

Sofia Sá Oliveira

Intolerância à Lactose e Persistência da Lactase

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Ciências da Nutrição

2018

Sofia Sá Oliveira

Intolerância à Lactose e Persistência da Lactase

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Ciências da Nutrição

2018

Sofia Sá Oliveira

Intolerância à Lactose e Persistência da Lactase

(Sofia Sá Oliveira)

Trabalho Complementar Apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção
do grau de Licenciatura em Ciências da Nutrição

Orientadora:

Prof. Doutora Maria Gil Ribeiro

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Maria Gil Ribeiro, que através da transmissão de conhecimento e auxílio prestados, tornou possível a realização deste trabalho.

Índice

I. Introdução.....	3
II. Metodologia	3
III. Desenvolvimento	4
1. Estrutura, biossíntese e absorção intestinal da lactose.....	4
2. A enzima lactase	5
3. O gene da lactase.....	7
4. Persistência e não-persistência da lactase	8
4.1. Base genética.....	8
4.2. Relação histórico-cultural.....	10
5. Intolerância à Lactose	10
5.1. Tipos de Hipolactásia	11
5.2. Epidemiologia	12
5.3. Diagnóstico e tratamento.....	13
IV. Discussão.....	16
V. Conclusão.....	17
VI. Referências Bibliográficas.....	17

Índice de tabelas

Tabela 1 - Métodos de diagnóstico da intolerância ou malabsorção da lactose. 14

Lista de Abreviaturas

CG – Complexo de Golgi / *Golgi complex*

LAC – Lactase

LNP – Não-persistência da lactase / *Lactase Non-Persistence*

LP – Persistência da lactase / *Lactase Persistence*

LPH – Lactase Florizina Hidrolase / *Lactase Phlorizine Hydrolase*

MCM6 - Manutenção de minicromossoma 6 / *Minichromosome maintenance 6*

RE - Retículo Endoplasmático / *Endoplasmic reticulum*

RER - Retículo Endoplasmático Rugoso / *Rough endoplasmic reticulum*

Intolerância à Lactose e Persistência da Lactase

Sofia Sá Oliveira¹; Maria Gil Ribeiro²

1. Estudante finalista do 1º ciclo de Ciências da Nutrição da Universidade Fernando Pessoa.
2. Orientadora do trabalho complementar de final de curso. Docente da Faculdade Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa.

Autor para correspondência:

Sofia Sá Oliveira

Faculdade Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa (Ciências da Nutrição)

Rua Carlos da Maia, 296 | 4200-150 Porto | Portugal

Tel: +351 225 071 300 | E-mail: 31137@ufp.edu.pt

Título resumido: (In)Tolerância à lactose

Contagem de palavras: 7409

Número de tabelas: 1

Conflito de interesses: Nada a declarar.

Resumo

A intolerância à lactose é um assunto amplamente estudado até à data e, por isso, consensual em termos de causa primária, fenótipos clínicos e estratégia terapêutica. Não obstante, subsistem aspetos sob investigação que necessitam de uma maior consolidação científica. Com o objetivo de contribuir para uma melhor compreensão sobre o paradigma da intolerância à lactose e da persistência da lactase, o presente trabalho efetua uma revisão descritiva da informação científica. A sua análise ampla e integrada sublinha a importância da continuidade da investigação e da difusão do conhecimento sobre este tema.

Palavras-chave: Intolerância à lactose, Persistência da lactase, Genética, Nutrição.

Abstract

Lactose intolerance is a topic that has been widely studied until now and, therefore, consensual in terms of primary cause, clinical phenotypes and therapeutic strategy. Nevertheless, there are areas under investigation which require further scientific consolidation. In order to contribute to a better understanding of the paradigm of lactose intolerance and the persistence of lactase, the present paper carries out a descriptive review of the scientific information. Its comprehensive and integrated analysis underlines the importance of continuing research and dissemination of knowledge on this subject.

Key-words: Lactose intolerance, Lactase persistence, Genetics, Nutrition.

I. Introdução

A lactose é o principal hidrato de carbono do leite. De modo geral, os mamíferos cessam a ingestão de leite após o período de amamentação e, por isso, verifica-se uma redução gradual da expressão da lactase. No entanto, o Homem representa uma exceção, uma vez que continua a ingerir leite mesmo durante a idade adulta. Com o desenvolvimento de adaptações génicas, uma proporção considerável de indivíduos apresenta o fenótipo da persistência da lactase, ou seja, apresenta a capacidade para continuar a expressar a enzima após o período de amamentação tornando-se, por isso, tolerante à lactose. Apesar disso, a prevalência do fenótipo da intolerância à lactose é mundialmente significativa (1–3). Este artigo de revisão visa explorar a base genética desses dois fenótipos e a partir dela compreender os aspetos clínicos e epidemiológicos, bem como as abordagens atualmente aplicadas no seu diagnóstico e tratamento.

II. Metodologia

Para a elaboração deste trabalho foi efetuada uma pesquisa bibliográfica na base de dados *PubMed* correspondente ao período entre 2008 e 2018. No caso de artigos de acesso restrito, foi também consultada a base de dados *b-on*. Relativamente aos critérios de pesquisa, a expressão “*Lactose intolerance*” identificou 449 artigos publicados nos últimos 10 anos e 253 artigos, se considerados apenas os últimos 5 anos. Foi também utilizada a expressão “*Lactase persistence*”, com identificação de 106 artigos publicados nos últimos 10 anos. A combinação destes dois termos permitiu identificar 60 artigos publicados nos últimos 5 anos. Os termos “*Lactose intolerance*” e “*Lactase persistence*” foram ainda combinados com “*Genetics*” possibilitando a identificação de, respetivamente, 161 e 135 artigos referentes aos últimos 10 anos. Para além disto, foi utilizada a expressão “*Lactase expression*” que originou a identificação de 58 artigos respeitantes aos últimos 10 anos. Foi ainda realizada uma pesquisa com os termos “*Lactose intolerance*” “*AND*” “*disease*” e, neste caso, foram identificados 86 artigos publicados nos últimos 5 anos. Subsequentemente, para todos os termos anteriormente referidos foi aplicado o filtro de seleção de estudos aplicados em humanos e um filtro temporal para os últimos 10 ou 5 anos, dependendo da intensidade da atividade de investigação. Da aplicação desta metodologia resultou a seleção de 30 artigos iniciais,

tendo os restantes artigos sido identificados a partir da bibliografia dos artigos selecionados.

III. Desenvolvimento

1. Estrutura, biossíntese e absorção intestinal da lactose

Os mamíferos são caracterizados pela presença de glândulas mamárias que estão associadas à produção de leite no caso das fêmeas (1).

A lactose é o principal hidrato de carbono presente no leite e outros produtos lácteos (2), representando cerca de 2 a 8% (g/v) consoante a espécie e o indivíduo (3). O leite humano pode ser distinguido do leite de vaca pela quantidade de lactose, respetivamente 7 e 5 gramas por 100 mililitros (1,3).

A lactose é um dissacarídeo produzido no complexo de Golgi (CG) das células epiteliais das glândulas mamárias (1). A sua biossíntese ocorre por condensação, entre a glicose e a galactose, e esta reação é catalisada pela enzima lactose sintetase (EC 2.4.1.22) (4). A lactose é armazenada em vesículas secretoras e o seu efeito osmótico influencia o volume de leite que é secretado (5). Dado que o efeito osmótico seria observado para açúcares representados por outros monossacarídeos, a presença da galactose na dieta dos mamíferos recém nascidos poderá dever-se à sua importância fisiológica (1). De facto, a galactose e os seus derivados desempenham um papel fundamental na formação de glicoproteínas e glicolípidos (6), nomeadamente os glicoesfingolípidos que são centrais para o desenvolvimento do sistema nervoso (7). No âmbito dos glicoesfingolípidos, o derivado da galactose, a N-acetilgalactosamina, é utilizado na biossíntese dos gangliosídeos que são componentes membranares que participam em diversos processos celulares através do seu envolvimento em vias específicas de transdução de sinal (8). Para além disso, os galactooligossacarídeos são prebióticos, ou seja, hidratos de carbono não digeríveis existentes em determinados alimentos, e a sua ingestão tem benefícios para a microflora intestinal, nomeadamente a estimulação da atividade e/ou crescimento das bactérias existentes no cólon (9).

Por ser um dissacarídeo, a lactose não é diretamente absorvida a nível intestinal. A hidrólise enzimática nas suas unidades estruturais, glicose e galactose, é responsável pela produção de açúcares simples que são facilmente absorvíveis (10,11). Esta reação é catalizada pela enzima lactase (β -galactosidase; β -D-galactosídeo-galactohidrolase; EC 3.2.1.23) que é expressa unicamente nas células epiteliais do intestino delgado e

secretada ao nível das vilosidades intestinais (1). A digestão da lactose ocorre principalmente ao nível do jejuno, sendo também nessa região que se verifica uma maior expressão da lactase (3,12). Os monossacarídeos resultantes da digestão são internalizados para os enterócitos através de transportadores de glicose dependentes de sódio (13,14).

Nas situações em que não ocorre a digestão da lactose, total ou parcial, o dissacarídeo atravessa o cólon e sofre fermentação por diversas bactérias do trato gastrointestinal (10,15). Este processo origina a produção de gases e ácidos gordos e, simultaneamente, promove o desenvolvimento de sintomas característicos, nomeadamente diarreia, inchaço, náuseas, flatulência e dor abdominal (10,15,16). De referir, ainda, que uma deficiente absorção ou digestão da lactose pode estar associada a desnutrição e, eventualmente, morte, dependendo da sua gravidade e contexto (17) como, por exemplo, no caso da deficiência da lactase congénita (OMIM 223000) não diagnosticada.

2. A enzima lactase

A atividade enzimática de lactase foi originalmente descrita no início da década de 60 por Dahlqvist (18) e por Doell e Kretchmer (19). Contudo, só na década de 80 a enzima foi isolada a partir de amostras do intestino delgado humano (20,21). A sua subsequente caracterização bioquímica mostrou que a enzima é sintetizada sob a forma de uma cadeia polipeptídica precursora com uma massa molecular de ~215-245 kDa (22). Esta glicoproteína do tipo I foi localizada na borda em escova dos enterócitos do intestino delgado dos mamíferos e apresenta dois locais catalíticos (23,24). Um dos locais hidroliza a lactose bem como outros β -glicosídeos, tais como a celobiose e a celulose, embora com menor eficiência (23). O outro local catalítico hidroliza β -glicosídeos com longas cadeias alquilo hidrofóbicas, tal como ocorre nos glicoesfingolípidos (23). Deste modo, a proteína apresenta atividade enzimática de lactase (LAC, EC 3.3.1.23) e de florizina hidrolase (LPH, EC 3.2.1.62; EC 3.2.1.108) (22,25). Estas duas atividades enzimáticas, combinadas na mesma proteína, levaram à sua designação de complexo β -galactosidase ou Lactase-florizina hidrolase, LPH (22). Destaque-se que a LPH é a única β -galactosidase existente no lúmen intestinal (17).

A sequência primária do polipéptido humano apresenta 1927 aminoácidos e compreende: (i) sequência sinal N-terminal com 19 aminoácidos, (ii) segmento que não

integra a forma madura membranar, (iii) segmento correspondente à forma madura membranar com atividade de lactase e florizina hidrolase, (iv) segmento transmembranar hidrofóbico próximo do terminal-C que atua como âncora à membrana e (v) segmento hidrofílico C-terminal curto com orientação citoplasmática/luminal (22).

A sua biossíntese inicia-se em ribossomas que são translocados para o retículo endoplasmático (RE) e prossegue no lúmen do retículo endoplasmático rugoso (RER) com a formação do precursor polipeptídico de cadeia simples, o pro-LPH (17,23). Ainda no lúmen do RER a enzima sofre modificações pós-traducionais, nomeadamente a N-glicosilação do terminal-N que é uma modificação essencial para o *foldi*ng e dimerização, visando a produção de uma estrutura homodimérica funcional que é exportada pela via secretora (17). No complexo de Golgi (CG), a forma precursora pro-LPH sofre uma quebra proteolítica que promove a remoção da LPH α , pelo que resta apenas a LPH β _{inicial} que é N- e O-glicosilada (17), e apresenta N-oligossacarídeos ricos em manose convertidos em N-oligossacarídeos complexos (23–25). O processo de maturação está bem documentado em Diekmann et al., 2017 (26). Sumariamente, no lúmen do RER a N-glicosilação é indispensável para o correto *foldi*ng proteico e, conseqüentemente para a atividade enzimática; a formação de N-oligossacarídeos complexos orienta a glicoproteína para a via secretora com vista à sua secreção para o lúmen intestinal (17,24). O transporte de LPH para a superfície luminal das células epiteliais pode ser mediado pela âncora de GPI (17). No lúmen intestinal, a LPH β _{inicial} sofre uma quebra enzimática pela tripsina pancreática originando a formação da LPH β _{final} com ~160-kDa e constituída apenas pelos domínios catalíticos (17). Logo, a secreção de LPH é essencial para a aquisição da atividade de lactase (17). A supressão do domínio relativo à atividade da florizina hidrolase interfere com o processo de *foldi*ng e origina a retenção da proteína LPH no lúmen do RER (17).

A LPH α não apresenta sinais de endereçamento, não dimeriza ou adquire atividade catalítica, e também não é glicosilada (17). Contudo, a elevada proporção de resíduos de cisteína e de aminoácidos hidrofóbicos sugere que este segmento deverá formar um domínio globular compacto estabilizado por ligações dissulfeto, sendo provável que atue como chaperona facilitando o *foldi*ng de LPH β _{inicial} (27). O facto desta função não poder ser compensada por outras chaperonas comuns do RE, tais como a calnexina ou BiP (Binding immunoglobulin protein ou heat shock 70 kDa protein 5), reforça a possibilidade de LPH α atuar como chaperona (27).

3. O gene da lactase

O gene *LCT* (OMIM 603202) codifica uma proteína com atividade enzimática de lactase (LAC, EC 3.3.1.23) e de lactase-florizina hidrolase (LPH, EC 3.2.1.62; EC 3.2.1.108). No genoma humano, o gene *LCT* está localizado no cromossoma 2q21.3 e abrange uma região de 55 kb que compreende 17 exões. Na proximidade deste gene encontra-se o gene *MCM6* (*minichromosome maintenance 6*), localizado a cerca de 3,3 kb do local de iniciação do gene *LCT*, seguido do gene codificante para o aspartil-tRNA sintetase. Não há qualquer evidência quanto à existência de outros genes *LCT* no genoma humano (23).

O padrão de expressão deste gene é essencialmente regulado por fatores de transcrição (23,28,29). Os fatores de transcrição interatuam com segmentos distintos da molécula do DNA que, frequentemente, estão localizados a montante e na proximidade do local de iniciação da transcrição do gene (elementos *cis*), regulando a transcrição do mesmo. No entanto, os fatores de transcrição também podem ligar-se a elementos *cis* mais distantes e localizados quer a montante quer a jusante da região transcrita. Uma vez ativada a transcrição, o número de vezes que a transcrição é iniciada por unidade de tempo, ou seja, a sua eficiência, pode ser regulada por vários mecanismos que incluem alterações da quantidade de fatores de transcrição específicos e seus co-fatores, regulação do padrão dos fatores de transcrição e a velocidade de degradação do mRNA. Todos estes mecanismos podem estar implicados na variação da atividade enzimática da lactase no intestino delgado, nomeadamente quando cessa o período de amamentação (23).

Diversos elementos *cis* têm sido identificados no gene *LCT* humano por análise bioinformática, designadamente os fatores de transcrição SP-1, SRF, AP-2, CTF/NF1, CREB e Oct1/Oct2 (23,30,31). Adicionalmente, várias evidências experimentais sugerem o envolvimento de outros fatores de transcrição, designadamente Cdx-2, HNF1a e fatores FREACs e GATAs (23,30).

O défice de atividade enzimática de LAC/LPH é observado na maioria dos mamíferos e em mais de metade da população humana mundial. Esta observação sugere a existência de um mecanismo comum e evolutivamente conservado. De facto, é consensualmente aceite que esse mecanismo corresponde ao decréscimo do nível de *LCT*-mRNA, seja ele devido à diminuição da taxa de síntese ou ao aumento da taxa de degradação do transcrito. Nesse âmbito, vários estudos experimentais têm sugerido a presença de um elemento *cis* responsável pela subexpressão do gene *LCT* (23,32).

Nos mamíferos, a expressão da lactase é maior após o nascimento e vai sendo suprimida com a cessação do período de amamentação (32,33). Situação idêntica acontece nos humanos e, por isso, a maioria torna-se intolerante à lactose da dieta (15,34). Na generalidade dos mamíferos, o consumo de leite cessa após o período de amamentação. Contudo, os humanos representam uma exceção uma vez que ingerem leite mesmo durante a idade adulta e que, neste caso, é proveniente de outros mamíferos (35). Nesta situação, a tolerância à lactose é explicada pela produção contínua da lactase até à idade adulta (15,36).

4. Persistência e não-persistência da lactase

A persistência da lactase (LP; OMIM 223100) é um fenótipo que, até à data, só foi observado em humanos (37). Os indivíduos com este fenótipo continuam a expressar a enzima em quantidade suficiente para degradar a lactose após o período de amamentação e, por isso, não manifestam sintomas de intolerância a este hidrato de carbono (37–39).

Por outro lado, a não-persistência da lactase (LNP) constitui uma característica, observável e mensurável, tipicamente observada em indivíduos que não mantêm a expressão de lactase durante a idade adulta, sendo incapazes de digerir quantidades significativas de lactose. Deste modo, estes indivíduos apresentam sintomas de intolerância à lactose (36).

A LNP é uma condição ancestral existente no ser humano (36,38), pelo que constitui o fenótipo com maior incidência no mundo, correspondendo a cerca de 65% da população adulta (11). Deste modo, alguns estudos consideram que o fenótipo LP desenvolveu-se no contexto do aparecimento de sociedades praticantes de pastoralismo, com conseqüente criação de gado e ordenha. Em virtude disso, é sugerido que ele representa uma adaptação génica (10,14,39) resultante da presença de vários alelos independentes com múltiplas distribuições geográficas e que regulam a expressão da lactase após o período de amamentação (15, 40).

4.1. Base genética

O fenótipo LP é determinado geneticamente embora a atividade enzimática da lactase possa ser afetada por diversos fatores, tais como a idade, etnia, integridade da membrana do intestino delgado e o tempo do trânsito no intestino delgado (41). A

incidência desta característica autossômica dominante (16,36,42) é maior em regiões como a Europa, África, Médio Oriente e sul da Ásia, variando desde frequências moderadas a altas (15).

Na literatura estão descritos vários polimorfismos no genoma humano que influenciam a expressão da lactase. No entanto, esta revisão da literatura irá focar-se apenas nos dois polimorfismos melhor caracterizados até à data. O termo polimorfismo é utilizado para designar qualquer alteração na sequência de DNA, que ocorra numa população, com uma frequência igual ou superior a 1% (43). Neste âmbito, destaca-se o gene *MCM6* (OMIM 601806) que é adjacente ao gene da lactase e, por isso, também localizado no cromossoma 2 (34,40). Diversos estudos comprovam que o polimorfismo de um único nucleótido -13910 C>T, localizado no intrão 9 do gene *MCM6*, atua como potenciador da expressão do gene da lactase, principalmente na Europa (10,36,39,40). Assim, a citosina atua como um elemento *cis* que reduz a transcrição do gene, enquanto que a variante timina atua como promotora da produção de *LCT*-mRNA do gene da lactase. Verifica-se, portanto, que os genótipos TC e TT são característicos da LP, pelo que os indivíduos com estes genótipos são, normalmente, tolerantes à lactose, enquanto que a homozigotia CC caracteriza a LNP e a subsequente intolerância à lactose (34,44,45). Conclui-se, portanto, que a presença do alelo T, em homozigotia ou heterozigotia, no promotor do gene da lactase, é crucial para a expressão da enzima. Existe ainda outro polimorfismo que se destaca, -22018 G>A, também situado no intrão 13 do gene *MCM6*, em que a variante “A” também atua como promotor da expressão do gene da lactase (29,46). Verifica-se uma correlação significativa entre o genótipo GG e a intolerância à lactose, enquanto que os genótipos GA e AA traduzem o fenótipo de tolerância (46).

Relativamente à relação genótipo-fenótipo, verifica-se que existem regiões onde o alelo associado à LP sobrestima a frequência do fenótipo de persistência da lactase, como a Arábia e a região Basca. Já no caso de algumas regiões da Ásia, Europa e África, estudo adicionais deverão ser realizados quanto à relação genótipo-fenótipo (15). Também foi demonstrado que os indivíduos homozigóticos para o alelo da persistência da lactase apresentam uma maior nível de expressão da enzima, quando comparado com indivíduos heterozigóticos para o mesmo alelo (23).

4.2. Relação histórico-cultural

A perspetiva histórico-cultural assenta no conceito de que a persistência da lactase é um fenótipo resultante de adaptações génicas relacionadas com os hábitos das populações ao longo do tempo. De facto, a variação da prevalência do fenótipo LP com a localização geográfica pode ser explicada pela influência de diferentes culturas ancestrais (14).

A incorporação de leite e produtos lácteos na dieta data do período Neolítico, altura em que terá emergido a agricultura e a domesticação de gado leiteiro, há cerca de 10 000 anos (1,14,31). Assim, a hipótese histórico-cultural baseia-se no facto do aparecimento da LP ser coincidente com a sedentarização e a sua prevalência ser maior em populações com práticas agropastorais e que consomem leite e produtos lácteos em grandes quantidades (31). Os hábitos e processos culturais são responsáveis pela adaptação genotípica, isto é, os genótipos que são benéficos irão manter-se e manifestar-se nas gerações seguintes (47). Deste modo, “se a herança cultural de uma determinada atividade humana modificadora do ambiente se mantiver por tempo suficiente para gerar pressão seletiva, esta será capaz de co-direcionar a evolução humana” (47). A coevolução da LP e da produção e consumo de leite e produtos lácteos é o exemplo melhor estudado deste processo (47). Para além disto, esta hipótese é também fundamentada pelo facto da maioria da população existente no período anterior ao Neolítico, bem como os seus ancestrais, serem intolerantes à lactose (1). Verifica-se também que em zonas onde se desenvolveu mais a produção de queijo, produto com quantidades reduzidas de lactose, como a Europa do Sul e o Médio Oriente, há uma maior prevalência de intolerância à lactose (1). Dado que a LP é um fenótipo relativamente recente, que surgiu há cerca de 10 000 anos, serão necessários mais estudos para sustentar a hipótese histórico-cultural (31).

5. Intolerância à Lactose

A incapacidade de digestão da lactose com a sua conseqüente intolerância, também designada hipolactásia, deve-se à reduzida expressão da lactase (46,48). O défice desta enzima constitui a deficiência enzimática mais comum em humanos adultos (48). Torna-se importante destacar que os termos malabsorção e intolerância são distintos. Ao contrário da malabsorção que se refere apenas à inadequada digestão da lactose devido a níveis insuficientes de lactase, a intolerância à lactose implica a manifestação de sintomas

gastrointestinais (12,49). Os principais tipos de hipolactásia descritos na literatura são a seguir apresentados.

5.1. Tipos de Hipolactásia

A deficiência da lactase congênita afeta recém-nascidos e apresenta um padrão de transmissão autossômico recessivo. É o tipo mais raro de hipolactásia, tendo sido observada, até à data, em apenas 40 indivíduos (3). Esta doença é causada por mutações patogênicas que afetam ambos os alelos do gene da lactase (14,25). As mutações mais comuns são do tipo *nonsense* que originam a formação de códons de terminação prematuros, mutações *missense* na região codificante do gene da lactase ou duplicação de exões (25). Neste tipo de hipolactásia verifica-se que os níveis de lactase produzidos no intestino são muito reduzidos ou mesmo inexistentes (1), logo desde a nascença, motivo pelo qual também pode ser designada alactásia congênita (41). Nos recém-nascidos, os sintomas incluem diarreia severa após a primeira ingestão de leite (3,25), meteorismo e desnutrição (25). Como a deficiência enzimática irá manifestar-se ao longo da vida, as fontes de lactose têm que ser totalmente excluídas da dieta (3). No entanto, verifica-se que esta restrição na dieta dos recém-nascidos pode provocar défices de nutrientes, com consequente desidratação, atraso no crescimento e alcalose (3).

A hipolactásia primária, também denominada hipolactásia adulta, constitui a principal causa da intolerância à lactose. Esta variante, caracterizada por uma atividade reduzida da lactase nas células intestinais, é causada pela ausência do alelo responsável pela persistência da lactase (3,17,50). Trata-se de uma condição autossômica recessiva, irreversível, que surge geralmente após os 6 anos de idade (3,12), no entanto, os indivíduos poderão não manifestar sintomas antes da adolescência ou idade adulta (1). A prevalência da hipolactásia primária varia entre 2%, tal como observado na Escandinávia, até cerca de 100%, como acontece em algumas regiões da Ásia (12).

A hipolactásia secundária ocorre devido a lesões na mucosa do trato gastrointestinal, principalmente ao nível do intestino delgado, como resultado de patologias específicas, tais como a doença de *Crohn*, doença celíaca, gastroenterite, colite ulcerosa, entre outras (3,46). Porém, doenças mais comuns, tais como infeções, bacterianas, parasitárias ou víricas, também promovem este tipo de hipolactásia (3). Nestes casos, o fenótipo é reversível e, normalmente, os sintomas da intolerância à lactose aliviam após tratamento do problema promotor da lesão (1).

Alguns autores referem, ainda, uma outra variante, a hipolactásia de desenvolvimento. Esta variante, de expressão transitória, afeta os recém-nascidos prematuros e está relacionada com o facto do nível de expressão da lactase ainda não ter sido normalizado no momento do nascimento (1,17).

Também tem sido estudada a relação da intolerância à lactose com diversas doenças, nomeadamente a obesidade e o índice de massa corporal, onde se verificou que, de facto, existe uma relação entre o alelo -13910 T e a predisposição obesogénica (36,39,40,42). No entanto esta relação, que se verifica nos adultos, não foi confirmada para as crianças entre os 6 e os 12 anos, pelo que serão necessários mais estudos para consolidar esta informação (36,40).

5.2. Epidemiologia

Os dois principais polimorfismos associados com a expressão da lactase apresentam uma ampla distribuição geográfica. Assim, verifica-se que apenas cerca de 35% da população apresenta persistência da lactase (11) e este fenótipo é mais frequente no norte da Europa e em algumas regiões de África, Médio Oriente e Sul da Ásia (15,38,40). Na Europa, a elevada persistência da lactase tem sido consistentemente observada ao longo do tempo, apresentando uma prevalência de cerca de 80 a 90% no Norte, enquanto o Sul e Este do continente caracterizam-se por uma prevalência mais reduzida, de cerca de 50% (15,36). Em contraste, na Ásia, também se observa o país com menor prevalência de persistência da lactase, especificamente a China, onde a prevalência de LP é igual ou inferior a 1% (14).

Relativamente à epidemiologia molecular, na Europa a LP é maioritariamente observada no contexto do alelo -13910 T no gene *MCM6* (51), mas este alelo também foi observado em populações africanas, do Médio Oriente e do sul da Ásia, sendo praticamente inexistente no resto do mundo (40). Pelo facto do polimorfismo C>T -13910 ter sido o primeiro a ser fortemente associado com a LP, ele é também o mais bem estudado até à data (15). O alelo -22018 A, também no gene *MCM6*, apesar de estar também associado à LP na Europa, maioritariamente na população Finlandesa (29), apresenta uma relação mais forte com a LP em populações do norte da China (52). Um estudo de 2005 refere que, em Portugal, no norte do país, a frequência do alelo -13910 T corresponde a 37% inferindo, deste modo, a prevalência de 62% para o fenótipo da persistência da lactase nessa região. Ainda nesse estudo, a frequência do alelo -22018 A é negligenciável (53). Por outro lado, em populações do Médio Oriente e africanas,

verifica-se que a LP é predominantemente resultante de três alterações observadas no intrão 13 do mesmo gene: -13907 G, -13915 G e -14010 C. Contudo, estes alelos não estão tão amplamente caracterizados na literatura como os dois alelos anteriormente citados (15,30,51).

5.3. Diagnóstico e tratamento

Em termos nutricionais, o leite representa um alimento importante para uma dieta variada e equilibrada. Assim, o leite de bovino apresenta cerca 87% de água, 4 a 5% de lactose, 3% de proteína, 3 a 4% de gordura, 0,8% de minerais e 0.1% de vitaminas. De um modo geral, o leite, devido ao alto valor biológico e qualidade das suas proteínas constituintes, é reconhecido como sendo uma importante fonte proteica. Quanto à composição em gordura, constata-se que o triacilglicerol é o componente que mais se destaca, constituindo cerca de 98% da gordura do leite (35). Para além disto, os produtos lácteos no geral, mas com ênfase para o leite, destacam-se por terem uma composição particular em micronutrientes, pelo que se considera que estes alimentos são privilegiados na presença natural de cálcio, sendo que também são considerados boas fontes de magnésio, potássio, zinco, vitaminas A, C e E, vitaminas do complexo B (nomeadamente B12 e B2) e vitamina D, no caso do leite fortificado (54).

É importante considerar que existem duas principais reações do organismo ao consumo de leite: a intolerância à lactose e a alergia à proteína do leite de vaca. Assim, como já foi extensivamente explicado, a primeira caracteriza-se pela incapacidade de digerir corretamente a lactose devido à influência de diversos fatores, incluindo a base genética individual (34,40), enquanto que a segunda refere-se a uma reação alérgica alimentar caracterizada por uma resposta adversa, imuno-mediada, à proteína do leite de vaca (35).

Uma vez que esta revisão analisa especificamente a intolerância à lactose, diversos métodos de diagnóstico da intolerância ou malabsorção da lactose são descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Métodos de diagnóstico da intolerância ou malabsorção da lactose.

Teste	Objetivo	Método	Vantagens	Limitações	Ref.
Medição da atividade da lactase	Medição da atividade da lactase no intestino delgado.	Biópsia da mucosa duodenal.	Método padrão para detetar a intolerância à lactose primária e secundária.	Bastante invasivo; Expressão da lactase não é homogénea.	(29)
Teste respiratório	Medição da quantidade de hidrogénio expirado, após a ingestão de uma determinada quantidade de lactose.	Recolha de amostras de ar expirado.	Custo mais reduzido, mais fiável, menos invasivo e mais rápido.	Possibilidade de falsos negativos devido à incapacidade da flora intestinal produzir H ₂ como resultado da ingestão de hidratos de carbono não absorvíveis ou devido ao uso recente de antibióticos.	(3)
Teste de tolerância à lactose	Avaliação da digestão da lactose através do aumento do nível de glicose no sangue.	Ingestão de uma solução de lactose e recolha de várias amostras de sangue.	Custo mais reduzido e maior rapidez.	Menos sensível do que o teste de respiração; o resultado positivo pode ser resultado de glicemia pós-prandial em indivíduos com alterações da tolerância à glicose ou diabetes.	(3,12,48, 49)
Análise das fezes	Identificação, de forma indireta, da malabsorção de diversos hidratos de carbono.	Avaliação do pH e/ou da presença de açúcares redutores nas fezes.	Fácil realização.	Requer a avaliação conjunta com outras análises; os resultados dependem do contexto e da situação do doente.	(12)
Testes genéticos	Exclusão de polimorfismos associados ao fenótipo LP.	Extração de DNA genómico a partir de uma amostra de sangue periférico.	Confirmação do fenótipo LP, principalmente em zonas onde há grande prevalência, como a Europa.	Utilização pouco generalizada; não são informativos quanto aos sintomas; não aplicável à intolerância secundária; utilização limitada aos polimorfismos já identificados na população em estudo.	(3,29)

A sobrevalorização dos sintomas gastrointestinais pode promover um auto-diagnóstico incorreto de intolerância à lactose (49). Esta situação poderá originar a restrição desnecessária do leite e produtos lácteos na dieta e um eventual impacto negativo para a saúde, nomeadamente devido à redução da ingestão do cálcio (14,48).

No que diz respeito à gestão nutricional, verifica-se que, normalmente, a intolerância à lactose é facilmente tratável com alterações da dieta (48), mais propriamente com a utilização de leite e produtos lácteos isentos ou com níveis reduzidos de lactose (12). De facto, como referido na revisão de Corella et al, alguns estudos referem que os indivíduos intolerantes podem ingerir até 12g de lactose por dia sem expor sintomas, no entanto há também autores que defendem que estes indivíduos apenas conseguem tolerar quantidades de lactose iguais ou inferiores a 6g diárias (45).

Em alguns casos, o tratamento pode assentar em terapia farmacológica, nomeadamente a suplementação com lactase, obtida através dos microorganismos *Aspergillus oryzae* ou *Kluyveromyces lactis*. Esta abordagem tem-se revelado bastante eficaz, não apresenta efeitos secundários e é bem tolerada pelos doentes (55–57). Para além disto, alguns estudos sugerem que a utilização de probióticos - microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, fornecem benefícios para o hospedeiro (58) - pode ser benéfica para promover a digestão da lactose, uma vez que aumentam a capacidade hidrolítica do intestino delgado e a fermentação ao nível do cólon (41). As principais estirpes utilizadas para este efeito são as de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Os seus efeitos benéficos dependem de múltiplos fatores e, por isso, os principais critérios de seleção são a tolerância às condições gastrointestinais, inibição por patogénios e a capacidade de aderir à mucosa gastrointestinal. Contudo, será necessário continuar a investigação nesta área, nomeadamente quanto à potencialidade terapêutica de outras estirpes, mecanismos de ação e eficácia dos probióticos, bem como a elucidação e caracterização de potenciais agentes influenciadores da sua atividade terapêutica (41).

Outra abordagem nutricional referida por alguns autores é a dieta pobre em açúcares fermentáveis, nomeadamente oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis, conhecidos por FODMAPS (59). No entanto, esta dieta está, ainda, pouco estudada relativamente aos seus efeitos em indivíduos intolerantes à lactose.

IV. Discussão

Atualmente existe uma ampla evidência acerca do fenótipo da intolerância à lactose, desde a sua base genética até às variantes clínicas e tratamento (31). A informação reunida no presente trabalho permitiu esclarecer a relação entre a genética, a intolerância à lactose (hipolactásia primária) e a persistência da lactase (14). Os polimorfismos mais bem caracterizados até à data são -13910 C>T e -22018 G>A, localizados no gene *MCM6*, e ambos apresentam uma forte influência na expressão do gene da lactase uma vez que a presença dessas variantes genéticas, em homozigotia ou heterozigotia, determina a persistência da lactase (29). Os diversos polimorfismos descritos na literatura estão geograficamente dispersos dependendo, aparentemente, dos hábitos culturais de cada região há cerca de 10 000 anos e que estão relacionados com a ingestão de leite e derivados (31). No entanto, a informação existente deverá ser consolidada no futuro, nomeadamente no âmbito da hipótese histórico-cultural e da distribuição geográfica da intolerância à lactose e da sua base genética (15). De facto, há vários polimorfismos, identificados principalmente em populações Africanas e do Médio Oriente (15), que não se encontram, ainda, suficientemente bem caracterizados.

O tema abordado no presente trabalho representa, também, um exemplo simples da inter-relação entre duas áreas emergentes e fundamentais para a compreensão da relação entre os genes e a dieta: a Nutrigenómica (estudo do impacto de variações génicas em *MCM6* na biologia da lactase) e a Nutrigenética (relações genótipo-fenótipo na LP e LNP).

No âmbito da nutrição, observa-se que o tratamento nesta área é simples, consistindo normalmente na utilização de alimentos isentos ou com níveis reduzidos de lactase (12). No entanto, há diversas abordagens mais recentes, nomeadamente a utilização de probióticos (41) e dietas com reduzido teor de FODMAPS (59), que necessitam de suporte científico adicional com vista à elaboração de *guidelines* que elucidem quanto à sua aplicabilidade clínica, especificamente na intolerância à lactose. O mesmo se verifica para a relação entre a intolerância à lactose e diversas doenças, assunto que necessita de maior consolidação, nomeadamente na relação com diversos tipos de cancro (17), síndrome de intestino irritável (29) e obesidade (36,40).

V. Conclusão

A intolerância à lactose e a persistência da lactase são dois assuntos com boa sustentação científica, pelo que foi possível aferir a sua relação com a genética que é, porventura, o aspeto mais a montante de qualquer área do conhecimento no domínio das Ciências da Saúde. Neste caso, variações genéticas específicas justificam a persistência da lactase e podem estar relacionadas com a não-persistência da lactase, ou seja, a intolerância à lactose. Tradicionalmente, o tratamento da LNP por restrição, total ou parcial, da lactose da dieta é simples e eficaz na maioria dos casos e, por isso, também o mais amplamente utilizado. A aplicação de outras abordagens terapêuticas é ainda limitada, visto que os seus benefícios e aplicabilidade, na intolerância à lactose, não reuniram, até agora, o consenso necessário para a sua utilização na prática clínica. Contudo, uma vez que a intolerância à lactose pode dever-se a fatores não genéticos, é importante estabelecer a sua causa primária, não só para oferecer um diagnóstico preciso, mas também para melhorar a atividade de aconselhamento proporcionado aos doentes e seus familiares. Adicionalmente, o rastreio genético também se reveste de importância prospetiva dada a possibilidade de uma eventual inter-relação, quer do défice quer da persistência da lactase em adultos, com outras doenças. Nesse sentido, será de especial importância a elucidação da distribuição das variantes genéticas na população em estudo, e também a melhoria da difusão do conhecimento e sensibilização da comunidade científica e população em geral sobre este tema.

VI. Referências Bibliográficas

1. Silanikove N, Leitner G, Merin U. The interrelationships between lactose intolerance and the modern dairy industry: Global perspectives in evolutionary and historical backgrounds. *Nutrients*. 2015;7(9):7312–31.
2. Labrie V, Buske OJ, Oh E, Jeremian R, Ptak C, Gasiūnas G, et al. Lactase non-persistence is directed by DNA variation-dependent epigenetic aging. *Nat Struct Mol Biol*. 2016;23(6):566–73.
3. Di Rienzo T, D'Angelo G, D'aversa F, Campanale MC, Cesario V, Montalto M, et al. Lactose intolerance: from diagnosis to correct management. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17(2):18–25.
4. Kuhn NJ, White A. The topography of lactose synthesis. *J Mammary Gland Biol*

- Neoplasia. 1975;14(3):213–20.
5. Shennan DB, Peaker M. Transport of milk constituents by the mammary gland. *Physiol Rev.* 2000;80(3):925–51.
 6. Manzi AE, Freeze HH, Varki A. Overview of Glycoconjugate Analysis. *Natl Inst Heal.* 2010;1–16.
 7. Schengrund CL. Gangliosides: Glycosphingolipids essential for normal neural development and function. *Trends Biochem Sci.* 2015;40(7):397–406.
 8. Wang B, Brand-Miller J. The role and potential of sialic acid in human nutrition. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57(11):1351–69.
 9. Silk DBA, Davis A, Vulevic J, Tzortzis G, Gibson GR. Clinical trial: The effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29(5):508–18.
 10. Krüttli A, Bouwman A, Akgül G, Casa P Della, Rühli F, Warinner C. Ancient DNA analysis reveals high frequency of european lactase persistence allele (T-13910) in medieval Central Europe. *PLoS One.* 2014;9(1).
 11. Ingram CJE, Mulcare CA, Itan Y, Thomas MG, Swallow DM. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Hum Genet.* 2009;124(6):579–91.
 12. Vandenplas Y. Lactose intolerance. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2015;24(December):S9–13.
 13. Ferraris RP. Dietary and developmental regulation of intestinal sugar transport. *Biochem J.* 2001;276:265–76.
 14. Bayless TM, Brown E, Paige DM. Lactase Non-persistence and Lactose Intolerance. *Curr Gastroenterol Rep.* 2017;19(5).
 15. Itan Y, Jones BL, Ingram CJ, Swallow DM, Thomas MG. A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. *BMC Evol Biol.* 2010;10(1).
 16. Gençdal G, Salman E, Özütemiz Ö, Akarca US. Association of LCT-13910 C/T polymorphism and colorectal cancer. *Ann Coloproctol.* 2017;33(5):169–72.
 17. Amiri M, Diekmann L, von Köckritz-Blickwede M, Naim HY. The diverse forms of lactose intolerance and the putative linkage to several cancers. *Nutrients.* 2015;7(9):7209–30.
 18. Dahlqvist A. The location of carbohydrases in the digestive tract of the pig. *Biochem J.* 1961;78(1957):282–8.
 19. Doell RG, Kretchmer N. Studies of small intestine during development I.

- Distribution and activity of beta-galactosidase. *Biochim Biophys Acta*. 1962;62.
20. Skovbjerg H, Sjoström H, Norén O. Purification and Characterisation of Amphiphilic Lactase/Phlorizin Hydrolase from Human Small Intestine. *Eur J Biochem*. 1981;114(3):653–61.
 21. Potter J, Ho MW, Bolton H, Furth AJ, Swallow DM, Griffiths B. Human lactase and the molecular basis of lactase persistence. *Biochem Genet*. 1985;23(5–6):423–39.
 22. Mantei N, Villa M, Enzler T, Wacker H, Boll W, James P, et al. Complete primary structure of human and rabbit lactase-phlorizin hydrolase: implications for biosynthesis, membrane anchoring and evolution of the enzyme. *EMBO J*. 1988;7(9):2705–13.
 23. Norén O, Sjöström H. Structure, biosynthesis and regulation of lactase-phlorizin hydrolase. *Scand J Nutr*. 2001;45:156–60.
 24. Naim HY, Sterchi EE, Lentze MJ. Biosynthesis and maturation of lactase-phlorizin hydrolase in the human small intestinal epithelial cells. *Biochem J*. 1987;241(2):427–34.
 25. Diekmann L, Pfeiffer K, Naim HY. Congenital lactose intolerance is triggered by severe mutations on both alleles of the lactase gene. *BMC Gastroenterol*. 2015;15(1):1–7.
 26. Diekmann L, Behrendt M, Amiri M, Naim HY. Structural determinants for transport of lactase phlorizin-hydrolase in the early secretory pathway as a multi-domain membrane glycoprotein. *Biochim Biophys Acta*. 2017;1861:3119–28.
 27. Naim HY, Jacob R, Naim H, Sambrook JF, Gething MJH. The pro region of human intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *J Biol Chem*. 1994;269(43):26933–43.
 28. Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman JS, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet*. 2007;39(1):31–40.
 29. Deng Y, Misselwitz B, Dai N, Fox M. Lactose intolerance in adults: Biological mechanism and dietary management. *Nutrients*. 2015;7(9):8020–35.
 30. Liebert A, Jones BL, Danielsen ET, Olsen AK, Swallow DM, Troelsen JT. In Vitro Functional Analyses of Infrequent Nucleotide Variants in the Lactase Enhancer Reveal Different Molecular Routes to Increased Lactase Promoter Activity and Lactase Persistence. *Ann Hum Genet*. 2016;80(6):307–18.
 31. Séguérel L, Bon C. On the Evolution of Lactase Persistence in Humans. *Annu Rev*

- Genomics Hum Genet. 2017;18(1):297–319.
32. Fumery M, Speca S, Langlois A, Davila A, Dubuquoy C, Grauso M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) regulates lactase expression and activity in the gut. *EMBO Mol Med*. 2017;9(11):1471–81.
 33. Friedrich DC, De Andrade FM, Fiegenbaum M, De Almeida SD, Mattevi VS, Callegari-Jacques SM, et al. The lactase persistence genotype is a protective factor for the metabolic syndrome. *Genet Mol Biol*. 2014;37(4):611–5.
 34. Dzialanski Z, Barany M, Engfeldt P, Magnuson A, Olsson LA, Nilsson TK. Lactase persistence versus lactose intolerance: Is there an intermediate phenotype? *Clin Biochem*. 2016;49(3):248–52.
 35. D PCPP. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*. 2014;30(6):619–27.
 36. Albuquerque D, Nóbrega C, Manco L. The lactase persistence -13910C>T polymorphism shows indication of association with abdominal obesity among Portuguese children. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2013;102(4):153–7.
 37. Gerbault P. The onset of lactase persistence in Europe. *Hum Hered*. 2014;76(3–4):154–61.
 38. Jones BL, Oljira T, Liebert A, Zmarz P, Montalva N, Tarekeyn A, et al. Diversity of lactase persistence in African milk drinkers. *Hum Genet*. 2015;134(8):917–25.
 39. Almon R, Álvarez-León EE, Serra-Majem L. Association of the european lactase persistence variant (LCT-13910 C>T polymorphism) with obesity in the canary islands. *PLoS One*. 2012;7(8):6–10.
 40. Malek AJ, Klimentidis YC, Kell KP, Fernández JR. Associations of the lactase persistence allele and lactose intake with body composition among multiethnic children. *Genes Nutr*. 2013;8(5):487–94.
 41. Oak SJ, Jha R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2018;8398:1–9.
 42. Kettunen J, Silander K, Saarela O, Amin N, Müller M, Timpson N, et al. European lactase persistence genotype shows evidence of association with increase in body mass index. *Hum Mol Genet*. 2010;19(6):1129–36.
 43. Karki R, Pandya D, Elston RC, Ferlini C. Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics. *BMC Med Genomics*. 2015;1–7.
 44. Carlos FF, Veigas B, Matias AS, Doria G, Flores O, Baptista P V. Allele specific

- LAMP- gold nanoparticle for characterization of single nucleotide polymorphisms. *Biotechnol reports*. 2017;16:21–5.
45. Corella D, Arregui M, Coltell O, Guillem- P, Carrasco P, Unit ME, et al. Association of the LCT-13910C>T Polymorphism With Obesity and Its Modulation by Dairy Products in a Mediterranean Population. *Heal Hum Serv*. 2015;19(8):1707–14.
 46. Ponte P, Medeiros P, Havt A, Caetano J, Cid D, Prata M, et al. Clinical evaluation, biochemistry and genetic polymorphism analysis for the diagnosis of lactose intolerance in a population from northeastern Brazil. *Clin Sci*. 2016;70(2):82–9.
 47. Gerbault P, Liebert A, Itan Y, Powell A, Currat M, Burger J, et al. Evolution of lactase persistence: An example of human niche construction. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2011;366(1566):863–77.
 48. Gomes P, Nuno Craveiro Barra S, Leitão Marques A. Severe lactose intolerance in a patient with coronary artery disease and ischemic cardiomyopathy Sérgio. *Rev Port Cardiol*. 2012;31(12):821–4.
 49. Misselwitz B, Pohl D, Frühauf H, Fried M, Vavricka SR, Fox M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United Eur Gastroenterol J*. 2013;1(3):151–9.
 50. Wortmann AC, Simon D, Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi FDM, Nabinger DD, et al. The association between adult-type hypolactasia and symptoms of functional dyspepsia. *Genet Mol Biol*. 2018;1–6.
 51. Jones BL, Raga TO, Liebert A, Zmarz P, Bekele E, Danielsen ET, et al. Diversity of lactase persistence alleles in ethiopia: Signature of a soft selective sweep. *Am J Hum Genet*. 2013;93(3):538–44.
 52. Szilagyi A. Adult lactose digestion status and effects on disease. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2015;29(3):149–56.
 53. Coelho M, Luiselli D, Bertorelle G, Lopes AI, Seixas S, Destro-Bisol G, et al. Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. *Hum Genet*. 2005;117(4):329–39.
 54. Weaver CM. Role of dairy beverages in the diet. *Physiol Behav*. 2010;100(1):63–6.
 55. Guzek M, Stojek M, Wierzbowski J, Sulkowska A, Smoczyński M. Tolerance of low-lactose milk and supplemental lactase obtained from *Aspergillus oryzae* in persons with lactose intolerance. *Gastroenterol Pol*. 2008;15(5):305–8.

56. Montalto M, Nucera G, Santoro L, Curigliano V, Vastola M, Covino M, et al. Effect of exogenous β -galactosidase in patients with lactose malabsorption and intolerance : a crossover double-blind placebo-controlled study. *Eur J Clin Nutr.* 2005;489–93.
57. Francesconi CF de M, Machado MB, Steinwurz F, Nones RB, Quilici FA, Catapani WR, et al. Oral Administration of Exogenous Lactase in Tablets for Patients Diagnosed With Lactose Intolerance Due To Primary Hypolactasia. *Arq Gastroenterol.* 2016;53(4):228–34.
58. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11(8):506–14.
59. Wilder-Smith CH, Olesen SS, Materna A, Drewes AM. Predictors of response to a low-FODMAP diet in patients with functional gastrointestinal disorders and lactose or fructose intolerance. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;45(8):1094–106.