

# Genetika laktozne intolerance odraslih in pogostost polimorfizma -13910C>T v slovenski populaciji

## Genetics of adult-type lactose intolerance and frequency of -13910C>T polymorphism in Slovenian population

Nataša Karas Kuželički, Jana Lukač-Bajalo

**POVZETEK:** Encim laktaza (EC 3.2.1.23) hidrolizira disaharid laktozo do galaktoze in glukoze. Normalno je aktivnost laktaze v otroštvu visoka, pri večini odraslih pa močno upade. Vendar pa nekatere osebe ohranijo visoko aktivnost laktaze tudi v odrasli dobi. Leta 2002 so odkrili polimorfizem -13910C>T, ki se 100-odstotno ujema z visoko aktivnostjo laktaze v odrasli dobi. CC homozigoti imajo nizko, TT homozigoti in TC heterozigoti pa visoko aktivnost laktaze v odrasli dobi. V slovenski populaciji ima 39 % oseb genotip CC, 61 % pa genotip CT ali TT. Največ je oseb z genotipom CT (51 %), najmanj pa homozigotnih TT oseb (10 %). Ujemanje med genotipom CC in znaki laktozne intolerance ni popolno. Pogostost znakov pri osebah z genotipom CC s starostjo narašča.

**Ključne besede:** laktoza, laktaza, laktozna intoleranca odraslih

**ABSTRACT:** Enzyme lactase (EC 3.2.1.23) hydrolyzes disaccharide lactose to galactose and glucose. Neonatally, lactase activity is high, but drastically decreases in most adults. However, some adults maintain high lactase activity. In 2002 -13910C>T polymorphism was discovered, which correlates well to high lactase activity in adults. CC homozygotes have low, while TT homozygotes and CT heterozygotes have high lactase activity in adulthood. In Slovenian population there are 39 % of CC homozygotes and 61 % of CT heterozygotes and TT homozygotes. The most frequent is CT (51 %) and the least frequent is TT genotype (10 %). Correlation between CC genotype and symptoms of lactose intolerance is only partial. Incidence of symptoms in CC genotype persons increases with age.

**Key words:** lactose, lactase, adult-type lactose intolerance

## 1 Uvod

### 1.1 Aktivnost encima laktaze je odvisna od starosti

Laktaza (EC 3.2.1.23) oz. s polnim imenom laktaza-florizin hidrolaza (LPH) (EC 3.2.1.23, 3.2.1.62) je encim, ki hidrolizira dve vrsti disaharidov. Disaharid laktozo hidrolizira v galaktozo in glukozo ( $\beta$ -galaktozidazna aktivnost), disaharid florizin pa v glukozo in floretin ( $\beta$ -glukoziidazna aktivnost) (1, 2). Encim se pojavlja samo pri sesalcih, ne pa pri drugih vretenčarjih, saj je mleko, ki vsebuje velike količine laktoze, v obdobju po rojstvu pri sesalcih edini vir energije. Normalno imajo sesalci v otroštvu visoko aktivnost laktaze, ki pa pri odraslih sesalcih močno upade. Ta obrazec velja tudi za večino ljudi, vendar pa nekatere osebe ohranijo visoko aktivnost laktaze tudi v odrasli dobi.

Velik delež takih oseb so opazili v populacijah, ki se intenzivno ukvarjajo z živinorejo (Severna Evropa, Subsaharska Afrika) in je bila sposobnost prebavljanja mleka v odrasli dobi ključnega pomena za preživetje v obdobjih pomanjkanja drugih virov hrane (1, 2). Predvidevajo, da je do močnega pozitivnega izbora prišlo pred 5.000 do 10.000 leti (2, 3). Izraz laktozna intoleranca se uporablja za normalno znižanje laktazne aktivnosti pri odraslih, kar pa ni vzrokoslovno pravilno, saj gre za popolnoma normalno in celo prevladujoče stanje v globalni človeški populaciji. Bolj primerna bi bila uporaba izraza laktozna persistenca za oznako ohranitve visoke laktazne aktivnosti v odrasli dobi, saj le-to stanje nastane z mutacijo v normalnem genotipu. Kljub temu se danes ponavadi uporablja izraz laktozna intoleranca, ker so se raziskave laktaze začele v severni Evropi, kjer prevladuje visoka aktivnost laktaze pri odraslih (4).

Dolgo ni bilo jasno, kaj povzroči znižanje laktazne aktivnosti pri odraslih. Študije leta 1966 in 1967 so pokazale, da je aktivnost encima odvisna izključno od regulacije na genskem nivoju in da ni povezana s količino zaužite laktoze (4, 5). Vendar pa na izražanje znakov laktazne intolerance lahko vplivajo tudi dejavniki okolja, kot so črevesna flora posameznika, hormoni (tiroksin, kortizon), količina zaužite laktoze in subjektivno doživljanje znakov (5). Leta 1985 so dokazali, da pride do znižanja encimske aktivnosti pri odraslih zaradi zmanjšanja sinteze laktaze (4). V devetdesetih letih pa so dokazali, da je sinteza laktaze zmanjšana zaradi zmanjšane transkripcije gena za laktazo (4, 6).

Ugotovili so tudi, da HNF-1 (*hepatocyte nuclear factor 1*) stimulira transkripcijo gena za laktazo (7, 8). Pri prašičih se vezalno mesto HNF-1 nahaja v promotorski regiji gena LPH, pri človeku pa vezalnega mesta še niso našli. Predvidevajo, da bi se lahko nahajalo še bolj navzgor od promotorske regije gena LPH (9). S HNF-1 sproženo transkripcijo stimulira produkt gena HOXC11 (Homeo Box C11) (10). Ta gen je član družine HOX genov, ki poleg SOX in PAX genov spadajo med razvojne gene. Ti geni se močno izražajo v fetalnem razvoju in usmerjajo razvoj osebkov. HOXC11 se izraža v tankem črevesu, ledvicah in skeletnih mišicah. Njegovo izražanje je največje v fetalnem tkivu (11).

### 1.2 Laktazna intoleranca odraslih

Laktazna intoleranca odraslih je normalno znižanje aktivnosti laktaze v odrasli dobi na 5-10 % encimske aktivnosti v otroštvu. Znaki vključujejo drisko, bolečine v trebuhu, napenjanje in slabost po zaužitju večjih količin mleka. Do driske pride zaradi zastajanja nerazgrajene laktoze v črevesu. Laktoza zaradi svojega osmotskega učinka povzroči zadrževanje vode v črevesu, kar ima za posledico tekoče blato. Znaki se pojavijo v različnih populacijah pri različnih starostih, velike pa so tudi razlike med posamezniki. Tako se pri Afričanih in Azijcih znaki pojavijo že zgodaj v otroštvu (2-7 let), medtem ko se pri belcih ponavadi pojavijo v adolescenci. Pogostost laktazne intolerance je najvišja v Aziji, kjer doseže skoraj 100 %. Visoka je tudi pri večini Afričanov (50-80 %), izjema so nekatera živinorejska plemena v subsaharski Afriki. V Evropi niha pogostost od 2-5 % v Skandinaviji, do 70 % v južni Evropi. Večina laktazno intolerantnih oseb doživi znake po zaužitju 50 ali več gramov laktoze, vendar pa so pri nekaterih znaki odsotni tudi po zaužitju zelo velikih količin laktoze. Vzrok za

to je zaenkrat še neznan. Osebe z laktazno intoleranco lahko brez težav uživajo jogurt, kjer je laktoza že delno razgrajena s strani bakterijskih kultur. Tudi mleko z več maščobe naj bi povzročalo manj težav kot manj mastno mleko. Vzrok za to je daljše zadrževanje mastnega mleka v prebavnem traktu. Prebava mleka pri laktazno intolerantnih osebah se izboljša tudi, če mleko zaužijejo ob prisotnosti kaka-va ali trdne hrane, ki vsebuje veliko vlaknin (12).

### 1.3 Genetika laktazne intolerance odraslih

Genetika laktazne intolerance oz. laktazne persistence je dokaj zapletena, saj še vedno niso odkrili definitivne mutacije, ki je odgovorna za to stanje. Predvsem v zadnjih 2 letih pa je na tem področju prišlo do znatnega napredka.

Leta 1995 so v študiji Harvey et al. (13) odkrili 7 polimorfizmov v genu za laktazo ali v njegovi neposredni bližini, ki so kazali povezanost z visoko oz. nizko aktivnostjo laktaze pri odraslih. Ugotovili so, da se ti polimorfizmi vedno dedujejo skupaj oz. vezano, kar je pripeljalo do tvorbe sistema laktaznih haplotipov. V različnih kombinacijah so ti polimorfizmi tvorili 42 različnih haplotipov. Končni sistem haplotipov je postavil Hollox s sodelavci leta 2001 (14). Ugotovili so, da laktazni haplotip sestavlja 11 polimorfizmov, ki se nahajajo v genu LPH ali v njegovi neposredni bližini. Večinoma gre za substitucije enega baznega para z drugim, nekaj pa je delecij/insercij enega ali več baznih parov. Različne kombinacije teh 11 polimorfizmov tvorijo 42 haplotipov: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z, a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o in p. Najpogostejši haplotipi so A, B, C in U, ki so prisotni pri 45 %, 18 %, 15 % in 5 % svetovne populacije. Ostali haplotipi so zelo redki in imajo pogostost 2 % ali manj. Haplotip k so našli pri šimpanzih in naj bi bil izvorni haplotip iz katerega so z mutacijami in rekombinacijami nastali vsi ostali haplotipi. Preglednica 1 prikazuje sestavo 4 najpogostejših haplotipov A, B, C in U.

Haplotip A je povezan s persistence laktaze v odrasli dobi, vendar samo pri Evropejcih in ne pri Afričanih in Azijcih (14).

Haplotipi se različno porazdeljujejo pri različnih rasah in narodih (glej preglednico 2) (14).

Preglednica 1: Sestava najpogostejših haplotipov A, B, C in U

Table 1: The makeup of the most widespread haplotypes A, B, C and U

polimorfizem	C	A	C	TC	G	A	A8	C	G	T	TG
haplotip	-985 T	-946 G	-942 G	-942/3 ΔΔ	-875 A	-678 G	-552/ A9	485 int T	666 A	5579 C	6236/7 ΔΔ
A	C	A	C	TC	G	A	A9	C	G	C	TG
B	T	A	C	TC	G	A	A8	C	A	T	ΔΔ
C	C	A	C	TC	G	G	A8	C	G	T	TG
U	C	A	C	ΔΔ	G	A	A9	C	A	T	TG

Preglednica 2: Pogostost laktaznih haplotipov v različnih populacijah

Table 2: The frequency of lactase haplotypes in various populations

Haplotip	Severna Evropa	Južna Evropa	Indija	Rusija	Kitajska	Japonska	Bantu (Afrika)
A	86 %	36 %	44 %	44 %	47 %	37 %	10 %
B	6 %	32 %	22 %	21 %	10 %	10 %	0 %
C	3 %	12 %	23 %	15 %	9 %	15 %	31 %
U	0 %	0 %	0 %	1 %	17 %	24 %	7 %
persistenca laktaze	75 %	26 %	48 %	37 %	6 %	10 %	13 %

Haplotip A je najpogostejši v severni Evropi in je tudi prevladujoč haplotip v tej populaciji, kar se ujema z velikim deležem laktazno persistentnih oseb v tem delu sveta. V južni Evropi je haplotip A manj pogost, več pa je haplotipov B in C. To se ujema z veliko nižjim odstotkom oseb z visoko aktivnostjo laktaze kot v severni Evropi. Rusija in Indija kažeta podobno stanje kot Evropa, kar je razumljivo, saj gre za kavkazijske populacije. Haplotipa U pri kavkazijskih ni, je pa zelo pogost pri Azijcih, ki pa so skoraj 100 % laktozno intolerantni. Populacije v subsaharski Afriki so najbolj haplotipsko heterogene, kar kaže na to, da se je *Homo Sapiens* razvil v Afriki in se od tam v več valovih razselil v Evropo in Azijo. Za manjšo raznolikost haplotipov v neafriških populacijah je torej odgovoren genetski odmik. V severni Evropi pa naj bi z razvojem živinoreje pred 10.000 leti prišlo do močne pozitivne selekcije za A haplotip, ki je povezan z laktazno persistenco. Ker je A haplotip povezan s persistenco samo pri Evropejcih, pomeni, da je mutacija odgovorna za persistenco nastala šele po odselitvi *H. Sapiens* v Evropo. Iz preglednice 2 je tudi razvidno, da je v neevropskih populacijah velik delež oseb z A haplotipom laktozno intolerantnih. Vse to kaže na to, da opisani polimorfizmi ne morejo biti vzrok za persistenco laktaze v odrasli dobi, temveč so samo označevalski polimorfizmi, ki se pogosto dedujejo vezano z vzročno mutacijo (14).

Leta 2002 pa so odkrili polimorfizem -13910C>T, ki se 100-odstotno ujema s persistenco laktaze v odrasli dobi. Gre za spremembo C v T na mestu 13910 bp navzgor od iniciacijskega kodona ATG gena za laktazo. Alel C je povezan z nizko, alel T pa z visoko aktivnostjo laktaze v odrasli dobi. Tako imajo homozigoti CC laktozno intoleranco, homozigoti TT in heterozigoti CT pa laktazno persistenco (15). Homozigoti CC imajo približno 10 % aktivnosti laktaze homozigotov TT, heterozigoti CT imajo v povprečju nižje aktivnosti kot TT, vendar pa se aktivnosti za TT in CT prekrivajo. Aktivnosti laktaze za CC osebe so od 4 do 9 U/g, za CT od 13-49 U/g in za TT 18-87 U/g. Pri heterozigotih CT se alel T izraža 11,5-krat bolj kot alel C in predstavlja 92 % mRNA laktaze (16).

Polimorfizem -13910C>T se nahaja v 13. intronu gena MCM6 (*Minichromosome maintenance 6*), v regiji, ki kaže homologijo z LINE (*long interspersed nuclear element*). MCM6 se nahaja poleg gena LPH, njegov produkt je regulator celičnega cikla. MCM6 verjetno ni funkcionalno povezan z laktazo, gre le za prekrivanje regulatorne regije gena LPH s koncem transkripcijske regije MCM6 gena (17). -13910C>T vpliva na vezalno mesto transkripcijskega faktorja AP-2. Le-ta verjetno vpliva na razvojno-specifično regulacijo laktaze prek cis-transkripcijskega efekta. Natančen mehanizem delovanja še ni znan (2).

V študiji Poulter et al. iz leta 2003 (18) so ugotavljali ujemanje polimorfizma -13910C>T s haplotipi. Ugotovili so, da je pri vseh haplotipih

razen A na mestu -13910 vedno prisoten C, kar se ujema z ugotovitvijo, da so vsi haplotipi razen A povezani z laktozno intoleranco. Pri Evropejcih je bil pri haplotipu A na mestu -13910 v veliki večini primerov prisoten T, kar potrjuje povezanost haplotipa A z laktazno persistenco. Pri ostalih rasah pa je bil v večjem številu primerov na mestu -13910 v haplotipu A prisoten C, kar kaže na to, da haplotip A lahko povezujemo z laktazno persistenco samo pri Evropejcih, alel T pa je povezan s persistenco tudi pri drugih rasah (18). Iz tega sklepamo, da je določanje polimorfizma -13910C>T boljše diagnostično orodje kot določanje haplotipov. Videti je, da je -13910C>T nastal pozneje kot polimorfizmi, ki definirajo haplotip A in je odličen kandidat za vzročni polimorfizem za laktazno persistenco. Vendar pa so pred kratkim ugotovili, da navedeni polimorfizem verjetno ni odgovoren za laktazno persistenco v nekaterih živinorejskih plemenih v subsaharski Afriki, saj je v teh populacijah T alel zelo redek in ne more razložiti visokega deleža laktazno persistentnih oseb (19). Zato bi bilo treba preiskati širše območje navzgor od gena LPH.

Genotipizacija je najzanesljivejši način diagnostike laktozne intolerance, saj s to metodo lahko odkrijemo tudi tiste laktozno intolerantne osebe, ki nimajo znakov. Hkrati pa lahko izločimo osebe z drugimi boleznimi, ki povzročajo moteno delovanje disaharidaz. S tem preprečimo nepotrebno umaknitev mleka iz prehrane in omogočimo zdravljenje morebitnih resnih obolenj. Ker so polimorfizem -13910C>T, ki se pri Evropejcih popolnoma ujema z laktazno persistenco odkrili šele pred kratkim, pa se genotipizacije še ne uporablja za rutinsko diagnostiko, temveč samo v raziskovalne namene. Polimorfizem -13910C>T določimo s PCR in RFLP, lahko pa uporabimo tudi sekveniranje. V sledeči študiji smo prvič določili pogostost laktozne intolerance v slovenski populaciji z metodo genotipizacije.

## 2 Materiali in metode

### 2.1 Preiskovanci

V raziskavi je sodelovalo 172 zdravih prostovoljcev. Povprečna starost preiskovancev je bila 32,9 leta ± 9,6 let. Sestava po spolu je bila: 83 (48 %) žensk in 89 (52 %) moških.

Vsem preiskovancem je bilo odvzeto dvakrat po 3 ml krvi v sterilne epruvete, ki so vsebovale antikoagulant K-EDTA. Ob odvzemu krvi so preiskovanci izpolnili vprašalnik o uživanju mleka in mlečnih izdelkov ter o znakih laktozne intolerance. Vsi preiskovanci so podpisali obveščeni pristanek. Študijo je odobrila tudi Medicinska etična komisija Slovenije.

## 2.2 Materiali in metode

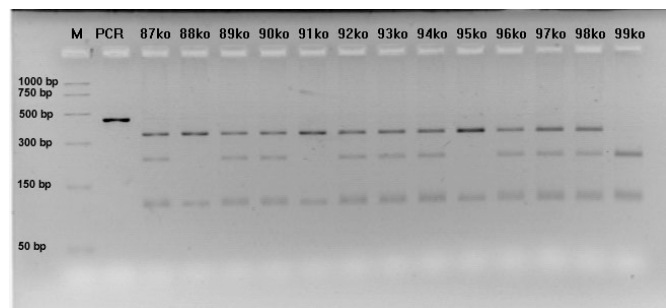
Za izolacijo DNK iz venske krvi smo uporabili FlexiGene DNA Kit (QIAGEN).

Polimorfizem -13910C>T smo določili s polimerazno verižno reakcijo (PCR) in z analizo polimorfizmov dolžin restrikcijskih fragmentov (RFLP). Uspešnost PCR in rezultate restrikcije smo ovrednotili z agarozno gelsko elektroforezo.

**PCR:** V reakcijsko zmes za en vzorec s skupnim volumnom 25 µl smo dodali 14,9 µl vode, 2,5 µl 10 x PCR puфра (Perkin Elmer), 2,5 µl 2,5 mM raztopine dNTP (Perkin Elmer), 2 µl 25 mM raztopine MgCl<sub>2</sub> (Perkin Elmer), 1 µl 5 µM raztopine F oligonukleotidnega začetnika 5'-GGA TGC ACT GCT GTG ATG AG-3' (QIAGEN Operon GmbH), 1 µl 5 µM raztopine R oligonukleotidnega začetnika 5'-CCC ACT GAC CTA TCC TCG TG-3' (QIAGEN Operon GmbH), 0,1 µl raztopine DNK polimeraze AmpliTaq Gold™ (5 U/µl, Perkin Elmer) in 1 µl raztopine DNK. Pogoji PCR so bili: 1 x 95°C 12 minut, 36 x 94°C 30 sekund, 58,5°C 30 sekund in 72°C 1 minuta, 1 x 72°C 7 minut, 1 x 4°C vsaj 6 minut. Produkt PCR je bil 448 baznih parov dolg odsek DNK.

**RFLP:** V reakcijsko zmes za en vzorec s skupnim volumnom 15 µl smo dodali 8,60 µl vode, 1,5 µl restrikcijskega puфра NEBuffer 4 (50 Mm K-acetat, 20 mM Tris acetat, 10 mM Mg-acetat, 1 mM ditiotreitil, pH = 7,9, New England Biolabs), 0,15 µl raztopine acetliranega govejega serumskega albumina (BSA) (100 µg/ml, New England Biolabs), 0,75 µl raztopine restrikcijskega encima *Bsm FI* (2 U/µl, New England Biolabs) in 4 µl raztopine produkta PCR. Zmes smo inkubirali v vodni kopeli čez noč na 65°C. Restrikcijski encim *Bsm FI* selektivno prepoznava zaporedje 5'...GGGAC(N)<sub>10</sub>...3' v DNK in cepi DNK 10 baznih parov navzdol od prepoznavne sekvence, tako da nastanejo lepljivi konci. Zamenjava nukleotida C z nukleotidom T na mestu -13910 je uvedla novo dodatno mesto delovanja *Bsm FI*. Pri agarozni gelski elektroforezi restrikcijskih produktov sta pri homozigotih CC na gelu vidni dve lisi (351 in 97 bp), pri homozigotih TT pa naj bi bile vidne tri lise (253, 98 in 97 bp), vendar se na agarozni odseka 98 in 97 bp vidita kot ena lisa. Heterozigoti CT imajo torej 4 lise (351, 253, 98 in 97 bp), na agarozni pa so vidne 3 (slika 1). Genotip posameznika smo tako določili glede na prisotnost oz. odsotnost odsekov 351 bp in 253 bp.

**Vprašalnik:** Preiskovanci so izpolnili vprašalnik o prisotnosti oz. odsotnosti kliničnih znakov laktozne intolerance. Poleg tega so opisali pogostost uživanja mleka in nekaterih mlečnih izdelkov. Njihove odgovore smo sorazmerno točkovali, kjer bolj pogostem uživanju pripišemo večje število točk. Podatke smo obdelali s t-testom, upoštevajoč homogenost oz. nehomogenost variance.



## 3 Rezultati in razprava

V skupini zdravih preiskovancev je imelo 39 % oseb genotip CC, ki je povezan z nizko aktivnostjo laktaze v odrasli dobi. 61 % preiskovancev je imelo ohranjeno visoko aktivnost laktaze v odrasli dobi oz. genotip CT ali TT. Največ je bilo oseb z genotipom CT (51 %), najmanj pa homozigotnih TT oseb (10 %). Rezultati študije so prikazani v preglednici 3.

Polimorfizem -13910C>T se porazdeljuje po Hardy-Weinbergovem ravnotežju,  $p = 0,699$  ( $\chi^2$ -test).

*Preglednica 3: Pogostost genotipov CC, CT in TT, ter alelska frekvenca (AF) alelov C in T v zdravi slovenski populaciji*

*Table 3: The frequency of CC, CT and TT genotypes, and the allelic frequency (AF) of C and T alleles in the healthy Slovenian population*

Genotip	Število oseb n = 172	Odstotek oseb
CC	67	39 %
CT	87	51 %
TT	18	10 %

Pogostost posameznih laktaznih genotipov v slovenski populaciji smo primerjali z rezultati drugih podobnih študij (preglednica 4).

Iz preglednice 4 je razvidno, da je delež laktozno intolerantnih oseb v slovenski populaciji višji kot v nekaterih severno in zahodno evropskih populacijah (Finska, Nemčija) ter nižji kot v populacijah afriškega izvora. Zelo nizek delež laktozno intolerantnih oseb so ugotovili pri belcih iz ameriške zvezne države Utah, kjer je večina prebivalcev skandinavskega izvora. Porazdelitev genotipov v slovenski populaciji je najbolj podobna porazdelitvi v finski in nemški populaciji, kjer prav tako prevladuje genotip CT, vendar je v slovenski populaciji CC genotip veliko bolj pogost kot genotip TT, v finski in nemški populaciji pa je ravno obratno. Delež oseb z visoko laktazno aktivnostjo (61 %) je v slovenski populaciji nižji kot v severni Evropi (75 %), vendar višji kot v južni Evropi (26 %) (14). Videti je, da je slovenska populacija po deležu oseb z visoko laktazno aktivnostjo bližje severni kot južni Evropi.

Odgovore preiskovancev o prisotnosti znakov laktozne intolerance smo primerjali z njihovim dejanskim LPH genotipom. Znaki so bili prisotni pri 10 % vseh preiskovancev. Od oseb, ki so trdile, da imajo znake laktozne intolerance, jih je dejansko imelo genotip CC le 63 %,

*Slika 1: Agarozna gelska elektroforeza produktov RFLP pri določanju polimorfizma -13910C>T; Okrajšave: M = označevalec, PCR = neresstringiran produkt PCR, 88ko, 91ko, 95ko = homozigoti CC, 87ko, 89ko, 90ko, 92ko, 93ko, 94ko, 96ko, 97ko, 98ko = heterozigoti CT, 99ko = homozigot TT.*

*Figure 1: Determination of 13910C>T polymorphism by RFLP and agarose gel electrophoresis; Abbreviations: M = uncut PCR product, 88ko, 91ko, 95ko = CC homozygotes, 87ko, 89ko, 90ko, 92ko, 93ko, 94ko, 96ko, 97ko, 98ko = CT heterozygotes, 99ko = TT homozygote.*

Preglednica 4: Pogostost posameznih laktaznih genotipov v različnih populacijah (15)  
Table 4: The frequency of lactase genotypes in various populations (15)

populacija	n	% CC oseb	% CT oseb	% TT oseb
Finska	938	18,1	47,5	34,3
USA (Utah)	92	7,6	35,9	56,5
Američani afriškega izvora	96	79,2	15,6	5,2
Nemčija	187	21,4	49,7	28,9
<b>Slovenija</b>	<b>172</b>	<b>39</b>	<b>51</b>	<b>10</b>

ostali pa so imeli genotip CT ali TT. Samo 16 % oseb z genotipom CC je imelo znake laktozne intolerance. Tudi 6 % CT in TT oseb je drilo, da ima znake laktozne intolerance, vendar le-te verjetno lahko pripišemo kakim drugim stanjem s podobnimi znaki.  $\chi^2$ -test je pokazal, da je v skupini oseb z genotipom CC značilno več oseb z znaki laktozne intolerance kot v skupini z genotipom CT in TT,  $p = 0,027$ . Vendar pa dejstvo, da ujemanje med genotipom CC in znaki ni popolno nakazuje, da diagnostiranje laktozne intolerance samo na osnovi kliničnih znakov ni zanesljivo.

Dokazali smo tudi, da je izražanje znakov pri CC osebah odvisno tudi od starosti. Povprečna starost v skupini CC oseb z znaki je bila  $37 \pm 11$  let, v skupini CC oseb brez znakov pa  $31 \pm 8$  let, kar je t-test pokazal kot mejno značilno,  $p = 0,056$ . To pomeni, da pogostost znakov laktozne intolerance pri osebah z genotipom CC s starostjo narašča.

Osebe z genotipom CC in osebe z genotipom CT ali TT se med seboj ne razlikujejo po pogostosti uživanja mleka in mlečnih izdelkov. Ker pa je imelo le 16 % oseb z genotipom CC večje težave pri uživanju mleka, smo primerjali samo CC osebe z znaki in CT/TT osebe. Ugotovili smo, da je razlika v pogostosti uživanja polnomastnega in manj mastnega mleka med tema dvema skupinama večja (čeprav ne statistično značilna), kot če primerjamo vse CC osebe s CT/TT osebami. Poraba jogurta je bila v vseh navedenih skupinah podobna, saj prebava le-tega ni v toliki meri povezana z laktazo. Rezultati so prikazani v preglednici 5.

Preglednica 5: Pogostost uživanja mleka in jogurta pri osebah z različnimi genotipi in fenotipi

Table 5: The frequency of milk and yogurt consumption in subjects with different genotypes and phenotypes

	Polnomastno mleko	Mleko z manj maščobe	jogurt
CC osebe	6,7 ( $p = 0,318$ )	6,9 ( $p = 0,165$ )	10,6 ( $p = 0,469$ )
s simptomi			
Vse CC osebe	12,1 ( $p = 0,910$ )	12,9 ( $p = 0,763$ )	14,4 ( $p = 0,678$ )
CT in TT osebe	11,8	13,6	13,6

## 4 Sklep

Na osnovi rezultatov naše študije lahko sklepamo, da ima v zdravi slovenski populaciji 39 % oseb genotip CC, ki je povezan z nizko aktivnostjo laktaze v odrasli dobi, 61 % pa ima ohranjeno visoko aktivnost laktaze v odrasli dobi oz. genotip CT ali TT. Največ je bilo

oseb z genotipom CT (51 %), najmanj pa homozigotnih TT oseb (10 %). Slovenska populacija je po deležu oseb z visoko laktazno aktivnostjo bližje severni kot južni Evropi. Ujemanje med genotipom CC in znaki laktozne intolerance ni popolno. Incidenca simptomov pri osebah z genotipom CC s starostjo narašča.

## 5 Literatura

- Swallow DM, Poulter M, Hollox EJ. Intolerance to lactose and other dietary sugars. *Drug Metabolism and Disposition* 2001; 29(4): 513-516.
- OMIM\*603202. On Line Mendelian Inheritance in Man (OMIM): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
- Bersaglieri T, Sabeti PC, Patterson N et al. Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 1111-1120.
- OMIM#223100. On Line Mendelian Inheritance in Man (OMIM): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
- Montgomery RK, Büller HA, Rings EHHM et al. Lactose intolerance and the genetic regulation of intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *The FASEB Journal* 1991; 5: 2824-2832.
- Wang Y, Harvey CB, Hollox EJ et al. The genetically programmed down-regulation of lactase in children. *Gastroenterology* 1998; 114: 1230-1236.
- Troelsen JT, Olsen J, Noren O et al. A novel intestinal trans-factor (NF-LPH1) interacts with the lactase-phlorizin hydrolase promoter and co-varies with the enzymatic activity. *J Biol Chem* 1992; 267(28): 20407-20411.
- Troelsen JT, Olsen J, Mitchelmore C et al. Two intestinal specific nuclear factors binding to the lactase-phlorizin hydrolase and sucrase-isomaltase promoters are functionally related oligomeric molecules. *FEBS Letters* 1994; 342: 297-301.
- Spodsberg N, Troelsen JT, Carlsson P et al. Transcriptional regulation of pig lactase-phlorizin hydrolase: Involvement of HNF-1 and FREACs. *Gastroenterology* 1999; 116: 842-854.
- Mitchelmore C, Troelsen JT, Sjöström H et al. The HOXC11 homeodomain protein interacts with the lactase-phlorizin hydrolase promoter and stimulates HNF1 $\alpha$ -dependent transcription. *J Biol Chem* 1998; 273(21): 13297-13306.
- OMIM\*605559. On Line Mendelian Inheritance in Man (OMIM): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
- McBean LD, Miller GD. Allaying fears and fallacies about lactose intolerance. *Journal of the American Dietetic Association* 1998; 98(6): 671-676.
- Harvey CB, Pratt WS, Islam I et al. DNA polymorphisms in the lactase gene. *Eur J Hum Genet* 1995; 3: 27-41.
- Hollox EJ, Poulter M, Zvarik M et al. Lactase haplotype diversity in the Old World. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 160-172.
- Enattah NS, Sahi T, Savilahti E et al. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nature genetics* 2002; 30: 233-237.
- Kuokkanen M, Enattah NS, Oksanen A et al. Transcriptional regulation of the lactase-phlorizin hydrolase gene by polymorphisms associated with adult-type hypolactasia. *Gut* 2003; 52: 647-652.
- Harvey CB, Wang Y, Darmoul D et al. Characterisation of a homologue of a yeast cell division cycle gene, MCM6, located adjacent to the 5' end of the lactase gene on chromosome 2q21. *FEBS Letters* 1996; 398: 135-140.
- Poulter M, Hollox E, Harvey CB et al. The causal element for the lactase persistence/non-persistence polymorphism is located in a 1 Mb region of linkage disequilibrium in Europeans. *Ann Hum Genet* 2003; 67: 298-311.
- Mulcare CA, Weale ME, Jones AL et al. The T allele of a single-nucleotide polymorphism 13,9 kb upstream of the lactase gene (LCT) (C-13,9 kb T) does not predict or cause the lactose-persistence phenotype in Africans. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 1102-1110.