordânia (beduínos)	24,0	Hidrogênio Expirado
Jordânia (oeste) e Palestina	75,0	Hidrogênio Expirado
Rússia (Nordeste)	35,6	Genético
Sibéria (oeste, nativos Khants)	94,0	Tolerância/ glicemia
Somalis	76,0	Hidrogênio Expirado
Sudão (tribo Béja, pecuaristas)	16,8	Hidrogênio Expirado
Sudão (tribo Nilotes, agricultores)	74,5	Hidrogênio Expirado
Suécia (crianças caucasianas)	10,0	Genético
Suécia (crianças não-caucasianas)	66,0	Genético
Suécia (idoso caucasiano)	5,0	Genético
Tuaregues	12,7	Hidrogênio Expirado
Turquia	71,3	Hidrogênio Expirado

Algumas tendências podem ser observadas na tabela 1. A primeira é uma teoria que vem sendo discutida na literatura acerca da origem da hipolactasia, em que se sugere que a persistência à lactose surgiu devido a uma pressão de seleção existente nos primórdios de populações nas quais o havia uma maior dependência de produtos lácteos como fonte alimentícia, devido à maior dependência da pecuária com relação à agricultura nestas populações^{25,26}. Esta teoria é corroborada pelas evidências de que, em populações africanas, perfis genéticos associados à lactasia persistente são mais frequentes em populações tradicionalmente pecuaristas²⁷. Neste sentido,

lactasia persistente vem sendo apontada como uma condição geneticamente complexa, podendo ser influenciada por diversas variações genéticas independentes²⁸. Outra tendência interessante é observar que, em idosos caucasianos suecos (em um estudo publicado em 2007), a prevalência foi inferior ao observado em crianças caucasianas. Os autores atribuem este aparente aumento de hipolactasia à imigração de não caucasianos ou caucasianos nos quais a prevalência de hipolactasia é superior²⁹, indicando que a miscigenação étnica é um importante fator a ser considerado no estudo de hipolactasia (ou lactasia persistente, dependendo do foco do estudo), dado o papel quase determinístico da genética nesta condição.

A complexidade da ocorrência de hipolactasia vem sendo investigada em populações multi-étnicas, visando descrever a prevalência desta característica em países onde possivelmente existe miscigenação, o que dificulta a extrapolação de estimativas de populações etnicamente mais “puras” (no sentido de haver menor miscigenação) para populações com alto grau de intra-variabilidade étnica. Um estudo realizado em Israel identificou uma associação estatisticamente significativa entre etnia e os SNPs -13910C>T e -22018G>A em grupos étnicos característicos (asquenases, iraquianos, marroquinos e beduínos árabes), com alta correlação entre os SNPs³⁰. Em Portugal, foram verificadas razões de prevalência do alelo -13910T (associado com lactasia persistente) de aproximadamente 1,44 ao comparar indivíduos da região sul (prevalência = 27%) com a regiões central (38%) e norte (39%) do país. Estes estudos indicando a importância do estudo detalhado da origem populacional geográfica populacional em adição às categorizações étnicas restritas à cor da pele. De fato, outros polimorfismos genéticos na mesma região, também associados com hipolactasia, foram identificados através do estudo de populações variadas do norte e oeste africanos e do Oriente Médio (conforme já descrito¹⁹), incluindo as variantes genéticas -13907C>G, -13915T>G e 14010G>C, para as quais, juntamente com a variante -13910C>T, estudos funcionais demonstraram papéis importantes na manutenção da atividade de lactase durante a fase adulta (lactasia persistente)³¹⁻³³.

No caso do Brasil, a conhecida miscigenação e variabilidade geográfica existente na população evidencia tanto a necessidade de se estudar a distribuição de perfis genéticos associados a hipolactasia quanto o potencial de pesquisa no sentido de identificar perfis genéticos complexos, pois o estudo destes quanto a sua relação com algum fenótipo representa uma contribuição importante na elucidação da relação entre genética e doença (ou outras condições). A frequência dos genótipos do SNP -13910C>T foi estudada em uma amostra de 567 adultos brasileiros (média de idade de 41,2 anos) de diferentes grupos étnicos, sendo encontradas diferenças marcantes entre os grupos, com menor prevalência de hipolactasia (determinada pelo genótipo CC) em indivíduos brancos e mulatos (aproximadamente 57%), aumentando em indivíduos negros (80%) e de origem japonesa (100%)³⁴.

Apesar de os resultados mencionados estarem, em geral, de acordo com o esperado considerando estudos mais clássicos³⁵ e a distribuição de frequências deste SNP em outras populações (conforme discutido anteriormente), os autores apontam que a baixa frequência do alelo T em pretos (apenas 20%), somada a resultados de estudos de ancestralidade baseados em DNA mitocondrial, sugerem que a presença deste alelo em negros brasileiros se deve à miscigenação com europeus, e não à descendência da população negra brasileira de populações africanas onde o alelo T é prevalente^{27,36}. Além disso, a ausência de variabilidade deste SNP encontrada em pessoas de origem japonesa resultou na hipótese de que este marcador genético possivelmente não seria um bom indicador de hipolactasia neste grupo étnico no Brasil. De fato, estudos realizados no norte da China indicaram que o SNP -22018G>A seria um melhor indicador desta condição nesta população (e possivelmente em outras populações asiáticas)^{37,38}, o que foi corroborado por um estudo em que foi demonstrada a melhor aplicabilidade do SNP -22018G>A frente ao SNP -13910C>T para o diagnóstico de lactasia persistente em brasileiros de origem japonesa¹⁷.

A complexidade da epidemiologia da hipolactasia em populações heterogêneas foi claramente demonstrada em um estudo onde foram genotipados 981 indivíduos de diferentes etnias advindos de diferentes regiões

do Brasil (Porto Alegre, Belém e Recife) para vários SNPs associados à hipolactasia, em que foi demonstrada uma grande diversidade de haplótipos, cujas frequências variaram de acordo com o grupo populacional/étnico estudado¹⁹. Todos os SNPs na região *enhancer* do gene *LCT* encontrados nesta revisão e que são registrados como SNPs no banco de dados de SNPs do NCBI são apresentados na tabela abaixo, juntamente com seu número de registro no banco, que foram os alvos deste estudo.

Tabela 2. Conjunto de SNPs na região *enhancer* do gene *LCT*.

Nomenclatura usual	Código de registro no dbSNP
-13907C>G	rs41525747
-13910C>T*	rs4988235
-13915T>G	rs41380347
-13937G>A	rs4988234
-14010G>C	rs145946881
-14011C>T	rs4988233
-22018G>A*	rs182549

*SNPs alvos do presente projeto.

1.2.2. Intolerância à lactose: consumo de leite e desfechos em saúde

Como a má absorção de lactose pode resultar em sintomas relacionados com dores e desconfortos abdominais, flatulência e diarreia⁹, a relação entre hipolactasia e doenças relacionadas ao consumo de leite (especialmente relacionadas com carência de cálcio) vem recebendo grande atenção. Um artigo sobre dieta, nutrição e prevenção de doenças crônicas, relata a relação entre consumo de leite e hipolactasia, de modo que esta condição poderia um fator de risco para osteoporose, tendo reduzido consumo de leite (e, consequentemente, menor consumo de cálcio) como mediador³⁹. Considerando que leite e laticínios representaram as fontes mais abundantes de cálcio, representando 75% nos Estados Unidos⁴⁰ e serem preconizados como fonte alimentícia de cálcio pelo Ministério da Saúde do Brasil⁴¹, seria esperado que a relação entre má absorção de lactose e consumo de leite teria claras e importantes implicações no que se refere a doenças relacionadas à carência de cálcio. No entanto, é intuitivo que a intolerância à lactose auto-

percebida, e não necessariamente a existência desta condição ou de a mesma ter sido diagnosticada, que altera o consumo de leite e laticínios, sendo esta noção corroborada pela literatura^{42,43}. Neste sentido, a literatura apresenta-se controversa quanto à má absorção de lactose (medida através de métodos objetivos) com relação à percepção de intolerância à lactose, consumo de leite e laticínios e desfechos em saúde relacionados com consumo destes produtos.

Em um estudo transversal da população da Estônia (367 indivíduos de ambos os sexos, com 25-70 anos de idade), não foi identificada uma relação entre má-absorção de lactose (diagnosticada pelo método genético) e consumo de leite e densidade mineral óssea, enquanto que esta relação foi detectada para intolerância auto-percebida, medida através de questionário⁴⁴. Resultados similares foram encontrados em um estudo de 237 homens finlandeses jovens (18 a 21 anos) quanto às associações envolvendo perfis genéticos, consumo de cálcio e taxa de renovação óssea⁴⁵. Ao diagnosticar má-absorção de lactose (método genético) em 239 homens idosos (média de idade de 61 anos) de origem caucasiana e da mesma região, um estudo austríaco não encontrou associação entre consumo de cálcio, densidade mineral óssea, marcadores do metabolismo ósseo e características antropométricas gerais⁴⁶. Outro estudo em uma população similar (porém com média de idade menor em cinco anos) confirmou teve resultados concordantes⁴⁷. Em um estudo transversal de uma coorte finlandesa, com 518 mulheres pós-menopausa (62 a 72 anos de idade), não foi observada associação entre má-absorção de lactose diagnosticada por análise genética e auto-percepção de intolerância, e somente esta apresentou associação com consumo de cálcio através de produtos lácteos. No entanto, não foi observada uma associação de intolerância auto-percebida e densidade mineral óssea, o que foi atribuído pelos autores à maior suplementação de cálcio observada nas mulheres com esta condição⁴⁸. Em resumo, estes estudos sugerem que as associações entre a presença de marcadores genéticos, a síndrome clínica auto-relatada e o consumo de laticínios não são tão evidentes quanto poderia ser esperado.

Em contrapartida, uma série de estudos mostra a existência de associação entre consumo de laticínios e má absorção de lactose, e desta com

desfechos em saúde relacionados. Um grande estudo prospectivo finlandês encontrou uma associação entre má absorção (diagnosticada pelo método genético) e consumo de produtos lácteos e de cálcio na transição entre a infância e o início da fase adulta⁴⁹. Um estudo em uma amostra representativa da população estoniana (com média de idade de 49 anos) também encontrou associação entre má absorção e consumo de leite, apesar de apontar que esta condição não previne o consumo de leite em alguns casos⁵⁰. Na Áustria, o diagnóstico genético de má absorção de lactose em 258 mulheres pós-menopausa foi associado à auto-percepção de intolerância à lactose, reduzido consumo de cálcio e reduzida densidade mineral óssea nas regiões do quadril e da lombar, podendo predispor a ocorrência de fraturas⁵¹. Em um estudo realizado em 106 homens e 377 mulheres (Finlândia) de pelo menos 85 anos encontrou uma associação entre má absorção (diagnóstico genético) com fraturas nas regiões do quadril e dos pulsos, sugerindo que o perfil genético estudado altera o consumo de cálcio⁵².

Além de fragilidade óssea, outros desfechos foram relacionados com hipolactasia, os quais fornecem evidências adicionais quanto à influência de perfis genéticos associados a esta condição no consumo de laticínios. Exemplos incluem estudos em que se verificou uma associação entre problemas gastrointestinais e má absorção, bem como desta com consumo de leite, tanto em 1900 indivíduos finlandeses adultos⁵³, quanto em 518 estudantes russos de 17 a 26 anos de idade⁵⁴. Também existem indícios de que má absorção é associada aos níveis séricos de insulina, glicose, triglicerídeos e HDL^{55,56}. Além disso, um estudo recente de base populacional na população adulta dos EUA encontrou associação com auto-percepção de intolerância à lactose com reduzido consumo de produtos lácteos e cálcio, além de doenças como hipertensão e diabetes⁵⁷. No entanto, um estudo recente mais recente não encontrou associação entre perfis genéticos relacionados à má absorção de lactose e marcadores precoces de arterosclerose em 2109 finlandeses de 24 a 39 anos de idade, ainda que a associação entre a análise genética e consumo de leite tenha sido altamente significativa. De fato, evitar o consumo de leite e derivados vem sendo associado a diversos desfechos

desfavoráveis em saúde, incluindo reduzida saúde óssea⁵⁸⁻⁶⁰, elevada pressão⁶¹⁻⁶⁵ e peso corporal⁶⁶⁻⁶⁹, além de risco para câncer colorretal⁷⁰⁻⁷² e diabetes⁷³⁻⁷⁷.

Em resumo, chama a atenção o fato de que a maioria dos estudos acima são provenientes de populações escandinavas e bálticas, o que justifica a realização de estudos similares em populações distintas com o objetivo de reproduzir estes resultados.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Estudar a prevalência de polimorfismos de base única (SNPs) na região *enhancer* do gene *LCT* os genes e sua relação com consumo de leite em uma amostra de base populacional da população idosa de Pelotas, RS.

2.2. Objetivos específicos

- a) Estimar a prevalência de hipolactasia através dos genótipos combinados SNPs -13910C>T e -22018G>A;
- b) Estimar a prevalência de intolerância auto-percebida à lactose;
- c) Estimar a prevalência de baixo consumo de leite e derivados;
- d) Investigar a associação entre hipolactasia e cor da pele;
- e) Comparar, referente à associação com consumo de leite e derivados, os perfis genéticos e a intolerância auto-percebida;
- f) Investigar a associação entre perfis genéticos e intolerância à lactose auto-percebida;

3. Hipóteses

- a) A prevalência de hipolactasia baseada nos genótipos combinados é aproximadamente 50%.
- b) A prevalência de hipolactasia auto-referida é ao redor de 10%;
- c) A prevalência de baixo consumo de laticínios é ao redor de 35%;
- d) Existe associação entre a combinação de genótipos de hipolactasia e cor da pele, sendo a prevalência estimada em cerca de 47% para brancos e 65% para pretos;
- e) Existe associação entre perfis genéticos e consumo de leite e derivados, mas esta apresenta baixa magnitude (sendo mais forte utilizando SNPs combinados e haplótipos); a associação com intolerância auto-percebida é a mais forte.
- f) Existe associação entre cada SNP e intolerância auto-percebida, mas esta também apresenta baixa magnitude; a associação com os SNPs combinados e haplótipos é mais forte.

4. Justificativa

O aumento da proporção de idosos no mundo vem sendo detectada e descrita por organizações tais como a Organização Mundial da Saúde (OMS), a qual informa que a proporção de pessoas acima de 60 anos está aumentando em quase todos os países, como um resultado tanto do aumento da expectativa de vida quanto da diminuição das taxas de fertilidade⁷⁸. É sabido que o envelhecimento é um fator de risco para quase todas as doenças, reforçando a necessidade de melhor estudar esta população. Isto vem sendo mostrado em diversos estudos, inclusive realizados no Brasil⁷⁹.

A hipolactasia é uma condição fortemente associada com o envelhecimento. Apesar de os sintomas gastrointestinais mais comuns poderem ser observados no início da fase adulta ou mesmo antes,

consequências mais severas, tais como fraturas ósseas, tendem a apresentar maior relação com hipolactasia em idades mais avançadas, como uma consequência da tendência à redução no consumo de cálcio ao longo da vida. O uso de marcadores genéticos de hipolactasia neste projeto se justifica pela grande concordância deste método com o teste de hidrogênio expirado, além da baixa validade observada com o uso de questionários⁸⁰.

Apesar de os SNPs -13910C>T e -22018G>A (entre outros) já terem sido estudados no Brasil, a relação destes SNPs com consumo de laticínios no país ainda não foi investigada. É importante identificar em nossa população se alguns indivíduos com marcadores genéticos de hipolactasia conseguem consumir quantidades toleradas de laticínios, e, portanto, manter sua ingestão de cálcio em níveis apropriados^{23,81}.

No contexto de hipolactasia, uma aplicação interessante dos SNPs -13910C>T e -22018G>A seria como indicadores (variáveis instrumentais) genéticos do consumo de laticínios no desenho conhecido como randomização mendeliana (ver Anexo A). Dada a 2ª Lei de Mendel, o genótipo de um indivíduo independe de variáveis que confundiriam a mensuração direta do consumo destes produtos (além de ser robusto contra vieses como de memória, de informação, do entrevistador, entre outros), além de representar um efeito de “intenção de tratar” em desfechos de interesse ao longo de toda a vida do indivíduo. Deste modo, uma vez estimadas as relações entre o SNP e consumo de laticínios e entre o SNP e o desfecho de interesse, pode-se estimar (assumindo uma relação linear entre a exposição e o desfecho) a relação entre o consumo de laticínios e o desfecho de interesse.

O presente estudo visa utilizar dois SNPs na região *enhancer* do gene *LCT* (tabela 2) para tirar proveito da variabilidade genética presente em populações brasileiras para melhor compreender a distribuição da hipolactasia, considerando a plausível hipótese de que haplótipos podem apresentar uma maior associação com nível de perda de expressão de lactase e, consequentemente, com consumo de laticínios.

5. Modelo conceitual e marco teórico

5.1. Modelo conceitual

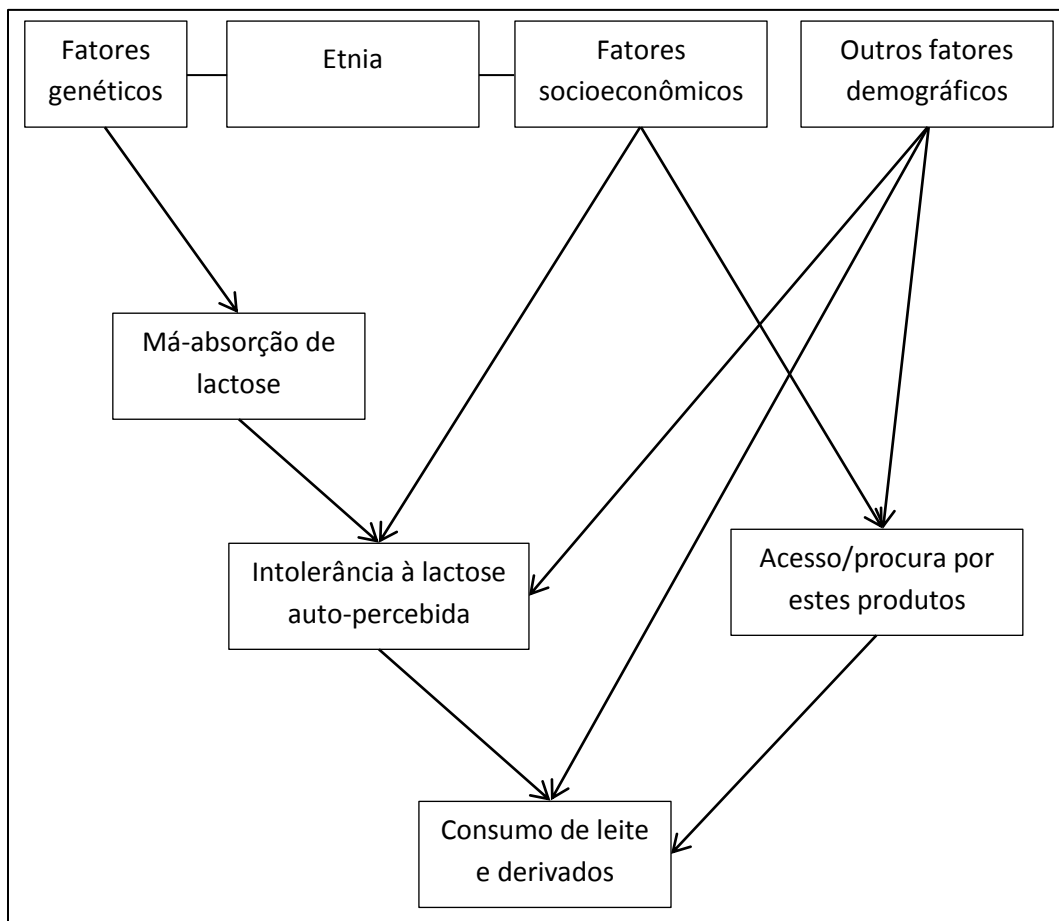


Figura 1. Modelo conceitual para a relação entre fatores genéticos e consumo de leite e derivados

5.2. Explicação do modelo

No modelo em consideração, o desfecho é consumo de leite e derivados, e o determinante em foco são perfis genéticos relacionados com hipolactasia (o marco teórico detalhado do modelo encontra-se no apêndice B). Deve-se ter claro que hipolactasia se refere a deficiências na produção da enzima lactase nas microvilosidades intestinais, resultando em incapacidade de digerir lactose. Será considerada somente a hipolactasia adulta, que é a principal forma da doença. Ao limitar o espectro de hipolactasia ao tipo adulto,

os fatores genéticos relacionados a esta condição são variações genéticas em um *locus* envolvido na regulação da expressão da enzima lactase.

No modelo proposto, a influência dos perfis genéticos associados com hipolactasia adulta é mediada pela auto-percepção de intolerância à lactose, a qual tem como um de seus determinantes a má absorção de lactose. Corroborando com a noção de que o conceito de intolerância à lactose é mais relacionado à percepção do indivíduo, a literatura aponta concordância imperfeita entre estas características, sendo que uma parcela substancial de indivíduos que não apresenta má absorção de lactose percebe-se como intolerante à lactose. Estudos recentes revelam que as prevalências de intolerância auto-percebida foram aquém das estimativas baseadas em má absorção de lactose⁴³. Uma das principais explicações desta discrepância é o fato de o teste de desafio representar uma condição muito distante da realidade do consumo de lactose, sendo que uma parcela importante de indivíduos diagnosticados como maus absorvedores podem, na sua dieta diária, consumir leite e derivados em níveis adequados sem apresentar sintomas e, conseqüentemente, percepção de intolerância^{23,81}.

É intuitivo que a auto-percepção seja mais importante no que se refere a alterações em um comportamento; no caso apresentado, este pensamento é corroborado por diferentes estudos que evidenciam que a auto-percepção de intolerância à lactose apresenta maior associação com consumo de leite e derivados quando comparada com a verdadeira má absorção de lactose^{44,45,48}. Apesar disto, as características de má absorção de lactose e intolerância à lactose são altamente associadas entre si, e associações significativas entre perfis genéticos associados à hipolactasia e consumo de leite e derivados vêm sendo detectadas em diferentes populações e no sentido esperado⁴⁹⁻⁵². O modelo conceitual, portanto, postula que perfis genéticos que determinam má absorção de lactose constituem um determinante importante da auto-percepção de intolerância à lactose.

As frequências da grande maioria dos perfis genéticos variam conforme a cor da pele. Portanto, as associações entre perfis genéticos relacionados à

hipolactasia, auto-percepção de intolerância e consumo de leite e derivados são confundidas pela cor da pele, que precisa ser ajustada na análise.

Para testar o modelo conceitual, são necessárias investigações que objetivem: estimar a prevalência de indivíduos que apresentam intolerância auto-percebida, mesmo não apresentando perfis genéticos associados a má-absorção de lactose; avaliar a influência de intolerância auto-percebida no consumo de leite e derivados; estimar a diminuição desnecessária (no que se refere à má absorção de lactose) no consumo de leite e derivados na população em questão; investigar fatores de risco para intolerância à lactose auto-percebida.

6. Materiais e Métodos

6.1. Delineamento

Será realizado um estudo com delineamento transversal de base populacional, sendo as coletas de material genético realizadas em sub-amostras. Este delineamento é adequado, pois permite estimar dados de prevalência de hipolactasia (através da genotipagem de dois SNPs) na população alvo, de forma rápida e custo reduzido. Além disto, as análises de associação, considerando exposições que consistem de perfis genéticos germinativos não são sujeitas a certos tipos de viés (tais como causalidade reversa), favorecendo o uso do delineamento transversal. A adoção deste delineamento também se justifica por ser o modelo de coleta de dados em consórcio adotado pelo Programa de Pós-graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas⁸².

6.2. População alvo

Idosos (indivíduos com 60 anos completos ou mais) não institucionalizados, residentes na zona urbana do município de Pelotas, RS.

6.3. Critérios de inclusão e exclusão

Para este estudo, serão utilizados os seguintes critérios de inclusão: residir na zona urbana da cidade de Pelotas, RS; ter pelo menos 60 anos de idade completos; e não encontrar-se institucionalizado (e.g., não estar em asilo, prisão ou hospital). Os critérios de exclusão variam de acordo com o objetivo. Para aplicação do questionário, serão excluídos indivíduos com déficit cognitivo ou mental que o impossibilitem de responder ao questionário. Para estes indivíduos a entrevista poderá ser respondida por acompanhante ou cuidador, se o mesmo estiver disponível. Para coleta de material genético, o critério de exclusão será apresentar alguma condição que inviabilize a coleta, tais como incapacidades cognitivas ou motoras de assimilar a orientação para estímulo de salivação e descamação do epitélio bucal.

6.4. Seleção da amostra

A amostra terá dois estágios. Serão selecionados setores censitários delimitados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Dentro de cada setor serão selecionados domicílios de forma sistemática e em cada domicílio sorteado, todos os indivíduos elegíveis serão entrevistados. O processo de amostragem será definido com maiores detalhes posteriormente, pois necessita contemplar as necessidades de todos os mestrandos que participarão do consórcio de pesquisa.

6.5. Definição operacional dos desfechos

Consumo de leite e derivados: será coletado na forma de questionário, adaptado um estudo recente (Muniz e colaboradores, 2012, aceito para publicação), na população de adultos de Pelotas, RS. O instrumento de coleta de dados está apresentado no item 6.8. No presente estudo, serão considerados como “consumidores regulares de leite e derivados” os idosos

que referirem consumir leite ou derivados todos os dias na semana anterior à entrevista. No entanto, para fins de análise, esta variável será explorada, também, de outras formas.

Hipolactasia auto-percebida: será coletada na forma de questionário (item 6.8), incluindo informações sobre a sintomatologia, através de uma escala visual de 5 itens⁸³.

Hipolactasia geneticamente determinada: A principal exposição deste estudo serão os genótipos de dois SNPs localizados na região *enhancer* do gene *LCT* (tabela 2). Estes SNPs serão genotipados a partir de amostras de DNA coletadas de saliva (kit Oragene®, DNA Genotek Inc.) em uma subamostra, através da técnica de PCR-RFLP. Serão também avaliados haplótipos compostos por estes SNPs. Os haplótipos serão estimados a partir dos SNPs, utilizando um algoritmo de análise⁸⁴.

6.6. Definição operacional das exposições

As principais exposições para o consumo de leite e derivados serão as duas formas de hipolactasia (auto-percebida e geneticamente determinada), conforme definido acima. Serão estudadas também as variáveis cor da pele auto-referida (branca, parda, preta, amarela ou indígena), sexo, idade (anos completos), posição socioeconômica (baseada em índice de bens) e escolaridade (em anos). Estas variáveis serão coletadas através de questionário.

6.7. Cálculo do tamanho de amostra

Os cálculos foram realizados com base nos objetivos e hipóteses descritos acima. As ferramentas “*proportion*” e “*cohort/RCT*” do programa *OpenEpi* (http://www.openepi.com/v37/menu/OE_Menu.htm) foram utilizadas.

A prevalência da etnia branca foi estimada, entre idosos, em 81,2% e a etnia preta em 9,5% [Muniz e colaboradores, 2012]]. A prevalência do desfecho foi

estimada como sendo igual a $(0,812 \times \text{frequência do desfecho em brancos}) + (0,095 \times \text{frequência do desfecho em pretos}) + (0,093 \times \text{frequência em pardos})$, ou seja, 9,5%, de modo a refletir o número de indivíduos a serem sorteados da população geral. Para fins de cálculo amostral, usou-se uma prevalência de 10%.

6.7.1. Prevalência

6.7.1.1. Prevalência de hipolactasia genética (HG)

Os dados sobre frequências de perfis genéticos na região *enhancer* do gene *LCR* foram obtidos para dois SNPs (-13910 C>T e -22018 G>A) de um estudo recente, com os dados referentes à população de Porto Alegre¹⁹. Considerando que existem evidências de que ambos os SNPs necessitam estar em homozigose para o alelo mais frequente (CC para -13910C>T e GG para -22018G>A) para ocorrer HG, a prevalência desta combinação foi calculada através das frequências alélicas descritas na referência, e estas prevalências foram ajustadas para as prevalências de cada etnia, conforme a tabela 2.

Tabela 3. Prevalência bruta e ajustada da combinação de genótipos associada à hipolactasia.

Grupo étnico	Frequências (%)	
	Bruta	Ajustada
Descendência europeia	47,1	38,2
Descendência africana	65,8	6,2
Descendência mista*	56,5	5,3

*Frequência bruta em pardos, estimada como a média de brancos e pretos.

Assim, realizou-se o cálculo de tamanho de amostra para estimar a prevalência de HG com os seguintes parâmetros:

- 46.099 como o tamanho da população total de idosos;

- 38,2% + 6,2% + 5,3% = 49,7 % de prevalência de HG (utilizou-se 50,0% para fins de cálculo amostral);

- 1,3 como efeito do delineamento;

Tabela 4. Tamanho de amostra (N) para a prevalência de HG na população geral.

Prevalência	Erro absoluto (pp ¹)	Erro relativo (%)	N	N + 10% ²
50,0%	2,0	4,0	2967	3264
	5,0	10,0	496	546
	10,0	20,0	125	138

¹Pontos percentuais. ²Adição de 10% para eventuais não-respondentes.

6.7.1.2. Prevalência de intolerância à lactose auto-referida (ILAR)

Realizou-se o cálculo de tamanho de amostra para estimar a prevalência de ILAR com os seguintes parâmetros (sendo a estimativa de prevalência de ILAR conforme resultados de um estudo norte-americano, uma vez que dados nacionais são inexistentes⁵⁷):

- 46.099 como o tamanho da população total (Censo 2010);

- 9,5% de prevalência do desfecho (ILAR);

- 1,3 como efeito do delineamento.

Tabela 5. Tamanho de amostra (N) para a prevalência de ILAR na população geral.

Prevalência	Erro absoluto (pp ¹)	Erro relativo (%)	N	N + 10% ²
10%	1,0	10,0	4181	4600
	3,0	30,0	496	546
	5,0	50,0	180	198

¹Pontos percentuais. ²Adição de 10% para eventuais não-respondentes.

6.7.1.3. Prevalência do consumo de laticínios

Para o cálculo de tamanho de amostra, os dados sobre consumo de leite e derivados e composição étnica da população idosa da cidade de Pelotas

foram obtidos em um recente estudo realizado em Pelotas [Muniz e colaboradores, 2012)].

- 46.099 como o tamanho da população total (Censo 2010);
- 64% de prevalência do desfecho (ser consumidor);
- 1,3 como efeito do delineamento.

Tabela 6. Tamanho de amostra (N) para a prevalência de consumo de laticínios na população geral.

Prevalência	Erro absoluto (pp ¹)	Erro relativo (%)	N	N + 10% ²
64%	2,0	3.1	2745	3020
	5,0	7.8	457	503
	10,0	15.6	115	127

¹Pontos percentuais. ²Adição de 10% para eventuais não-respondentes.

6.7.2. Associações com cor da pele

Para os cálculos de tamanho de amostra de associações com cor da pele, as comparações foram restritas aos grupos de brancos e pretos, sem incluir indivíduos pardos.

6.7.2.1. Cor da pele versus ILAR

- 95% de confiança (bicaudal) e 80% de poder;
- $0,812/0,095 = 8,5$ como razão de não expostos / expostos;
- 8% como prevalência do desfecho nos não expostos (i.e., brancos);
- 20% como prevalência do desfecho nos expostos (i.e., pretos);

Tabela 7. Tamanho de amostra para investigar a associação entre cor da pele e ILAR.

Grupo	N¹
Expostos (negros)	71
Não-expostos (brancos)	603
Total ²	674
Total ³	744
Total⁴	819

¹Fleis com correção de continuidade. ²Assume somente brancos e pretos na população. ³Ajusta para o fato de que brancos e pretos correspondem à 90,7% da população. ⁴Adicionados 10% em antecipação a eventuais não-respondentes.

6.7.2.2. Cor da pele versus HG

- 95% de confiança (bicaudal) e 80% de poder;
- $0,812/0,095 = 8,5$ como razão de não expostos / expostos;
- 47,1% como prevalência do desfecho nos não expostos (i.e., brancos);
- 65,8% como prevalência do desfecho nos expostos (i.e., pretos);

Tabela 8. Tamanho de amostra para investigar a associação entre cor da pele e HG.

Grupo	Fleiss com CC¹
Expostos	67
Não-expostos	569
Total ²	636
Total ³	702
Total⁴	773

¹Correção de continuidade. ²Assume somente brancos e pretos na população. ³Ajusta para o fato de que brancos e pretos correspondem à 90,7% da população. ⁴Adicionados 10% em antecipação a eventuais não-respondentes.

6.7.3. Associações com consumo de laticínios

Considerando as prevalências de ILAR reportadas por Nicklas et al. (2011)⁵⁷ de 7,7% e 21,9% para brancos e pretos, respectivamente, uma estimativa da prevalência de ILAR na população alvo (excluindo não-brancos e não-pretos) é $[(0,077 \times 0,812) + (0,219 \times 0,095)] = 8.3\%$.

6.7.3.1. ILAR versus consumo de laticínios (sucesso: ser consumidor)

- 95% de confiança (bicaudal) e 80% de poder;
- $(0,083)/(1-0,083) = 0,0905$ como razão de não expostos / expostos;
- Risco relativo de 1,5 (assumido);
- Prevalência do desfecho (sucesso) de 64,0%;
- Prevalência de doentes não-expostos de 44,1%.

Tabela 9. Tamanho de amostra para investigar a associação entre ILAR e consumo.

Grupo	N¹
Expostos (tolerantes)	524
Não-expostos (intolerantes)	59
Total ²	583
Total ³	643
Total⁴	708

¹Fleiss com correção de continuidade.

²Assume somente brancos e pretos na população. ³Ajusta para o fato de que brancos e pretos correspondem à 90,7% da população. ⁴Adicionados 10% em antecipação a eventuais não-respondentes.

6.7.3.2. HG versus consumo de laticínios (sucesso: ser consumidor)

- 95% de confiança (bicaudal) e 80% de poder;
- $0,5/(1-0,5) = 1,0$ como razão de não expostos / expostos;

- 42,0% ou 37% [Khabarova e colaboradores (2011)⁵⁴ e Anthoni e colaboradores (2007)⁵³, respectivamente] como prevalência do desfecho nos não expostos (i.e., portadores de perfis genéticos não associados com HG);
- 32,2% ou 18% [Khabarova e colaboradores (2011)⁵⁴ e Anthoni e colaboradores (2007)⁵³, respectivamente] como prevalência do desfecho nos expostos (i.e., portadores de perfis genéticos associados com HG).

Tabela 10. Tamanho de amostra para investigar a associação entre HG e consumo.

Grupo	N¹
<i>Khabarova et al., 2011</i>	
Expostos (HG)	412
Não-expostos (HG)	412
Total ²	824
Total ³	909
Total⁴	1000
<i>Anthoni et al., 2007</i>	
Expostos (HG)	95
Não-expostos (HG)	95
Total ²	190
Total ³	210
Total⁴	231

¹Correção de continuidade. ²Assume somente brancos e pretos na população. ³Ajusta para o fato de que brancos e pretos correspondem à 90,7% da população. ⁴Adicionados 10% em antecipação a eventuais não-respondentes.

6.7.4. Comparação entre os métodos (ILAR versus HG)

Considerando que não foram encontrados estudos prévios avaliando o método para medir ILAR proposto para o presente projeto, tendo HG como padrão outro, o presente cálculo foi utilizado tendo como base um estudo espanhol em que um questionário de sintomas foi comparado ao teste do hidrogênio expirado⁸⁴. Para tanto, foi assumindo que os resultados do teste do hidrogênio expirado são 100% concordantes com o teste genético pelos dois SNPs considerados neste estudo. Assim, a sensibilidade de ILAR (tendo HG como padrão ouro) é estimada em 82%, e a especificidade em 35%. Para os cálculos referentes à sensibilidade e à especificidade, o tamanho de amostra

tem que levar em conta a prevalência estimada de HG, sendo a sensibilidade baseada nos HG positivos que constituem 50% da amostra e a especificidade nos HG negativos que constituem os outros 50%.

- 46.099 como o tamanho da população total (Censo 2010);

- 1,3 como efeito do delineamento;

Tabela 11. Tamanho de amostra (N) para sensibilidade e especificidade de ILAR (tendo HG como padrão ouro) na população geral.

Medida	Erro absoluto (pp ¹)	Erro relativo (%)	N ²	N + 10% ³
Sensibilidade: 82% (baseada em 50% da amostra total)	2,0	2.4	1788	1967
	5,0	6.1	294	324
	10,0	12.2	74	82
Especificidade: 35% (baseada em 50% da amostra total)	2,0	5.7	2712	2984
	5,0	14.3	452	498
	10,0	28.6	114	126

¹Pontos percentuais. ²Tamanho de amostra dividido por 0,5. ³Adição de 10% para eventuais não-respondentes.

6.7.5. Conclusões sobre tamanho de amostra

Devido a restrições logísticas e orçamentárias, será possível entrevistar cerca de 1000 idosos e realizar genotipagem em 600. Este tamanho de amostra permitirá, com base nos cálculos acima:

- estimar a prevalência de HG com erro absoluto de 5 pp, de ILAR com 3 pp e de consumo de laticínios com 5 pp;

- estimar as associações de cor da pele com ILAR com 80% de poder, cor da pele com HG com um pouco menos de 80% de poder, ILAR e consumo com 80% de poder, e de HG com consumo com mais de 80% de poder (usando as estimativas de Anthoni como base, mas não os resultados de Khabarova que requerem uma amostra substancialmente maior);

- estimar a sensibilidade do ILAR (tendo o HG como referência) com margem de erro de 5 pp, e a especificidade com margem de 10 pp, levando em

conta que haverá 300 indivíduos com HG positivo e outros 300 com HG negativo.

6.8. Instrumento de coleta de dados

O instrumento foi baseado na revisão de questões utilizadas nos principais artigos sobre o tema, adaptadas para facilitar sua compreensão. Esse questionário será unido a outros instrumentos dos alunos de mestrado do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas, os quais farão parte do consórcio de pesquisa. Além das questões específicas de cada mestrando, o questionário final apresenta questões gerais sobre variáveis demográficas, socioeconômicas e comportamentais. O questionário final é apresentado no anexo C.

7. Logística

A coleta de dados ocorrerá entre os meses de dezembro de 2013 a março de 2014 através do Consórcio de pesquisa realizado pelos alunos de mestrado da turma 2013/14. A coleta de dados será feita por entrevistadoras previamente treinadas, que serão supervisionadas pelos alunos da turma de mestrado.

Com cerca de 1200 idosos sendo entrevistados, e 600 exames de DNA sendo previstos, cada entrevistador realizará coleta de material em 50% dos entrevistados. Para evitar viés de seleção, todos os entrevistados nascidos em meses ímpares terão amostras coletadas. Se o entrevistado desconhecer seu mês de nascimento, jogará uma moeda para determinar se o mesmo será incluído (cara = incluído; coroa = excluído).

7.1. Controle de qualidade

Será realizado pelos alunos de mestrado o controle de qualidade das entrevistas para verificação de possíveis erros ou respostas falsas. O controle

de qualidade irá ocorrer através da re-visita de alguns domicílios e aplicação de um questionário reduzido com questões-chave. O percentual de domicílios que serão re-visitados será definido posteriormente.

8. Coleta de DNA e análises laboratoriais

As amostras de DNA serão coletadas utilizando o kit de coleta e extração Oragene[®] (DNA Genotek Inc.). Neste kit, é extraído o DNA das células da mucosa oral que são coletadas através da saliva. Desta forma, a coleta envolve instrução ao entrevistado para passar a língua na parte interior das bochechas e nas gengivas, favorecendo a descamação de células. Uma vez coletado o material, a extração do DNA é realizada conforme protocolo padrão do PPGE.

Análises laboratoriais serão realizadas pelo mestrando no laboratório do PPGE. Será utilizada a técnica de PCR-RLFP, devido a sua simplicidade, baixo custo e validade.

9. Aspectos éticos

Todos os participantes serão esclarecidos previamente sobre o estudo e apenas responderão ao questionário após a assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Indivíduos selecionados para coleta de material genético fornecerão consentimento específico.

Será garantido aos participantes o sigilo das informações prestadas. O projeto será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina em conjunto com demais projetos pertencentes ao consórcio de pesquisa no Programa de Mestrado em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas.

10. Análise estatística

Os dados serão analisados nos programas Stata versão 12.0 e R versão 3.0.1. Inicialmente serão realizadas análises para avaliação de consistência dos dados, identificação de possíveis pontos aberrantes e checagem da

distribuição dos desfechos referentes ao consumo de leite e intolerância à lactose através de análise de medidas de tendência central e variabilidade. A seguir, realizar-se-ão as seguintes análises:

- a) Cálculo da prevalência e intervalo de confiança de 95% dos genótipos de cada SNP associados com má absorção de lactose, bem como da combinação destes genótipos;
- b) Cálculo da prevalência e intervalo de confiança de 95% de intolerância à lactose auto-percebida;
- c) Cálculo da prevalência e intervalo de confiança de 95% de baixo consumo de leite e derivados;
- d) Repetir as análises a) e b), estratificando para cor da pele;
- e) Investigar a associação entre consumo de laticínios e perfis genéticos, e consumo de laticínios e intolerância auto-percebida. Este desfecho será analisado, inicialmente, na forma binária (costuma consumir/não costuma consumir, através de regressão de Poisson – estimando razões de prevalência) e na forma quantitativa (dias da última semana que consumiu, através de regressão linear).

Para as análises genéticas, serão utilizados, como variáveis independentes, cada SNP (avaliando 5 modelos de efeito genético: codominante, “sobre-dominante”, aditivo, dominante e recessivo), 11 modelos de epistasia (interações entre genes ou, em epidemiologia genética, entre SNPs) e haplótipos. Análises brutas e ajustadas (para cor da pele) serão realizadas.

Já para as análises com intolerância auto-percebida, as variáveis independentes serão, inicialmente, analisadas na forma binária [sente(ia) algum sintoma quando consome(ia)/não sente(ia) algum sintoma quando consome(ia)] e na forma quantitativa (analisando cada item da escala de 5 itens separadamente e combinadas, através de um escore e da análise de componentes principais). Análises brutas e

ajustadas (conforme o modelo conceitual, definindo, para nível hierárquico, as variáveis a serem mantidas no modelo) serão realizadas.

- f) A associação entre perfis genéticos e intolerância auto-percebida à lactose será realizada utilizando a última como desfecho, através de regressão de Poisson (desfecho binário) e regressão linear (desfecho quantitativo). Serão utilizadas as mesmas maneiras de avaliar os perfis genéticos através de análises brutas e ajustadas para cor da pele.

11. Financiamento

O consórcio de pesquisa é financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (Capes) e (se necessário) pelos alunos de mestrado. Para o presente projeto, 500 kits de coleta e extração de DNA de saliva (Oragene[®], DNA Genotek Inc.) foram fornecidos pela Universidade de Bristol (Reino Unido), através da colaboração do professor Dr. George Davey-Smith. Outros 150 kits estão disponíveis no PPGE.

12. Cronograma

Atividades 2012-13	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N
Revisão de literatura																		
Elaboração do projeto																		
Defesa do projeto																		
Treinamento de entrevistadores																		
Trabalho de campo																		
Análise dos dados																		
Elaboração do volume final da dissertação																		
Defesa da dissertação																		

13. Referências bibliográficas

1. Organização Mundial da Saúde. WHO's Human Genetics areas of work. Geneva; Available from: <http://www.who.int/genomics/about/commondiseases/en/>.
2. Organização Mundial da Saúde. Genes and human disease. Geneva; Available from: <http://www.who.int/genomics/public/geneticdiseases/en/index.html>.

3. Smith GD. Epidemiology, epigenetics and the 'Gloomy Prospect': embracing randomness in population health research and practice. *Int J Epidemiol*. 2011 Jun;40(3):537-62.
4. Nguyen TT, Schafer H, Timmesfeld N. Making medical decisions in dependence of genetic background: estimation of the utility of DNA testing in clinical, pharmaco-epidemiological or genetic studies. *Genet Epidemiol*. 2013 May;37(4):311-22.
5. Maher B. Personal genomes: The case of the missing heritability. *Nature*. 2008 Nov 6;456(7218):18-21.
6. Garrick DJ, Fernando RL. Implementing a QTL Detection Study (GWAS) Using Genomic Prediction Methodology. *Genome-Wide Association Studies and Genomic Prediction*: Springer; 2013.p275-98.
7. Swallow DM. Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Annu Rev Genet*. 2003;37:197-219.
8. Heyman MB. Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. *Pediatrics*. 2006 Sep;118(3):1279-86.
9. National Digestive Diseases Information Clearinghouse. Lactose Intolerance. Bethesda, MD: National Institutes of Health; 2009 [updated 2012; cited 2013]; Available from: <http://digestive.niddk.nih.gov/ddiseases/pubs/lactoseintolerance/>.
10. McKusick VA. Lactose intolerance, Adult type. Baltimore, MD: Johns Hopkins University; 1986 [updated 2009; cited 2013]; Available from: <http://omim.org/entry/223100?search=223100&highlight=223100>.
11. Wang Y, Harvey CB, Hollox EJ, Phillips AD, Poulter M, Clay P, et al. The genetically programmed down-regulation of lactase in children. *Gastroenterology*. 1998 Jun;114(6):1230-6.
12. Robayo-Torres CC, Quezada-Calvillo R, Nichols BL. Disaccharide digestion: clinical and molecular aspects. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006 Mar;4(3):276-87.

13. PubMed Health. Lactose tolerance tests. Bethesda, MD: U.S. National Library of Medicine; 2012 [cited 2013]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0003971/>.
14. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet.* 2002 Feb;30(2):233-7.
15. Bulhoses 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 Nov;40(11):1441-6.
16. Mattar R, Monteiro Mdo S, Villares CA, dos 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 May;41(7-8):628-30.
17. Mattar R, Monteiro MdS, Silva JMKd, Carrilho FJ. LCT-22018G>A single nucleotide polymorphism is a better predictor of adult-type hypolactasia/lactase persistence in Japanese-Brazilians than LCT-13910C>T. *Clinics.* 2010;65(12):1399-.
18. Kuchay RA, Anwar M, Thapa BR, Mahmood A, Mahmood S. Correlation of G/A -22018 single-nucleotide polymorphism with lactase activity and its usefulness in improving the diagnosis of adult-type hypolactasia among North Indian children. *Genes Nutr.* 2013 Jan;8(1):145-51.
19. Friedrich DC, Santos SE, Ribeiro-dos-Santos AK, Hutz MH. Several different lactase persistence associated alleles and high diversity of the lactase gene in the admixed Brazilian population. *PLoS One.* 2012;7(9):e46520.
20. Schirru E, Corona V, Usai-Satta P, Scarpa M, Cucca F, De Virgiliis S, et al. Decline of lactase activity and c/t-13910 variant in Sardinian childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007 Oct;45(4):503-6.

21. 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 Nov;53(11):1571-6.
22. Rao DR, Bello H, Warren AP, Brown GE. Prevalence of lactose maldigestion. Influence and interaction of age, race, and sex. *Dig Dis Sci*. 1994 Jul;39(7):1519-24.
23. Usai-Satta P. Lactose malabsorption and intolerance: What should be the best clinical management? *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*. 2012;3(3):29.
24. Sahi T. Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1994;202:7-20.
25. Mattar R, Mazo DF. [Lactose intolerance: changing paradigms due to molecular biology]. *Rev Assoc Med Bras*. 2010 Mar-Apr;56(2):230-6.
26. Beja-Pereira A, Luikart G, England PR, Bradley DG, Jann OC, Bertorelle G, et al. Gene-culture coevolution between cattle milk protein genes and human lactase genes. *Nat Genet*. 2003 Dec;35(4):311-3.
27. 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 Jan;39(1):31-40.
28. Ingram CJ, Mulcare CA, Itan Y, Thomas MG, Swallow DM. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Hum Genet*. 2009 Jan;124(6):579-91.
29. Almon R, Engfeldt P, Tysk C, Sjostrom M, Nilsson TK. Prevalence and trends in adult-type hypolactasia in different age cohorts in Central Sweden diagnosed by genotyping for the adult-type hypolactasia-linked LCT - 13910C > T mutation. *Scand J Gastroenterol*. 2007 Feb;42(2):165-70.
30. Raz M, Sharon Y, Yerushalmi B, Birk R. Frequency of LCT-13910C/T and LCT-22018G/A single nucleotide polymorphisms associated with adult-type

hypolactasia/lactase persistence among Israelis of different ethnic groups. *Gene*. 2013 Apr 25;519(1):67-70.

31. Olds LC, Sibley E. Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element. *Hum Mol Genet*. 2003 Sep 15;12(18):2333-40.
32. Lewinsky RH, Jensen TG, Moller J, Stensballe A, Olsen J, Troelsen JT. T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Hum Mol Genet*. 2005 Dec 15;14(24):3945-53.
33. Enattah NS, Kuokkanen M, Forsblom C, Natah S, Oksanen A, Jarvela I, et al. Correlation of intestinal disaccharidase activities with the C/T-13910 variant and age. *World J Gastroenterol*. 2007 Jul 7;13(25):3508-12.
34. 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.
35. Seva-Pereira A, Beiguelman B. [Primary lactose malabsorption in healthy Brazilian adult caucasoid, negroid and mongoloid subjects]. *Arq Gastroenterol*. 1982 Jul-Sep;19(3):133-8.
36. Goncalves VF, Carvalho CM, Bortolini MC, Bydlowski SP, Pena SD. The phylogeography of African Brazilians. *Hum Hered*. 2008;65(1):23-32.
37. Sun HM, Qiao YD, Chen F, Xu LD, Bai J, Fu SB. The lactase gene -13910T allele can not predict the lactase-persistence phenotype in north China. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2007;16(4):598-601.
38. Xu L, Sun H, Zhang X, Wang J, Sun D, Chen F, et al. The -22018A allele matches the lactase persistence phenotype in northern Chinese populations. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45(2):168-74.
39. Prentice A. Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutrition*. 2007;7(1a).

40. Jackson KA, Savaiano DA. Lactose maldigestion, calcium intake and osteoporosis in African-, Asian-, and Hispanic-Americans. *J Am Coll Nutr.* 2001 Apr;20(2 Suppl):198S-207S.
41. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia Alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília 2006.
42. Matlik L, Savaiano D, McCabe G, VanLoan M, Blue CL, Boushey CJ. Perceived milk intolerance is related to bone mineral content in 10- to 13-year-old female adolescents. *Pediatrics.* 2007 Sep;120(3):e669-77.
43. Keith JN, Nicholls J, Reed A, Kafer K, Miller GD. The prevalence of self-reported lactose intolerance and the consumption of dairy foods among African American adults are less than expected. *J Natl Med Assoc.* 2011 Jan;103(1):36-45.
44. Kull M, Kallikorm R, Lember M. Impact of molecularly defined hypolactasia, self-perceived milk intolerance and milk consumption on bone mineral density in a population sample in Northern Europe. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44(4):415-21.
45. Enattah N, Valimaki VV, Valimaki MJ, Loyttyneimi E, Sahi T, Jarvela I. Molecularly defined lactose malabsorption, peak bone mass and bone turnover rate in young finnish men. *Calcif Tissue Int.* 2004 Dec;75(6):488-93.
46. Gugatschka M, Hoeller A, Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H, Pietschmann P, Kudlacek S, et al. Calcium supply, bone mineral density and genetically defined lactose maldigestion in a cohort of elderly men. *J Endocrinol Invest.* 2007 Jan;30(1):46-51.
47. 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 Dec;98(12):857-63.

48. Enattah N, Pekkarinen T, Valimaki MJ, Loyttyniemi E, Jarvela I. Genetically defined adult-type hypolactasia and self-reported lactose intolerance as risk factors of osteoporosis in Finnish postmenopausal women. *Eur J Clin Nutr.* 2005 Oct;59(10):1105-11.
49. Lehtimäki T, Hemminki J, Rontu R, Mikkilä V, Rasanen L, Laaksonen M, et al. The effects of adult-type hypolactasia on body height growth and dietary calcium intake from childhood into young adulthood: a 21-year follow-up study--the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Pediatrics.* 2006 Oct;118(4):1553-9.
50. Lember M, Torniainen S, Kull M, Kallikorm R, Saadla P, Rajasalu T, et al. Lactase non-persistence and milk consumption in Estonia. *World J Gastroenterol.* 2006 Dec 7;12(45):7329-31.
51. Obermayer-Pietsch BM, Bonelli CM, Walter DE, Kuhn RJ, Fahrleitner-Pammer A, Berghold A, et al. Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. *J Bone Miner Res.* 2004 Jan;19(1):42-7.
52. Enattah NS, Sulkava R, Halonen P, Kontula K, Jarvela I. Genetic variant of lactase-persistent C/T-13910 is associated with bone fractures in very old age. *J Am Geriatr Soc.* 2005 Jan;53(1):79-82.
53. 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 Feb 28;13(8):1230-5.
54. Khabarova Y, Törnänen S, Tuomisto S, Jarvela I, Karhunen P, Isokoski M, et al. Lactase non-persistent genotype influences milk consumption and gastrointestinal symptoms in Northern Russians. *BMC Gastroenterol.* 2011;11:124.
55. Sahi T, Jussila J, Penttilä IM, Sarna S, Isokoski M. Serum lipids and proteins in lactose malabsorption. *Am J Clin Nutr.* 1977 Apr;30(4):476-81.

56. Russo F, De Carne M, Buonsante A, Cisternino AM, Centonze S, Giannandrea B, et al. Hypolactasia and metabolic changes in post-menopausal women. *Maturitas*. 1997 Apr;26(3):193-202.
57. Nicklas TA, Qu H, Hughes SO, He M, Wagner SE, Foushee HR, et al. Self-perceived lactose intolerance results in lower intakes of calcium and dairy foods and is associated with hypertension and diabetes in adults. *Am J Clin Nutr*. 2011 Jul;94(1):191-8.
58. Heaney RP. Calcium, dairy products and osteoporosis. *J Am Coll Nutr*. 2000 Apr;19(2 Suppl):83S-99S.
59. Huncharek M, Muscat J, Kupelnick B. Impact of dairy products and dietary calcium on bone-mineral content in children: results of a meta-analysis. *Bone*. 2008 Aug;43(2):312-21.
60. Heaney RP. Dairy and bone health. *J Am Coll Nutr*. 2009 Feb;28 Suppl 1:82S-90S.
61. Alonso A, Beunza JJ, Delgado-Rodriguez M, Martinez JA, Martinez-Gonzalez MA. Low-fat dairy consumption and reduced risk of hypertension: the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) cohort. *Am J Clin Nutr*. 2005 Nov;82(5):972-9.
62. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1997 Apr 17;336(16):1117-24.
63. Djousse L, Pankow JS, Hunt SC, Heiss G, Province MA, Kabagambe EK, et al. Influence of saturated fat and linolenic acid on the association between intake of dairy products and blood pressure. *Hypertension*. 2006 Aug;48(2):335-41.
64. Miller GD, DiRienzo DD, Reusser ME, McCarron DA. Benefits of dairy product consumption on blood pressure in humans: a summary of the biomedical literature. *J Am Coll Nutr*. 2000 Apr;19(2 Suppl):147S-64S.

65. Ruidavets JB, Bongard V, Simon C, Dallongeville J, Ducimetiere P, Arveiler D, et al. Independent contribution of dairy products and calcium intake to blood pressure variations at a population level. *J Hypertens*. 2006 Apr;24(4):671-81.
66. Mirmiran P, Esmailzadeh A, Azizi F. Dairy consumption and body mass index: an inverse relationship. *Int J Obes (Lond)*. 2005 Jan;29(1):115-21.
67. Pereira MA, Jacobs DR, Jr., Van Horn L, Slattery ML, Kartashov AI, Ludwig DS. Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults: the CARDIA Study. *JAMA*. 2002 Apr 24;287(16):2081-9.
68. Zemel MB, Richards J, Mathis S, Milstead A, Gebhardt L, Silva E. Dairy augmentation of total and central fat loss in obese subjects. *Int J Obes (Lond)*. 2005 Apr;29(4):391-7.
69. Van Loan M. The role of dairy foods and dietary calcium in weight management. *J Am Coll Nutr*. 2009 Feb;28 Suppl 1:120S-9S.
70. Huncharek M, Muscat J, Kupelnick B. Colorectal cancer risk and dietary intake of calcium, vitamin D, and dairy products: a meta-analysis of 26,335 cases from 60 observational studies. *Nutr Cancer*. 2009;61(1):47-69.
71. Park SY, Murphy SP, Wilkens LR, Nomura AM, Henderson BE, Kolonel LN. Calcium and vitamin D intake and risk of colorectal cancer: the Multiethnic Cohort Study. *Am J Epidemiol*. 2007 Apr 1;165(7):784-93.
72. Wu K, Willett WC, Fuchs CS, Colditz GA, Giovannucci EL. Calcium intake and risk of colon cancer in women and men. *J Natl Cancer Inst*. 2002 Mar 20;94(6):437-46.
73. Choi HK, Willett WC, Stampfer MJ, Rimm E, Hu FB. Dairy consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in men: a prospective study. *Arch Intern Med*. 2005 May 9;165(9):997-1003.
74. Liu S, Choi HK, Ford E, Song Y, Klevak A, Buring JE, et al. A prospective study of dairy intake and the risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care*. 2006 Jul;29(7):1579-84.

75. Liu S, Song Y, Ford ES, Manson JE, Buring JE, Ridker PM. Dietary calcium, vitamin D, and the prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and older U.S. women. *Diabetes Care*. 2005 Dec;28(12):2926-32.
76. Mensink RP. Dairy products and the risk to develop type 2 diabetes or cardiovascular disease. *International Dairy Journal*. 2006;16(9):1001-4.
77. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Jun;92(6):2017-29.
78. Organização Mundial da Saúde. Health Topics: Ageing. Geneva; Available from: <http://www.who.int/topics/ageing/en/>.
79. de SSMV, Valadares AL, Costa-Paiva LH, Osis MJ, Sousa MH, Pinto-Neto AM. Aging, obesity, and multimorbidity in women 50 years or older: a population-based study. *Menopause*. 2013 Apr 1.
80. Rollan A, Vial C, Quesada S, Espinoza K, Hatton M, Puga A, et al. [Comparative performance of symptoms questionnaire, hydrogen test and genetic test for lactose intolerance]. *Rev Med Chil*. 2012 Sep;140(9):1101-8.
81. Wilt TJ, Shaukat A, Shamliyan T, Taylor BC, MacDonald R, Tacklind J, et al. Lactose intolerance and health. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)*. 2010 Feb(192):1-410.
82. Barros AJD, Menezes AMB, Santos IS, Assunção MCF, Gigante D, Fassa AG, et al. O Mestrado do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia da UFPel baseado em consórcio de pesquisa: uma experiência inovadora. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 2008;11:133-44.
83. Casellas F, Varela E, Aparici A, Casaus M, Rodriguez P. Development, validation, and applicability of a symptoms questionnaire for lactose malabsorption screening. *Dig Dis Sci*. 2009 May;54(5):1059-65.

84. J P Sinnwell, Schaid DJ. haplo.stats: Statistical Analysis of Haplotypes with Traits and Covariates when Linkage Phase is Ambiguous. 2013; Available from: <http://CRAN.R-project.org/package=haplo.stats>.
85. Gray R, Wheatley K. How to avoid bias when comparing bone marrow transplantation with chemotherapy. Bone Marrow Transplant. 1991;7 Suppl 3:9-12.
86. Keavney B, Danesh J, Parish S, Palmer A, Clark S, Youngman L, et al. Fibrinogen and coronary heart disease: test of causality by 'Mendelian randomization'. Int J Epidemiol. 2006 Aug;35(4):935-43.
87. Keavney B. Genetic epidemiological studies of coronary heart disease. Int J Epidemiol. 2002 Aug;31(4):730-6.
88. Mendel G. Experiments in Plant Hybridization. 1865; Available from: <http://www.mendelweb.org/archive/Mendel.Experiments.txt>.
89. Stern C. The Hardy-Weinberg Law. Science. 1943 Feb 5;97(2510):137-8.
90. Hardy GH. Mendelian Proportions in a Mixed Population. Science. 1908 Jul 10;28(706):49-50.
91. Smith GD, Ebrahim S. 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol. 2003 Feb;32(1):1-22.
92. 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 Jul;8(7):581-6.

14. Apêndices

14.1. Apêndice A. Randomização mendeliana: princípios e aplicações

Considerando a possibilidade de estudar a relação entre hipolactasia e desfechos em saúde – tais como condições associadas ao consumo de cálcio e a marcadores metabólicos – através do uso de SNPs associados à hipolactasia como indicadores do consumo de produtos lácteos, é importante ter em mente as vantagens e desvantagens deste tipo de abordagem. Apesar das importantes contribuições da genética como componentes causais de doenças, existe uma diferente aplicação da epidemiologia genética no estudo de determinantes de desfechos em saúde, a qual é possivelmente preferida por epidemiologistas voltados ao estudo de exposições modificáveis. Em um desenho de estudo observacional denominado randomização mendeliana⁸⁵, variantes genéticas podem ser empregadas para o aumento de robustez da inferência causal em estudos observacionais, avaliando o efeito de “intenção de tratar” no desfecho de interesse^{86,87}.

A randomização mendeliana tem como princípio básico a 2ª Lei de Mendel, de acordo com a qual a segregação dos cromossomos durante os processos de divisão celular (neste caso, de especial importância para o processo de meiose – divisão celular que resulta na formação dos gametas) ocorre de maneira aleatória⁸⁸. Como exemplo hipotético, pode-se imaginar um determinado *locus* cromossômico que pode apresentar os alelos A ou a. Neste caso, a probabilidade do genótipo que um filho deste casal irá apresentar para este *locus* varia de acordo com os genótipos dos pais, conforme a figura 1 e a tabela 3. A 2ª Lei de Mendel, ao ser estendida para populações, gera o importante conceito de equilíbrio de Hardy-Weinberg, o qual consiste de um método matemático para avaliar as frequências genotípicas de um SNP⁸⁹. Isto apresenta importantes aplicações, por exemplo, na identificação de estratificação genética da população, causada pela existência de cruzamentos não-aleatórios⁹⁰.

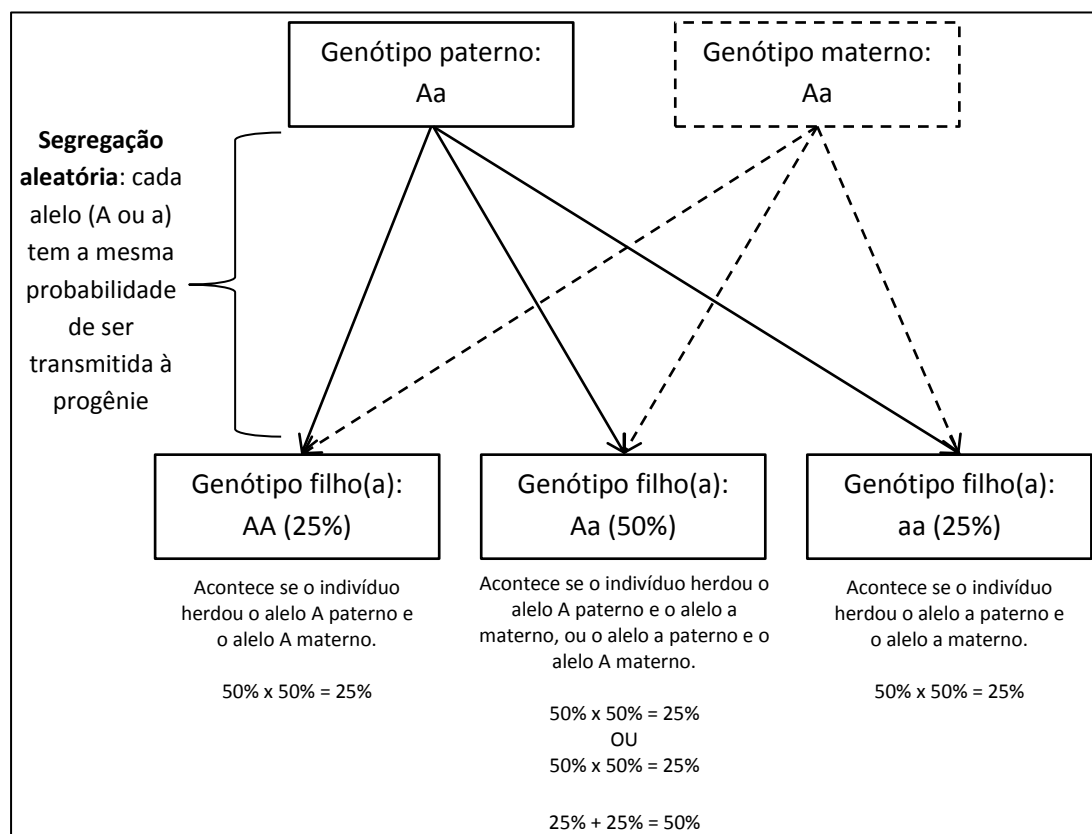


Figura 2. Ilustração da segregação aleatória dos cromossomos durante a meiose, ilustrando a situação de ambos os pais heterozigotos (Aa).

Tabela 12. Implicações da 2ª Lei de Mendel para a probabilidade do genótipo do filho com base nos genótipos dos pais

Genótipos dos pais	Genótipo do filho (probabilidade de ocorrência)
AA, AA	AA (100%)
AA, Aa	AA (50%), Aa (50%)
Aa, AA	AA (50%), Aa (50%)
Aa, Aa	AA (25%), Aa (50%), aa (25%)
Aa, aa	Aa (50%), aa (50%)
aa, Aa	Aa (50%), aa (50%)
aa, aa	aa (100%)

Esta característica da segregação cromossômica resulta na independência do genótipo de um indivíduo com relação a qualquer outra variável, visto que é um processo aleatório. Somando, então, a 2ª Lei de Mendel ao fato de que alguns perfis genéticos influenciam determinados comportamentos ou mimetizam situações de exposição a um determinado fator

de interesse, surge o conceito de randomização mendeliana. Neste conceito, são utilizados perfis genéticos como indicadores – que não são sujeitos à confusão – de uma determinada exposição de interesse, permitindo o estudo da mesma de maneira robusta, potencializando a inferência causal em estudos observacionais. Neste sentido, a randomização mendeliana remete aos ensaios clínicos randomizados, onde a exposição (no caso da randomização mendeliana, os perfis genéticos) é randomizada entre grupos. De fato, pode ser verificado na literatura que os resultados de estudos utilizando randomização mendeliana assemelham-se aos obtidos com ensaios clínicos randomizados. Outras vantagens do delineamento de randomização mendeliana incluem: o fato de que as associações não são diluídas por erros de medida, o que permite o estudo de fatores cujo estudo vem se mostrando difícil em epidemiologia; e a capacidade de avaliar o efeito cumulativo de uma exposição, pois o genótipo de um indivíduo não muda com o passar do tempo. Esta última vantagem demonstra a que é, possivelmente, a maior vantagem deste tipo de estudo, que é não estar sujeito à causalidade reversa (visto que perfis genéticos germinativos são determinados na concepção), de modo a aumentar o potencial de inferência causal de estudos transversais⁹¹.

É importante considerar que, apesar de, para determinados fatores (incluindo alguns comportamentos e níveis de determinados biomarcadores), os perfis genéticos exercerem grande influência, o que se observe é uma tendência e não uma certeza, de modo que, em nível populacional, o uso de indicadores genéticos de uma exposição enquadra-se no conceito de “intenção de tratar”, mas com uma conotação referente a estar ou não, de fato, exposto a uma determinada condição. Esta abordagem, no entanto, apresenta algumas limitações, dentre elas: conhecer um perfil genético que seja um bom indicador da exposição de interesse; o marcador genético de interesse estar em desequilíbrio de ligação (ou seja, estatisticamente associado) com outro marcador genético, cujos efeitos interferem no objeto de estudo (apesar de ser uma limitação mais teórica, pode ocorrer em populações onde há estratificação ou miscigenação genética; em geral este problema é controlado facilmente pelo ajuste estatístico por cor da pele); efeitos pleiotrópicos possivelmente

desconhecidos (ou seja, possivelmente o marcador genético em questão apresenta consequências além do objeto de estudo e que podem interferir neste); e, em alguns casos, são necessárias amostras grandes para detecção significativa (visto o marcador genético ser um indicador indireto e não-determinístico da exposição de interesse)⁹¹.

14.2. Apêndice B. Marco teórico

14.2.1. Introdução

O foco do modelo se fixa em fatores genéticos como determinantes de um comportamento, tendo as outras variáveis explicitadas para fins de contextualizar o comportamento em questão de maneira mais ampla no que se refere a seus determinantes, reconhecendo o aspecto multifatorial destes, além de possíveis inter-relações complexas entre os mesmos. No modelo em consideração, o comportamento (desfecho) é consumo de leite e derivados, e o determinante em foco são perfis genéticos relacionados com hipolactasia. O objetivo do modelo é fornecer o contexto para orientação da coleta e análise de dados na identificação de indivíduos com hipolactasia auto-percebida apesar de não apresentarem, de fato, esta condição.

Para correta apreciação do modelo proposto, deve-se, inicialmente, definir claramente os aspectos-chave do mesmo. Hipolactasia se refere à redução ou incapacidade de produzir a enzima lactase nas microvilosidades intestinais, resultando em inabilidade de digerir a lactose (açúcar presente no leite e seus derivados). Neste sentido, será considerada a hipolactasia adulta, desconsiderando hipolactasia congênita (causada por mutações no gene que codifica a lactase) e hipolactasia transiente (causada por injúrias agudas no intestino delgado)^{7,8}. Esta escolha se justifica pelo fato de que hipolactasia adulta é a principal forma de hipolactasia na população, sendo largamente mais prevalente do que as outras duas formas¹⁰ e, portanto, de maior relevância no que se refere à relação de hipolactasia com consumo de leite e derivados na população. Ao limitar o espectro de hipolactasia ao tipo adulto, os fatores genéticos relacionados a esta condição concentram-se a variações genéticas

populacionais em um *locus* do genoma envolvido na regulação da expressão da enzima lactase. Neste ponto, é importante ressaltar que tais perfis genéticos determinam em quase 100% a característica de hipolactasia adulta (ao ser comparado o resultado do teste genético com o teste de hidrogênio expirado, considerado padrão ouro), de tal maneira que o teste genético vem sendo apontado como método com grande potencial de aplicação clínica para diagnóstico desta condição¹⁵⁻¹⁸.

14.2.2. Relação entre perfis genéticos e consumo de leite e derivados

Conforme ilustrado no modelo conceitual, a influência exercida por perfis genéticos associados com hipolactasia adulta é mediada pela auto-percepção de intolerância à lactose, a qual tem como um de seus determinantes a má absorção de lactose. Neste ponto, é importante que sejam definidos alguns termos. Má absorção de lactose pode ser entendida como a consequência biológica direta da hipolactasia, resultando na metabolização incompleta da lactose mediante consumo de produtos que contenham este açúcar, implicando em sintomas gastrointestinais originados na fermentação deste açúcar pela microbiota. Esta fermentação resulta na produção de gases, que podem ser medidos no ar expirado, constituindo a base do teste do hidrogênio expirado. Considerando a altíssima concordância entre fatores genéticos relacionados com hipolactasia e o teste do hidrogênio, fica evidenciado que o teste genético identifica indivíduos que são maus absorvedores de lactose. Já o conceito de intolerância à lactose é mais relacionado à percepção do indivíduo quanto à presença destes sintomas. Uma definição interessante que vem sendo proposta consiste na aplicação de questionário dos sintomas em diferentes tempos após o “teste de desafio da lactose”⁸⁴.

Neste sentido, a literatura aponta concordância imperfeita entre os métodos, principalmente no que se refere à especificidade, de modo que uma parcela significativa de indivíduos que não apresenta má absorção de lactose (conforme teste genético e teste do hidrogênio expirado) percebe-se como

intolerante à lactose. Este ponto se agrava ainda mais quando os sintomas são perguntados de modo recordatório (sem utilização do teste de desafio)^{80,84,92}. Em acordo com estes estudos estão descrições populacionais recentes, em que as prevalências de intolerância auto-percebida foram aquém das estimativas baseadas em má absorção de lactose⁴³. Uma das principais explicações desta discrepância é o fato de o teste de desafio representar uma condição muito distante da realidade do consumo de lactose, sendo que uma parcela significativa de indivíduos diagnosticados como maus absorvedores podem, na sua dieta diária, consumir leite e derivados em níveis adequados sem apresentar sintomas e, conseqüentemente, percepção de intolerância^{23,81}.

É intuitivo que a auto-percepção prevalece no que se refere a alterações em um comportamento; no caso apresentado, este pensamento é corroborado por diferentes estudos que evidenciam que a auto-percepção de intolerância à lactose apresenta maior associação com consumo de leite e derivados quando comparada com má absorção de lactose^{44,45,48}. Apesar disto, deve-se atentar para o fato de que as características de má absorção de lactose e intolerância à lactose são altamente associadas entre si, e que associações significativas entre perfis genéticos associados à hipolactasia e consumo de leite e derivados vêm sendo detectadas em diferentes populações e no sentido esperado (i.e., perfis genéticos relacionados a uma menor capacidade de metabolização da lactose vem sendo associados a um menor consumo de leite e derivados)⁴⁹⁻⁵². Esta linha de raciocínio culmina na relação proposta no modelo conceitual, em que perfis genéticos que determinam má absorção de lactose decorrente de hipolactasia adulta constituem um determinante importante (apesar de não ser o único) da auto-percepção de intolerância à lactose. Deste modo, fica evidenciada uma relação complexa entre perfis genéticos e um comportamento (consumo de leite e derivados), mediada por auto-percepção de uma condição de saúde (um conceito que envolve aspectos biológicos, sociais e psicológicos), demonstrando que a epidemiologia genética apresenta aplicações além de simplesmente identificar indivíduos mais ou menos susceptíveis a determinadas doenças ou outras condições de saúde.

14.2.3. Determinantes demográficos e socioeconômicos

Apesar de o foco do modelo conceitual proposto ser nos efeitos de perfis genéticos associados com hipolactasia no consumo de leite e derivados, é importante considerar, também, outros determinantes deste comportamento, por três principais motivos: 1) Diferentes estudos verificaram discordâncias entre má absorção de lactose e intolerância auto-percebida, sugerindo que existem fatores não-genéticos que influenciam a percepção desta condição; 2) Detectar determinantes desta discordância (ou seja, fatores causais na determinação de auto-percepção de intolerância à lactose, ainda que o indivíduo não seja mau absorvedor) é importante para fundamentar a elaboração de medidas de intervenção (tais como programas educacionais) efetivas para reduzir o número de indivíduos que deixam de consumir leite ou derivados desnecessariamente; 3) A associação entre perfis genéticos relacionados com hipolactasia pode ser confundida por estratificação populacional, pois tais perfis genéticos encontram-se diferencialmente distribuídos nos diferentes estratos étnicos que compõem a população, e tais estratos são associados com outros fatores (e.g., status socioeconômico). Tendo estes tópicos em mente, faz-se necessário, para o entendimento mais completo da principal relação que o modelo se propõe a explicar (perfis genéticos de hipolactasia e consumo de leite e derivados), discutir os pontos explicitados.

A noção de que má absorção da lactose e auto-percepção de intolerância não representam a mesma condição, com alguns determinantes em comum e outros característicos, pode ser verificada na literatura no assunto (conforme já exposto), principalmente pela unanimidade nas conclusões de estudos que avaliaram o potencial da aplicação de questionário de sintomas (especialmente questionário recordatório) para determinação de má absorção, utilizando métodos validados (teste do hidrogênio expirado e/ou teste genético) como padrão-ouro. Tal unanimidade se refere à inadequação do uso de questionário para determinar má absorção. No entanto, conforme discutido anteriormente, estes resultados possivelmente indicam que estas duas

condições são essencialmente diferentes, devendo ser coletadas separadamente, tendo em vista o que cada uma representa e implica.

Por ser uma condição que envolve aspectos biológicos, sociais e psicológicos, a busca por fatores determinantes de auto-percepção de intolerância à lactose é dificultada. Apesar disso, existem evidências acerca de implicações de determinantes demográficos e socioeconômicos. Neste sentido, foi encontrada (nos EUA) uma associação entre sexo e auto percepção de intolerância, sendo indivíduos do sexo feminino mais propensos a reportar tal condição. Apesar de ter sido medida como sexo, muito possivelmente esta relação tem origem na questão de gênero, sendo que é sabido que mulheres tendem a reportar mais sintomas do que homens. Também foi encontrada uma relação bruta com etnia, porém é difícil discernir a contribuição da genética e de variáveis socioeconômicas nesta associação. Interessantemente, não foi encontrada uma associação bruta com idade, o que é contrário a uma possível intuição de que idosos tenderiam a reportar sintomas⁵⁷. Porém, em um estudo realizado por Muniz e colaboradores (aceito para publicação em 2012) em outra população (Pelotas, RS), observou-se um aumento do consumo de leite e derivados de acordo com o aumento da idade, provavelmente devido à orientação médica (idosos tendem a utilizar os serviços de saúde com mais frequência) e/ou ao senso comum altamente difundido quanto ao risco de fragilidade óssea na fase idosa e da importância do cálcio nesta condição.

Também é plausível hipotetizar que o status socioeconômico pode influenciar na auto-percepção de intolerância, pois indivíduos de maior condição social/financeira tem maior acesso a serviços de saúde mais qualificados, influenciando na probabilidade de serem submetidos ao diagnóstico de má absorção e de receberem orientação quanto ao consumo de leite e derivados, implicando tanto na auto percepção de intolerância como na relação entre auto-percepção e o consumo (caracterizando-se como um modificar de efeito desta relação). Tal modificação de efeito possivelmente seria verificada quanto a nível educacional, pois pessoas mais instruídas tem mais capacidade de apreender e aderir às orientações profissionais. Quanta à relação entre nível educacional e socioeconômico no consumo de leite e

derivados, resultados obtidos em um estudo realizado na população de Pelotas, RS (dados não publicados do estudo de Muniz e colaboradores) demonstraram uma associação (em análise ajustada) altamente significativa com cada uma destas variáveis de modo independente. Indivíduos mais escolarizados e de melhores condições sociais/financeiras tendem a consumir mais leite e derivados, possivelmente por terem mais acesso a estes produtos e terem consciência da importância do cálcio e de outros componentes nutricionais do leite, respectivamente. No que se refere a variáveis demográficas, um potencial determinante do acesso aos produtos seria viver na zona urbana ou rural, pois é plausível que uma família desfavorecida socioeconomicamente tenha maior acesso a leite e derivados na zona rural (através de produção para subsistência ou fornecidos pelo empregador) do que na zona urbana (onde estes produtos são adquiridos em supermercados ou outras distribuidoras alimentícias).

14.2.4. Considerações finais do modelo

Adicionando ao exposto acima o fato de que as frequências da grande maioria dos perfis genéticos variam conforme a cor da pele (o que já foi demonstrado para os perfis genéticos determinantes de hipolactasia adulta na população brasileira¹⁹ e em outras populações³⁰), fica evidenciado que as associações entre perfis genéticos relacionados à hipolactasia, auto-percepção de intolerância e consumo de leite e derivados são confundidas, sendo necessário considerar a cor da pele na análise. Assim, o modelo proposto também se mostra útil na orientação da análise dos dados do tema, realçando a importância de se tentar contextualizar o desfecho dentro de um contexto abrangente. Portanto, os presentes modelo conceitual e marco teórico apresentam-se úteis em investigações que objetivem: estimar a prevalência de indivíduos que apresentam intolerância auto-percebida, mesmo não apresentando perfis genéticos associados a má-absorção de lactose; avaliar a influência de intolerância auto-percebida no consumo de leite e derivados; estimar a diminuição desnecessária (no que se refere à má absorção de

lactose) no consumo de leite e derivados na população em questão; investigar fatores de risco para intolerância à lactose auto-percebida.

14.3. Apêndice C. Instrumento de pesquisa

As partes do instrumento que serão lidas ao entrevistado estão marcadas em negrito:

Orientação geral ao entrevistador: As perguntas a seguir têm como objetivo conhecer os hábitos de consumo de laticínios dos entrevistados, bem como sua percepção quanto a eventuais sintomas que sentem/sofrem ao consumi-los. Desta forma, é essencial que o entrevistador se atenha às perguntas conforme foram escritas, podendo repeti-la(s) uma ou mais vezes se necessário, instruindo ao entrevistado a responder conforme entende a pergunta.

Introdução: **Agora, vamos conversar sobre seus hábitos de consumo de leite e produtos feitos à base de leite, como queijo, iogurte, requeijão, creme de leite ou nata. Além disso, perguntarei se o(a) Sr.(a) sente algum sintoma ou desconforto ao consumir este tipo de produto.**

Nesta pergunta, tanto respostas afirmativas (por exemplo, “sim”) quanto “intermediárias” (por exemplo, “às vezes”) devem ser marcadas como “Sim” pelo entrevistador.

1) Nesse ultimo mês, o senhor tomou leite ou algum destes outros produtos?

(1) Sim (ir para questão 2).

(0) Não (ir para questão 3).

(99) Ignorado.

Nesta pergunta, deseja-se saber o consumo de laticínios do entrevistado nos últimos sete (7) dias. Desta forma, ao realizar a pergunta, substitua “<dia da semana>” pelo dia da semana da entrevista. É importante ter em mente que o número de dias deve estar entre 0 a 7 (incluindo ambos). Se não, o

entrevistador deve repetir a pergunta. É necessário orientar o entrevistado a responder tendo em vista que a resposta se refere ao número de dias em que pelo menos um destes produtos foi consumido.

2) Desde <dia da semana> passada até hoje, em quantos dias o(a) Sr.(a) tomou leite ou comeu queijo, iogurte, requeijão, creme de leite ou nata?

___ dias (vá para questão 3).

(8) Não se aplica.

(99) Ignorado.

A seguir, serão feitas perguntas sobre a auto percepção de sintomas ao consumir laticínios. Nestas, é crítico que o entrevistador se atenha à pergunta tal qual está escrita, pois a subjetividade da interpretação é parte importante da auto percepção do desfecho de interesse. A resposta “Sentia algum sintoma” deve ser assinalada caso o consumo de ao menos um produto lácteo resulte nesta percepção por parte do entrevistado (exemplo: “Tenho dor de barriga só quanto tomo leite, mas não ao comer queijo”). Nesta questão, os verbos “sentir” e “tomar” devem ser conjugados no presente (“sente” e “toma”) se a resposta da pergunta 1 foi “Sim”, ou no passado (“sentia” e “tomava”) se a resposta da pergunta 1 foi “Não”.

3) O(a) Sr.(a) sente/sentia algum desconforto ou sintoma quando toma/tomava leite ou produtos feitos à base de leite, como os que eu falei antes?

(1) Sim (ir para questão 4).

(0) Não (parar aqui).

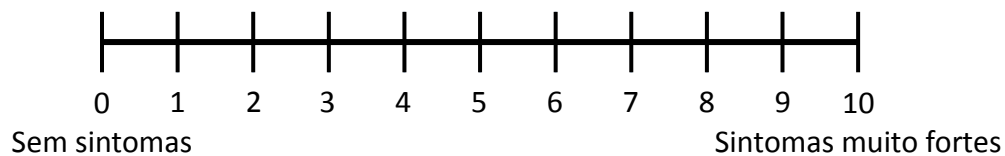
(99) Ignorado.

Nesta introdução, os verbos “ter” e “tomar” devem ser conjugados no presente (“tem” e “toma”) se a resposta da pergunta 1 foi “Sim”, ou no passado (“tinha” e “tomava”) se a resposta da pergunta 1 foi “Não”.

Agora, eu gostaria de pedir que o(a) Sr.(a) respondesse a perguntas sobre sintomas que o(a) Sr.(a) tem/tinha quando toma/tomava leite ou outros produtos feito à base de leite, como queijo, iogurte, requeijão, creme de leite ou nata.

Nesta linha, o numero zero corresponde a quem não sente nada, e o numero dez a quem tem sintomas muito fortes, que não conseguem aguentar. Por favor, me mostre onde nesta linha ficam os seus sintomas.

Para cada item da escala, mostrar a escala abaixo (Anexo ao questionário).



Respostas da escala:

4.1.) Diarréia: ____

4.2.) Dor de barriga/cólicas: ____

4.3.) Vômito/enjôo: ____

4.4.) Ruídos no estômago ou intestino: ____

4.5.) Gases ou inchaço: ____

99. Ignorado

15. Alterações no projeto original

Este projeto foi apresentado e revisado pelo professor Bernardo Lessa Horta no dia 11 de setembro de 2013. Esta versão contém as revisões sugeridas. Porém, cabe destacar algumas alterações realizadas posteriormente.

No projeto original, não foi prevista a incorporação da variável osteoporose (auto-relato) nas análises. No entanto, considerando a importância desta doença em idosos e a relação bem-estabelecida entre esta condição e consumo de cálcio (cuja principal fonte nutricional é o leite e seus derivados), optou-se por realizar esta análise e incluí-la no artigo principal.

Optou-se, também, por incluir os resultados das análises genéticas em um segundo artigo, a ser elaborado após a presente dissertação. Foram três os principais motivos para esta decisão:

1) A escassez de estudos no tema de intolerância à lactose auto-percebida, sendo o artigo principal desta dissertação o primeiro em países de baixa/média renda. Isto ressaltou a importância de investigar em maior detalhe o tema da intolerância auto-percebida e sua relação com consumo de laticínios e osteoporose, bem como uma maior possibilidade de discussão destes resultados em um mesmo artigo.

2) A inclusão de osteoporose nas análises, que aumentou a quantidade de resultados a serem apresentados e discutidos.

3) A impossibilidade de realizar as genotipagens com qualidade em tempo hábil, devido a extensão do tempo de trabalho de campo para muito além da previsão inicial e de dificuldades com a padronização do protocolo. Neste ponto, vale ressaltar que as extrações de DNA e a amplificação de várias cópias do fragmento do genoma que contém o SNP de maior interesse (rs4988235) já foram realizadas para todas as amostras, faltando apenas as etapas de clivagem enzimática e eletroforese para determinação dos genótipos.

2 – Relatório do trabalho de campo

SUMÁRIO

1. Introdução.....	69
2. Comissões do trabalho de campo.....	71
3. Questionários	73
4. Manual de instruções.....	74
5. Amostra e processo de amostragem	74
6. Seleção e treinamento das entrevistadoras	75
7. Estudo piloto.....	77
8. Logística e trabalho de campo	78
9. Logística dos acelerômetros	80
10. Controle de qualidade.....	81
11. Resultados gerais.....	81
12. Cronograma.....	84
13. Orçamento.....	84
14. Referências.....	85

1. Introdução

O Programa de Pós-graduação em Epidemiologia (PPGE) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) foi criado em 1991 e foi o primeiro da área de Saúde Coletiva a receber nota 7, conceito máximo da avaliação da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), sendo considerado de excelência no padrão internacional.

Desde 1999, o PPGE realiza bianualmente o “Consórcio de Pesquisa”, que é um estudo transversal de base populacional realizado na zona urbana do município de Pelotas, no sul do Rio Grande do Sul¹. A logística do consórcio reduz o tempo do trabalho de campo e otimiza recursos financeiros e humanos. Além disso, esta abordagem promove o compartilhamento da experiência em todas as etapas de um estudo epidemiológico entre os alunos, resultando nas dissertações dos mestrandos e retratando a situação de saúde da população da cidade.

O planejamento do estudo ocorreu durante quatro bimestres, nas disciplinas de Prática de Pesquisa I a IV ofertadas pelo PPGE, desde a escolha dos temas até a planificação e execução do trabalho de campo. Em 2013/14, a pesquisa contou com a supervisão de 18 mestrandos do PPGE, sob a coordenação de três docentes do Programa: Dra. Maria Cecília Assunção, Dra. Helen Gonçalves e Dra. Elaine Tomasi. Neste biênio, o estudo foi realizado apenas com a população idosa (indivíduos com pelo menos 60 anos da idade completos) da cidade. Foram investigados aspectos demográficos, socioeconômicos e comportamentais, juntamente com temas específicos de cada mestrando (Tabela 1). Além da aplicação do questionário, foram realizados testes, mensurações antropométricas e de atividade física através de acelerômetro, sendo essas medidas parte dos estudos de alguns mestrandos. O peso e altura do joelho possibilitaram a medida de Índice de Massa Corporal através de uma fórmula específica, que foi a única comum a todos os mestrandos além do questionário geral.

Tabela 1. Descrição dos alunos, áreas de formação e temas do Consórcio de Pesquisa do PPGE. Pelotas, 2013/2014.

Mestrando	Graduação	Tema de pesquisa
Ana Paula Gomes dos Santos	Nutrição	Comportamento alimentar
Andrea Wendt Böhm	Educação Física	Suporte social para atividade física
Bárbara Heather Lutz	Medicina	Uso de medicamentos inadequados
Camila Garcez Ribeiro	Odontologia	Perda dentária e uso de prótese
Caroline Dos Santos Costa	Nutrição	Obesidade geral e abdominal
Fernanda Ewerling	Economia	Avaliação temporal da posse de bens
Fernando Pires Hartwig	Biotecnologia	Consumo de leite e intolerância à lactose
Giordano Santana Sória	Odontologia	Falta de acesso e utilização de serviço odontológico
Isabel Oliveira Bierhals	Nutrição	Dependência para comer, comprar e fazer as refeições
Luna Strieder Vieira	Nutrição	Risco nutricional
Maurício Feijó da Cruz	Educação Física	Simultaneidade de fatores de risco para doenças crônicas
Natália Limões Hellwig	Psicologia	Sintomas depressivos
Natália Peixoto Lima	Nutrição	Ambiente domiciliar e fatores de risco para queda

Rosália Garcia Neves	Enfermagem	Vacinação contra <i>influenza</i>
Simone Farías Antúnes	Nutrição	Fragilidade em idosos
Reis		
Thaynã Ramos Flores	Nutrição	Orientações sobre hábitos saudáveis
Thiago Gonzalez Barbosa	Medicina	Prevalência de Sarcopenia
Vanessa Iribarrem	Farmácia	Utilização do programa Farmácia
Miranda		Popular

Através dos projetos individuais de cada mestrando, foi elaborado um projeto geral intitulado “Avaliação da saúde de idosos da cidade de Pelotas, RS, 2013”. Este projeto (chamado de “projeto”) contemplou o delineamento do estudo, os objetivos e as justificativas de todos os temas de pesquisa, além da metodologia e outras características. O projeto foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFPel através da Plataforma Brasil no dia 19 de novembro de 2013, com a obtenção do número de protocolo: 201324538513.1.0000.5317. No dia posterior ao envio, o projeto foi aprovado pelo comitê.

2. Comissões do trabalho de campo

O Consórcio de Pesquisa busca integrar todos os mestrandos para o trabalho em grupo. Para isso foram estabelecidas comissões, visando uma melhor preparação e condução da pesquisa. Todos os mestrandos fizeram parte de pelo menos uma dessas comissões. Os alunos que recebem bolsa pela fundação *Wellcome Trust* participaram do Consórcio de 2013/14, embora suas dissertações não tenham sido feitas com os dados coletados nesta pesquisa. As comissões, com seus integrantes e atribuições, foram:

Elaboração do questionário: Bárbara Lutz; Thaynã Flores.

Atribuições: elaboração do questionário comum à todos os mestrandos, pela organização dos instrumentos de cada mestrando e pela elaboração do controle de qualidade.

Logística e trabalho de campo: Gary Joseph; Giordano Sória; Isabel Bierhals; Natália Hellwig.

Atribuições: contratação de uma secretária, aquisição e gerenciamento do material utilizado em campo, organização da seleção das candidatas para executarem a contagem dos domicílios (“bateção”) e para a função de entrevistadoras e dos respectivos treinamentos.

Elaboração do “Projetão”: Ana Paula Gomes; Camila Garcez.

Atribuições: elaboração do projeto geral enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa, com base em itens dos projetos de cada mestrando.

Financeiro: Fernanda Ewerling; Fernando Hartwig; Isabel Bierhals.

Atribuições: responsável pelo orçamento e controle das finanças do Consórcio de Pesquisa.

Amostragem e banco de dados: Andrea Böhm; Caroline Costa; Leidy Ocampo; Luna Vieira; Maurício Feijó da Cruz; Simone Farías.

Atribuições: organizar mapas e setores censitários para o processo de amostragem, montagem e gerenciamento do questionário na versão digital utilizando o programa Pendragom®Forms VI, transferência das entrevistas para o servidor e gerenciamento do banco de dados (incluindo correções de inconsistências e montagem do banco de dados final).

Divulgação do trabalho de campo: Giordano Sória; Rosália Neves; Thiago Silva.

Atribuições: divulgação da pesquisa para a comunidade através dos meios de comunicação existentes (juntamente com o setor de imprensa do Centro de Pesquisas Epidemiológicas) e participação na elaboração do

material com os resultados finais da pesquisa a serem devolvidos aos participantes.

Elaboração do relatório de trabalho de campo: Rosália Neves; Thaynã Flores.

Atribuições: registro de todas as informações relevantes das reuniões e pela elaboração do relatório do trabalho de campo do Consórcio de Pesquisa do PPGE.

Elaboração do manual de instruções: Thiago Silva; Vanessa Miranda.

Atribuições: elaboração de um manual de instruções contendo todas as informações sobre o instrumento geral, procedimentos genéricos durante a entrevista e instruções para cada pergunta dos questionários dos mestrandos.

Controle de planilhas: Fernanda Ewerling; Natália Lima.

Atribuições: controle do andamento do trabalho de campo de cada setor através de planilhas contendo informações em tempo real, e gerenciamento das inconsistências.

3. Questionários

As questões referentes aos aspectos socioeconômicos foram incluídas no bloco domiciliar, denominado “Bloco B”. As questões demográficas, comportamentais e específicas do instrumento de cada mestrando foram incluídas no questionário geral, denominado “Bloco A” ou bloco individual.

O Bloco A era respondido por indivíduos idosos residentes nos domicílios sorteados e que aceitaram participar da pesquisa. Este bloco conteve 220 questões, incluindo aspectos demográficos e questões específicas do instrumento de cada mestrando, como: atividade física, estilo de vida, presença de doenças, alimentação e nutrição, utilização dos serviços de saúde, vacinação contra a gripe, consultas com o dentista, utilização de prótese dentária, acesso e utilização de medicamentos, ajuda para alguma atividade de

vida diária e depressão. Além disso, continha os testes e medidas que foram realizados durante a entrevista (teste de marcha, “levante e ande” e de força manual; medidas de peso, altura do joelho e circunferência da cintura). Também foi coletada saliva apenas em idosos nascidas nos meses de janeiro, março, maio, junho, agosto, setembro, outubro e dezembro para a extração de material genético.

O Bloco B foi respondido apenas por uma pessoa, preferencialmente o chefe da família, podendo ser idoso ou não. Esse bloco conteve 31 perguntas referentes aos aspectos socioeconômicos da família e posse de bens.

4. Manual de instruções

O manual de instruções auxiliou no treinamento e nas entrevistas durante o trabalho de campo. Cada entrevistadora possuía uma versão impressa e uma versão digital (nos *netbooks*) do manual.

O manual era composto por informações necessárias para cada questionário, incluindo orientações sobre o que se pretendia coletar, explicação da pergunta e opções de resposta, além de instruções nos casos em que as opções deveriam ser lidas ou não. Ainda, continha as definições de termos utilizados no questionário, a escala de plantão com o telefone de todos os supervisores e cuidados com a manipulação do *netbook*.

5. Amostra e processo de amostragem

Nos projetos individuais, cada mestrando calculou o tamanho de amostra necessário para o tema de interesse. Em todos os cálculos foram considerados 10% para perdas e recusas com acréscimo de 15% para cálculo de associações (tendo em vista a possibilidade de confundimento negativo). Foi considerado, também, o efeito de delineamento amostral, dependendo de cada tema. Na oficina de amostragem realizada nos dias 16 e 17 de outubro de 2013 (coordenada pelos professores Aluísio Jardim Dornellas de Barros e Maria

Cecília Formoso Assunção), foi definido o maior tamanho de amostra necessário ($n=1.649$) para que todos os mestrandos tivessem a possibilidade de estudar os seus desfechos, levando em consideração as questões logísticas e financeiras envolvidas.

O processo de amostragem foi realizado em dois estágios. Inicialmente, foram selecionados os conglomerados ou setores censitários através dos dados do Censo de 2010². No total haviam 488 setores, restante 469 após agrupamento de alguns setores devido ao número muito pequeno de idosos. Estes setores foram ordenados de acordo com a renda média, para a realização de amostragem sistemática, favorecendo a representatividade das diferentes realidades existentes na cidade. Cada setor continha informação do número total de domicílios, totalizando 107.152 domicílios na zona urbana. Com base no Censo de 2010, para encontrar os 1.649 idosos, foi necessário incluir 3.745 domicílios da zona urbana do município de Pelotas. Definiu-se que seriam selecionados sistematicamente 31 domicílios por setor para possibilitar a identificação de, no mínimo, 12 idosos em cada setor (assumindo que a proporção de idosos é a mesma em todos os setores), implicando na inclusão de 133 setores censitários. Os domicílios dos setores selecionados foram listados e sorteados sistematicamente.

A comissão de amostragem e banco de dados providenciou os mapas de todos os setores sorteados e estes foram divididos entre os 18 mestrandos, ficando cada um responsável por, em média, sete setores censitários.

6. Seleção e treinamento das entrevistadoras

Para o reconhecimento dos setores e contagem dos domicílios, realizou-se uma seleção de pessoal para compor a equipe do trabalho de campo. Foi realizada uma pré-divulgação da abertura das inscrições para a função de “batedora” na rede social *Facebook* e na página eletrônica site do Centro de Pesquisas Epidemiológicas a partir do dia 14 de outubro de 2013. A divulgação do edital iniciou no dia 21 de outubro de 2013 e foi realizada por diversos meios, como: página eletrônica da UFPel e do Centro de Pesquisas, no jornal

Diário da Manhã, cartazes nas faculdades e via *Facebook* do PPGE e dos mestrandos. As inscrições foram encerradas no dia 1º de novembro de 2013.

Foram utilizados os seguintes critérios para seleção das “batedoras” e posteriormente entrevistadoras: ser do sexo feminino, ter o ensino médio completo e disponibilidade de tempo para realização do trabalho. Outras características também foram consideradas, como: experiência prévia em pesquisa, desempenho no trabalho no reconhecimento dos setores, aparência, carisma, relacionamento interpessoal e indicação por pesquisadores do programa. Nesse edital, inscreveram-se 157 pessoas. A seleção das entrevistadoras foi realizada com base em experiências prévias em pesquisa, disponibilidade de tempo e apresentação das candidatas, resultando em 77 pré-selecionadas.

O treinamento para o reconhecimento dos setores censitários foi realizado em novembro de 2013, tendo 4 horas de duração e ao final a aplicação de uma prova teórica, a qual serviu como um dos critérios de seleção. Das 77 pré-selecionadas, 67 compareceram no dia do treinamento, permanecendo após a realização da prova teórica 36. Cada mestrando contou com duas mulheres para realizar o reconhecimento de cada setor. Este processo, chamado de “bateção”, iniciou em novembro de 2013 e foi até o início de dezembro do mesmo ano, identificando todos os domicílios pertencentes aos setores correspondentes. Foram registrados o endereço completo e a situação do domicílio (se era residencial, comercial ou desocupado). Cada mestrando realizou o controle de qualidade (CQ) nos setores sob sua responsabilidade logo após o reconhecimento pelas bateradoras através de uma revisão aleatória de alguns domicílios, a observação do ponto inicial e final do setor e recontagem dos domicílios. Cada bateradora recebeu R\$ 60,00 por setor adequadamente reconhecido, sendo paga somente após o CQ feito pelo supervisor.

As 29 bateradoras que permaneceram até o final do reconhecimento dos setores foram chamadas para o treinamento do questionário e padronização das medidas. De acordo com a logística do trabalho de campo, seria

necessário no mínimo de 30 entrevistadoras. Além destas, foram chamadas outras indicadas por pesquisadores ou vindas de outras pesquisas que estavam sendo realizadas concomitantemente.

O treinamento para as entrevistas começou no dia 08/01/2014, sendo que 23 entrevistadoras foram convocadas. O mesmo foi realizado pelos mestrandos: cada um apresentou suas questões para favorecer uma maior qualidade das entrevistas. Após a prova teórica, 11 entrevistadoras foram selecionadas para a padronização de medidas de altura do joelho, circunferência da cintura, peso e circunferência da panturrilha. Durante a padronização uma entrevistadora desistiu, e as 10 restantes foram distribuídas em duplas de mestrandos.

O trabalho de campo iniciou no dia 28/01/2014 e, após o terceiro dia, três entrevistadoras desistiram. Diante do número reduzido de entrevistadoras, decidiu-se realizar uma nova seleção de entrevistadoras. O edital para inscrições foi realizado da mesma maneira que o primeiro. O período para inscrições foi do dia 31/01 até 07/02 de 2014. 65 entrevistadoras se inscreveram e todas foram chamadas para este segundo treinamento, que começou no dia 11/02/2014. 20 destas permaneceram após o primeiro dia, e restaram 14 para a padronização de medidas, tendo uma desistência totalizando em 13 entrevistadoras ao final. O treinamento e padronização de medidas tiveram duração de 2 semanas, utilizando os turnos da manhã e tarde.

7. Estudo piloto

O estudo piloto com as entrevistadoras selecionadas na primeira etapa ocorreu no dia 24/01/2014 em um setor não sorteado para a pesquisa em um dos condomínios da Cohabpel nos turnos manhã e tarde. Um mestrando de cada dupla responsável pela entrevistadora acompanhou a entrevista e realizou uma avaliação padrão, que também foi considerada mais uma etapa do processo seletivo. Após o estudo piloto, os mestrandos avaliaram as situações encontradas e possíveis erros nos questionários. As modificações

necessárias foram realizadas pela comissão do questionário, manual e banco de dados antes do início do trabalho de campo.

No dia 24/02/2014 foi realizado um segundo piloto, também no condomínio Cohabpel (no período da tarde). O desempenho das candidatas foi avaliado pelos mestrandos após os dois estudos piloto, sendo identificados aspectos que precisavam ser reforçados antes do início do trabalho de campo.

8. Logística e trabalho de campo

O trabalho de campo começou no dia 28/01/2014. Inicialmente, as entrevistadoras recebiam vales-transportes e visitavam os domicílios referentes aos setores dos seus mestrandos responsáveis. Porém, devido ao reduzido número de entrevistadoras e algumas desistências e, também, para dinamizar o trabalho de campo, a logística foi reorganizada contando com o auxílio de uma van da UFPel, que levava as entrevistadoras nos setores selecionados para a pesquisa. Para isso, o trabalho de campo foi realizado por bairros e respectivos setores, com todas as entrevistadoras juntas, porém cada mestrando continuou como responsável pelos setores previamente sorteados e pelas entrevistadoras que vinha supervisionando. Esta nova logística iniciou no dia 27/02/2014 e permaneceu até o final do trabalho de campo (02/08/2014), totalizando 114 dias.

Em todos os domicílios sorteados foi aplicado um questionário de composição familiar (CF), no qual eram registrados nome e idade de todos os moradores e contato telefônico (fixo e/ou celular). Nos domicílios onde havia pelo menos uma pessoa idosa, a mesma era convidada a participar da pesquisa no momento, através de uma carta de apresentação. Nos casos em que o momento da CF não era adequado, era agendado um horário melhor.

Nos domicílios em que não moravam idosos foi aplicado um questionário sobre a posse de bens a cada dois domicílios. Desta forma, no primeiro que fosse aplicado o questionário de CF e que não houvesse idosos aplicava-se o questionário de CF e o de posse de bens. No segundo que não tivesse idosos,

não se aplicava o questionário de posse de bens (apenas o de CF). No terceiro, aplicavam-se ambos, e assim por diante. Estes dados de domicílios sem idosos foram obtidos para possibilitar o estudo do tema de pesquisa de uma mestranda (Figura 1).

Inicialmente, as CF eram aplicadas pelas entrevistadoras juntamente com o questionário de posse de bens, com remuneração extra às entrevistas. Após o término das CF de todos os setores de um bairro iniciou-se a etapa de entrevistas, as quais foram agendadas por telefone ou pessoalmente, e distribuídas para as entrevistadoras de forma homogênea. Tendo em vista a nova logística, durante o trabalho de campo a escala de plantões teve que ser reorganizada, passando a ter dois mestrandos por dia, um que ia na van, organizando a rota e auxiliando as entrevistadoras, e outro que agendava as entrevistas e organizava a demanda recebida na sala do consórcio.

Diante das necessidades em identificar idosos em outros setores, de outros bairros, os mestrandos assumiram as CF, indo nos domicílios para fazer a identificação dos moradores e entregada carta de apresentação em casos de presença de idoso, além da aplicação das questões de posse de bens. Essa mudança foi um consentimento geral entre a turma a fim de otimizar o tempo do trabalho de campo. Sendo assim, outros setores foram abertos e as entrevistadoras ficaram responsáveis somente pelas entrevistas com idosos que, na maioria das vezes, eram previamente agendadas.

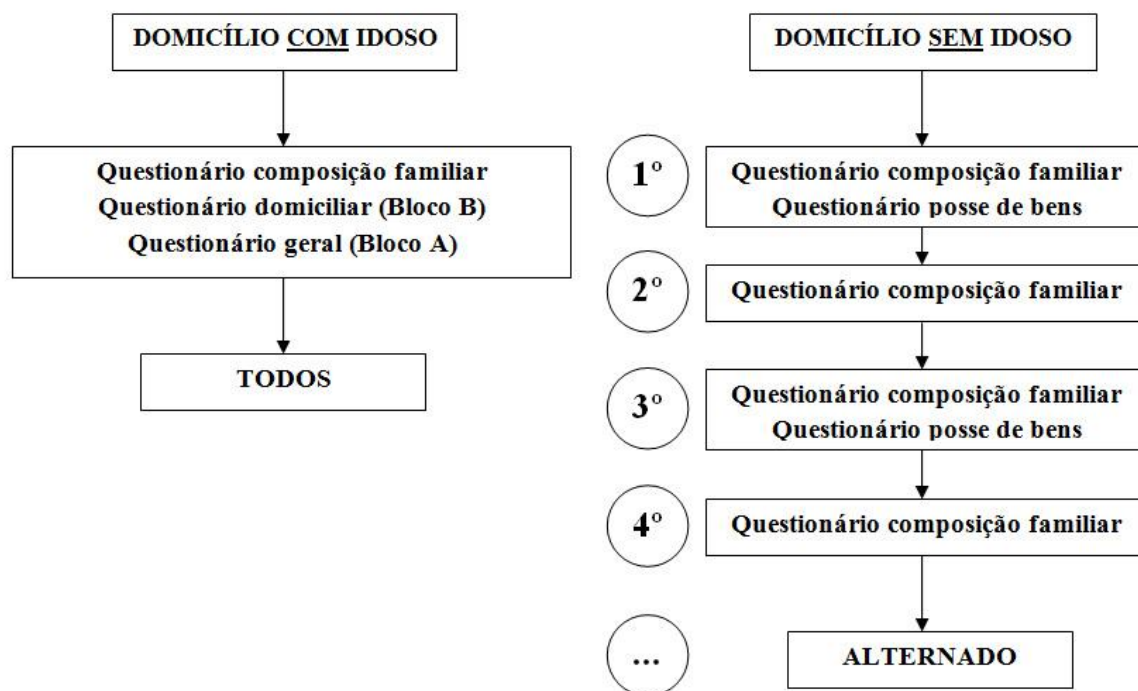


Figura 1. Fluxograma do funcionamento das entrevistas e composições familiares em domicílios com e sem idosos. Consórcio de Pesquisa do PPGE, 2014. Pelotas, RS.

9. Logística dos acelerômetros

Durante o trabalho de campo, todos os idosos entrevistados foram contatados para a entrega de acelerômetro, sendo de interesse de dois mestrandos da área. O modelo utilizado na coleta de dados foi o GENEActive®, o qual deveria ser utilizado durante sete dias. O dispositivo deveria ser colocado no pulso do membro superior não dominante, durante as 24 horas do dia, incluindo o banho e as horas de sono. Após esse período, o dispositivo era recolhido para o *download* e análise dos dados.

Quanto à marcação e entrega para a colocação, o agendamento era feito diariamente, via telefone. O responsável por esta tarefa marcava as colocações de segunda-feira a sábado e repassava para o entregador, o qual levava o aparelho até o domicílio dos idosos. O aparelho era ativado no momento da entrega. O recolhimento se dava sete dias após a colocação, sendo que o

responsável pelos agendamentos marcava com o indivíduo e o entregador buscava o dispositivo nos domicílios.

10. Controle de qualidade

Para garantir a qualidade dos dados coletados, foi feito treinamento das entrevistadoras, elaboração de manual de instruções, verificação semanal de inconsistências no banco de dados e reforço das questões que frequentemente apresentavam erros. Além disso, os mestrandos participaram ativamente do trabalho de campo fazendo o controle direto de diversas etapas.

Já na primeira etapa onde foi feito o reconhecimento dos setores pelas “batedoras”, os mestrandos realizaram um controle de qualidade checando a ordem e o número dos domicílios anotados na planilha, além de selecionar aleatoriamente algumas residências para verificar se as mesmas foram visitadas.

Após a realização das entrevistas, através do banco de dados recebido semanalmente, eram sorteados 10% dos indivíduos para aplicação de um questionário reduzido (19 questões), elaborado pela comissão do questionário. Este controle era feito pelos mestrandos por meio de revisita aos domicílios sorteados, para identificar possíveis problemas no preenchimento dos questionários e calcular a concordância, através da estatística Kappa, entre as respostas.

11. Resultados gerais

A coleta dos dados terminou no dia 02 de agosto de 2014 com oito entrevistadoras em campo. O banco de dados trabalhou durante duas semanas, após o final do trabalho de campo, para a entrega do banco final contendo todas as informações coletadas e necessárias para as dissertações dos mestrandos. Durante todo o trabalho de campo foram realizadas, periodicamente, reuniões entre os mestrandos, professoras supervisoras e

entrevistadoras visando o repasse de informações, tomada de decisões, resolução de dificuldades e avaliação da situação do trabalho. No dia 19 de agosto foi realizada a última reunião do Consórcio de Pesquisas do ano de 2013/2014, entre mestrandos e coordenadoras da pesquisa, para entrega dos resultados finais e atribuições de cada comissão.

Ao final foram completadas 1.451 entrevistas com idosos, sendo 63% (n= 914) do sexo feminino. O número de idosos encontrados foi de 1.844, totalizando 21,3% (n= 393) de perdas e recusas, sendo a maioria do sexo feminino (59,3%) e com faixa etária entre 60-69 anos (59,5%), conforme descrito na tabela 2. O percentual atingido, ao final do trabalho de campo, foi de 78,7% com o número de idosos encontrados (1.844) e de 88% considerando o número de idosos que se pretendia encontrar inicialmente (1.649).

Fizeram parte da pesquisa 4.123 domicílios dos 133 setores sorteados, sendo que 1.379 domicílios dos 3.799 visitados tinham moradores de 60 anos ou mais. Em relação ao estudo de uma mestranda sobre índice de bens, foram realizadas 886 listas de bens nos domicílios sem idosos, conforme a logística apresentada anteriormente. O percentual de CQ (10%) foi atingido, ao final, sendo realizados 145 controles.

Tabela 2. Descrição das perdas e recusas segundo sexo e idade. N=393.
Pelotas, RS.

Variáveis	N (%)
Sexo	
Masculino	159 (40,5)
Feminino	233 (59,3)
Sem informação	1 (0,2)
Faixa etária	
60-69	234 (59,5)
70-79	90 (22,9)
80 ou mais	67 (17,1)
Sem informação	2 (0,5)

12. Cronograma

As atividades do Consórcio tiveram início em outubro de 2013 e terminaram em agosto de 2014.

Atividades	2013			2014							
	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago
Oficina de amostragem											
Entrega do projeto ao CEP da FAMED, UFPEL											
Reconhecimento dos setores											
Elaboração do questionário e manual de instruções											
Treinamento das entrevistadoras											
Estudo Piloto											
Trabalho de campo											

13. Orçamento

O Consórcio de Pesquisa foi financiado por três diferentes fontes: recursos provenientes do Programa de Excelência Acadêmica (PROEX) da CAPES, repassados pelo PPGE, no valor de R\$ 82.500,00e recursos dos mestrandos no valor de R\$ 8.100,00. No total, foram disponibilizados R\$ 85.228,05, gastos conforme demonstrado abaixo (Tabelas 3 e 4).

TABELA 3. Gastos finais da pesquisa com recursos disponibilizados pelo programa para a realização do consórcio de mestrado 2013/2014.

Item		Quantidade	Custo total (R\$)
Vale-transporte		7.072	20.430,50
Pagamento	da	11 meses	9.393,34
secretária			
Pagamento	das	1.452	37.729,00
entrevistas			
Pagamento	da	134	8.340,00
bateção			
Camisetas/serigrafia		80	1.160,00
Cópias/impressões		50.000	4.000,00
Total		-	81.052,84

TABELA 4. Gastos finais da pesquisa com recursos disponibilizados pelos mestrandos do programa para a realização do consórcio de mestrado 2013/2014.

Itens	Quantidade	Custo total (R\$)
Seguro de vida entrevistadoras	21	1.485,78
Mochilas	20	960,00
Antropômetros	20	795,00
Material de escritório	-	606,43
Coquetel final de trabalho de campo	-	298,00
Divulgação	-	30,00
Total		4.175,21

Referências bibliográficas

1. Barros AJD, Menezes AMB, Santos IS, Assunção MCF, Gigante D, Fassa AG, et al. O Mestrado do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia

da UFPel baseado em consórcio de pesquisa: uma experiência inovadora. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 2008;11:133-44.

2. IBGE. Censo Brasileiro 2010. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2011.

3 – Artigo original

Self-perceived lactose intolerance and its association with sociodemographic characteristics, dairy intake and osteoporosis: a population-based cross-sectional study in Southern Brazilian elderly

Running title: Lactose intolerance, dairy intake and osteoporosis

Fernando Pires Hartwig*, Cesar Gomes Victora

Postgraduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

*Address correspondence to Fernando Pires Hartwig, fernandophartwig@gmail.com.

ABSTRACT

Dairy are the main nutritional sources of calcium and their consumption is often recommended to achieve calcium requirements. Self-perceived lactose intolerance may restrict dairy consumption, reducing calcium intake and increasing the risk of associated diseases including osteoporosis. This study was aimed at estimating the prevalence of self-perceived lactose intolerance and its association with sociodemographic variables (sex, age, ethnicity and socioeconomic indices), daily dairy intake (7-day period previous to the interview) and self-reported osteoporosis in a population-based sample of subjects ≥ 60 years of age living in the urban area of Pelotas (Southern Brazil). Data was collected in 2014 through face-to-face household interviews (n=1,451). Self-perceived lactose intolerance was collected both as a dichotomous variable and using a 5-item Leiket scale (0-50 points). Its prevalence was 18.1% among females and 13.0% for males. In multivariable models, daily dairy intake in intolerants was 0.6 (95% CI: 0.6; 0.7) times the number of days reported by tolerant. Prevalence of no consumption was 2.2 (95% CI: 1.7; 2.9) times higher in intolerant subjects than in others. Osteoporosis was reported by 36% of women and 8% of men. Dairy intake was 1.5 (95% CI: 1.3; 1.7) times more frequent among self-perceived lactose-intolerant individuals than among the rest. Adjusted etiologic fraction estimates were 16.5% and 7.4% for no dairy intake and osteoporosis, respectively. The main limitations of this study were the use of self-report for both lactose intolerance and osteoporosis and the possibility of reverse causation. Nevertheless, the present findings are in accordance with studies of the importance of lactose intolerance for achieving dairy intake recommendations in the elderly, with potential implications for the risk of osteoporosis.

Keywords: Lactase; Lactose intolerance; Dairy products; Calcium; Osteoporosis.

INTRODUCTION

Milk and dairy products are rich in proteins and some vitamins (especially vitamin A), as well as being the main nutritional source of calcium in many populations [1]. In the USA, they are estimated to provide 72% of the entire calcium intake [2]. These foods are also considered the main nutritional source of calcium in Brazil, and the Brazilian Ministry of Health recommends consuming two or three portions of dairy products (especially milk) daily to contribute to achieve calcium requirements [3].

Given the nutritional value of milk and dairy products, identifying the prevalence of lactose intolerance is important [4]. Lactase is an enzyme predominantly expressed in the enterocytes of the small intestine that catalyzes the hydrolysis of lactose (a disaccharide present in milk) into glucose and galactose, an important step in lactose metabolism [5]. If lactase is absent or insufficiently produced, non-metabolized lactose will be fermented by the gut microbiota, which releases hydrogen, carbon dioxide and methane and therefore causes gastrointestinal symptoms characterized by bloating, flatulence, abdominal pain and diarrhea [6].

Lactose malabsorption has three main forms: transient (caused by acute injuries to the small intestine, including gastroenteritis, chemotherapy, intestinal parasites and diarrhea), congenital (a rare and highly penetrant genetic condition that incapacitates lactose digestion since birth) and adult-type hypolactasia [7]. The latter is caused by a genetically programmed marked decrease in lactase expression after weaning [8,9] and represents the most common type of lactose intolerance. The prevalence of the genetic profiles associated with this condition vary from less than 5% in North European countries as Denmark, Great Britain and Sweden to 70%-80% in Southern Europe, and even above 90% in Southeast Asia) [10-12].

Lactose malabsorption symptomatology can be affected by the amount of dairy intake and the actual decrease in lactase production [13]. Indeed, for lactose malabsorption diagnosis, the patient is commonly challenged with much higher lactose dosages than the amounts present in regular meals [14]. Therefore, lactose malabsorption does not always implicate in self-perceived lactose intolerance [15,16] and the latter also does not necessarily mean that the former is present [17]. This suggests that self-perceived lactose intolerance have additional determinants, including sex, age and ethnicity [18-20].

Self-perceived lactose intolerance has a larger effect on dairy intake when compared to actual lactase deficiency [21,22]. Given the possibilities of dietary adaptation in a large portion of lactase deficiency cases, reduced calcium intake associated with self-perceived lactose intolerance may be (at least partially) preventable [23]. Therefore, it is important to study this condition in distinct populations. In low/middle-income populations, the relatively recent increase in the proportion of old-aged individuals is increasing the burden of chronic non-communicable diseases [24] including osteoporosis (characterized by low bone mass and structural deterioration of bone tissue, thus increasing bone fragility and risk of fractures [25]) [26,27]. Osteoporosis-related fractures are an important cause of morbidity in the elderly and result in a relevant economic burden on healthcare systems [28,29]. The present study aimed at estimating the prevalence of self-perceived lactose intolerance and its association with sociodemographic factors, dairy intake and osteoporosis in a population-based sample of individuals aged 60 years or older in Southern Brazil.

METHODS

Study Design and Participants

The present study was part of a multi-purpose population-based cross-sectional health survey [30] conducted in the city of Pelotas (Southern Brazil) in 2014. According to the 2010 national census, Pelotas had 328,275 inhabitants, of whom 15% were aged 60 years or more. The target population of this survey was the non-institutionalized elderly population (defined as individuals aged 60 years or more [31,32]) living in the urban area of Pelotas.

Sample size calculations were performed for each outcome within the multi-purpose health survey and the largest required sample size ($n=1,649$) was selected. For detecting an association between self-perceived lactose intolerance and self-reported dairy intake, a sample of 708 individuals was required based on the following assumptions: two-sided confidence level of 95%, power of 80%, relative risk of 1.5 and prevalence of self-perceived lactose intolerance of 8.3% (based on prevalence estimates for whites and blacks in the USA [18] applied to the ethnic mix of the Pelotas population [33]). The sample size was increased by 10% to compensate for non-response.

A two-stage sampling scheme was used, with census tracts in the first stage and households in the second. Based on 2010 census, 3,745 households in the urban area would have to be included to locate 1,649 elderly individuals. A total of 133 census tracts were selected from a list of 469 tracts using systematic sampling after ordering tracts according to mean family income. Next, 31 households (with an expected average of 12-13 elderly subjects) were systematically selected within each sampled tract. Each sampled household was visited by trained female interviewers, and all eligible individuals were invited to participate. At least three contact attempts in each household were performed to reduce non-response and none was replaced.

Data Collection

Field work lasted from January to August 2014. The interviews were face-to-face and conducted in Brazilian Portuguese using a standardized and pre-tested questionnaire, comprising questions about sociodemographic characteristics, health-related habits and diseases. The following variables were used: sex (male/female), age (in complete years and categorized in 60-64, 65-69, 70-74, 75-79 and 80 or more), self-reported skin color (white, black, brown, Native American and Asian), schooling (0, 1-3, 4-8, 9-11 and 12 or more complete years), two socioeconomic indices (one provided by the Brazilian Association of Research Companies (ABEP), used in five categories: A (wealthiest), B, C, D and E (poorest) [34]; and the national asset index [35], used in continuous form), self-reported dairy intake (days in the 7-day period previous to the interview), self-perceived lactose intolerance (yes/no), Likert scale of lactose intolerance (5-item visual scale, ranging from 0 to 50) [36] and self-reported osteoporosis. The last four variables were collected as shown in the supplementary material.

Statistical Analysis

Bivariable analyses were used to describe self-perceived lactose intolerance using the chi-squared test and the Likert scale of lactose intolerance using analysis of variance, according to sex, age, skin color, schooling and socioeconomic status. Bivariable and multivariable Poisson regression models were used to assess the association of dairy intake (in days, at least one day and at least seven days) with self-perceived lactose intolerance (dichotomous and Likert scale), and the associations of osteoporosis with dairy intake and lactose intolerance.

Dairy intake was coded in two ways: as a quantitative (days in the previous week) or dichotomous variable (none versus one or more days in the previous week). Perceived lactose intolerance was also coded in two alternative ways: yes/no or as a Likert scale. The combination of both variables resulted in four sets of equations for each sex and for both sexes combined. Confounding variables included sex, age, skin color, schooling, ABEP socioeconomic classification and the national asset index. Effect modification by sex was tested in all analyses. Etiologic fractions associated with self-perceived lactose intolerance for dairy intake and osteoporosis was calculated using the confounder-adjusted prevalence ratios [37]. The clustering imposed by the sampling process was accounted for in all analyses by setting the census tract and the household as the main and secondary sampling units, respectively. All analyses were performed using the software Stata version 12.1 (StataCorp®, Texas, USA).

Ethics Statement

The survey was approved by the Ethics Committee of the Medical School of Federal University of Pelotas (number 24538513.1.0000.5317). Written informed consent was obtained.

RESULTS

Within the 4,123 sampled households, information was obtained for 3,799 (92.1%). 1,844 eligible individuals were located and 1,451 (78.7%, and 88.0% of the target sample size of 1,649) were interviewed. Considering non-response at the household and individual levels, the estimated response rate was 72.5%. Non-response rate was slightly higher among males (22.8%) than in females (20.3%), and smaller among the

70-79 years of age group (16.4%) when compared to the other two groups (23.0%). About 10% of the sample (n=143) was re-interviewed within 15 days after the original interview using a short version of the questionnaire for quality control assessment. In the present study, this was evaluated using self-perceived lactose intolerance (dichotomous), for which an agreement of 90.8% and a Kappa statistic of 0.61 were observed. The design effects on the variance of the prevalence of self-reported lactose intolerance and osteoporosis were 1.20 and 1.03 (respectively), and 1.40 for the mean number of days of dairy intake in the 7-day period previous to the interview.

A description of the sample is provided in table 1. Those interviewed were mostly female, aged 60-69 years, self-reported as whites, had up to 8 years of schooling and were classified as of middle socioeconomic class (males were, on average, wealthier than females). About one in six subjects did not report any dairy intake in the previous week, and three out of five reported daily consumption. Females reported consuming more dairy products than males.

Table 2 presents the frequency of self-reported lactose intolerance, dairy intake and osteoporosis according to sociodemographic variables. The overall prevalence and mean value of the Likert scale were 16.2% and 2.3 points, respectively. Smaller values were observed for males than for females. There was also statistical evidence of an association with age, but there were no clear linear trends. Reported intolerance was less common in whites than in other ethnic groups, although without strong statistical evidence. There were no statistical evidence for association regarding schooling ($P>0.90$) and socioeconomic status ($P>0.15$). Dairy intake was higher among females, whites and individuals of higher age or socioeconomic position. The overall mean number of intake days was 5, and about 1 out of 6 individuals reported no intake in the

previous week. The prevalence of osteoporosis was 25.3%, being 4.5 times more common in females than in males. This condition was less frequent in blacks/browns and individuals of higher schooling or age. There was no statistical evidence for effect modification by sex in any of the above analyses ($P>0.30$), except for the association between socioeconomic status and categorized dairy intake ($P=0.10$).

The associations between dairy intake and self-perceived lactose intolerance are presented in table 3. Controlling for sociodemographic confounding variables did not substantially affect the results. One would expect intolerance to be associated with fewer days of daily consumption (top half of table 3) and with a higher frequency of no consumption (bottom half of table 3). This was indeed the case, and consistent associations between intake and reported intolerance were observed for both sexes, and in all models. Overall, intolerance was associated with a reduction by up to 50% in the intake variables. Consistent results were also obtained when the outcome was categorized into seven days vs. less than seven days of dairy intake and (regarding the Likert scale) when lactose tolerant individuals were removed, although with larger P-values since more than 80% of the sample is excluded (data not shown). There was some statistical evidence for effect modification by sex (with larger effect estimates in females) for the outcome treated as number of days, although such evidence was not observed in any of the two dichotomous forms. Etiologic fractions were 12.5% for seven days vs. less than seven days of dairy intake and 16.5% for no dairy intake vs. at least one day of dairy intake.

Table 4 presents the association of osteoporosis with dairy intake in the 7-day period previous to the interview. In the crude analyses for both sexes combined, there was statistical evidence ($P=0.03$) of a 30% reduction in osteoporosis for subjects who did

not consume dairy products, compared to those who reported at least one day of consumption. These results suggest that consumption was higher, not lower, among those who reported osteoporosis. Adjustment for sociodemographic variables changed the estimate to a 20% reduction ($P=0.14$). Sex-specific associations presented higher P levels. Therefore, there is no statistical evidence overall of an association between reported intake and osteoporosis.

Regarding self-perceived lactose intolerance, there was statistical evidence of an association with osteoporosis even after adjustment, with a 50% increase in intolerant, compared to tolerant individuals. Moreover, each 10-point increase in the Likert scale was associated with a 20% increase in the prevalence of osteoporosis. Similarly to table 3, consistent results were obtained when the outcome was categorized into 7 days vs. less than seven days of dairy intake and (regarding the Likert scale) when lactose tolerant individuals were removed (data not shown). There were no statistical evidence of effect modification by sex ($P>0.60$). Regarding etiologic fraction, an adjusted estimate of 7.4% was observed.

DISCUSSION

In the present analyses, self-perceived lactose intolerance was negatively associated with self-reported dairy intake, as well as with self-reported osteoporosis in a sample of elderly individuals. The associations were consistent and persisted after adjustment for sociodemographic variables. In contrast, the crude analyses paradoxically showed higher intake of dairy products among individuals with reported osteoporosis, but in the multivariable analyses there was no statistical evidence for such an association.

Our findings must be interpreted in light of the existing literature. Negative associations between self-perceived lactose intolerance and dairy/calcium intake have been consistently reported in European samples of distinct ages [21,38-41] and in national North-American health surveys [18,20]. However, while some studies provided statistical evidence for an association between adult-type hypolactasia/lactase malabsorption and intake [42-47], others did not [21,38-41,48,49]. This corroborates the notion that adult-type hypolactasia is one of the determinants of self-perceived lactose intolerance, and that the latter represents a more proximate determinant of dairy intake.

There are fewer studies regarding bone health. Inverse associations of bone content with self-perceived lactose intolerance were reported in Europeans [38,41] and in a multi-ethnic sample of young females [21]. Some studies also reported associations with adult-type hypolactasia/lactose malabsorption [44,46,47,50], but others did not [38,40,41]. A Finnish study with post-menopausal women found statistical evidence for an association of self-perceived lactose intolerance with dairy intake, but not with bone mineral density [40]. The higher calcium supplementation among intolerant women possibly diluted the association, suggesting that calcium supplementation should be considered in such studies, especially in subgroups at higher risk of bone diseases.

To the best of our knowledge, this was the first study to evaluate the prevalence of self-reported lactose intolerance and its association with dairy intake and osteoporosis in a population-based sample from a low/middle income country. This allowed obtaining representative prevalence and etiologic fraction estimates, which are useful for informing public health practitioners and for proper comparisons with other populations. Moreover, we limited the sample to elderly individuals, who suffer most of the burden of osteoporosis and associated fractures [26,27].

One of the limitations of this study was the rate of non-response, of 27.5%. On the other hand, there were no substantial differences regarding sex and age when comparing respondents and non-respondents, and there was no indication that non-response rate underpowered the analyses.

The study design imposed two additional limitations. One refers to the clustering effect introduced by the sampling strategy, which was corrected for as described in the methods section. The second is the possibility of reverse causation, which might explain the positive association between self-reported dairy intake in the 7-day period previous to the interview and self-reported osteoporosis, possibly due to medical recommendation for higher intakes in individuals diagnosed with osteoporosis. It is reassuring, however, that this association no longer remains after adjustment for sociodemographic variables. For the analyses involving self-perceived lactose intolerance and osteoporosis, reverse causation is unlikely, as intolerance is known to start in early life, after weaning (at least regarding adult-type hypolactasia) [8]. In addition, such associations been reported in younger samples [21].

Dairy intake was measured using two questions adapted from a previous study in the overall population of Pelotas [33]. The Likert scale of self-perceived lactose intolerance was firstly tested in Spain [36], but the question that originated the dichotomous variable was not used previously (see supplementary materials). All instruments included straightforward questions. Self-perceived lactose intolerance a manifestation of lactose malabsorption (e.g., as measured by the hydrogen breath test), but it also has additional determinants [17,19,36]. The nature of this household survey and its large sample size precluded the concomitant ascertainment of malabsorption.

We opted to measure self-perceived lactose intolerance both in dichotomous form and as a score. The fact that results for both variables were very similar (Tables 3 and 4) is reassuring. Regarding milk intake, the two questions used were straightforward and did not attempt to collect more complex information such as portion sizes. It is also reassuring that the associations between self-perceived lactose intolerance and dairy intake were consistent across the different forms of both measurements.

An additional limitation was the use of self-reported osteoporosis, which is likely to be underestimated as it depends on medical diagnosis, and false negatives are more likely than false-positives. Previous validation studies in German and Australian samples of similar ages to the present study observed a moderate to good agreement between self-reported osteoporosis and general practitioner report [51] or medication claims [52], respectively. The latter concluded that construct validity was acceptable for prevalent osteoporosis. Despite its imprecision, the association of self-reported osteoporosis with sex, age and self-perceived lactose intolerance were in the expected directions. It is also reassuring that – if anything – wealthier and more educated individuals reported less, rather than more, osteoporosis. Wealthier and more educated subjects are likely to have greater access to diagnostic facilities, and if detection bias were an important problem then prevalence should be higher, not lower, among the upper socioeconomic groups. Lastly, assuming that no differential bias occurred, imprecision would at most reduce statistical power, which was not an issue in the present study.

Regarding practical implications, self-perceived lactose intolerance was estimated to account for 16.5% of the prevalence of low or no dairy intake, 12.5% of the prevalence of non-daily dairy consumption and 7.4% of the prevalence of osteoporosis. Identification of such individuals, and recommendation of lactose-free products, may

contribute to the achievement of the current guidelines of the Brazilian Ministry of Health of consuming two or three portions of dairy daily [3] and the higher calcium requirements for the elderly when compared to younger adults [2], and possibly reduce the incidence of osteoporosis and associated fractures, especially if targeting adolescents and young adults [3].

Our results showed that simple questions on intolerance are well accepted by the population, and that are correlated with dairy intake and osteoporosis in the expected direction. Further research is needed to correlate the self-reported measure with genetic variants as well as understand how intolerance relates to objective tests of lactase deficiency in this population.

REFERENCES

1. Brasil. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição (2014) Guia alimentar para a população brasileira. Brasília, DF: MS.
2. Institute of Medicine of The National Academies (2011) Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: The National Academy Press.
3. Brasil. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição (2008) Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília, DF: MS.
4. Bailey RK, Fileti CP, Keith J, Tropez-Sims S, Price W, et al. (2013) Lactose intolerance and health disparities among African Americans and Hispanic Americans: an updated consensus statement. J Natl Med Assoc 105: 112-127.
5. Gerbault P, Roffet-Salque M, Evershed RP, Thomas MG (2013) How long have adult humans been consuming milk? IUBMB Life 65: 983-990.

6. Robayo-Torres CC, Quezada-Calvillo R, Nichols BL (2006) Disaccharide digestion: clinical and molecular aspects. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4: 276-287.
7. Heyman MB (2006) Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. *Pediatrics* 118: 1279-1286.
8. Troelsen JT (2005) Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. *Biochim Biophys Acta* 1723: 19-32.
9. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, et al. (2002) Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet* 30: 233-237.
10. Rao DR, Bello H, Warren AP, Brown GE (1994) Prevalence of lactose maldigestion. Influence and interaction of age, race, and sex. *Dig Dis Sci* 39: 1519-1524.
11. Sahi T (1994) Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. *Scand J Gastroenterol Suppl* 202: 7-20.
12. Mattar R, Mazo DF (2010) [Lactose intolerance: changing paradigms due to molecular biology]. *Rev Assoc Med Bras* 56: 230-236.
13. Usai-Satta P, Scarpa M, Oppia F, Cabras F (2012) Lactose malabsorption and intolerance: What should be the best clinical management? *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 3: 29-33.
14. Gasbarrini A, Corazza GR, Gasbarrini G, Montalto M, Di Stefano M, et al. (2009) Methodology and indications of H₂-breath testing in gastrointestinal diseases: the Rome Consensus Conference. *Aliment Pharmacol Ther* 29 Suppl 1: 1-49.
15. Vesa TH, Marteau P, Korpela R (2000) Lactose intolerance. *J Am Coll Nutr* 19: 165S-175S.
16. Peuhkuri K, Vapaatalo H, Korpela R, Teuri U (2000) Lactose intolerance-a confusing clinical diagnosis. *Am J Clin Nutr* 71: 600-602.

17. Casellas F, Aparici A, Casaus M, Rodriguez P, Malagelada JR (2010) Subjective perception of lactose intolerance does not always indicate lactose malabsorption. *Clin Gastroenterol Hepatol* 8: 581-586.
18. Nicklas TA, Qu H, Hughes SO, He M, Wagner SE, et al. (2011) Self-perceived lactose intolerance results in lower intakes of calcium and dairy foods and is associated with hypertension and diabetes in adults. *Am J Clin Nutr* 94: 191-198.
19. Jellema P, Schellevis FG, van der Windt DA, Kneepkens CM, van der Horst HE (2010) Lactose malabsorption and intolerance: a systematic review on the diagnostic value of gastrointestinal symptoms and self-reported milk intolerance. *QJM* 103: 555-572.
20. Barr SI (2013) Perceived lactose intolerance in adult Canadians: a national survey. *Appl Physiol Nutr Metab* 38: 830-835.
21. Matlik L, Savaiano D, McCabe G, VanLoan M, Blue CL, et al. (2007) Perceived milk intolerance is related to bone mineral content in 10- to 13-year-old female adolescents. *Pediatrics* 120: e669-677.
22. Keith JN, Nicholls J, Reed A, Kafer K, Miller GD (2011) The prevalence of self-reported lactose intolerance and the consumption of dairy foods among African American adults are less than expected. *J Natl Med Assoc* 103: 36-45.
23. National Medical Association (2009) Lactose intolerance and African Americans: implications for the consumption of appropriate intake levels of key nutrients. *J Natl Med Assoc* 101: 5S-23S.
24. Schmidt MI, Duncan BB, Azevedo e Silva G, Menezes AM, Monteiro CA, et al. (2011) Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *Lancet* 377: 1949-1961.
25. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention Diagnosis and Therapy (2001) Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 285: 785-795.
26. Cauley JA (2013) Public health impact of osteoporosis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 68: 1243-1251.

27. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC (2011) Osteoporosis: now and the future. *Lancet* 377: 1276-1287.
28. Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, Wong JB, King A, et al. (2007) Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. *J Bone Miner Res* 22: 465-475.
29. Harvey N, Dennison E, Cooper C (2010) Osteoporosis: impact on health and economics. *Nat Rev Rheumatol* 6: 99-105.
30. Barros AJD, Menezes AMB, Santos IS, Assunção MCF, Gigante D, et al. (2008) [UFPel's epidemiology MSc program based on research consortium: an innovative experience]. *Rev Bras Epidemiol* 11: 133-144.
31. World Health Organization (WHO) (2012) Good health adds life to years: global brief of World Health Day 2012. Geneva: WHO.
32. United Nations (UN). Department of Economic and Social Affairs. Population Division (2013) World Population Ageing 2013. Herndon, VA: UN publication
33. Muniz LC, Madruga SW, Araujo CL (2013) [Consumption of dairy products by adults and the elderly in the south of Brazil: a population-based study]. *Cien Saude Colet* 18: 3515-3522.
34. ABEP (Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa) (2010) *Adoção do CCEB 2010 - Critério de Classificação Econômica Brasil*.
35. Barros AJ, Victora CG (2005) [A nationwide wealth score based on the 2000 Brazilian demographic census]. *Rev Saude Publica* 39: 523-529.
36. Casellas F, Varela E, Aparici A, Casaus M, Rodriguez P (2009) Development, validation, and applicability of a symptoms questionnaire for lactose malabsorption screening. *Dig Dis Sci* 54: 1059-1065.
37. Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, et al. (2012) Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet* 380: 219-229.

38. Kull M, Kallikorm R, Lember M (2009) Impact of molecularly defined hypolactasia, self-perceived milk intolerance and milk consumption on bone mineral density in a population sample in Northern Europe. *Scand J Gastroenterol* 44: 415-421.
39. Gugatschka M, Dobnig H, Fahrleitner-Pammer A, Pietschmann P, Kudlacek S, et al. (2005) Molecularly-defined lactose malabsorption, milk consumption and anthropometric differences in adult males. *QJM* 98: 857-863.
40. Enattah N, Pekkarinen T, Valimaki MJ, Loyttyneimi E, Jarvela I (2005) Genetically defined adult-type hypolactasia and self-reported lactose intolerance as risk factors of osteoporosis in Finnish postmenopausal women. *Eur J Clin Nutr* 59: 1105-1111.
41. Corazza GR, Benati G, Di Sario A, Tarozzi C, Strocchi A, et al. (1995) Lactose intolerance and bone mass in postmenopausal Italian women. *Br J Nutr* 73: 479-487.
42. Lehtimäki T, Hemminki J, Rontu R, Mikkilä V, Rasanen L, et al. (2006) The effects of adult-type hypolactasia on body height growth and dietary calcium intake from childhood into young adulthood: a 21-year follow-up study--the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Pediatrics* 118: 1553-1559.
43. Lember M, Torniainen S, Kull M, Kallikorm R, Saadla P, et al. (2006) Lactase non-persistence and milk consumption in Estonia. *World J Gastroenterol* 12: 7329-7331.
44. Obermayer-Pietsch BM, Bonelli CM, Walter DE, Kuhn RJ, Fahrleitner-Pammer A, et al. (2004) Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. *J Bone Miner Res* 19: 42-47.
45. Khabarova Y, Tornianen S, Tuomisto S, Jarvela I, Karhunen P, et al. (2011) Lactase non-persistent genotype influences milk consumption and gastrointestinal symptoms in Northern Russians. *BMC Gastroenterol* 11: 124.
46. Birge SJ, Jr., Keutmann HT, Cuatrecasas P, Whedon GD (1967) Osteoporosis, intestinal lactase deficiency and low dietary calcium intake. *N Engl J Med* 276: 445-448.

47. Newcomer AD, Hodgson SF, McGill DB, Thomas PJ (1978) Lactase deficiency: prevalence in osteoporosis. *Ann Intern Med* 89: 218-220.
48. Enattah N, Valimaki VV, Valimaki MJ, Loyttyniemi E, Sahi T, et al. (2004) Molecularly defined lactose malabsorption, peak bone mass and bone turnover rate in young finnish men. *Calcif Tissue Int* 75: 488-493.
49. Gugatschka M, Hoeller A, Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H, Pietschmann P, et al. (2007) Calcium supply, bone mineral density and genetically defined lactose maldigestion in a cohort of elderly men. *J Endocrinol Invest* 30: 46-51.
50. Enattah NS, Sulkava R, Halonen P, Kontula K, Jarvela I (2005) Genetic variant of lactase-persistent C/T-13910 is associated with bone fractures in very old age. *J Am Geriatr Soc* 53: 79-82.
51. Hansen H, Schafer I, Schon G, Riedel-Heller S, Gensichen J, et al. (2014) Agreement between self-reported and general practitioner-reported chronic conditions among multimorbid patients in primary care - results of the MultiCare Cohort Study. *BMC Fam Pract* 15: 39.
52. Peeters GM, Tett SE, Dobson AJ, Mishra GD (2013) Validity of self-reported osteoporosis in mid-age and older women. *Osteoporos Int* 24: 917-927.

TABLES

Table 1. Distribution of the sample according to sociodemographic characteristics (%).

Exposure	%		
	Total	Males	Females
Age (complete years)^a		P=0.412	
60-64	27.3	29.5	25.9
65-69	25.0	24.4	25.4
70-74	18.7	19.2	18.4
75-79	13.1	12.9	13.3
≥80	15.9	14.0	17.0
Skin color^{a,b}		P=0.296	
White	83.5	84.4	82.8
Black or brown	16.5	15.6	17.2
Schooling^a		P=0.014	
0	13.6	10.9	15.3
1-3	23.4	27.6	21.0
4-8	31.0	31.7	30.5
9-11	10.0	10.3	9.7
≥12	22.0	19.5	23.5
Socioeconomic status (ABEP)^a		P=0.010	
A/B (wealthiest)	35.2	39.4	32.7
C	52.5	48.8	54.7
D/E (poorest)	12.3	11.8	12.6
Number of individuals	1451 (100%)	537 (100%)	914 (100%)

P-values for the comparison between sexes using the Chi-squared test.

^aVariables with missing data. Socioeconomic status presented the largest number of missing observations (76), followed by dairy intake (14).

^bThe two individuals that self-reported Native American and Asian skin colors were excluded.

Table 2. Prevalence (%) and mean values of self-perceived lactose intolerance, dairy intake and osteoporosis according to sociodemographic variables.

Variable	Lactose intolerance		Dairy intake		Osteoporosis % (95% CI)
	% (95% CI)	Likert scale: Mean (95% CI)	Days: Mean (95% CI)	No intake: % (95% CI)	
Sex	P=0.006	P=0.004	P<0.001	P=0.002	P<0.001
Males	13.0 (10.1; 15.8)	1.7 (1.2; 2.2)	4.7 (4.4; 4.9)	19.5 (16.0; 22.9)	7.9 (5.3; 10.3)
Females	18.1 (15.5; 20.7)	2.6 (2.2; 3.1)	5.2 (5.0; 5.4)	13.7 (11.5; 16.0)	35.5 (32.5; 38.6)
Age (years)	P=0.020	P=0.001	P<0.001	P=0.193	P=0.002
60-64	19.4 (15.1; 23.7)	2.7 (1.9; 3.5)	4.6 (4.3; 4.8)	17.2 (13.7; 20.6)	21.7 (17.4; 26.0)
65-69	15.1 (11.4; 18.8)	1.9 (1.3; 2.5)	4.9 (4.6; 5.2)	17.6 (13.3; 21.8)	21.4 (17.5; 25.4)
70-74	14.2 (9.8; 18.5)	2.2 (1.4; 3.0)	5.0 (4.7; 5.4)	17.2 (12.4; 21.9)	24.9 (20.1; 29.7)
75-79	21.4 (15.5; 27.3)	3.4 (2.2; 4.5)	5.4 (5.0; 5.8)	13.8 (9.1; 18.4)	31.6 (24.3; 38.9)
≥80	10.9 (6.6; 15.2)	1.3 (0.7; 1.9)	5.6 (5.4; 5.9)	11.4(7.4; 15.4)	33.0 (27.7; 38.4)
Skin color^a	P=0.403	P=0.083	P=0.049	P=0.054	P=0.055
White	15.9 (13.8; 17.9)	2.1 (1.8; 2.5)	5.1 (4.9; 5.3)	15.0 (12.8; 17.2)	26.2 (23.8; 28.7)
Black or brown	18.0 (12.7; 23.1)	3.1 (2.0; 4.2)	4.7 (4.3; 5.1)	20.3 (14.8; 25.7)	20.2 (14.9; 25.6)
Schooling	P=0.954	P=0.874	P=0.001	P<0.001	P=0.043
0	16.0 (10.6; 21.4)	2.3 (1.5; 3.1)	4.9 (4.4; 5.4)	19.2 (13.3; 25.0)	29.6 (22.4; 36.8)
1-3	15.6 (11.5; 19.8)	2.3 (1.6; 3.0)	4.6 (4.3; 5.0)	21.0 (16.5; 25.6)	24.1 (19.4; 28.8)
4-8	16.1 (12.9; 19.4)	2.6 (1.9; 3.3)	4.8 (4.5; 5.1)	17.9 (14.0; 21.9)	28.8 (24.5; 33.1)
9-11	16.1 (10.4; 21.8)	2.2 (1.2; 3.1)	5.5 (5.1; 5.9)	8.4 (3.9; 12.8)	22.4 (15.3; 29.5)
≥12	17.8 (13.2; 22.4)	2.0 (1.3; 2.8)	5.5 (5.2; 5.8)	9.6 (6.3; 12.8)	20.3 (16.7; 23.9)
Socioeconomic status (ABEP)	P=0.699	P=0.154	P<0.001	P<0.001	P=0.123
A/B	15.4 (12.2; 18.6)	1.9 (1.3; 2.5)	5.6 (5.3; 5.8)	9.4 (6.6; 12.1)	22.9 (19.7; 26.1)
C	17.2 (14.1; 20.4)	2.6 (2.1; 3.2)	4.8 (4.6; 5.0)	18.0 (15.2; 20.7)	27.9 (24.3; 31.4)
D/E	15.5 (9.5; 21.5)	2.0 (1.1; 2.8)	4.1 (3.6; 4.7)	28.6 (21.6; 35.6)	24.4 (17.8; 31.0)
Total sample	16.2 (14.1; 18.3)	2.3 (1.9; 2.6)	5.0 (4.8; 5.2)	15.9 (13.8; 18.0)	25.3 (23.0; 27.6)

P-values calculated using the Chi-squared test (prevalence) and analysis of variance (Likert scale).

^aThe two individuals that self-reported Native American and Asian skin colors were excluded.

Table 3. Poisson regressions for dairy intake in last week according to self-perceived lactose intolerance (dichotomous and Likert scale).

Exposure	Variable Form	Crude			Adjusted ^a		
		Total	Males	Females	Total	Males	Females
Outcome: dairy intake in the last week in days							
Self-perceived Intolerance	Binary	P _{interaction} =0.147			P _{interaction} =0.055		
		P _{total} <0.001	P _♂ <0.001	P _♀ <0.001	P _{total} <0.001	P _♂ <0.001	P _♀ <0.001
	No	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)
	Yes	0.7 (0.6; 0.7)	0.6 (0.4; 0.7)	0.7 (0.6; 0.8)	0.6 (0.6; 0.7)	0.5 (0.4; 0.7)	0.7 (0.6; 0.8)
Likert scale of Intolerance	Continuous	P _{interaction} =0.074			P _{interaction} =0.046		
	Per 10-points Increase	P _{total} <0.001	P _♂ <0.001	P _♀ <0.001	P _{total} <0.001	P _♂ <0.001	P _♀ <0.001
		0.8 (0.7; 0.8)	0.6 (0.5; 0.8)	0.8 (0.7; 0.9)	0.8 (0.7; 0.8)	0.6 (0.5; 0.8)	0.8 (0.7; 0.9)
Outcome: no dairy intake in last week							
Self-perceived Intolerance	Binary	P _{interaction} =0.738			P _{interaction} =0.530		
		P _{total} <0.001	P _♂ <0.001	P _♀ <0.001	P _{total} <0.001	P _♂ <0.001	P _♀ <0.001
	No	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)
	Yes	2.2 (1.7; 2.8)	2.4 (1.7; 3.4)	2.2 (1.6; 3.1)	2.2 (1.7; 2.9)	2.4 (1.7; 3.3)	2.1 (1.5; 2.9)
Likert scale of Intolerance	Continuous	P _{interaction} =0.258			P _{interaction} =0.276		
	Points ÷ 10	P _{total} <0.001	P _♂ <0.001	P _♀ <0.001	P _{total} <0.001	P _♂ <0.001	P _♀ <0.001
		1.5 (1.3; 1.6)	1.5 (1.4; 1.7)	1.5 (1.3; 1.7)	1.5 (1.3; 1.7)	1.6 (1.4; 2.0)	1.4 (1.2; 1.7)

P_{interaction}: P-value of the interaction test between the main exposure and sex.

P_{total}: P-value of the association between the main exposure and the outcome without stratification by sex.

P_♂: P-value of the association between the main exposure and the outcome in males.

P_♀: P-value of the association between the main exposure and the outcome in females.

^aControlling for sex, age (continuous and categorized), asset index (continuous), ABEP socioeconomic classification (categorized as A, B, C, D e E), schooling and self-reported skin color.

Tabela 4. Poisson regressions for self-reported osteoporosis according to dairy intake in last week and self-perceived lactose intolerance (dichotomous and Likert scale).

Exposure	Variable Form	Crude			Adjusted ^a		
		Total	Males	Females	Total	Males	Females
Dairy intake in last week	Continuous	$P_{\text{interaction}}=0.737$			$P_{\text{interaction}}=0.708$		
		$P_{\text{total}}=0.008$	$P_{\text{♂}}=0.784$	$P_{\text{♀}}=0.100$	$P_{\text{total}}=0.116$	$P_{\text{♂}}=0.727$	$P_{\text{♀}}=0.135$
	Per day	1.0 (1.0; 1.1)	1.0 (0.9; 1.1)	1.0 (1.0; 1.1)	1.0 (1.0; 1.1)	1.0 (0.9; 1.1)	1.0 (1.0; 1.1)
	Binary	$P_{\text{interaction}}=0.664$			$P_{\text{interaction}}=0.670$		
		$P_{\text{total}}=0.033$	$P_{\text{♂}}=0.404$	$P_{\text{♀}}=0.241$	$P_{\text{total}}=0.141$	$P_{\text{♂}}=0.339$	$P_{\text{♀}}=0.222$
	≥ 1 day	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)
	No intake	0.7 (0.6; 1.0)	0.7 (0.3; 1.7)	0.8 (0.6; 1.1)	0.8 (0.6; 1.1)	0.6 (0.2; 1.6)	0.8 (0.6; 1.1)
Self-perceived Intolerance	Binary	$P_{\text{interaction}}=0.753$			$P_{\text{interaction}}=0.815$		
		$P_{\text{total}}<0.001$	$P_{\text{♂}}=0.236$	$P_{\text{♀}}<0.001$	$P_{\text{total}}<0.001$	$P_{\text{♂}}=0.370$	$P_{\text{♀}}<0.001$
	No	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	1 (Ref.)
	Yes	1.5 (1.3; 1.8)	1.6 (0.7; 3.4)	1.4 (1.2; 1.7)	1.5 (1.3; 1.7)	1.4 (0.6; 3.2)	1.5 (1.3; 1.8)
Likert scale of Intolerance	Continuous	$P_{\text{interaction}}=0.943$			$P_{\text{interaction}}=0.604$		
		$P_{\text{total}}<0.001$	$P_{\text{♂}}=0.385$	$P_{\text{♀}}<0.001$	$P_{\text{total}}<0.001$	$P_{\text{♂}}=0.467$	$P_{\text{♀}}<0.001$
	Points ÷ 10	1.2 (1.2; 1.3)	1.2 (0.8; 1.6)	1.2 (1.1; 1.3)	1.2 (1.1; 1.3)	1.2 (0.8; 1.8)	1.2 (1.1; 1.3)

$P_{\text{interaction}}$: P-value of the interaction test between the main exposure and sex.

P_{total} : P-value of the association between the main exposure and the outcome without stratification by sex.

$P_{\text{♂}}$: P-value of the association between the main exposure and the outcome in males.

$P_{\text{♀}}$: P-value of the association between the main exposure and the outcome in females.

^aControlling for sex, age (continuous and categorized), asset index (continuous), ABEP socioeconomic classification (categorized as A, B, C, D e E), schooling and self-reported skin color.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

Research instrument

The questions used to collect information on osteoporosis, daily dairy intake and osteoporosis are described. The questions are shown both in Portuguese (marked in bold), as they were used in the present study, and English. For questions A1 and B1-3, the interviewer should simply ask the question and wait for the interviewed to respond, without showing or reading the options of response aloud.

A) Osteoporosis.

A1) O(a) sr.(a) tem algum dos seguintes problemas de saúde? Do you have one of the following health problems?

- **Osteoporose ou ossos fracos?** Osteoporosis or porous bones?

() **Não.** No. () **Sim.** Yes. () **Ignorado.** Ignored.

Introdução: Agora, vamos conversar sobre seus hábitos de consumo de leite e produtos feitos à base de leite, como queijo, iogurte, requeijão, creme de leite ou nata. Além disso, perguntarei se o(a) Sr.(a) sente algum sintoma ou desconforto ao consumir este tipo de produto. Introduction: Now, let's talk about your habits of consumption of milk and milk-derived products, such as cheese, yogurt, cottage cheese, cream or butterfat. In addition to that, I will ask if you felt any symptom or discomfort when you consume this type of food.

B1) Nesse ultimo mês, o senhor tomou leite ou algum destes outros produtos? In the last month, have you drunk milk or consumed any of these other products?

() **Sim (ir para questão B2).** Yes (go to question B2).

() **Não (ir para questão B3).** No (go to question B3).

() **Ignorado.** Ignored.

B2) Desde <dia da semana> passada até hoje, em quantos dias o(a) Sr.(a) tomou leite ou comeu queijo, iogurte, requeijão, creme de leite ou nata? From past <current weekday> to today, in how many days have you drunk milk or eaten cheese, yogurt, cottage cheese, cream or butterfat?

___ **dias (vá para questão B3).** ___ days (go to question B3).

() **Não se aplica.** Does not apply.

() **Ignorado.** Ignored.

Se a resposta da questão B1) foi “Sim”: If the answer to question B1) was “Yes”:

B3) O(a) Sr.(a) sente algum desconforto ou sintoma quando toma leite ou produtos feitos à base de leite, como os que eu falei antes? Do you feel any discomfort or symptom when you drink milk or milk-derived foods, such as the ones I mentioned before?

Se a resposta da questão B1) foi “Não”: If the answer to question B1) was “No”:

B3) O(a) Sr.(a) sente/sentia algum desconforto ou sintoma quando toma/tomava leite ou produtos feitos à base de leite, como os que eu falei antes? Did you use to feel any discomfort or symptom when you drank milk or milk-derived foods, such as the ones I mentioned before?

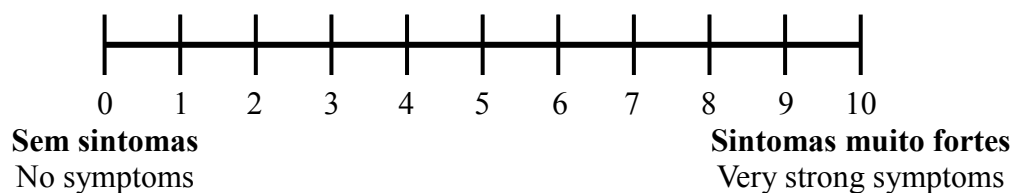
() Sim (ir para questão B4). Yes (go to question B4).

() Não (parar aqui). No (stop here).

() Ignorado. Ignored.

Agora, eu gostaria de pedir que o(a) Sr.(a) respondesse a perguntas sobre sintomas que o(a) Sr.(a) tem/tinha quando toma/tomava leite ou outros produtos feito à base de leite, como queijo, iogurte, requeijão, creme de leite ou nata. Now, I would like to ask you to answer questions about symptoms that you have/used to have when you consume/comsumed milk or milk-derived products, such as cheese, yogurt, cottage cheese, cream or butterfat.

Nesta linha, o numero zero corresponde a quem não sente nada, e o numero dez a quem tem sintomas muito fortes, que não conseguem aguentar. Por favor, me mostre onde nesta linha ficam os seus sintomas. In this line, the number zero corresponds to who does not feel anything, and the number ten to who have very strong, unbearable symptoms. Please, show me where in this line the intensity of your symptoms.



Respostas da escala: Responses to the scale:

B4.1) Diarréia: Diarrhea: __

B4.2) Dor de barriga/cólicas: Abdominal cramping: __

B4.3) Vômito/enjôo: Vomiting/nausea: __

B4.4) Ruídos no estômago ou intestino: Audible bowel: __

B4.5) Gases ou inchaço: Flatulence: __

() **Não se aplica.** Does not apply.

() **Ignorado.** Ignored.

4 – Comunicado para a imprensa

Intolerância à lactose, consumo de laticínios e doenças ósseas

O Biotecnologista Fernando Pires Hartwig investigou a intolerância à lactose em idosos de Pelotas, como parte do seu trabalho de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas, sob orientação do professor Dr. Cesar Gomes Victora. Esta pesquisa fez parte de uma grande pesquisa sobre a saúde da população idosa da cidade. 1.451 pessoas com 60 anos de idade ou mais foram entrevistadas, de forma voluntária.

A intolerância à lactose é a percepção de uma pessoa sobre sintomas ou desconfortos que sente ao consumir leite ou produtos derivados do leite, como queijo e iogurte. Outras pesquisas vêm mostrando que a intolerância pode influenciar o consumo de leite e derivados, e, portanto, reduzir o consumo de cálcio e aumentar a chance de desenvolver doenças ósseas como a osteoporose. A pesquisa realizada em Pelotas mostrou que 16% (16 a cada 100) dos idosos da cidade se consideram intolerantes à lactose. As mulheres, em geral, são mais propensas a se considerarem intolerantes do que os homens.

A pesquisa confirmou que idosos com intolerância à lactose tendem a consumir menos leite e derivados do que pessoas que se consideram tolerantes.

36% das mulheres e 8% dos homens informaram terem sido diagnosticados com osteoporose. Esta doença foi mais comum nas pessoas intolerantes à lactose, quando comparadas com as tolerantes. A pesquisa estimou que, se nenhum dos entrevistados se considerasse intolerante à lactose, cerca de 7% (7 a cada 100) dos casos de osteoporose que foram observados na pesquisa não teriam acontecido.

Os pesquisadores apontam que a intolerância à lactose é um fator importante para a ocorrência de doenças como a osteoporose. Embora as manifestações clínicas da osteoporose apareçam nos idosos, esta doença se desenvolve ao longo dos anos. Por isso, os autores consideram que seria importante identificar pessoas com intolerância já em idades mais jovens, para

que estes possam receber aconselhamento nutricional que os permita consumir produtos lácteos ou similares sem grandes desconfortos. Isto permitiria que aumentassem seu consumo de cálcio ao longo da vida, com o objetivo de reduzir a ocorrência de osteoporose e doenças relacionadas.