



**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ-ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ
ΜΕ ΤΗ ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΑΚΤΑΣΗΣ
ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ «ΘΗΣΕΑΣ».**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΣΑΡΑΝΤΙΔΟΥ ΜΑΓΔΑΛΗΝΗ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΔΙΔΑΣΚΟΝΤΩΝ:

Δεδούσης Γεώργιος

Κοντογιάννη Μερóπη

Παπανικολάου Γεώργιος (Επιβλέπων)

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2016

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κο Παπανικολάου για την ανάθεση του τόσο ενδιαφέροντος θέματος της πτυχιακής εργασίας και για τη βοήθεια που μου προσέφερε κατά την εκπόνησή της και τη Νάνα Καλαφάτη για τη βοήθειά της κατά την επεξεργασία των δεδομένων.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένειά μου για την στήριξη και την κατανόησή τους.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	8
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	11
Τι είναι λακτόζη και λακτάση-Φυσιολογική πέψη λακτόζης.....	11
Παθοφυσιολογία δυσανεξίας στη λακτόζη και κλινικά συμπτώματα	14
Επιπολασμός δυσανεξίας	17
Μελέτες στον ελληνικό πληθυσμό	19
Μέθοδοι διάγνωσης.....	25
Διαφορική διάγνωση της νόσου	28
Θεραπευτική αντιμετώπιση.....	30
Επιπτώσεις στην υγεία	35
Συσχέτιση ανεπάρκειας λακτάσης και κατανάλωσης γαλακτοκομικών	40
ΠΑΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ	46
Οι πολυμορφισμοί που σχετίζονται με τη ρύθμιση της έκφρασης της λακτάσης.....	46
Σχέσεις γονοτύπου-φαινοτύπου	52
Λειτουργικές μελέτες των πολυμορφισμών C/T ₋₁₃₉₁₀ και G/A ₋₂₂₀₁₈	53
Συχνότητα αλληλομόρφων.....	55
Συχνότητα αλληλομόρφων στον ελληνικό πληθυσμό.....	57
Υποθέσεις για την εμφάνιση της μετάλλαξης της συνεχιζόμενης έκφρασης.....	59
Σκοπός:	66
Πληθυσμός της μελέτης	66
Αιμοληψία και ανάλυση αίματος	67
Αξιολόγηση δημογραφικών και ανθρωπομετρικών στοιχείων και του τρόπου ζωής	67
Αξιολόγηση ανθρωπομετρικών και κλινικών χαρακτηριστικών	67
Αξιολόγηση φυσικής δραστηριότητας	67
Διατροφική αξιολόγηση.....	68
Απομόνωση Γενετικού Υλικού και Γονοτύπηση	68
Στατιστική ανάλυση.....	69
Αποτελέσματα:	71
Χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης	71
Κατανομή γονοτύπων.....	73
Συσχέτιση των γονοτύπων με την κατανάλωση γαλακτοκομικών.....	74
Συζήτηση.....	76

Συμπέρασμα	80
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	81

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Πρωτοπαθής ανεπάρκεια λακτάσης ονομάζεται η φυσιολογική μείωση της ενεργότητας της λακτάσης κατά την ενήλικη ζωή. Τα πιο συνηθισμένα συμπτώματα είναι ο κοιλιακός πόνος και ο μετεωρισμός. Για την αποφυγή των παραπάνω συμπτωμάτων οι ασθενείς καταναλώνουν προϊόντα ελεύθερα λακτόζης ή αποφεύγουν την κατανάλωση γαλακτοκομικών τα οποία όμως αποτελούν τη βασική πηγή ασβεστίου για τον οργανισμό. Παρόλα αυτά η μειωμένη κατανάλωση γαλακτοκομικών και η εμφάνιση οστεοπόρωσης στους ασθενείς με υπολακτασία σε σχέση με τους ασθενείς που έχουν φυσιολογική έκφραση δεν στηρίζεται ξεκάθαρα από τη βιβλιογραφία. Οι μέθοδοι διάγνωσης βασίζονται στη δυσαπορρόφηση λακτόζης (μέτρηση γλυκόζης στο αίμα, εκπνεόμενο υδρογόνο), στη μειωμένη ενεργότητα του ενζύμου (μέτρηση ενεργότητας σε δείγμα βιοψίας) ή στην ανίχνευση του πολυμορφισμού -13910 C/T. Κατά τη Νεολιθική περίοδο ξεκίνησε η άνθιση της γεωργίας, η χρήση των οικόσιτων ζώων και τελικά της παραγωγής γαλακτοκομικών. Η αλλαγή αυτή σε συνδυασμό με τη μετανάστευση πληθυσμών κυρίως από την Κεντρική Ευρώπη οδήγησε μέσω της δύναμης της φυσικής επιλογής στη διάδοση της συνεχιζόμενης έκφρασης της λακτάσης, κυρίως στη Βόρεια Ευρώπη. Για την Ευρώπη τα υπεύθυνα αλληλόμορφα είναι τα -13910 T και -22018 A ενώ για κάποιες χώρες της Αφρικής και της Αραβικής Χερσονήσου έχουν αναγνωριστεί άλλοι πιθανοί αιτιολογικοί πολυμορφισμοί (-13915 G, -13907 G, -14010 C). Ο επιπολασμός του αλληλομόρφου -13910 T στη Βόρεια Ευρώπη φτάνει το 95% και στη Νότια Ευρώπη η συχνότητα του αλληλομόρφου κυμαίνεται από 10-40%. Στην Ελλάδα ο επιπολασμός του αλληλομόρφου για τη συνεχιζόμενη έκφραση έχει υπολογιστεί στο 10% και ο επιπολασμός της υπολακτασίας από 45-75%.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της συσχέτισης των πολυμορφισμών C/T(-13910) και G/A(-22018) και της κατανάλωσης γαλακτοκομικών στον ελληνικό πληθυσμό.

Μεθοδολογία: Στη στατιστική ανάλυση συμπεριλήφθηκαν 634 εθελοντές που προέρχονται από τον πληθυσμό της μελέτης «ΘΗΣΕΑΣ». Χρησιμοποιήθηκαν τα στοιχεία του φύλου, ανθρωπομετρίας, κατανάλωσης γαλακτοκομικών και των γονοτύπων των πολυμορφισμών C/T(-13910) και G/A(-22018) των εθελοντών. Οι

γονότυποι των εθελοντών κατηγοριοποιήθηκαν σε 2 απλοτύπους (Απλότυπος 1: συνεχιζόμενη έκφραση, Απλότυπος 2: υπολακτασία).

Αποτελέσματα: Όσον αφορά τα γενικά χαρακτηριστικά του δείγματος: Οι μέσοι όροι ηλικίας, ΔΜΣ και ημερήσιας ενεργειακής πρόσληψης ήταν παρόμοιοι για τους 2 απλοτύπους. Η κατανάλωση γαλακτοκομικών ήταν περίπου $\frac{1}{2}$ μερίδα γάλακτος, 0,3 μερίδας γιαούρτι και περίπου 1,8 μερίδες τυρί την ημέρα και για τους 2 απλοτύπους. Γενετική προδιάθεση για υπολακτασία (απλότυπος 2) βρέθηκε στα 473 από τα 634 άτομα του δείγματος (75%). Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στους απλοτύπους και την κατανάλωση γάλακτος, γιαουρτιού, τυριού, πλήρων/ημίπαχων/άπαχων γαλακτοκομικών και συνολικά γαλακτοκομικών. Η κατανάλωση γάλακτος ήταν <1 μερίδα/ημέρα στο 65,3% και στο 68% των εθελοντών των απλοτύπων 1 και 2 αντίστοιχα. Η κατανάλωση γιαουρτιού ήταν <1 μερίδα/ημέρα στο 90,5% και 88,3% των εθελοντών των απλοτύπων 1 και 2 αντίστοιχα.

Συμπέρασμα: Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με αυτά της βιβλιογραφίας. Ο επιπολασμός της ανεπάρκειας που προσδιορίστηκε με τη γενετική μέθοδο βρέθηκε πολύ υψηλός και η κατανάλωση γαλακτοκομικών πολύ χαμηλή ενώ δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους. Παρόλα αυτά οι διαφορές που εντοπίζονται στη βιβλιογραφία μεταξύ της συχνότητας του γονοτύπου και του φαινοτύπου της υπολακτασίας για τον πληθυσμό της Νότιας Ευρώπης αφήνουν ανοιχτά τα περιθώρια για περαιτέρω διερεύνηση των υπεύθυνων πολυμορφισμών σ' αυτές τις περιοχές.

ABSTRACT

Introduction: The normal reduction of lactase activity in adulthood is characterized as primary lactase deficiency. The most common symptoms of lactase deficiency are bloating and abdominal pain. To avoid these clinical signs people with lactase deficiency consume lactose free products or avoid milk and dairy products. But these products are the major source of calcium, which is necessary for normal bone growth. However a lower consumption of dairy products and an increased risk of osteoporosis for patients with lactase deficiency are not clearly supported by literature. The methods of diagnosis are based on lactose malabsorption (measurement of blood glucose, breathing test) or low enzyme activity level (lactase activity measured in biopsy samples). Also a genetic test of -13910 C/T polymorphism can be used. During the Neolithic period began the development of agriculture and domestication which resulted in the introduction of milk and dairy products in adults' dietary habits. Also, populations that had adopted those farming techniques migrated from Central to Northern Europe and replaced the local hunters and gatherers. Those two facts and strong selection led to the spread of lactase persistence, particularly in Northern Europe. The responsible alleles are: -13910 T and -22018 A for Europe, and -13915 G, -13907 G, -14010 C for some African countries and the Arabian peninsula. The frequency of the allele -13910 T reaches 95% in Northern Europe, 10-40% in Southern Europe and particularly in Greece 10%. The prevalence of hypolactasia in Greece has been found 45% to 75%.

Objective: The objective of this study was to investigate the existence of a correlation between polymorphisms C/T (-13910) and G/A(-22018) and the dairy consumption in Greek population.

Methods: Demographic, anthropometric data, data about the dairy consumption and genotypes of polymorphisms C/T (-13910) and G/A(-22018) of 634 volunteers from THISEAS study were used. Genotypes were classified in two haplotypes: haplotype 1 (lactase persistence), haplotype 2 (hypolactasia).

Results: General characteristics of the sample: means of age, BMI and daily energy intake were similar for both haplotypes. The dairy consumption was: about 0,5

portion for milk, 0,3 portion for yogurt and 1,8 portions for cheese for both haplotypes. The genetically determined lactase deficiency was 75% in our sample (haplotype 2: 473 of 634 volunteers). There was no statistically significant correlation between the haplotypes and the consumption of milk, yogurt, cheese, full fat/semi fat/ non fat dairy and dairy in total. The milk consumption was <1 portion/d in 65,3% and 68% of volunteers for haplotype 1 and haplotype 2 respectively. The yogurt consumption was <1 portion/d in 90,5% and 88,3% of volunteers for haplotype 1 and haplotype 2 respectively.

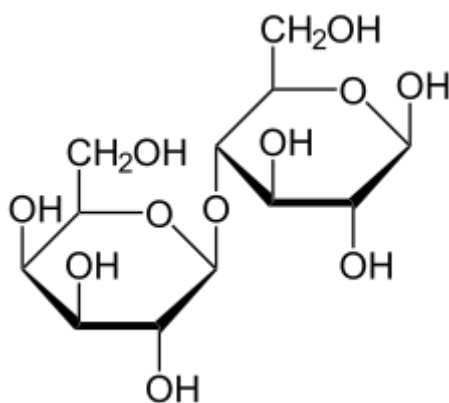
Conclusion: According to the findings of this study, the prevalence of lactase deficiency in Greek population is high and dairy consumption is low. Those findings are consistent with those in literature. Also, there was no statistically significant correlation between them. However, there is a discrepancy between the frequency of genotype and frequency of phenotype of hypolactasia found in previous studies, in Southern Europe. This suggests the importance of exploring the possible occurrence of other polymorphisms associated with lactase persistence in Southern Europe.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

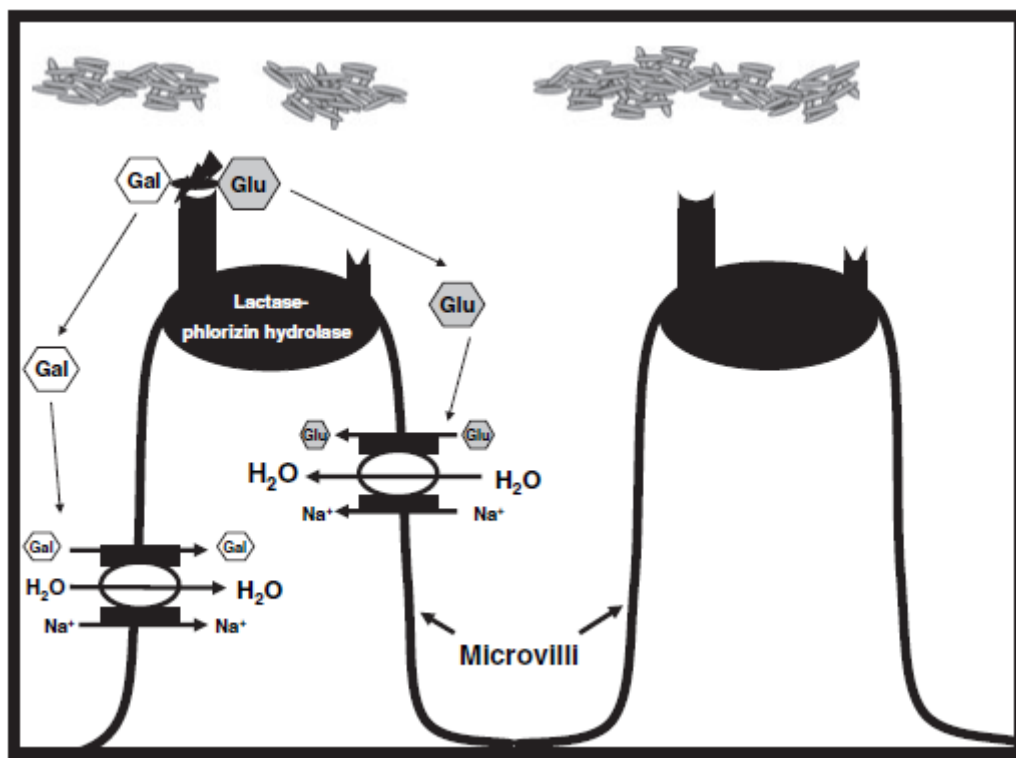
Τι είναι λακτόζη και λακτάση-Φυσιολογική πέψη λακτόζης

Η λακτόζη είναι δισακχαρίτης που βρίσκεται μόνο στο γάλα των θηλαστικών και είναι το πιο κοινό σάκχαρο στο ανθρώπινο γάλα. Είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη στη βρεφική ηλικία και είναι η πρωταρχική πηγή ενέργειας για τον άνθρωπο κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής του. Η διατροφική της αξία κατά την ενήλικη ζωή δεν είναι σημαντική [1].

Αποτελείται από ένα μόριο γαλακτόζης και ένα μόριο γλυκόζης συνδεδεμένα με ένα β-γαλακτοζιτικό δεσμό. Για την απορρόφηση της λακτόζης από το λεπτό έντερο απαιτείται η υδρόλυσή της, αντίδραση η οποία καταλύεται από το ένζυμο λακτάση [2]. Η λακτάση εκφράζεται στα επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου, με την υψηλότερη έκφραση του ενζύμου να εντοπίζεται στο μέσο της νήστιδας. Με τη διάσπαση της λακτόζης καθίσταται δυνατή η απορρόφηση της γλυκόζης και της γαλακτόζης στην κυκλοφορία του αίματος [3, 4].



Σχήμα 1.1.1 Η δομή του μορίου της λακτόζης. Πηγή: www.wikipedia.org



Σχήμα 1.1.2: Η διάσπαση και η απορρόφηση της λακτόζης.

Lomer, M.C., G.C. Parkes, and J.D. Sanderson, *Review article: lactose intolerance in clinical practice--myths and realities*.

Η λακτάση φυσιολογικά βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο βλεννογόνο του λεπτού εντέρου κατά τη διάρκεια της βρεφικής ηλικίας. Στα θηλαστικά πραγματοποιείται σταδιακά μια γενετικά καθοριζόμενη μείωση στη σύνθεση του ενζύμου μετά την περίοδο του θηλασμού. Τελικά, κατά την ενήλικη ζωή η ενεργότητα του ενζύμου είναι τόσο χαμηλή που δεν πραγματοποιείται ολοκληρωμένη πέψη της λακτόζης. Η λακτόζη δυσαπορροφάται και ένα μεγάλο μέρος της καταλήγει άπεπτο στο κόλον. Όμως οι όροι *υπολακτασία*, *δυσαπορρόφηση λακτόζης* και *δυσανεξία στη λακτόζη* δεν ταυτίζονται μεταξύ τους [5].

Η *υπολακτασία* ή *μη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης* ή *ανεπάρκεια λακτάσης* υποδηλώνει μειωμένη ενεργότητα του ενζύμου σε σχέση με τα επίπεδα ενεργότητας κατά τη βρεφική ηλικία. Η κατάσταση αυτή τεκμηριώνεται με την πραγματοποίηση βιοψίας στο εντερικό επιθήλιο. Η υπολακτασία μπορεί να είναι πρωτοπαθής ή δευτεροπαθής.

Η πρωτοπαθής υπολακτασία έχει γενετικό υπόβαθρο και παρουσιάζεται κατά την ενήλικη ζωή. Αφορά τη φυσιολογικά παρατηρούμενη μείωσης της ενεργότητας της λακτάσης που μπορεί να ξεκινήσει κατά το δεύτερο έτος της ζωής αλλά να μην γίνει αντιληπτή μέχρι την εφηβεία ή ακόμα και την ενήλικη ζωή.

Η δευτεροπαθής υπολακτασία μπορεί να εμφανιστεί εξαιτίας κάποιας νόσου που προσβάλλει το βλεννογόνο του λεπτού εντέρου (όπως λοίμωξη, κοιλιοκάκη κλπ) και συνήθως αναστρέφεται μετά την επαναφορά του λεπτού εντέρου στη φυσιολογική κατάσταση [3, 5].

Η κληρονομική υπολακτασία ή αλακτασία αφορά ξεχωριστή πάθηση. Είναι μία σπάνια κατάσταση κατά την οποία η σύνθεση της λακτάσης είναι αμελητέα εκ γενετής. Προκαλείται από την κληρονόμηση ελαττωματικών αλληλομόρφων του γονιδίου της λακτάσης στο χρωμόσωμα 2 [5].

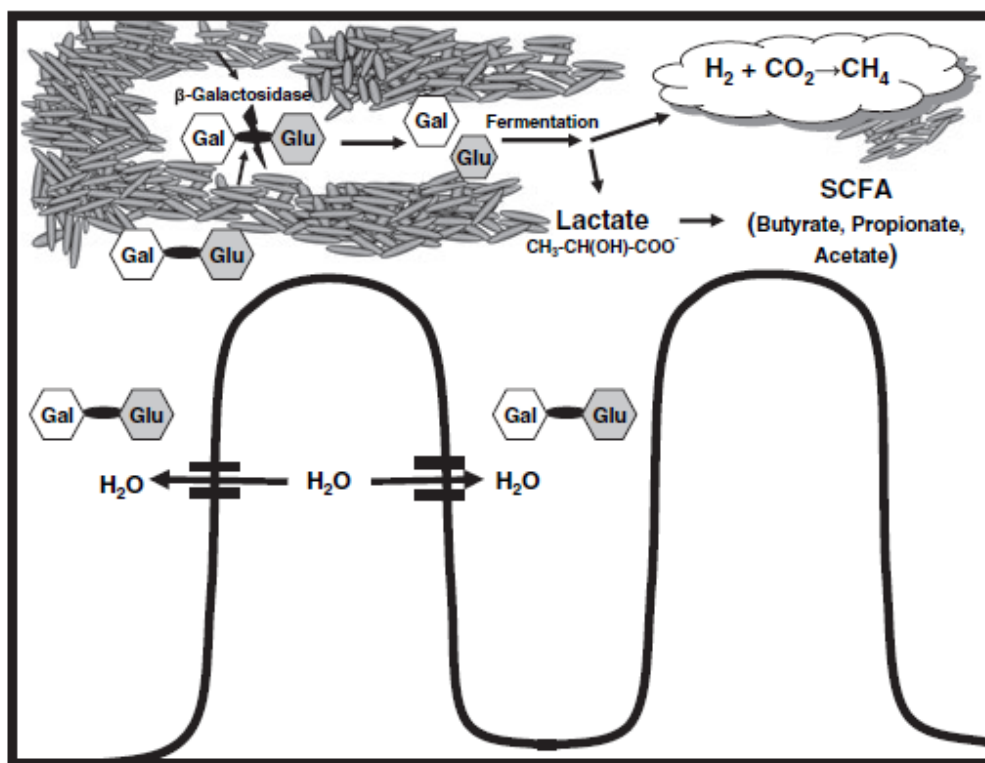
Η *δυσασπορρόφηση της λακτόζης* αναφέρεται στη μη απορρόφηση ενός μεγάλου μέρους της ποσότητας λακτόζης από το λεπτό έντερο, η οποία καταλήγει στο κόλον. Η κατάσταση ανιχνεύεται μέσω του τεστ αντίχνευσης υδρογόνου ή της μέτρησης των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα μετά την κατανάλωση συγκεκριμένης ποσότητας λακτόζης. Επειδή κατά κανόνα οφείλεται σε μειωμένη ενεργότητα της λακτάσης, σχεδόν ταυτίζεται με την υπολακτασία [5].

Η *δυσανεξία στη λακτόζη* σχετίζεται με την εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων λόγω της δυσασπορρόφησης της λακτόζης. Η ένταση των συμπτωμάτων είναι δοσοεξαρτώμενη, δηλαδή όσο μεγαλύτερη ποσότητα λακτόζης καταναλώνεται και τελικά δυσασπορροφάται τόσο πιο έντονα είναι τα συμπτώματα που εμφανίζονται. Γι'αυτό το λόγο δεν πρέπει να συγχέεται ο όρος δυσανεξία στη λακτόζη και δυσασπορρόφηση της λακτόζης. Ένα άτομο που δεν απορροφά επαρκώς τη λακτόζη δεν είναι απαραίτητο ότι θα εμφανίσει κλινικά συμπτώματα εφόσον η ποσότητα που καταναλώνει δεν είναι μεγάλη. Κατά συνέπεια, χρειάζεται προσοχή στην σύγκριση των αποτελεσμάτων των επιδημιολογικών μελετών και στις συστάσεις για τη θεραπεία των ατόμων που έχουν διαγνωστεί με δυσασπορρόφηση στη λακτόζη ή δυσανεξία στη λακτόζη [3, 5].

Παθοφυσιολογία δυσανεξίας στη λακτόζη και κλινικά συμπτώματα

Η λακτόζη είναι ένας δισακχαρίτης του οποίου η πέψη πραγματοποιείται μετά τη διάσπαση ή υδρόλυσή του μέσω της λακτάσης. Μειωμένη ενεργότητα της λακτάσης, είτε λόγω μειωμένων επιπέδων του ενζύμου, είτε λόγω βλάβης των εντερικών λαχνών, διαταράσσει την πέψη της λακτόζης και εκδηλώνεται ως δυσανοχή στη λακτόζη [1].

Φυσιολογικά, ήδη από την όγδοη εβδομάδα της κύησης, ανιχνεύεται ενεργότητα της λακτάσης στην επιφάνεια του βλεννογόνου του ανθρώπινου λεπτού εντέρου. Η ενεργότητα αυτή αυξάνεται μέχρι την 34^η εβδομάδα και κατά τη γέννηση, η έκφραση του ενζύμου έχει φτάσει στο μέγιστο βαθμό. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια των πρώτων λίγων μηνών της ζωής, η ενεργότητα της λακτάσης ξεκινά να μειώνεται για τα άτομα που εμφανίζουν μη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης, ή αλλιώς υπολακτασία. Ο ρυθμός κατά τον οποίο μειώνεται η ενεργότητα διαφέρει κατά περίπτωση [4]. Όταν η ενεργότητα της λακτάσης φτάσει να είναι μόλις ένα μικρό ποσοστό αυτής κατά τη βρεφική ηλικία, η προσλαμβανόμενη λακτόζη δεν υδρολύεται επαρκώς και κατά συνέπεια δυσασπορροφάται [2]. Η δυσασπορρόφηση δεν συνεπάγεται απαραίτητα και δυσανοχή. Στην πραγματικότητα, η ανάπτυξη γαστρεντερικών συμπτωμάτων, όπως είναι ο κοιλιακός πόνος, ο μετεωρισμός, η ναυτία, ο τυμπανισμός και η διάρροια, εμφανίζονται περίπου μόνο στο ένα τρίτο των ατόμων με δυσασπορρόφηση. Η δυσανοχή στη λακτόζη υποδεικνύει ανεπάρκεια λακτάσης, δευτερευόντως δυσασπορρόφηση λακτόζης και παρουσία άπεπτης λακτόζης στο κόλον [1, 6]. Η λακτόζη η οποία δεν έχει υποστεί πέψη, προκαλεί την αύξηση του οσμωτικού φορτίου στον εντερικό αυλό, οδηγώντας έτσι στην αυξημένη αποβολή υγρών και ηλεκτρολυτών και τελικά στην εμφάνιση διάρροιας [3]. Κλινικά, η δυσανοχή στη λακτόζη χαρακτηρίζεται από κοιλιακό πόνο και μετεωρισμό, τα οποία εμφανίζονται συχνότερα συγκριτικά με τη διάρροια. Η λακτόζη που δεν έχει απορροφηθεί καταλήγει στο παχύ έντερο. Εκεί ζυμώνεται από την εντερική μικροχλωρίδα και παράγονται λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFA) και αέρια (υδρογόνο και μεθάνιο), τα οποία χρησιμοποιούνται και για έναν από τους τρόπους διάγνωσης όπως θα αναλυθεί σε επόμενη ενότητα [2, 6].



Σχήμα 1.2.1: Παραγωγή αερίων στο παχύ έντερο λόγω παρουσίας λακτόζης.

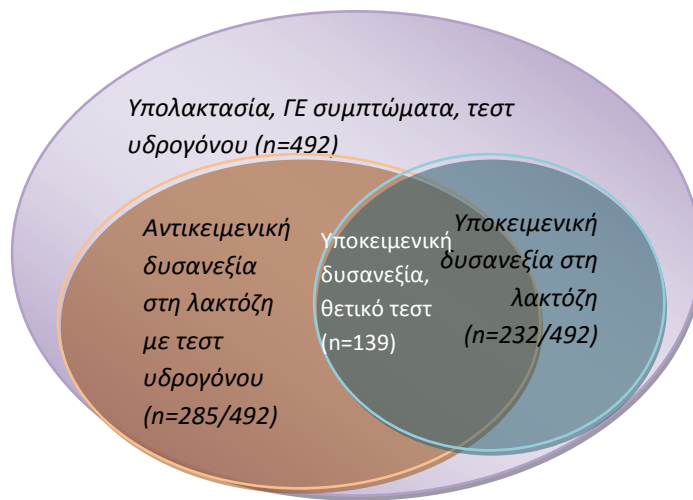
Lomer, M.C., G.C. Parkes, and J.D. Sanderson, *Review article: lactose intolerance in clinical practice--myths and realities*.

Ο βαθμός απελευθέρωσης των αερίων από τις αντιδράσεις ζύμωσης μπορεί να είναι πολύ μεγάλος. Συγκεκριμένα, ο μεταβολισμός μέσω ζύμωσης 12,5 γραμμαρίων λακτόζης απελευθερώνει 2600 mL διοξειδίου του άνθρακα και 4000 mL υδρογόνου, με τη φυσιολογική παραγωγή αερίων να μην ξεπερνά συνήθως τα 1000 mL την ημέρα. Συνέπεια των παραπάνω είναι η πρόκληση διάτασης στο κόλον και η επιτάχυνση του χρόνου διέλευσης του περιεχομένου του λεπτού εντέρου. Η επιτάχυνση αυτή επιβαρύνει το βαθμό της δυσαπορρόφησης καθώς η υδρόλυση της λακτόζης μειώνεται περαιτέρω εφόσον ο χρόνος που έρχεται σε επαφή με το υπολειπόμενο ένζυμο είναι μικρότερος. Επιπλέον, η ταχεία διέλευση του εντερικού περιεχομένου έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση τόσο μεγάλης ποσότητας λακτόζης στο κόλον, που ξεπερνά τη δυνατότητα των αντισταθμιστικών μηχανισμών να μειώσουν το οσμωτικό φορτίο και την παραγωγή αερίων από τα βακτήρια. Οι ασθενείς, επίσης, αναφέρουν συμπτώματα όπως διάρροια, βορβορυγμούς και μερικές φορές ναυτία και έμετο. Σπανιότερα, μπορεί η αυξημένη παραγωγή μεθανίου να καθυστερήσει το χρόνο διέλευσης και να οδηγήσει τελικά σε δυσκοιλιότητα [2, 6].

Παρόλα αυτά, στη βιβλιογραφία τα αναφερόμενα κλινικά συμπτώματα της δυσανοχής στη λακτόζη δεν περιορίζονται μόνο στη γαστρεντερική οδό. Σε ένα ποσοστό λιγότερο από 20%, μπορεί να αναπτυχθούν νευρολογικά συμπτώματα όπως είναι ο πονοκέφαλος, ο ίλιγγος, προβλήματα στη μνήμη, ο λήθαργος, ή ακόμα και καρδιακή αρρυθμία. Ένας πιθανός μηχανισμός που εξηγεί αυτά τα συστηματικά συμπτώματα είναι η παραγωγή τοξικών μεταβολιτών λόγω της ζύμωσης της λακτόζης από τη βακτηριακή μικροχλωρίδα. Οι μεταβολίτες αυτοί μπορεί να διαταράξουν τους κυτταρικούς μηχανισμούς μετάδοσης σήματος [2, 6]. Μία άλλη άποψη υποστηρίζει ότι τα συστηματικά συμπτώματα, τα οποία μπορεί να περιλαμβάνουν εξάντληση, έλλειψη συγκέντρωσης, πόνο στους μύες και στις αρθρώσεις, έλκη στη στοματική κοιλότητα και προβλήματα στο ουροποιητικό σύστημα, δεν είναι ξεκάθαρο ότι συνδέονται άμεσα με την κατανάλωση λακτόζης. Ίσως να οφείλονται στις επονομαζόμενες «λειτουργικές διαταραχές», όπως το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, οι οποίες συχνά συνοδεύονται και από δυσανεξία στη λακτόζη [7].

Τα συμπτώματα που εμφανίζονται εξαρτώνται από την ηλικία του ατόμου. Όσο μεγαλύτερη είναι η ηλικία τόσο πιο συχνά είναι τα συμπτώματα. Επίσης, η εμφάνιση των συμπτωμάτων σχετίζεται με την ποσότητα της λακτόζης στη δίαιτα, το ρυθμό κένωσης του στομάχου (τα συμπτώματα είναι πιο έντονα όταν είναι ταχύς, μάλιστα το αποβουτυρωμένο γάλα είναι πιο πιθανό να προκαλέσει συμπτώματα γιατί αυξάνει την ταχύτητα κένωσης), το χρόνο διάβασης του λεπτού εντέρου (λεπτό και παχύ έντερο συμβάλλουν στην εμφάνιση των συμπτωμάτων), την υπολειπόμενη ενεργότητα του ενζύμου στο έντερο, την πέψη του φαγητού που πέπτεται μαζί με τη λακτόζη, την ικανότητα της μικροχλωρίδας του παχέος εντέρου να ζυμώσει τη λακτόζη, τη σπλαγγική ευαισθησία, την παρουσία λειτουργικών διαταραχών του εντέρου και την εξατομικευμένη ευαισθησία στα προϊόντα της ζύμωσης της λακτόζης [3, 8].

Ωστόσο, η κλινική εικόνα των ασθενών δεν επαρκεί για να γίνει οριστική διάγνωση της ανεπάρκειας. Από διπλά-τυφλές κλινικές δοκιμές φαίνεται ότι η συσχέτιση της εμφάνισης συμπτωμάτων και της κατανάλωσης λακτόζης δεν είναι ισχυρή ακόμα και σε ασθενείς με ανεπάρκεια λακτάσης, όπως φαίνεται στο σχήμα 1.2.2 [7].



Σχήμα 1.2.2 προσαρμοσμένο από Figure 5 *Lack of agreement between objective and subjective assessment of lactose intolerance* [7]

Επιπολασμός δυσανεξίας

Το φαινόμενο της δυσανεξία στη λακτόζη περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Ιπποκράτη, περίπου το 4000 π.Χ. Όμως τα κλινικά συμπτώματα αναγνωρίστηκαν μόλις τον τελευταίο μισό αιώνα. Περίπου το 70% του παγκόσμιου πληθυσμού έχει υπολακτασία, αλλά δεν πάσχουν όλοι από δυσανεξία στη λακτόζη καθώς πολλοί διατροφικοί και γενετικοί παράγοντες επηρεάζουν την ανοχή της [4].

Η εθνικότητα επηρεάζει τη συχνότητα εμφάνισης της δυσανοχής στη λακτόζη. Οι λευκοί βόρειοι Ευρωπαίοι, βόρειοι Αμερικάνοι και Αυστραλοί έχουν τα χαμηλότερα ποσοστά, τα οποία κυμαίνονται μεταξύ 5% στο βρετανικό πληθυσμό μέχρι 17% στη Φινλανδία και τη βόρεια Γαλλία. Στη νότια Αμερική, Αφρική και Ασία, πάνω από το 50% του πληθυσμού έχει υπολακτασία και σε μερικές ασιατικές χώρες το ποσοστό σχεδόν αγγίζει το 100%. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι σε άτομα με μικτή εθνικότητα παρατηρείται μικρότερος επιπολασμός υπολακτασίας σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα των ατόμων της χώρας που διαμένουν, όταν για τη χώρα αυτή ο επιπολασμός είναι υψηλός [4].

Στην Ευρώπη, το μικρότερο ποσοστό επιπολασμού έχει καταγραφεί στη Δανία (4%). Γενικά, τα χαμηλότερα ποσοστά επιπολασμού παρατηρούνται στις βορειοδυτικές χώρες της Ευρώπης, γύρω από τη Βόρεια Θάλασσα και γύρω από τα νοτιοδυτικά τμήματα της Βαλτικής. Οι περιοχές αυτές συμπίπτουν με την περιοχή που αποτελούσε τον αρχικό πυρήνα των γερμανικών πληθυσμών, στους οποίους ο επιπολασμός της υπολακτασίας φαίνεται να είναι μικρός ήδη από τον 4^ο αιώνα. Ο μεγαλύτερος επιπολασμός της ανεπάρκειας λακτάσης στους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς έχει βρεθεί στη νότια Ευρώπη και στα ανατολικά τμήματα της Ρωσίας. Οι διαφορές αποτυπώνονται αναλυτικά στο χάρτη (σχήμα 1.3.1) [9].

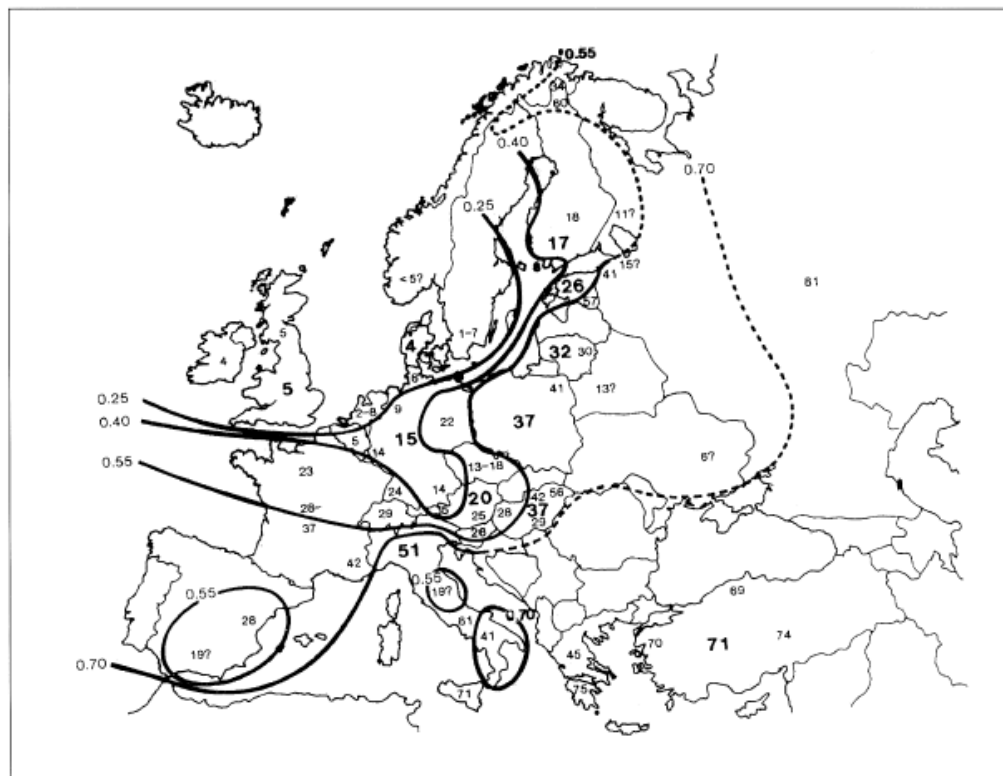


Figure 1. Prevalence (%) of adult-type hypolactasia in different European countries and populations (small number = prevalence of a specific population, large number = average prevalence of the country) and hypothetical isograms for the frequencies of the hypolactasia gene. From Sahi T: Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. Scand J Gastroenterol 1994;29 Suppl 202:7-20.

Σχήμα 1.3.1 Sahi, T., *Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia.*, 1994

Η μείωση στην έκφραση της λακτάσης συνήθως ολοκληρώνεται κατά την παιδική ηλικία αλλά υπάρχουν δεδομένα ατόμων στα οποία η μείωση αυτή εμφανίστηκε κατά την εφηβεία. Ο ρυθμός απώλειας της ενεργότητας επίσης διαφέρει ανάμεσα στις διάφορες εθνικότητες αλλά η εξήγηση από άποψη φυσιολογικών

μηχανισμών γι' αυτή τη διαφοροποίηση είναι ακόμα άγνωστη. Οι Κινέζοι και Γιαπωνέζοι χάνουν το 80-90% της ενεργότητας του ενζύμου μέσα σε 3-4 χρόνια μετά τον απογαλακτισμό, οι Εβραίοι και οι Ασιάτες χάνουν το 60-70% αρκετά χρόνια μετά τον απογαλακτισμό και στους λευκούς βόρειους Ευρωπαίους μπορεί να χρειαστούν 18-20 χρόνια μέχρι να φτάσει στο ελάχιστο επίπεδο [4].

Ένα σημείο κλειδί κατά τη σύγκριση μεταξύ των μελετών επιπολασμού για τη δυσανοχή στη λακτόζη είναι η μεθοδολογία τους. Υπάρχουν μελέτες οι οποίες αξιολόγησαν τον επιπολασμό της δυσανεξίας βασιζόμενοι σε τεστ δυσανοχής λακτόζης, μελέτες που χρησιμοποίησαν τεστ δυσανοχής λακτόζης και μελέτες που αξιολόγησαν την ενεργότητα του ενζύμου. Οι περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν πριν το 1970 χρησιμοποίησαν τη μέτρηση της γλυκόζης στο αίμα μετά από χορήγηση λακτόζης, το τεστ αναπνοής υδρογόνου ή τη γαλακτόζη ούρων [3].

Μελέτες στον ελληνικό πληθυσμό

Σε προηγούμενη ενότητα αναλύθηκαν τα ποσοστά επιπολασμού της ανεπάρκειας λακτάσης σε διάφορες εθνικότητες παγκοσμίως αλλά και η διαφοροποίηση τους στις διάφορες περιοχές της Ευρώπης. Οι μελέτες του Καναγκίνη και του Λαδά εξετάζουν τον επιπολασμό στο ελληνικό πληθυσμό .

Ο Καναγκίνης και οι συνεργάτες του, στη δημοσίευση τους το 1974, [10] αναφέρουν ότι μέχρι πρότινος η δυσανοχή στη λακτόζη στους Έλληνες είχε μελετηθεί μόνο σε μικρές ομάδες ενηλίκων που ζούσαν στο εξωτερικό ή σε μεγαλύτερες ομάδες παιδιών βρεφικής ηλικίας με τη χρήση του τεστ δυσανεξίας λακτόζης. Από τα αποτελέσματα αυτά φάνηκε ότι ο ελληνικός επιπολασμός ήταν ο μεγαλύτερος σε σύγκριση με τους υπόλοιπους Ευρωπαίους αλλά δεν υπήρχε συμφωνία σχετικά με την επίπτωση. Το γεγονός αυτό, τουλάχιστον για την ομάδα των ενηλίκων, το αποδίδουν στο ότι ο πληθυσμός της μελέτης ήταν μικρός ή/και στο ότι υπάρχει ένα διαφορετικό μοτίβο της δυσανεξίας στον ελληνικό πληθυσμό ανά περιοχή. Η μελέτη αποτελούταν από δύο ομάδες εθελοντών: μία ομάδα από την Κρήτη και την Κύπρο και μία μεγαλύτερη ομάδα από την ηπειρωτική Ελλάδα [10].

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούνταν από 700 άτομα, εκ των οποίων τα 370 ήταν άντρες και τα 230 γυναίκες, ηλικίας 15-78 ετών. Όλα τα άτομα υπεβλήθησαν σε τεστ δυσανοχής λακτόζης και 50 άτομα από την ομάδα της ηπειρωτικής Ελλάδας υπεβλήθησαν και σε μέτρηση της ενεργότητας του ενζύμου. Καταγράφηκαν επίσης η κατανάλωση γάλακτος, η δυσανεξία στο γάλα και τα συμπτώματα (κοιλιακοί πόνοι, μετεωρισμός, υδαρείς κενώσεις και διάρροια) 24 ώρες μετά την κατανάλωση της λακτόζης του τεστ. Στους εθελοντές δόθηκαν 50 g λακτόζης μετά από βραδινή νηστεία και τα κριτήρια διάγνωσης ήταν: α) αύξηση γλυκόζης τριχοειδικού αίματος μικρότερη από 20 mg/100 mL, σε σχέση με τα φυσιολογικά επίπεδα νηστείας και β) αύξηση της γλυκόζης αίματος 21-25 mg/100 mL, σε σχέση με τα φυσιολογικά επίπεδα νηστείας, συνοδευόμενη από συμπτώματα δυσανεξίας μέσα σε 24 ώρες μετά την κατανάλωση λακτόζης [10].

Τα αποτελέσματα της μελέτης σχετικά με την επίπτωση της δυσανεξίας φαίνονται στον πίνακα 1.4.1:

Πίνακας 1.4.1:

Table 2. Results of Lactose Tolerance Test and Histories of Milk Drinking in 600 continental Greeks, 50 Cretans, and 50 Greek Cypriots

	Continental Greeks (Group A)	Cretans (Group B)	Greek Cypriots (Group C)
Number of subjects investigated	600	50	50
Mean age (yr)	39.5	23.3	21.5
Normal LTT	332(55.3%)	22(44%)	17(34%)
Lactose-intolerant	268(44.7%)	28(56%)	33(66%)
Symptoms during LTT	265(44%)	28(56%)	33(66%)
Milk drinkers	312(52%)	17(34%)	5(10%)
Non-milk drinkers	288(48%)	33(66%)	45(90%)
Milk-intolerant	192(32%)	26(52%)	27(54%)
Family history of milk intolerance	183(30.5%)	*	*

The number of cases and the incidence % in each group (in parenthesis) are given.

*No family history was given.

Η επίπτωση της δυσανεξίας είναι μεγαλύτερη στους Ελληνοκύπριους (66%), με τους Κρητικούς να ακολουθούν (56%) και τη μικρότερη επίπτωση στους Έλληνες των ηπειρωτικών περιοχών (44,7%). Αξίζει να σημειωθεί ότι από τους 108 εθελοντές που είχαν αύξηση της γλυκόζης αίματος μεταξύ 21-25 mg/100 mL, οι 52 είχαν συμπτώματα δυσανεξίας κατά τη διάρκεια του τεστ, ενώ από τους εθελοντές που

είχαν αύξηση πάνω από 25 mg, μόνο 5 εμφάνισαν παρόμοια συμπτώματα. Από τους 216 εθελοντές με αύξηση γλυκόζης αίματος μικρότερης των 20 mg/100 mL, 208 εθελοντές εμφάνισαν συμπτώματα δυσανεξίας και μόνο 8 ήταν ασυμπτωματικοί. Η παρατήρηση αυτή καταδεικνύει μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ της δυσαπορρόφησης της λακτόζης και της δυσανεξίας στη λακτόζη, όπως αυτές ορίστηκαν σε προηγούμενη ενότητα, η οποία μάλιστα φαίνεται να είναι ποσοτική. Δηλαδή όσο μεγαλύτερη η ανεπάρκεια, τόσο πιο συχνή η εμφάνιση συμπτωμάτων.

Όσον αφορά το ιστορικό κατανάλωσης και ανοχής του γάλακτος, των οποίων τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 1.4.2, φαίνεται ότι οι Κύπριοι κατανάλωναν γάλα σε μικρότερο ποσοστό (10%), ακολουθούσαν οι Κρητικοί (34%) και τέλος οι Έλληνες της ηπειρωτικής χώρας (52%). Άρα ο πληθυσμός που είχε τη μεγαλύτερη επίπτωση της δυσανεξίας κατανάλωνε στο μικρότερο ποσοστό γάλα, ενώ ο πληθυσμός με τη μικρότερη επίπτωση κατανάλωνε στο μεγαλύτερο ποσοστό γάλα. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια ασυμφωνία μεταξύ της επίπτωσης των ατόμων που δεν κατανάλωναν γάλα και αυτών που δήλωσαν ότι τους προκαλεί συμπτώματα. Σύμφωνα με τους ερευνητές, η ασυμφωνία αυτή αποδίδεται στο γεγονός ότι κάποιοι από αυτούς που δεν κατανάλωναν γάλα δεν μπορούσαν να τους απαντήσουν για το αν τους προκαλούσε συμπτώματα ή όχι. Για τον ίδιο λόγο ήταν δύσκολο για τους ερευνητές να συλλέξουν δεδομένα για το οικογενειακό ιστορικό των εθελοντών σχετικά με την ανοχή του γάλακτος. Αυτό μάλιστα ήταν σχεδόν αδύνατον να επιτευχθεί στους εθελοντές από την Κρήτη και τους Ελληνοκύπριους καθώς, ιδιαίτερα στις αγροτικές περιοχές, οι οικογένειές τους δεν κατανάλωναν καθόλου γάλα. Γενικά, τα άτομα που συνήθιζαν να καταναλώνουν γάλα προέρχονταν από αστικές περιοχές, όπως η Αθήνα ή άλλες μεγάλες πόλεις ενώ οι εθελοντές που κατάγονταν από αγροτικές περιοχές δεν συνήθιζαν να καταναλώνουν γάλα λόγω της μικρής παραγωγής η οποία σχεδόν εξ ολοκλήρου μετατρεπόταν σε τυρί [10].

Σε 50 εθελοντές εκτός από το τεστ δυσανεξίας στη λακτόζη πραγματοποιήθηκε βιοψία και μέτρηση της ενεργότητας του ενζύμου. Στον πίνακα 1.4.2 φαίνεται μια καλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο διαγνωστικών μεθόδων.

Πίνακας 1.4.2:

Table 3. Intestinal Disacchridase Activity in Units per Gram of Wet Mucosa and Results of Lactose Tolerance Test in 50 continental Greeks

	Subjects with normal* lactase activity (29)†	Subjects with primary lactase-deficiency (21)†
Lactase		
Mean	4.6	0.8
Range	2.0-16.0	0.2-1.9
Sucrase		
Mean	12.8	14.2
Range	4.5-40.0	4.3-40.5
Maltase		
Mean	39.7	34.0
Range	12.0-130.0	15.0-132.0
Number of LTTs with peak rise of blood glucose of 25.0 mg% or lower	1	20
Number of subjects with symptoms during LTT	3	20

*All subjects with lactase activity above 2.0 units are classified as normal.

†Number of subjects in each group.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης του Καναγκίνη και των συνεργατών του [10] επιβεβαιώνουν αυτό που είχε παρατηρηθεί και από προηγούμενους ερευνητές, ότι δηλαδή οι Έλληνες εμφανίζουν την μεγαλύτερη παρασάγγας επίπτωση της δυσανεξίας στη λακτόζη σε σχέση με τους υπόλοιπους Ευρωπαίους, των οποίων τα ποσοστά κυμαίνονται σύμφωνα με τη βιβλιογραφία μεταξύ 1% και 19%. Όμως υπάρχει ανομοιογένεια της επίπτωσης στις 3 διαφορετικές γεωγραφικές ομάδες η οποία παρατηρείται και στις συνήθειες κατανάλωσης γάλακτος. Αυτή η παρατήρηση είναι ίσως βοηθητική για την ερμηνεία αυτής της ανομοιογένειας.

Γενικά, είναι αποδεδειγμένο ότι ο επιπολασμός της πρωτοπαθούς ανεπάρκειας της λακτάσης κυμαίνεται σε ένα μεγάλο εύρος, μεταξύ 2% και 100%. Ωστόσο, οι διάφορες εθνικότητες εμπίπτουν στην κατηγορία είτε του χαμηλού επιπολασμού (<30%), είτε του υψηλού επιπολασμού (>60%). Μόνο στις ομάδες εθνικοτήτων που έχουν υποστεί μίξη παρατηρείται ένα ενδιάμεσο ποσοστό, μεταξύ 30% και 60%.

Σε μία μεταγενέστερη μελέτη, ο Λαδάς και οι συνεργάτες του [11], από την ερευνητική ομάδα του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και το Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ευαγγελισμός», προσπάθησαν να προσδιορίσουν το ποσοστό επιπολασμού της ανεπάρκειας λακτάσης στον ελληνικό πληθυσμό με μεγαλύτερη ακρίβεια, καθώς τα πρότερα δεδομένα προέρχονταν από μικρό αριθμό

εθελοντών και η διαγνωστική μέθοδος ήταν η μέτρηση της γλυκόζης στο αίμα. Η συγκεκριμένη ερευνητική ομάδα χρησιμοποίησε το τεστ αναπνοής υδρογόνου για να ανιχνεύσει τη δυσαπορρόφηση της λακτόζης, το οποίο θεώρησαν ότι είναι γρήγορο και εύκολο στη χρήση, άρα κατάλληλο για την ανίχνευση μεγάλων πληθυσμών, και περιορίζει τα σφάλματα και τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα της μέτρησης γλυκόζης.

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούταν από 200 εθελοντές, 93 άντρες και 107 γυναίκες, ηλικίας από 15 έως 80 ετών και μέσο όρο ηλικίας τα 37 έτη. Οι εθελοντές κατάγονταν από διάφορα μέρη της Ελλάδας, με 46 άτομα να έχουν γεννηθεί στη βόρεια Ελλάδα, 107 άτομα στη νότια Ελλάδα και 47 άτομα με καταγωγή από τα ελληνικά νησιά. Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν η πραγματοποίηση ενός μεγάλου χειρουργείου στην περιοχή της κοιλιάς, παρουσία σακχαρώδους διαβήτη, εμφανής γαστρεντερική νόσος, πρόσφατη ασθένεια με εμπύρετο ή θεραπεία με αντιβιοτικά. Επίσης, συλλέχθηκαν δεδομένα για τη συνήθη κατανάλωση γάλακτος κάθε εθελοντή ή για την παρουσία γαστρεντερικών συμπτωμάτων που σχετίζονταν με την κατανάλωση γάλακτος. Τέλος, καταγράφηκαν τα γαστρεντερικά συμπτώματα όπως και η συχνότητα της κινητικότητας εντέρου. Η δυσανεξία στη λακτόζη θεωρήθηκε σοβαρή όταν ένας ασθενής εμφάνιζε διάρροια και ήπια όταν είχε κολικοειδή πόνο, αυξημένη παραγωγή αερίων, κοιλιακή διάταση ή βορβορυγμούς αλλά όχι διάρροια. Οι ασθενείς που δεν εμφάνισαν συμπτώματα χαρακτηρίστηκαν ως ασυμπτωματικοί [11].

Μετά τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων βρέθηκε ότι το 75% του πληθυσμού της μελέτης είχε δυσαπορρόφηση λακτόζης σύμφωνα με το τεστ αναπνοής υδρογόνου. Επιπλέον, φάνηκε μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της δυσαπορρόφησης λακτόζης και της δυσανοχής. Συγκεκριμένα, το 95,5% των ατόμων που είχαν δυσαπορρόφηση εμφάνισαν συμπτώματα κατά τη διάρκεια του τεστ δυσανεξίας στη λακτόζη. Η επίπτωση της δυσαπορρόφησης δεν διέφερε σημαντικά ανάμεσα στα διάφορα διαμερίσματα της Ελλάδας (Βόρεια Ελλάδα 76%, Νότια Ελλάδα 70%, νησιά 87%). Το συμπέρασμα των ερευνητών είναι ότι η Ελλάδα ανήκει στην κατηγορία του υψηλού επιπολασμού (>60%) ανεπάρκειας λακτάσης [11].

Πίνακας 1.4.3:

Table Prevalence of lactose malabsorption and lactose intolerance (expressed as percentages)

Group	Normal subjects (no.)	Lactose malabsorbers (no.)	Lactose malabsorbers (n=150)			Normal subjects (n=50)	
			Diarrhoea	Abdominal symptoms*	Asymptomatic	Borborygmi	Asymptomatic
I (n=100)	26	74	66.0	30.0	4.0	4.0	96.0
II (n=100)	24	76	57.0	38.0	5.0	5.0	95.0
Mean (n=200)	25	75	61.5	34.0	4.5	4.5	95.5

* Colicky pain, increased flatulence, abdominal distention, but no diarrhoea.

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα δεδομένα της συγκεκριμένης μελέτης σχετικά με την κατανάλωση γάλακτος. Τα άτομα με δυσασπορρόφηση λακτόζης κατανάλωναν γάλα με την ίδια συχνότητα που κατανάλωναν τα υγιή άτομα (τα άτομα που έπιναν γάλα ήταν το 69% και 62% αντίστοιχα), ενώ το 34% των εθελοντών με δυσασπορρόφηση δεν γνώριζαν για τη δυσανεξία τους στη λακτόζη. Παρόλα αυτά, οι ερευνητές θέτουν ως περιορισμό της μελέτης ότι το δείγμα ήταν ένα μικρό μέρος του πληθυσμού και οι συνήθειες κατανάλωσης γάλακτος επηρεάζονται από παράγοντες όπως η ζωή σε αστικό κέντρο ή στην περιφέρεια, η διαθεσιμότητα του γάλακτος και οι καταβολές του πληθυσμού που μελετάται.

Και σ' αυτή τη μελέτη συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα δύο διαγνωστικών δοκιμασιών: η μέτρηση γλυκόζης αίματος (Τεστ δυσανεξίας λακτόζης) με το τεστ αναπνοής υδρογόνου που ήταν και η διαγνωστική μέθοδος εκλογής αυτής της μελέτης. Με το τεστ δυσανεξίας το 55% των ατόμων ήταν θετικά. Το ποσοστό αυτό είναι σημαντικά χαμηλότερο από το 75% που προέκυψε από το τεστ αναπνοής υδρογόνου και το 71,5% των ατόμων που εμφάνισαν συμπτώματα κατά τη διάρκεια του τεστ δυσανεξίας. Αυτό επιβεβαιώνει τα δεδομένα της βιβλιογραφίας σχετικά με τη χαμηλή ευαισθησία της συγκεκριμένης μεθόδου [11].

Μέθοδοι διάγνωσης

Ένας πολύ συνηθισμένος τρόπος διάγνωσης της δυσανεξίας στη λακτόζη στην καθ'ημέρα κλινική πράξη είναι η δοκιμή δίαιτας αποκλεισμού της λακτόζης με σκοπό να ελεγχθεί εάν τα όποια συμπτώματα θα υποχωρήσουν. Όμως αυτή η εμπειρική μέθοδος διάγνωσης είναι παράλληλα και αναξιόπιστη. Υπάρχουν διάφορες προσεγγίσεις για τη διάγνωση της υπολακτασίας [3].

Οι τεχνικές που συνήθως χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της απορρόφησης λακτόζης σε κλινικό επίπεδο είναι δύο:

- η μέτρηση της γλυκόζης στο αίμα
- και οι συγκεντρώσεις υδρογόνου στην αναπνοή μετά από λήψη ποσότητας λακτόζης

Συγκεκριμένα, για τη μέτρηση της γλυκόζης ορού, καθιερώθηκε αύξηση της τιμής <20 mg/100 mL μετά από λήψη μίας μεγάλης (50 με 100 g) δόσης λακτόζης να θεωρείται ένδειξη ανεπάρκειας λακτάσης. Ωστόσο, ο δεύτερος τρόπος αξιολόγησης, η μέτρηση υδρογόνου στην αναπνοή, κερδίζει συνεχώς έδαφος και έχει αντικαταστήσει σε μεγάλο βαθμό τη μέτρηση της γλυκόζης. Κι αυτό γιατί είναι μια πολύ απλή και εύχρηστη δοκιμασία για τα άτομα στα οποία υπάρχει υποψία δυσαπορρόφησης λακτόζης. Η μεθοδολογία αυτής της μέτρησης είναι μη παρεμβατική και βασίζεται στην εξής λογική: α) αύξηση στην παραγωγή υδρογόνου μετά από κατανάλωση λακτόζης πραγματοποιείται μόνο στην περίπτωση που το σάκχαρο φτάσει άπεπτο στο κόλον και υποστεί βακτηριακή ζύμωση και β) το υδρογόνο που παράγεται απορροφάται από το κόλον αποβάλλεται στον εκπνεόμενο αέρα σε μία συγκέντρωση ικανή να ανιχνευθεί στην αναπνοή [2, 3]. Ο περιορισμός αυτής τη μεθόδου είναι ότι μπορεί να δείξει ψευδώς θετικό αποτέλεσμα σε περίπτωση βακτηριακής υπερανάπτυξης στο λεπτό έντερο. Ωστόσο ένα ακόμα μεγαλύτερο πρόβλημα αυτής της μεθόδου αποτελούν τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα τα οποία οφείλονται στην παρουσία βακτηρίων στο κόλον που δεν παράγουν υδρογόνο σε ποσοστό 2-43%. Το πρόβλημα αυτό μπορεί να λυθεί μέσω της αναφοράς των ασθενών για συμπτώματα μετά τη λήψη της δόσης της λακτόζης. Οι ασθενείς οι οποίοι δηλώνουν συμπτώματα αμέσως μετά την κατανάλωση έχουν ψευδώς θετικά τεστ αναπνοής. Για να φτάσει το περιεχόμενο της λακτόζης στο κόλον χρειάζονται συνήθως 50-100 λεπτά, γι'αυτό μόνο τα τεστ των ασθενών που παραπονούνται για

συμπτώματα μετά την πάροδο κάποιου χρονικού διαστήματος από την κατανάλωση λακτόζης είναι αληθώς θετικά. Ένας άλλος τρόπος για να περιοριστούν τα ψευδώς αρνητικά και ψευδώς θετικά αποτελέσματα είναι να συνδυαστεί το τεστ αναπνοής με βιοψία ή γενετικό τεστ (στους Καυκάσιους). Παρόλα αυτά η προσέγγιση αυτή είναι αρκετά κοστοβόρα οικονομικά και χρονικά [7].

Στις διαθέσιμες μεθόδους διάγνωσης της ανεπάρκειας συμπεριλαμβάνονται επίσης:

- Η μέτρηση γαλακτόζης ούρων μετά από κατανάλωση λακτόζης.
- Η μέτρηση ενεργότητας του ενζύμου σε δείγματα βιοψίας του ιστού του λεπτού εντέρου.
- Το γενετικό τεστ του πολυμορφισμού 13910 C/T.

Η μέτρηση ενεργότητας του ενζύμου σε δείγματα του ιστού είναι παρεμβατική μέθοδος και αυτό αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα. Η αξιοπιστία της μεθόδου αμφισβητείται καθώς η ενεργότητα της λακτάσης σε ένα συγκεκριμένο τμήμα του λεπτού εντέρου μπορεί να μην είναι αντιπροσωπευτική για ολόκληρο το μήκος του. Παρόλα αυτά θεωρείται η μέθοδος αναφοράς.

Όσον αφορά το γενετικό τεστ για τον πολυμορφισμό -13910 C/T, ο γονότυπος C/C συνδέεται με υπολακτασία, και οι C/T και T/T με τη συνεχιζόμενη έκφραση λακτάσης. Αυτός ο πολυμορφισμός συνδέεται κατά 86-98% με τη συνεχιζόμενη έκφραση στον ευρωπαϊκό πληθυσμό, ενώ σε χώρες της Αφρικής ή στον αραβικό κόσμο έχουν ανιχνευθεί άλλοι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) που πιθανά σχετίζονται με τη ρύθμιση της έκφρασης του ενζύμου. Αυτός είναι ένας περιορισμός της χρήσης του γενετικού τεστ ως διαγνωστική μέθοδος γι' αυτό πιθανότατα στο μέλλον τα γενετικά τεστ να καλύπτουν ένα μεγαλύτερο εύρος πολυμορφισμών. Ένας επιπλέον περιορισμός για το γενετικό τεστ αλλά και για τη βιοψία ιστού του λεπτού εντέρου είναι ότι δεν αξιολογούν τα συμπτώματα που προκαλεί η κατανάλωση λακτόζης [3, 7].

Οι διαφορετικές μέθοδοι διάγνωσης έχουν συγκριθεί αρκετές φορές από ερευνητές για να καταλήξουν στην πιο αξιόπιστη και αποτελεσματική. Μετά από μία σύγκριση των μεθόδων 1) μέτρηση της γλυκόζης ορού μετά από λήψη λακτόζης 2)

μέτρηση γαλακτόζης ούρων και 3) ενεργότητα λακτάσης στο δωδεκαδάκτυλο προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

Παρατηρήθηκε ένα μεγάλο ποσοστό ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων με τη μέτρηση γλυκόζης στο αίμα, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα η δυσαπορρόφηση της λακτόζης να παραμένει αδιάγνωστη σε πολλούς ασθενείς. Η ευαισθησία της μεθόδου μετρήθηκε μόλις 60% και η ειδικότητα στο 96%. Η ειδικότητα είναι συγκρίσιμη με αυτή των άλλων δύο μεθόδων [3].

Στον πίνακα 1.5.1 αναφέρονται οι τέσσερις διαγνωστικές δοκιμασίες, η αρχή στην οποία βασίζονται, τα όρια, οι περιορισμοί και άλλα χαρακτηριστικά τους [7].

Πίνακας 1.5.1:

	Τεστ αναπνοής υδρογόνου	Τεστ ανεκτικότητας λακτόζης	Γενετικό τεστ	Ενεργότητα λακτάσης λεπτού εντέρου
Αρχή διαγνωστικού τεστ	Αύξηση υδρογόνου στον εκπνεόμενο αέρα μετά από κατανάλωση λακτόζης	Αύξηση της γλυκόζης αίματος μετά από κατανάλωση λακτόζης	Γενετικός πολυμορφισμός-13910 C/T	Ενζυμική ενεργότητα λακτάσης σε δείγμα βιοψίας
Κρίσιμα όρια	>20 ppm σε 3 ώρες	<1,1 mmol/L σε 3 ώρες	C/C 13910 μη συνεχιζόμενη έκφραση λακτάσης	<17-20 IU/g
Διαθεσιμότητα	Καλή	Εξαιρετική	Διαφοροποιείται	Σπάνια
Ψευδώς θετικά	Γρήγορος χρόνος διέλευσης στο ΓΕ, βακτηριακή υπερανάπτυξη στο λεπτό έντερο	Γρήγορος χρόνος διέλευσης στο ΓΕ, διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης	Σπάνια (<5%) στους Καυκάσιους	Μάλλον σπάνια
Ψευδώς αρνητικά	Βακτήρια που δεν παράγουν υδρογόνο	Διακυμάνσεις στο σάκχαρο ορού	Όλες οι αιτίες δευτεροπαθούς δυσαπορρόφησης λακτόζης	Ανομοιογενής έκφραση ενζύμου
Δευτερεύουσες αιτίες	Δεν μπορούν να αποκλεισθούν	Δεν μπορούν να αποκλεισθούν	Δεν μπορούν να αποκλεισθούν	Δεν μπορούν να αποκλεισθούν
Αξιολόγηση συμπτωμάτων	Δυνατό	Δυνατό	Μη δυνατό	Μη δυνατό
Σχόλια	Μέθοδος εκλογής για την αξιολόγηση της δυσαπορρόφησης λακτόζης και δυσανεξίας	Πραγματοποιείται σπάνια καθώς είναι κατώτερη σε ευαισθησία και ειδικότητα	Για Καυκάσιους, λιγότερο για άλλους πληθυσμούς, όχι κατάλληλο για δευτεροπαθή ανεπάρκεια λακτάσης	Μέθοδος αναφοράς για ανίχνευση ανεπάρκειας λακτάσης (πρωτοπαθούς ή δευτεροπαθούς)
Κόστος	Χαμηλό	Το χαμηλότερο	Υψηλό	Το υψηλότερο

Διαφορική διάγνωση της νόσου

Η διάγνωση της δυσανεξίας στη λακτόζη, λόγω του ότι αποτελεί μια νόσο με γαστρεντερικά συμπτώματα, συχνά συγχέεται με άλλων νοσημάτων του γαστρεντερικού όπως είναι το Σύνδρομο Ευερέθιστου Εντέρου (ΣΕΕ), η Ιδιοπαθής Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου και η Κοιλιοκάκη.

Ο επιπολασμός του ΣΕΕ έχει υπολογιστεί σε ποσοστό 9-12% του πληθυσμού και οι ασθενείς εμφανίζουν τουλάχιστον ένα από τα παρακάτω συμπτώματα: κοιλιακός πόνος, μετεωρισμός, δυσκοιλιότητα ή/και διάρροια. Η δυσανεξία στη λακτόζη δεν οδηγεί σε ΣΕΕ, όμως οι ασθενείς με ΣΕΕ εμφανίζουν αυξημένη σπλαγγχνική ευαισθησία στη λακτόζη σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό [1, 4]. Τα αποτελέσματα μίας μελέτης του Alpers [12] αναφέρουν ότι το 45% των ασθενών με ΣΕΕ έχουν δυσανεξία στη λακτόζη αλλά μόνο στο 30% των περιπτώσεων συνδέθηκαν τα συμπτώματα με την κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων. Επίσης, ο διαιτητικός αποκλεισμός των γαλακτοκομικών βελτίωσε τα συμπτώματα μόνο στο 52% των ασθενών. Η ειδοποιός διαφορά που θα καθορίσει τη διάγνωση μεταξύ των δύο νοσημάτων είναι το γεγονός ότι τα συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη θα υποχωρήσουν με τον περιορισμό ή αποκλεισμό της από τη διατροφή των ασθενών. Από την άλλη, η αντιμετώπιση του ΣΕΕ απαιτεί ευρύτερες αλλαγές στη διατροφή, αλλαγές στον τρόπο ζωής ή ακόμα και φαρμακευτικές παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση συγκεκριμένων συμπτωμάτων. Όσον αφορά τις αλλαγές της δίαιτας, πέρα από τον περιορισμό της λακτόζης ίσως χρειαστεί περιορισμός επίσης του λίπους, της καφεΐνης, της σορβιτόλης και της φρουκτόζης καθώς και ρύθμιση της ποσότητας και του είδους των διαιτητικών ινών που καταναλώνονται, της πρόσληψης υγρών και του τύπου των γευμάτων. Για παράδειγμα τρόφιμα όπως το τυρί, το οποίο διαθέτει μικρή ποσότητα λακτόζης και συνήθως είναι ανεκτό από τους ασθενείς με δυσανεξία, είναι παράλληλα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος και μπορεί να πυροδοτήσει συμπτώματα του ΣΕΕ τα οποία λανθασμένα να αποδοθούν στη λακτόζη. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι κάποιοι ασθενείς με ΣΕΕ χωρίς ανεπάρκεια λακτάσης, περιγράφουν συμπτώματα δυσανεξίας στη λακτόζη. Επιπλέον, σε κάποιες μελέτες φαίνεται ότι ασθενείς με διαγνωσμένη δυσανεξία στη λακτόζη εμφανίζουν τα ίδια συμπτώματα και μετά την κατανάλωση προϊόντων ελεύθερων λακτόζης. Σ'αυτές τις περιπτώσεις πιθανά η

υποβόσκουσα κατάσταση είναι το ΣΕΕ. Γι'αυτό είναι αναγκαίο να γίνονται οι κατάλληλες ερωτήσεις σχετικά με τα συμπτώματα που προκαλούνται από την κατανάλωση λακτόζης, ώστε οι επαγγελματίες υγείας να οδηγούνται στη σωστή διάγνωση και κατά συνέπεια στη σωστή διαχείριση του προβλήματος των ασθενών [1, 4].

Μία ακόμη περίπτωση διαφορικής διάγνωσης είναι η ΙΦΝΕ που περιλαμβάνει τη νόσο Crohn και την ελκώδη κολίτιδα. Οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των δύο νόσων που θα καθορίσουν τη διάγνωση είναι ότι η δυσανεξία στη λακτόζη δεν επιδρά στη μορφολογία του εντέρου ενώ η ΙΦΝΕ χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή του εντερικού βλεννογόνου και συχνά συνοδεύεται από διαρροϊκές κενώσεις με αίμα [1].

Τέλος, η κοιλιοκάκη η οποία χαρακτηρίζεται από δυσανεξία στη γλουτένη, είναι μία ακόμη διάγνωση που πρέπει να ληφθεί υπόψη και να αποκλειστεί ενώ πολλές φορές μπορεί να είναι παράλληλο εύρημα. Εάν μετά και τον αποκλεισμό της λακτόζης εκτός της γλουτένης, τα συμπτώματα επιμένουν θα πρέπει αποκλεισθούν η λοιμώδης διάρροια ή οι κακοήθειες του εντέρου [1].

Εκτός από τα νοσήματα του γαστρεντερικού θα πρέπει να υπάρξει ένας διαχωρισμός και μεταξύ της αλλεργίας στα γαλακτοκομικά προϊόντα και της δυσανεξίας στη λακτόζη. Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός στην περίπτωση της αλλεργίας είναι η IgE-μεσολαβούμενη φλεγμονώδης απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος η οποία μπορεί να προκαλέσει παρόμοια συμπτώματα με αυτά της δυσανεξίας (κοιλιακός πόνος, μετεωρισμός, διάρροια). Στην περίπτωση της αλλεργίας στην πρωτεΐνη του γάλακτος πολύ συχνά μπορεί να υπάρξουν δερματικές εκδηλώσεις όπως έκζεμα ή κνίδωση, ρινική αλλεργία, χρόνια ωτίτιδα ή ακόμα και αναφυλαξία [1].

Μία ακόμη παθοφυσιολογική κατάσταση η οποία συγχέεται με την δυσανεξία στη λακτόζη είναι η βακτηριακή υπερανάπτυξη του λεπτού εντέρου (ή στα αγγλικά Small intestinal bacterial overgrowth, SIBO). Η βακτηριακή υπερανάπτυξη χαρακτηρίζεται από μη φυσιολογικά υψηλό επίπεδο πληθυσμού βακτηρίων στο λεπτό έντερο, υπερβαίνοντας τα 10^6 στελέχη/mL. Τα κλινικά συμπτώματα που εμφανίζονται είναι: κοιλιακός πόνος, μετεωρισμός, διάρροια και/ή ενδείξεις δυσαπορρόφησης, παρόμοια με αυτά που παρατηρούνται στο ΣΕΕ. Πρόσφατα

δεδομένα δείχνουν ότι η βακτηριακή υπερανάπτυξη ίσως παίζει κάποιο ρόλο στην εμφάνιση του ΣΕΕ ενώ η δυσασπορρόφηση λακτόζης, φρουκτόζης και σορβιτόλης έχουν επίσης ενοχοποιηθεί για την πρόκληση των συμπτωμάτων του ΣΕΕ. Όταν οι υδατάνθρακες δεν υδρολύονται και δεν απορροφώνται επαρκώς, προκαλείται υπερπαραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου και αερίων από τα βακτήρια του εντέρου. Τα αέρια αυτά χρησιμοποιούνται για την διάγνωση καταστάσεων δυσασπορρόφησης διάφορων σακχάρων και φαίνεται να ανιχνεύονται και σε ασθενείς με ΣΕΕ. Έτσι, για πολλούς ασθενείς η βακτηριακή υπερανάπτυξη θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για τη συσχέτιση που εντοπίζεται μεταξύ της δυσανεξίας σε κάποια σάκχαρα όπως η λακτόζη και του ΣΕΕ, παρά η πραγματική παρουσία δυσανεξίας. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, αυτό μπορεί να προκύψει με δύο πιθανούς μηχανισμούς: είτε παρουσία της βακτηριακής υπερανάπτυξης ο μεγάλος αριθμός των βακτηρίων ζυμώνει αδιακρίτως τα διάφορα σάκχαρα και προκαλεί υπερπαραγωγή των αερίων, είτε η βακτηριακή υπερανάπτυξη προκαλεί βλάβη στο βλεννογόνο του λεπτού εντέρου και κατά συνέπεια ανεπάρκεια των ενζυματικών πρωτεϊνών και των πρωτεϊνών μεταφοράς που δρουν εκεί με αποτέλεσμα τη δυσασπορρόφηση των σακχάρων [6].

Θεραπευτική αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση και θεραπεία για τους ασθενείς με ανεπάρκεια λακτάσης έχει ως στόχο την ύφεση των συμπτωμάτων που εμφανίζονται μετά την κατανάλωση λακτόζης. Η θεραπεία αναφέρεται στην παρουσία δυσανεξίας στη λακτόζη και όχι γενικότερα στη δυσασπορρόφησης της (βλ. σελίδα 6). Υπάρχει μεγάλος όγκος βιβλιογραφίας σχετικά με τη θεραπευτική προσέγγιση της δυσανεξίας και την αποτελεσματικότητα της κάθε προσέγγισης. Όμως σύμφωνα με την έρευνα του Levitt και των συνεργατών του [2] υπήρχαν μόνο 24 κλινικές δοκιμές που ήταν ελεγχόμενες και περιλάμβαναν τυφλές δοκιμές από τις συνολικά 2500 μελέτες που εντόπισαν. Καθώς μάλιστα η δυσανεξία στη λακτόζη δεν τεκμηριώνεται πριν την εγγραφή των εθελοντών στη μελέτη, είναι πιθανό η αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων να έχει αξιολογηθεί σε εθελοντές που δεν εμφάνιζαν συμπτώματα στο επίπεδο της δόσης της λακτόζης που χρησιμοποιήθηκε για την παρέμβαση. Γενικότερα, υπήρχε δυσκολία

στο να εξαχθούν συμπεράσματα από τις μελέτες αυτές λόγω διαφορετικών κριτηρίων συμμετοχής στη μελέτη, διαφορετικών επιπέδων για τις δόσεις της λακτόζης που χορηγήθηκαν καθώς και διαφορετικών τρόπων μέτρησης και αξιολόγησης των αποτελεσμάτων. Επίσης, στις περισσότερες μελέτες εντοπίστηκαν παραλείψεις στην στατιστική ανάλυση των δεδομένων. Παρόλα αυτά μπορούν να ξεχωρίσουν τέσσερις διαφορετικές κατηγορίες τρόπων αντιμετώπισης των συμπτωμάτων της ανεπάρκειας λακτάσης: προϊόντα χαμηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη ή ελεύθερα λακτόζης, προβιοτικά, αντιβιοτικά και προσαρμογή των βακτηρίων στο κόλον [2].

Στην πραγματικότητα, στα προϊόντα ελεύθερα λακτόζης δεν έχει πραγματοποιηθεί «αφαίρεση» της περιεχόμενης λακτόζης αλλά έχει προστεθεί η λακτάση ώστε να προκληθεί διάσπαση του σακχάρου. Στα προϊόντα χαμηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη η λακτόζη έχει υδρολυθεί εκ των προτέρων. Τα αποτελέσματα των μελετών που βασίστηκαν στη χρήση τέτοιου είδους προϊόντων για τον περιορισμό των συμπτωμάτων δεν είναι ούτε σταθερά ούτε ξεκάθαρα καθώς στην πλειοψηφία των περιπτώσεων χρησιμοποιήθηκαν μη επαρκείς δόσεις λακτόζης στην ομάδα ελέγχου. Επίσης, υπήρχαν μεθοδολογικοί περιορισμοί. Όσον αφορά τις μη επαρκείς δόσεις λακτόζης: συνολικά από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι η πλειοψηφία των ασθενών μπορούν να ανεχτούν περίπου 12 g λακτόζης την ημέρα, δηλαδή πρακτικά μπορούν να καταναλώσουν περίπου 1 φλιτζάνι συμβατικού γάλακτος κάθε μέρα. Είναι προφανές ότι στις κλινικές δοκιμές που χρησιμοποίησαν αυτή τη δόση λακτόζης μέσω του συμβατικού γάλακτος, στην ομάδα ελέγχου, δεν φάνηκε να υπερτερεί το γάλα χαμηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη. Σε άλλες κλινικές δοκιμές που χρησιμοποίησαν δόσεις άνω των 15 g τα αποτελέσματα δεν ήταν ξεκάθαρα ενώ σε μία μελέτη που έδειξε στατιστικά σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων, μέσω του γάλακτος χαμηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη, η διαφορά δεν ήταν κλινικά σημαντική [1-3].

Τη δεύτερη κατηγορία αποτελεί η χρήση του γιαουρτιού, βασικά λόγω των προβιοτικών που περιέχει. Γενικότερα, έχει διαπιστωθεί ότι τα προϊόντα γάλακτος που έχουν υποστεί ζύμωση βελτιώνουν την πέψη της λακτόζης καθώς και τα συμπτώματα της δυσανεξίας στους ασθενείς με υπολακτασία. Φαίνεται ότι το απλό γιαούρτι του εμπορίου μπορεί να μειώσει την παραγωγή υδρογόνου από τα βακτήρια στο κόλον και να βελτιώσει τα συμπτώματα όπως ένα γάλα του οποίου η λακτόζη

έχει υποστεί εκ των προτέρων υδρόλυση. Το γεγονός αυτό βασίζεται στην παρουσία ενεργής λακτάσης που παράγεται από τους μικροοργανισμούς του γιαουρτιού, τους *L. bulgaricus* και *S. thermophilus*. Υπολογίζεται ότι η ζύμωση που πραγματοποιούν μειώνει το περιεχόμενο σε λακτόζη περίπου 25-50%. Εκτός όμως από τη β-γαλακτοζιδάση των βακτηρίων που συμβάλει στη βελτίωση της πέψης της λακτόζης, η ωσμωτικότητα και η ενεργειακή πυκνότητα του γιαουρτιού παίζουν επίσης κάποιο ρόλο καθυστερώντας τη γαστρική κένωση και το χρόνο διέλευσης της τροφής από το έντερο. Με τον τρόπο αυτό βελτιστοποιείται η δράση της υπολειπόμενης λακτάσης στο λεπτό έντερο και μειώνεται το ωσμωτικό φορτίο της λακτόζης. Παρόλα αυτά ως αποτέλεσμα της χρήσης των προβιοτικών στις κλινικές δοκιμές αξιολογείται κυρίως η βελτίωση της πέψης της λακτόζης μέσω της μείωσης του παραγόμενου υδρογόνου μετά την κατανάλωση και όχι η βελτίωση των συμπτωμάτων. Γι'αυτό και δεν υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις για τη χρήση τους ως θεραπεία για τη δυσανεξία [1, 2, 13].

Η λογική στην οποία βασίζεται η τρίτη κατηγορία θεραπείας, η προσαρμογή των βακτηρίων στο κόλον, είναι ότι τα βακτήρια προσαρμόζονται στην έκθεση σε λακτόζη αυξάνοντας την ενεργότητα της β-γαλακτοζιδάσης στα κόπρανα και μειώνοντας την παραγωγή υδρογόνου. Η μειωμένη παραγωγή πιθανά οφείλεται στην αύξηση των μικροοργανισμών που ζυμώνουν τη λακτόζη όπως τα *Bifidobacteria*, τα οποία δεν παράγουν υδρογόνο. Η αύξηση στην ενεργότητα του ενζύμου, η μείωση της παραγωγής υδρογόνου, και τελικά η βελτίωση των συμπτωμάτων, επέρχεται μετά από 10-13 μέρες συνεχούς κατανάλωσης λακτόζης. Παρόλα αυτά, στη βελτίωση των συμπτωμάτων δεν αποκλείεται να παίζει ρόλο και το φαινόμενο placebo μετά από τη συνεχή κατανάλωση λακτόζης και όχι κάποια μεταβολική προσαρμογή των μικροοργανισμών του εντέρου [2, 13].

Η τέταρτη κατηγορία, σύμφωνα με την ανασκόπηση του Levitt [2], είναι η χρήση αντιβιοτικών και συγκεκριμένα ριφαξιμίνης. Η ριφαξιμίνη χρησιμοποιήθηκε σε μία κλινική δοκιμή στην οποία φάνηκε μείωση των συμπτωμάτων όπως ο κοιλιακός πόνος, η διάρροια, ο μετεωρισμός και η κοιλιακή διάταση, αλλά η μείωση δεν ήταν κλινικά σημαντική [2].

Όσον αφορά την καθημερινή πρακτική, οι ασθενείς που εμφανίζουν συμπτώματα δυσανεξίας στη λακτόζη μπορούν να ενταχθούν σε 3 κατηγορίες: 1)

αυτούς στους οποίους δεν αρέσει το γάλα και πιθανά δεν θα το κατανάλωναν ακόμα και αν δεν εμφάνιζαν δυσανεξία 2) αυτούς οι οποίοι θα ήθελαν να πίνουν περιστασιακά γάλα και 3) αυτούς στους οποίους αρέσει το γάλα και θα προτιμούσαν να το πίνουν συστηματικά. Η πρώτη ομάδα ασθενών δεν απαιτεί κάποια ειδική διαχείριση, παρά μόνο να βρεθούν εναλλακτικοί τρόποι να προσλάβουν την απαραίτητη ποσότητα ασβεστίου π.χ. μέσα από σκληρά τυριά ή από το γιαούρτι. Η δεύτερη ομάδα επίσης έχει την επιλογή του γιαουρτιού καθώς και των προϊόντων ελεύθερων λακτόζης ή τη χρήση ταμπλετών που περιέχουν λακτάση και λαμβάνονται πριν την κατανάλωση γάλακτος. Με τη χρήση των ταμπλετών ουσιαστικά πραγματοποιείται υποκατάσταση του ενζύμου το οποίο προέρχεται από μικροοργανισμούς όπως ο *Aspergillus oryzae* ή ο *Kluyveromyces lactis*. Η πρόσληψη εξωγενώς του ενζύμου δεν έχει παρενέργειες, όμως ο προσδιορισμός της απαραίτητης δόσης του είναι δύσκολος και η πέψη της λακτόζης δεν είναι πάντα ολοκληρωμένη. Έτσι οι ασθενείς δεν απαλλάσσονται ολοκληρωτικά από τα συμπτώματα μετά την κατανάλωση γάλακτος. Από την άλλη, για τους ασθενείς που επιθυμούν να καταναλώνουν συστηματικά γάλα η ιδανική λύση μάλλον είναι να αυξήσουν σταδιακά την ανοχή τους σε διάστημα 2-3 εβδομάδων [7, 14, 15].

Η πλειοψηφία των ασθενών μπορεί να ανεχτεί μία ποσότητα περίπου 12 g λακτόζης (περίπου 1 φλιτζάνι γάλα) εάν αυτή καταναλωθεί τμηματικά μέσα στη μέρα. Η ποσότητα αυτή μπορεί να φτάσει και τα 15 έως 18 g εάν τα γαλακτοκομικά προϊόντα συνδυαστούν και με άλλες ομάδες τροφίμων, καθώς φαίνεται ότι βελτιώνει την ανοχή στην καταναλισκόμενη λακτόζη. Άρα μία ακόμη προσέγγιση είναι ο μερικός αποκλεισμός των γαλακτοκομικών προϊόντων ώστε να καταναλώνεται καθημερινά η ανεκτή ποσότητα λακτόζης. Για να καθιερωθεί όμως η καθημερινή κατανάλωση μιας περιορισμένης ποσότητας, είναι απαραίτητο μετά τη διάγνωση να ακολουθήσει μια περίοδος πλήρους αποκλεισμού μέχρι να υποχωρήσουν τα συμπτώματα. Στη συνέχεια γίνεται επανεισαγωγή της λακτόζης στη διαίτα σταδιακά μέχρι να βρεθεί η μέγιστη ανεκτή δόση κάθε ασθενούς [4, 7]. Τα δεδομένα της βιβλιογραφίας αναφέρουν επίσης ότι η ανοχή στη λακτόζη μπορεί να βελτιωθεί μέσω την καθυστέρησης της γαστρικής κένωσης και του χρόνου διέλευσης της τροφής από τη γαστρεντερική οδό. Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι το πλήρες γάλα είναι καλύτερα ανεκτό. Λόγω του ότι το λίπος καθυστερεί τη γαστρική κένωση και το χρόνο διέλευσης από το έντερο αυξάνει το χρόνο που έρχεται σε επαφή το

υπόστρωμα με το ένζυμο και βελτιώνει την απορρόφηση των υδατανθράκων αλλά δεν επιβεβαιώνεται από όλες τις μελέτες. Αυτό που τεκμηριώνεται καλύτερα στη βιβλιογραφία είναι η βελτίωση της ανοχής στη λακτόζη μέσω καθυστέρησης της γαστρικής κένωσης όταν τα γαλακτοκομικά προϊόντα καταναλώνονται συνδυαστικά με άλλα τρόφιμα. Επιπλέον, κυκλοφορούν φαρμακευτικά σκευάσματα τα οποία καθυστερούν τη γαστρική κένωση και τα οποία μέσα από μελέτες φαίνεται να έχουν κάποια θετική επίδραση στην πέψη της λακτόζης, όμως δεν συστήνονται λόγω του υψηλού κόστους και των παρενεργειών τους [13].

Συμπερασματικά, από τη συστηματική μελέτη επί του συνόλου της βιβλιογραφίας σχετικά με τη δυσανεξία στη λακτόζη που έγινε για το NIH (National Institutes of Health) Consensus δεν φαίνεται να υπερτερεί κάποιος από τους παραπάνω τρόπους αντιμετώπισης έναντι των άλλων. Το κλειδί για την αντιμετώπιση της δυσανεξίας ώστε να επιτευχθεί ύφεση των συμπτωμάτων είναι η εξατομίκευση. Αυτό που πρέπει να τονισθεί είναι ότι ο πλήρης αποκλεισμός της λακτόζης και κατά συνέπεια των γαλακτοκομικών προϊόντων δεν είναι απαραίτητος και οι ασθενείς μπορούν να καταναλώνουν μικρές ποσότητες γάλακτος, γιαουρτιού, σκληρών τυριών και προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη καθημερινά. Ο γενικότερος στόχος της θεραπείας είναι να εξασφαλισθεί η επαρκής πρόσληψη διατροφικών συστατικών όπως το ασβέστιο ιδιαίτερα σε περιόδους της ζωής των ασθενών που η επαρκής πρόσληψη είναι υψίστης σημασίας όπως κατά την εφηβεία, την εγκυμοσύνη, το θηλασμό και την τρίτη ηλικία [16].

Ακολουθεί ο πίνακας 1.7.1 με τα βασικότερα γαλακτοκομικά προϊόντα και την ποσότητα λακτόζης ανά μερίδα.

Πίνακας 1.7.1:

Περιεχόμενη λακτόζη γαλακτοκομικών προϊόντων		
<i>Προϊόν</i>	<i>Μέγεθος μερίδας</i>	<i>Λακτόζη (g)</i>
Βούτυρο	1 κ.γ. έως 1 κ.σ.	Ίχνη έως 0,2 g
Ελβετικό τυρί ή παρμεζάνα	30 g	1
Τυρί cheddar	30 g	0
Τυρί cottage	½ φλιτζ.	2-3
Κρέμα light	½ φλιτζ.	4
Κρέμα σαντιγί	½ φλιτζ.	3
Τυρί κρέμα	30 g	1

Παγωτό	½ φλιτζ.	6
Μαργαρίνη	1 κ.γ.	ίχνη
Γάλα πλήρες ή αποβουτυρωμένο	1 φλιτζ. (240 mL)	11
Γάλα σκόνη αποβουτυρωμένο	30 g	15,5
Γάλα συμπυκνωμένο	1 φλιτζ.	35
Γάλα σοκολατούχο	1 φλιτζ.	10-12
Γιαούρτι χαμηλών λιπαρών	1 φλιτζ.	5

Carter, S.L. and S. Attel, *The diagnosis and management of patients with lactose-intolerance.*

Επιπτώσεις στην υγεία

Στην προηγούμενη θεματική ενότητα αναφέρθηκαν αναλυτικά οι προτεινόμενοι τρόποι αντιμετώπισης της δυσανεξίας στη λακτόζη σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Υπάρχουν διάφορες προσεγγίσεις για τη θεραπεία των ασθενών αυτών μία όμως από τις πιο συνηθισμένες πρακτικές, ιδιαίτερα πριν την εμφάνιση στο εμπόριο πληθώρας προϊόντων ελεύθερων λακτόζης ή με χαμηλή περιεκτικότητα σε λακτόζη, ήταν ο αποκλεισμός των γαλακτοκομικών προϊόντων από τη διαίτα των ασθενών. Πλέον οι επαγγελματίες υγείας δεν συστήνουν στους ασθενείς μια δίαιτα πλήρους αλλά μερικού αποκλεισμού των γαλακτοκομικών, εκτός από εξαιρετικές περιπτώσεις ασθενών που δεν ανέχονται την παραμικρή ποσότητα λακτόζης. Οι ασθενείς είναι πιο εύκολο να προσκολληθούν σε μία δίαιτα μερικού αποκλεισμού, αλλά και η διαίτά τους είναι περισσότερο πλήρης διατροφικά. Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι η βασική και καλύτερη φυσική πηγή ασβεστίου. Άρα έστω και ένας μερικός αποκλεισμός των προϊόντων αυτών ίσως οδηγήσει στην ανεπαρκή πρόσληψη αυτού του μικροθρεπτικού συστατικού, γεγονός που θα έχει επίπτωση στη συνολική υγεία του ασθενούς. Ποιες είναι όμως οι πιθανές εκβάσεις των διαιτών αποκλεισμού των γαλακτοκομικών στην υγεία των ασθενών;

Η σύνδεση μεταξύ της πρόσληψης ασβεστίου και της υγείας των οστών είναι αδιαμφισβήτητη. Το ασβέστιο είναι το βασικότερο κατίον των οστών και η ανεπαρκής πρόσληψη μπορεί να έχει επίπτωση στην «κατασκευή» αλλά και στη διατήρηση μίας φυσιολογικής οστικής μάζας. Πέρα όμως από το ρόλο του ασβεστίου

στη δημιουργία και διατήρηση της οστικής μάζας έχει ένα ακόμη σημαντικό ρόλο στην προστασία από κατάγματα λόγω οστεοπόρωσης. Επιπλέον, φαίνεται ότι το ασβέστιο συνδυαστικά με πρωτεΐνη ίσως βοηθά και στην αποκατάσταση των οστών κατά την απώλεια της οστικής μάζας λόγω ηλικίας πέρα από τον προστατευτικό ρόλο που έχει στην καθυστέρηση αυτής της απώλειας. Τα γαλακτοκομικά διαθέτουν αυτόν τον ιδανικό συνδυασμό, καθώς αποτελούν εξαιρετική πηγή ασβεστίου αλλά και υψηλής βιολογικής αξίας πρωτεΐνης. Έτσι επιδρούν στη διατήρηση της μέγιστης οστικής μάζας και πιθανά στην αναστροφή της απώλειας οστικής μάζας λόγω οστεοπόρωσης. Πολλές φορές τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι εμπλουτισμένα με βιταμίνη D η οποία είναι επίσης απαραίτητη για την υγεία των οστών. Συνολικά, τα γαλακτοκομικά βοηθούν στη φυσιολογική ανάπτυξη των οστών, στην επίτευξη της μέγιστης οστικής μάζας αλλά και στη διατήρηση της οστικής πυκνότητας με την πάροδο της ηλικίας [3, 14].

Σε δύο μελέτες που αφορούν γυναίκες προεμμηνοπαυσιακής ηλικίας στην Φινλανδία, η οστική μάζα των γυναικών που δήλωσαν ότι πάσχουν από δυσανεξία στη λακτόζη, μετά από μέτρηση DXA, φάνηκε να είναι ελαφρώς μικρότερη μάλλον λόγω της χαμηλότερης πρόσληψης ασβεστίου που επίσης βρέθηκε. Επιπλέον ο κίνδυνος για κατάγματα γενικότερα ήταν ελαφρώς μεγαλύτερος στις γυναίκες με δυσανεξία στη λακτόζη αλλά δεν φάνηκε συσχέτιση με τα πιο συνηθισμένα σημεία καταγμάτων (καρπός, αστράγαλος και πλευρά) [17, 18].

Οι επιδράσεις του ασβεστίου στον ανθρώπινο οργανισμό δεν σταματούν εκεί. Το ασβέστιο που προσλαμβάνεται απορροφάται σε ποσοστό μόλις 10-11%. Αυτό αποτελεί ένα φυσιολογικό μηχανισμό που προστατεύει τον ανθρώπινο οργανισμό από την τοξικότητα λόγω υπερβολικής πρόσληψης ασβεστίου και στον οποίο προσαρμόστηκε ο άνθρωπος λόγω του ότι η πρόσληψη ασβεστίου παλιότερα ήταν αρκετά υψηλή. Το ασβέστιο που δεν απορροφάται συνδέεται στο έντερο με δυνητικά βλαβερά προϊόντα της πέψης όπως λιπαρά και χολικά οξέα που δεν έχουν απορροφηθεί και η παρουσία τους μπορεί να έχει καρκινογόνο δράση στο παχύ έντερο. Από κλινικές δοκιμές σε ζώα φαίνεται ότι ίσως η υψηλή πρόσληψη ασβεστίου να μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου. Επίσης, το ασβέστιο δημιουργεί συμπλέγματα με το οξαλικό οξύ μειώνοντας έτσι την κάθαρση του από τους νεφρούς και τελικά την πιθανότητα εμφάνισης λίθων

οξαλικού. Όμως το ασβέστιο έχει και συστηματικές δράσεις καθώς φαίνεται να μειώνει την πίεση του αίματος και τον κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας κατά την εγκυμοσύνη. Ένας τεράστιος όγκος βιβλιογραφίας υπάρχει επίσης σχετικά με την επίδραση της υψηλής πρόσληψης ασβεστίου και γαλακτοκομικών στην απώλεια σωματικού βάρους μέσω διαιτών μειωμένων θερμίδων καθώς και σχετικά με την επίδραση της υψηλής πρόσληψης γαλακτοκομικών σε όλες τις συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου (αρτηριακή πίεση, ινσουλινοαντίσταση και παχυσαρκία) [14].

Είναι σημαντικό να εξασφαλίζεται η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου για τους ασθενείς που εμφανίζουν δυσανεξία στη λακτόζη, όπως βέβαια και για το γενικό πληθυσμό, αφού οι δράσεις του ασβεστίου στον ανθρώπινο οργανισμό όπως έχει αποδειχθεί είναι πολλές και σημαντικές. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου για τους ενήλικες είναι 1000 mg/ημέρα (ισοδυναμούν περίπου με 3 φλιτζάνια γάλα) ενώ κατά την εφηβική ηλικία οι ανάγκες φτάνουν τα 1300 mg την ημέρα (ισοδυναμούν με περίπου 4 φλιτζάνια). Πιθανά είναι απαραίτητη η λήψη συμπληρώματος ασβεστίου και η κατανάλωση εμπλουτισμένων με ασβέστιο τροφίμων για τα άτομα που περιορίζουν την κατανάλωση των γαλακτοκομικών. Παρά την παρουσία δυσανεξίας στη λακτόζη, το ασβέστιο από το γάλα και τα υπόλοιπα γαλακτοκομικά προϊόντα απορροφάται εξίσου καλά και στους ασθενείς αυτούς [4, 16].

Υπάρχει όμως και η αντίθετη άποψη, σύμφωνα με την οποία η ανεπάρκεια λακτάσης δεν συνδέεται απαραίτητα με χαμηλότερη οστική πυκνότητα και κατάγματα. Για παράδειγμα στη μελέτη των Gugatschka et al. [19] συμμετείχαν 239 άντρες, ηλικίας 61 $\pm$ 9 ετών, Καυκάσιοι, με καταγωγή από την ίδια περιοχή. Ο σκοπός της μελέτης ήταν να εξετάσουν εάν υπήρχαν διαφορές στην οστική πυκνότητα, στην κατανάλωση ασβεστίου και σε παραμέτρους του οστικού μεταβολισμού στα άτομα με ανεπάρκεια και επάρκεια λακτάσης. Ο προσδιορισμός της ανεπάρκειας έγινε γενετικά. Στα αποτελέσματα φάνηκε ότι τα άτομα με υπολακτασία ήταν το 27% του συνολικού δείγματος (ομόζυγοι CC), το 55% ήταν ετερόζυγοι CT και το 18% ήταν ομόζυγοι TT. Η κατανάλωση τους γάλακτος ήταν χαμηλή για όλο το δείγμα καθώς αποτελούταν αποκλειστικά από άντρες. Όσον αφορά τον πολυμορφισμό της ανεπάρκειας της λακτάσης δεν φάνηκε να έχει επίδραση στην

κατανάλωση γάλακτος, στην οστική πυκνότητα και στη συχνότητα καταγμάτων. Επίσης, δεν υπήρχε διαφορά στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά ανάμεσα στις δύο ομάδες [19].

Σε μία ανασκόπηση των Bannan και Levitt [20] ερευνήθηκε η σχέση της κατανάλωσης ασβεστίου, γαλακτοκομικών και οστεοπόρωσης με την δυσανεξία στη λακτόζη. Το συμπέρασμα της ανασκόπησης είναι ότι τα προβλήματα που προκύπτουν από τη δυσανεξία στη λακτόζη συχνά υπερτονίζονται γιατί στην πραγματικότητα ακόμα και τα άτομα που εμφανίζουν τη δυσανεξία μπορούν να καταναλώσουν τουλάχιστον ένα φλιτζάνι γάλα ημερησίως χωρίς να εμφανίσουν δυσάρεστα συμπτώματα. Επίσης, για να καταναλώσουν ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες γαλακτοκομικών μπορούν να προτιμήσουν το γιαούρτι που περιέχει βακτηριακή λακτάση και σκληρά τυριά τα οποία περιέχουν ίχνη λακτόζης [20].

Η μελέτη των Corazza και συνεργατών [21] προέρχεται από μία μεσογειακή χώρα με υψηλό επιπολασμό ανεπάρκειας λακτάσης, την Ιταλία. Σε 58 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με καταγωγή από την Ιταλία με μέση ηλικία τα 57 έτη, αξιολογήθηκαν η οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης, το υδρογόνο στην αναπνοή των εθελοντριών μετά από λήψη 20 γραμμαρίων λακτόζης, η ένταση των συμπτωμάτων της δυσανεξίας μετά από κατανάλωση λακτόζης και η ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρχε διαφορά στην οστική πυκνότητα και στην πρόσληψη ασβεστίου ανάμεσα στις γυναίκες που είχαν θετικό ή αρνητικό τεστ αναπνοής υδρογόνου. Τα παραπάνω όμως ήταν αρκετά χαμηλότερα στις γυναίκες που είχαν δυσαπορρόφηση λακτόζης και παρουσία συμπτωμάτων σε σχέση με αυτές που εμφάνιζαν μεν δυσαπορρόφηση όχι όμως και συμπτώματα. Φαίνεται ότι η πρόσληψη ασβεστίου και η οστική πυκνότητα δεν επηρεάζονται άμεσα από τη δυσαπορρόφηση λακτόζης αλλά από την παρουσία ή όχι συμπτωμάτων [21].

Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγουν ο Di Stefano και οι συνεργάτες του [22] οι οποίοι μελέτησαν την οστική πυκνότητα νεαρών ατόμων ώστε να συμπεράνουν εάν η δυσαπορρόφηση λακτόζης και η δυσανεξία στη λακτόζη επιδρούν στη μέγιστη οστική πυκνότητα των εθελοντών. Στη μελέτη συμμετείχαν 103 υγιείς εθελοντές από τους οποίους οι 55 είχαν δυσαπορρόφηση λακτόζης και οι 29 από τους 55 εμφάνιζαν συμπτώματα δυσανεξίας. Μετρήθηκε η οστική πυκνότητα μέσω απορροφισιομετρίας

ακτινών X διπλής ενέργειας (DXA) στην περιοχή της οσφυϊκής μοίρας και του μηριαίου οστού και αξιολογήθηκαν η πρόσληψη ασβεστίου και βιοχημικοί δείκτες του οστικού μεταβολισμού. Οι παραπάνω παράμετροι δεν διέφεραν ανάμεσα στους εθελοντές που είχαν φυσιολογική απορρόφηση λακτόζης ή όχι αλλά διέφεραν σημαντικά σε σχέση με τα άτομα που εμφάνιζαν συμπτώματα δυσανεξίας (διάρροια, κοιλιακός πόνος, διάταση, μετεωρισμός). Το συμπέρασμα είναι ότι η δυσανεξία στη λακτόζη και όχι η δυσαπορρόφηση καθαυτή μπορεί να αποτρέψει την επίτευξη επαρκούς οστικής μάζας και άρα πιθανά να προδιαθέσει το άτομο στην εμφάνιση οστεοπόρωσης στο μέλλον [22].

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν και τα αποτελέσματα μιας διπλά-τυφλής τυχαιοποιημένης κλινικής δοκιμής των Suarez et. al [23] η οποία αξιολόγησε τα συμπτώματα της δυσαπορρόφησης λακτόζης όταν η δίαιτα των εθελοντών περιείχε γαλακτοκομικά προϊόντα που παρείχαν 1300 mg ασβεστίου ανά ημέρα. Στην κλινική δοκιμή συμμετείχαν 62 γυναίκες (31 με δυσαπορρόφηση λακτόζης και 31 χωρίς) και συγκρίθηκαν τα συμπτώματα που εμφάνισαν μετά από 1 εβδομάδα κατανάλωσης 480 mL γάλακτος, 56 g τυριού και 240 mL γιαουρτιού (34 g λακτόζης/ημέρα) ως συμβατικά τρόφιμα και μετά από 1 εβδομάδα κατανάλωσης των παραπάνω ως προϊόντα με λακτόζη που έχει υποστεί εκ των προτέρων υδρόλυση (2 g λακτόζης/ημέρα). Οι γυναίκες που δεν είχαν πρόβλημα πέψης της λακτόζης δεν εμφάνισαν καμία διαφορά στα συμπτώματα μετά από τις 2 περιόδους κατανάλωσης των γαλακτοκομικών. Από την άλλη, οι γυναίκες που εμφάνιζαν δυσαπορρόφηση ανέφεραν αυξημένη συχνότητα μετεωρισμού και αερίων κατά την περίοδο που κατανάλωναν τα προϊόντα με μεγάλη ποσότητα λακτόζης. Παρόλα αυτά η κοιλιακή διάταση, ο κοιλιακός πόνος, η διάρροια καθώς και η γενικότερη αντίληψη της σοβαρότητας των συμπτωμάτων δεν διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις 2 περιόδους κατανάλωσης γαλακτοκομικών. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι τα συμπτώματα λόγω της δυσαπορρόφησης δεν είναι τελικά τόσο μεγάλο εμπόδιο για την προσκόλληση σε μία δίαιτα πλούσια σε γαλακτοκομικά η οποία παρέχει περίπου 1500 mg ασβεστίου την ημέρα και τελικά υπερκαλύπτει τη σύσταση που έχει θεσπιστεί για την πρόσληψη ασβεστίου για το γενικό πληθυσμό [23].

Επιπλέον, σε μία πολύ πρόσφατη ανασκόπηση του 2015 ο Lukito και οι συνεργάτες του [24] εξέτασαν την επίδραση της δυσανεξίας στο περιεχόμενο της

διατροφής των ασθενών αυτών σε λακτόζη. Μέρος αυτής της ανασκόπησης αναφέρεται και στις εκβάσεις στην υγεία των ατόμων που εμφανίζουν συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης ή όχι. Από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι τα άτομα που έχουν φυσιολογική πέψη της λακτόζης δεν έχουν κάποιο πλεονέκτημα στη συνολικής τους υγεία σε σχέση με τα άτομα με δυσσαπορρόφηση. Κι αυτό γιατί μπορεί μεν να έχουν τη δυνατότητα να καταναλώσουν περισσότερες μερίδες γαλακτοκομικών, αυτές οι μεγαλύτερες ποσότητες όμως δεν έχουν κάποιο επιπλέον όφελος για την υγεία (π.χ. καρδιαγγειακή λειτουργία, προστασία από τον καρκίνο του παχέος εντέρου). Μάλιστα αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι ανάμεσα στους πληθυσμούς με το μεγαλύτερο προσδόκιμο επιβίωσης παγκοσμίως συγκαταλέγονται και πληθυσμοί με μεγάλο επιπολασμό ανεπάρκειας λακτάσης όπως διάσπαρτα χωριά της βορειοανατολικής Ασίας στην Ιαπωνία, τη δυτική Κίνα και στα Νησιά Κινμέν [24].

Συσχέτιση ανεπάρκειας λακτάσης και κατανάλωσης γαλακτοκομικών

Η υπολακτασία και κατά συνέπεια και η ανάγκη περιορισμού των γαλακτοκομικών προϊόντων στην καθημερινή διατροφή των ασθενών πέρα από τις επιδράσεις που έχει στην υγεία, πιθανά έχει επηρεάσει και την επιλογή των διατροφικών προτύπων. Έχει παρατηρηθεί ότι τα άτομα με υπολακτασία καταναλώνουν λιγότερο φρέσκο γάλα, κάτι που μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη, την ενέργεια και τα αποθέματά τους σε ασβέστιο [3]. Στη συνέχεια αναφέρονται ενδεικτικά κάποιες μελέτες που υπάρχουν στη βιβλιογραφία σχετικά με την υπολακτασία και την επίδρασή της στην κατανάλωση γαλακτοκομικών. Σε όλες τις μελέτες που θα αναφερθούν η υπολακτασία έχει προσδιορισθεί με τη γενετική μέθοδο.

Ο πληθυσμός της Εσθονίας φαίνεται να έχει μελετηθεί εκτενώς όσον αφορά τη μη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης. Σκοπός της μελέτης των Lember et al [25] ήταν να προσδιορίσουν τη συχνότητα των αλληλομόρφων C/T-13910 που σχετίζονται με τη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης καθώς και να αναλύσουν την κατανάλωση γάλακτος των ατόμων με υπολακτασία. Στα αποτελέσματά τους φάνηκε ότι το 24,8% των ντόπιων Εσθονών ήταν ομόζυγο (C/C) για τη μη συνεχιζόμενη

έκφραση της λακτάσης και κατανάλωναν λιγότερο γάλα σε σχέση με τους εθελοντές που είχαν φυσιολογική πέψη και απορρόφηση της λακτόζης [25].

Μία ακόμη πληθυσμιακή μελέτη πραγματοποιήθηκε στην Εσθονία στην οποία συμμετείχαν 367 άντρες και γυναίκες ηλικίας 25-70 ετών [26]. Πέρα από το γενετικό προσδιορισμό της υπολακτασίας συλλέχθηκαν δεδομένα μέσω ερωτηματολογίων για την κατανάλωση γάλακτος και γενικά γαλακτοκομικών προϊόντων αλλά και για την αυτοδιαγνωσμένη δυσανεξία στη λακτόζη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όχι η υπολακτασία αλλά η δυσανεξία στο γάλα διαγνωσμένη από τα ίδια τα άτομα για τον εαυτό τους, τους οδηγούσε στην μείωση κατανάλωσης του γάλακτος γεγονός που στη συνέχεια είχε δυσμενή επίπτωση και στον οστικό μεταβολισμό [26].

Μία ακόμη μελέτη διεξήχθη στην Φινλανδία, της οποίας τα αποτελέσματα δημοσιεύτηκαν το 2007 [27]. Ο σκοπός της ήταν να μελετηθούν η κατανάλωση γάλακτος και τα υποκειμενικά συμπτώματα που εμφανίζονται μετά την κατανάλωση σε άτομα με πρωτοπαθή υπολακτασία η οποία έχει προσδιοριστεί γενετικά. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 1900 ενήλικες Φινλανδοί, από τους οποίους το 18% είχε πρωτοπαθή υπολακτασία (γονότυπο C/C). Τα άτομα αυτά έπιναν λιγότερο γάλα σε σχέση με τα άτομα που ήταν ετερόζυγα (C/T) και λιγότερο σε σχέση με τα ομόζυγα (T/T). Συγκεκριμένα, έπινε γάλα το 18% έναντι του 38% των ετερόζυγων ατόμων και 18% έναντι του 36% των ομόζυγων T/T. Οι εθελοντές που είχαν το γονότυπο C/C συνδυαστικά με την εμφάνιση γαστρεντερικών προβλημάτων μετά την κατανάλωση γάλακτος ήταν αυτοί που σε μεγαλύτερο βαθμό δήλωσαν ότι απέφευγαν την κατανάλωσή του. Παρόλα αυτά υπήρχε και ένα καθόλου αμελητέο ποσοστό των ετερόζυγων C/T (54%) αλλά και των ομόζυγων T/T (50%) εθελοντών που δήλωσαν ότι το γάλα τους προκαλεί συμπτώματα και γι'αυτό αποφεύγουν την κατανάλωσή του [27].

Την ίδια συσχέτιση επιχείρησαν να εξετάσουν οι Almon, Sjostrom και Nilsson [28] αυτή τη φορά σε παιδιά και εφήβους, στη Σουηδία. Τα παιδιά που συμμετείχαν ήταν 298 και οι έφηβοι 386. Ο πολυμορφισμός που μελετήθηκε γενετικά ήταν επίσης ο C/T 13910. Και εδώ φάνηκε ότι η μη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης σχετίζεται με αποφυγή κατανάλωσης γάλακτος στην ομάδα των εφήβων, όχι όμως και στην ομάδα των παιδιών. Δεν φάνηκε καμία διαφορά στις ανθρωπομετρικές μεταβλητές, στους δείκτες σωματικού λίπους και στην πρόσληψη βιταμίνης D

ανάμεσα στα παιδιά και τους εφήβους που είχαν διαφορετική κατανάλωση γάλακτος [28].

Η επιρροή της γενετικά καθοριζόμενης υπολακτασίας στην κατανάλωση γάλακτος και τα γαστρεντερικά συμπτώματα εξετάστηκε και στον πληθυσμό της Βόρειας Ρωσίας. Τα αποτελέσματα της μελέτης, που δημοσιεύτηκε το 2011 και στην οποία συμμετείχαν 518 μαθητές και φοιτητές ηλικίας 17-26 ετών [29], έδειξαν ότι γενικά ο συγκεκριμένος πληθυσμός καταναλώνει μικρές ποσότητες γάλακτος. Ο επιπολασμός του γονοτύπου C/C ήταν 35% και τα άτομα αυτά κατανάλωναν γάλα κατά 10% λιγότερο σε σχέση με τα άτομα που είχαν φυσιολογική έκφραση του ενζύμου (32,2% έναντι 42%). Η κατανάλωση γάλακτος οδηγούσε στην εμφάνιση γαστρεντερικών συμπτωμάτων στο 13,3% των εθελοντών με υπολακτασία και στο 7,1% των εθελοντών με γονότυπο C/T και T/T [29].

Παρόμοιες μελέτες έγιναν και στην Ινδία, αυτή τη φορά χρησιμοποιώντας και τους δύο πολυμορφισμούς που με σχετίζονται με υπολακτασία (-13910 C/T και -22018 G/A). Στην πρώτη μελέτη, που δημοσιεύτηκε το 2012 [30], αξιολογήθηκε η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου που σχετίζεται με την υπολακτασία καθώς και το μοτίβο κατανάλωσης γάλακτος σε διάφορες πληθυσμιακές ομάδες της Ινδίας. Ο μεγαλύτερος επιπολασμός ανεπάρκειας λακτάσης εντοπίστηκε στους βόρειους Ινδούς και ο μικρότερος στους Parsis. Σ'αυτήν την τελευταία ομάδα εντοπίστηκε και ο μικρότερος επιπολασμός κατανάλωσης γάλακτος. Οι ερευνητές καταλήγουν ότι στον πληθυσμό που μελέτησαν η κατανάλωση γάλακτος επηρεάζεται από τις διατροφικές τους συνήθειες και την παράδοση των προγόνων τους, ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με τους γονότυπους της ανεπάρκειας λακτάσης [30].

Η δεύτερη ακόμα πιο πρόσφατη μελέτη της Ινδίας [31] εξέτασε την επίδραση της ηλικίας, του φύλου και των γενετικών πολυμορφισμών στην εμφάνιση δυσανεξίας στη λακτόζη και στη συνέχεια το αντίκτυπο αυτής στην κατανάλωση γάλακτος. Ο πληθυσμός της μελέτης ήταν 205 υγιείς ενήλικες Ινδοί. Στα αποτελέσματα φαίνεται ότι η εμφάνιση δυσανεξίας στη λακτόζη σχετίζεται ισχυρά με την παρουσία γονοτύπων που οδηγούν σε ανεπάρκεια λακτάσης, ενώ σχετίζεται και με το φύλο (οι γυναίκες βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης). Από την άλλη, η ηλικία δεν σχετίζεται με την εμφάνιση δυσανεξίας. Τα δεδομένα επίσης δείχνουν ότι ο γονότυπος της υπολακτασίας και η δυσανεξία στη λακτόζη πιθανά

παίζουν ρόλο στην κατανάλωση γάλακτος (η συχνότητα αλλά και η ποσότητα γάλακτος που καταναλώναν ήταν μικρότερη σ' αυτά τα άτομα) [31].

Υπάρχει μία ακόμη μελέτη που αφορά πληθυσμό Καυκάσιων και αναφέρθηκε και στην προηγούμενη θεματική ενότητα. Διεξήχθη από τους Gugatschka et al. [19] και δημοσιεύθηκε το 2007. Συμμετείχαν 239 ηλικιωμένοι (61+/- 9 ετών), Καυκάσιοι με καταγωγή από την ίδια περιοχή, από τους οποίους το 27% είχε γονότυπο C/C (ανεπάρκεια λακτάσης). Η κατανάλωση γάλακτος φάνηκε ότι ήταν γενικά χαμηλή σ' αυτήν την πληθυσμιακή ομάδα αλλά οι ερευνητές υποστηρίζουν ότι ο πολυμορφισμός που σχετίζεται με την υπολακτασία δεν είναι αυτό που επηρέασε τα ποσοστά κατανάλωσης γάλακτος στους άνδρες οι οποίοι προτιμούν ούτως ή άλλως άλλες πηγές ασβεστίου [19].

Τέλος, παρουσιάζεται μία μελέτη που αφορά μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στις οποίες ερευνήθηκε η γενετική προδιάθεση για πρωτοπαθή υπολακτασία και η συσχέτισή της με τη δίαιτά τους, την οστική πυκνότητα και τα οστικά κατάγματα [32]. Και σ' αυτήν την περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ο πολυμορφισμός -13910 C/T σε ένα πληθυσμό 258 Αμερικανίδων σε μετεμμηνοπαυσιακή ηλικία. Οι 61 από τις 258 γυναίκες είχαν ανεπάρκεια λακτάσης. Από αυτές το 10% είχε αποστροφή προς το γάλα και το 26% απέφευγε την κατανάλωση γάλακτος. Τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 8% και 8% στις εθελόντριες με γονότυπο TT και 14% και 5% στις ετερόζυγες εθελόντριες. Ο πολυμορφισμός -13910 C/T φαίνεται ότι σχετίζεται με την κατανάλωση γάλακτος αφού οι εθελόντριες που είχαν γενετική προδιάθεση για υπολακτασία το απέφευγαν στο μεγαλύτερο ποσοστό [32].

Οι επόμενες μελέτες εξετάζουν τη δυσανεξία στη λακτόζη, την αυτοδηλούμενη δυσανεξία στο γάλα και τη σχέση τους με τη δυσαπορρόφηση λακτόζης και την κατανάλωση γάλακτος. Στη μελέτη του Carroccio και των συνεργατών του [33] συμμετείχαν 323 εθελοντές από τυχαιοποιημένο δείγμα του γενικού πληθυσμού σε ένα μικρό κέντρο της Σικελίας. Οι εθελοντές χωρίστηκαν σε 2 ομάδες: αυτούς που δήλωναν οι ίδιοι ότι έχουν δυσανεξία στο γάλα και σε αυτούς που δήλωναν ότι δεν έχουν δυσανεξία. Στη συνέχεια υπεβλήθησαν σε τεστ αναπνοής υδρογόνου. Το 32,2% του συνόλου των εθελοντών είχε δυσαπορρόφηση λακτόζης αλλά δεν είχε δυσανεξία, ενώ μόνο το 4% είχε δυσαπορρόφηση και εμφάνιζε δυσανεξία. Επίσης 49 εθελοντές από τους 323 είχαν δηλώσει ότι έχουν δυσανεξία στο γάλα και τελικά

μόλις οι 5 είχαν δυσασπορρόφηση και δυσανεξία στη λακτόζη. Σ' αυτή την ομάδα, των 49 ασθενών, η κατανάλωση γάλακτος ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με τον υπόλοιπο πληθυσμό της μελέτης. Το συμπέρασμα των ερευνητών είναι ότι στο γενικό πληθυσμό η συχνότητα της δυσανεξίας στη λακτόζη είναι πολύ μικρότερη από αυτή της δυσασπορρόφησης ενώ τελικά γαστρεντερικά συμπτώματα μετά την κατανάλωση λακτόζης εμφανίζονται σε ένα πολύ μικρό ποσοστό των ατόμων που δηλώνουν οι ίδιοι ότι έχουν δυσανεξία στο γάλα. Έτσι, προβαίνουν σε αδικαιολόγητη μείωση στην κατανάλωση γάλακτος και οδηγούνται σε ανεπαρκή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου [33].

Ανάλογα συμπεράσματα προέκυψαν και από μία έρευνα που δημοσιεύθηκε το 2013 και αφορά ενήλικες Καναδούς [34]. Η έρευνα ήταν διαδικτυακή και συμμετείχαν 2251 Καναδοί άνω των 19 ετών. Από αυτούς το 16% δήλωσε ότι εμφανίζει δυσανεξία στη λακτόζη. Οι γυναίκες, της μη λευκής φυλής και κάτω των 50 ετών ήταν πιο πιθανό να δηλώσουν ότι εμφανίζουν δυσανεξία και οι εθελοντές που δήλωσαν ότι έχουν δυσανεξία κατανάλωναν μικρότερη ποσότητα γαλακτοκομικών. Αυτές οι διακυμάνσεις στην αυτοδηλουμένη δυσανεξία στη λακτόζη ανάλογα με το φύλο, την ηλικία και την φυλή ήταν απρόσμενες, σύμφωνα με τους ερευνητές, και πιθανά υποδεικνύουν ότι κάποιες πληθυσμιακές ομάδες είναι πιο εύαλωτες στην αντίληψη ότι έχουν δυσανεξία στη λακτόζη. [34]

Η αποφυγή κατανάλωσης γάλακτος και γαλακτοκομικών μπορεί να οφείλεται σε διάφορες λόγους, όπως η δυσανεξία στη λακτόζη ή μία γαστρεντερική διαταραχή που λανθασμένα αντιλαμβάνονται κάποιοι ασθενείς ως δυσανεξία. Οι O'Connor, Eaton και Savaiano [35] έφεραν εις πέρας μία μελέτη παρέμβασης για να εξετάσουν αν η κατανάλωση γάλακτος για 21 ημέρες από άτομα που απέφευγαν την κατανάλωσή του μπορούσε να οδηγήσει στην αναστροφή της αποστροφής αυτής. Την παρέμβαση καθώς και τα δύο follow-up ολοκλήρωσαν 24 άτομα τα οποία είχαν υποβληθεί στην αρχή της παρέμβασης σε τεστ αναπνοής υδρογόνου ώστε να αναγνωριστούν οι εθελοντές με τη δυσασπορρόφηση λακτόζης. Οι εθελοντές και των 2 ομάδων είχαν σημαντική μείωση των δυσάρεστων συμπτωμάτων μετά την κατανάλωση γάλακτος ύστερα από την ολοκλήρωση της παρέμβασης. Επίσης, οι εθελοντές δήλωσαν, ανεξάρτητα από την δυνατότητά τους ή όχι να πέπτουν τη λακτόζη, ότι αυξήθηκε η ποσότητα γάλακτος που τους άρεσε να καταναλώνουν και

μειώθηκε η αποστροφή τους προς αυτό. Άρα, πιθανά μια συνεχής έκθεση στο γάλα στα άτομα που το αποφεύγουν μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της ποσότητας που ανέχονται αλλά και τους αρέσει να καταναλώνουν και τελικά σε μειωμένη πιθανότητα ανεπαρκούς κατανάλωσης ασβεστίου [35].

ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

Οι πολυμορφισμοί που σχετίζονται με τη ρύθμιση της έκφρασης της λακτάσης

Σύμφωνα με μελέτες που έχουν χρησιμοποιήσει ως δείγμα οικογένειες, η πρωτοπαθής υπολακτασία που εμφανίζεται στην ενήλικη ζωή είναι ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο κληρονομούμενο γνώρισμα. Η μείωση της ενεργότητας της λακτάσης μετά την περίοδο του θηλασμού είναι ένα φυσιολογικό φαινόμενο. Οι μεταλλάξεις που εμφανίστηκαν στην ανθρώπινη εξελικτική ιστορία είχαν ως αποτέλεσμα σχεδόν το μισό του παγκόσμιου πληθυσμού να ανέχεται τη λακτόζη, και κατά συνέπεια το γάλα, και στην ενήλικη ζωή του. Η συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης είναι επικρατές γνώρισμα σε σχέση με τη μη συνεχιζόμενη έκφραση, πράγμα που σημαίνει ότι αρκεί ένα αλληλόμορφο για να διατηρείται επαρκής ενεργότητα του ενζύμου «λακτάση» [36].

Αρχικά υποψήφιο γονίδιο στο οποίο οφείλεται η υπολακτασία εύλογα θεωρήθηκε το γονίδιο της λακτάσης (LCT) στο χρωμόσωμα 2q21-22. Πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές και πολλαπλές γενετικές αναλύσεις και δοκιμασίες δυσανοχής λακτόζης στις οποίες προσδιορίστηκε ο φαινότυπος σε συνδυασμό με γενετικούς δείκτες σε μέλη φινλανδικών οικογενειών. Ο γενετικός τόπος που αποδείχθηκε πιθανότερα να είναι υπεύθυνος εντοπιζόταν εκτός του γονιδίου της λακτάσης [36].

Η μελέτη που απέδειξε ότι ο υπεύθυνος γενετικός τόπος εντοπίζεται εκτός του γονιδίου πραγματοποιήθηκε από τον Enattah και τους συνεργάτες του και τα αποτελέσματά της δημοσιεύτηκαν το 2002 [37]. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι ένα μόριο με δράση cis είναι υπεύθυνο για το φαινότυπο της υπολακτασίας. Ακολούθησε σύγκριση αλληλουχιών 47 kb στο χρωμόσωμα 2q21 σε μέλη οικογενειών με απλότυπους ομόζυγους για υπολακτασία, ετερόζυγους και ομόζυγους για συνεχιζόμενη έκφραση λακτάσης η οποία κατέληξε στην αναγνώριση 52 παραλλαγών. Οι 2 από αυτές, C-T που βρίσκεται 13910 ζεύγη βάσεων ανοδικά του γονιδίου της λακτάσης και G-A που βρίσκεται 22018 ζεύγη βάσεων ανοδικά του γονιδίου της λακτάσης, έδειξαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τη συνεχιζόμενη ή μη έκφραση της λακτάσης. Η συσχέτιση του πολυμορφισμού C/T₋₁₃₉₁₀ με την

ενεργότητα δισακχαριδασών που προσδιορίστηκε βιοχημικά και με το λόγο λακτάση/σουκράση ταυτοποιήθηκε σε περισσότερα από 600 δείγματα βιοψίας. Ο πολυμορφισμός αυτός βρίσκεται σε μη κωδικεύουσα περιοχή στο γονιδίωμα και συγκεκριμένα στο ιντρόνιο 13 του γονιδίου *MCM6*. Ο γονότυπος C/C₋₁₃₉₁₀ σχετιζόταν πάντα με χαμηλή ενεργότητα λακτάσης και οι γονότυποι C/T₋₁₃₉₁₀ T/T₋₁₃₉₁₀ σχετιζόνταν με επαρκή έκφραση λακτάσης [36, 37]. Ο πολυμορφισμός C/T₋₁₃₉₁₀ σχετίστηκε απόλυτα με υπολακτασία η οποία προσδιορίστηκε βιοχημικά στις φινλανδικές οικογένειες και σε δείγματα 236 ατόμων από τέσσερις διαφορετικούς πληθυσμούς. Πέρα από τους εθελοντές φινλανδικής καταγωγής υπήρχαν δείγματα ατόμων και από την Ιταλία, τη Γερμανία και τη νότια Κορέα. Εντοπίστηκε και μία δεύτερη παραλλαγή, G/A₋₂₂₀₁₈, σε απόσταση 8 χιλιάδων βάσεων από την πρώτη, η οποία επίσης σχετίζεται με το γνώρισμα αυτό στις 229 από τις 236 περιπτώσεις. Ο επιπολασμός της παραλλαγής C/T₋₁₃₉₁₀ σε 1047 δείγματα DNA είναι συνεπής με τον επιπολασμό που έχει καταγραφεί για την υπολακτασία σ'αυτούς τους τέσσερις διαφορετικούς πληθυσμούς. Επίσης εφόσον η παραλλαγή αυτή εντοπίζεται και στους τέσσερις πληθυσμούς, οι οποίοι έχουν πολύ μακρινό κοινό πρόγονο, θα πρέπει να υπάρχει από πολλά χρόνια πριν [37]. Τα κύρια αποτελέσματα της μελέτης φαίνονται στον πίνακα 2.1.1.

Πίνακας 2.1.1:

Table 3 • Distribution of genotypes in individuals with biochemically verified lactase persistence or non-persistence								
		C/T ₋₁₃₉₁₀			G/A ₋₂₂₀₁₈			Total
Genotype		CC	CT	TT	GG	GA	AA	
Family members	lactase non-persistence	45	0	0	45	0	0	45
	lactase persistence	0	32	13	0	32	13	45
Case-control samples								
Finnish	lactase non-persistence	59	0	0	53	6	0	59
	lactase persistence	0	63	74	0	63	74	137
Non-Finnish*	lactase non-persistence	40	0	0	39	1	0	40
	lactase persistence	0	5	0	0	5	0	5
Total	lactase non-persistence							144
	lactase persistence							187

*Non-Finnish samples consist of 23 South Korean, 9 Italian and 8 German individuals.

Οι ίδιοι ερευνητές (Enattah et. al) δημοσίευσαν το 2007 μελέτη [38], τα αποτελέσματα της οποίας επιβεβαιώνουν τη συσχέτιση της ενεργότητας της λακτάσης με την παραλλαγή C/T ₋₁₃₉₁₀ ανεξάρτητα από την ηλικία στον ενήλικο πληθυσμό. Χρησιμοποίησαν βιοψίες του εντέρου από 222 ενήλικες, ηλικίας 18-83 ετών οι οποίοι υπεβλήθησαν σε γαστροσκόπηση εξαιτίας ενοχλήσεων στην κοιλιακή χώρα αγνώστου αιτιολογίας. Στα δείγματα βιοψίας μετρήθηκε η ενεργότητα της λακτάσης, της σουκράσης και της μαλτάσης και προσδιορίστηκε ο γονότυπος των ατόμων για τον πολυμορφισμό C/T ₋₁₃₉₁₀. Τα αποτελέσματα έδειξαν ισχυρή συσχέτιση της ενεργότητας της λακτάσης και του πολυμορφισμού και μάλιστα στην πλειοψηφία των εθελοντών (>84%) με τον γονότυπο C/C ₋₁₃₉₁₀ ο οποίος σχετίζεται με υπολακτασία, η ενεργότητα της λακτάσης ήταν κάτω από 10 U/g πρωτεΐνης όταν το όριο για να θεωρηθεί ότι το άτομο πάσχει από υπολακτασία είναι 17-20 U/g. Από την άλλη, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ενεργότητα των ενζύμων ανάμεσα στις διαφορετικές ηλικιακές ομάδες [38].

Ο προσδιορισμός του γονοτύπου για τον παραπάνω πολυμορφισμό φαίνεται να είναι ένα καλό διαγνωστικό εργαλείο για την υπολακτασία στην Ευρώπη. Στην περιοχή όμως της υποσαχάριας Αφρικής αλλά και στους Βεδουίνους της αραβικής χερσονήσου όπου έχουν καταγραφεί υψηλά ποσοστά συνεχιζόμενης έκφρασης της λακτάσης, το αλληλόμορφο T ₋₁₃₉₁₀ είναι σπάνιο. Το ίδιο καταγράφηκε και σε μία ομάδα ατόμων σουδανικής καταγωγής. Μία προφανής ερμηνεία των παραπάνω παρατηρήσεων είναι ότι το αλληλόμορφο δεν προκαλεί τη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης αλλά σχετίζεται ισχυρά με το γενετικό τόπο που ευθύνεται για τη φυσιολογική έκφραση. Έτσι ακολούθησαν 3 μελέτες στις οποίες εντοπίστηκαν αρκετές παραλλαγές σε άλλες αλληλουχίες πολύ κοντά όμως στο προηγούμενο αλληλόμορφο, 2 από τις οποίες έχουν ξεκάθαρη συσχέτιση με τη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης σε διάφορα μέρη της ανατολικής Αφρικής. Τα αλληλόμορφα που σχετίζονται με την έκφραση της λακτάσης είναι τα -13915*G (rs41380347) και -14010*C (rs145946881). Το πρώτο αλληλόμορφο σχετίζεται επίσης με υψηλή έκφραση λακτάσης και στους πληθυσμούς της Σαουδικής Αραβίας. Τέλος υπάρχει και ένα τρίτο αλληλόμορφο, το -13907*G (rs41525747), το οποίο βρέθηκε σε αρκετές μελέτες αλλά δεν σχετιζόταν στατιστικά σημαντικά με το φαινότυπο. [39, 40] Η λειτουργικότητα των νέων πολυμορφισμών δεν επιβεβαιώνεται. Φαίνεται ότι ξεχωριστά ο κάθε πολυμορφισμός δεν επηρεάζει την έκφραση της λακτάσης όπως ο

C/T₋₁₃₉₁₀ αλλά και οι τρεις βρίσκονται σε μία περιοχή 100 ζ.β. η οποία συνολικά ενισχύει την έκφραση του ενζύμου *in vitro* [39].

Γεωγραφική περιοχή	Αλληλόμορφο συνεχιζόμενης έκφρασης
Ευρώπη	-13910 T, -22018 A
Σαουδική Αραβία	-13910 T, -13915 G
Βόρεια Αφρική	-13910 T
Υποσαχάρια Αφρική	-14010 C
Σουδάν	-13915 G, -13907 G

Η αλληλούχιση της περιοχής κοντά στο γονίδιο της λακτάσης οδήγησε στον εντοπισμό μεγάλου αριθμού μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών οι οποίοι είναι χρήσιμοι ως γενετικοί δείκτες. Από αυτούς, 11 μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί χρησιμοποιήθηκαν για να καθοριστούν οι απλότυποι του γονιδίου. Βρέθηκαν 4 απλότυποι 60 kb, οι A, B, C και U, παγκοσμίως. Μόνο οι A, B και C υπάρχουν στον ευρωπαϊκό πληθυσμό. Μελέτες συσχέτισης και αναλύσεις της έκφρασης του mRNA δείχνουν υψηλή και στατιστικά σημαντική συσχέτιση της φυσιολογικής έκφρασης της λακτάσης με τον απλότυπο A, ο οποίος είναι ο πιο συχνός στους Ευρωπαίους και ευθύνεται για το 87% των χρωμοσωμάτων των βόρειων Ευρωπαίων [41].

Η έρευνα των Harvey et. al. η οποία δημοσιεύτηκε το 1998 [42], δηλαδή πριν βρεθεί ότι οι πολυμορφισμοί C/T₋₁₃₉₁₀ και G/A₋₂₂₀₁₈ σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με τη ρύθμιση της έκφρασης της λακτάσης, αναφέρει επίσης 3 απλότυπους (A,B,C) που εντοπίζονται στον ευρωπαϊκό πληθυσμό. Μελετώντας τις συχνότητες των απλοτύπων στους Καυκάσιους φάνηκε ότι ο απλότυπος A είναι πιο συχνός στους βόρειους Ευρωπαίους και κατά κανόνα σχετίζεται με συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης στην ενήλικη ζωή. Οι απλότυποι B και C είναι πιο συχνόι στη νότια Ευρώπη και στον πληθυσμό της Ινδίας με καταγωγή από την καυκάσια φυλή. Η μείωση της έκφρασης της λακτάσης εντοπίζεται σε όλους τους απλότυπους, συμπεριλαμβανομένου και του A. Τα αποτελέσματα αυτά οδήγησαν τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι η συνεχιζόμενη έκφραση εμφανίστηκε σαν χαρακτηριστικό μεταγενέστερα από τους πολυμορφισμούς που χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες για να καθορίσουν τους απλότυπους των Καυκάσιων και πιθανά εμφανίστηκε ως μία

μετάλλαξη σε πληθυσμούς με υπόβαθρο τον απλότυπο A. Άλλωστε η μεγάλη συχνότητα του απλότυπου A στους βόρειους Ευρωπαίους συνάδει με την μεγάλη συχνότητα της συνεχιζόμενης έκφρασης της λακτάσης που παρατηρείται στον πληθυσμό αυτό [42].

Το 2001, επίσης πριν τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων του Enattah, ο Hollox και οι συνεργάτες του [43] μελέτησαν τους απλοτύπους A, B, C και U και τη συχνότητα τους στον «Παλαιό Κόσμο», δηλαδή στην Ευρώπη, την Ασία και την Αφρική. Οι απλότυποι δεν συνδέονταν ιδιαίτερα μεταξύ τους και η συχνότητα τους διέφερε ανάμεσα στους πληθυσμούς. Και εδώ ο απλότυπος A φαίνεται να είναι πιο συχνός στη βόρεια Ευρώπη, όπου η συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης στους ενήλικες είναι συχνή. Η ποικιλία εμφάνισης των απλοτύπων είναι μεγαλύτερη στον πληθυσμό της υποσαχάριας Αφρικής σε σχέση με τα άτομα μη Αφρικανικής καταγωγής. Αυτό επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι υπάρχει διαφοροποίηση στη γενετική ποικιλότητα της Αφρικής σε σχέση με τον υπόλοιπο «Παλαιό Κόσμο». Οι τέσσερις απλότυποι διαφέρουν μεταξύ τους σε 3 ή και περισσότερα σημεία [43].

Ο Enattah το 2002 [37] δημοσίευσε τα αποτελέσματα της μελέτης που ήταν καθοριστικά για το γενετικό υπόβαθρο της ρύθμισης της έκφρασης της λακτάσης. Εντόπισε τους δύο πολυμορφισμούς οι οποίοι μέχρι και σήμερα θεωρείται ότι σχετίζονται με την έκφραση της λακτάσης και βρήκε ότι τα αλληλόμορφα που σχετίζονται με φυσιολογική έκφραση εντοπίζονται σε έναν απλότυπο 250 kb στον φινλανδικό πληθυσμό. Στα άτομα με μειωμένη έκφραση λακτάσης βρέθηκε μεγάλη διαφοροποίηση στους απλοτύπους. Η περιοχή του απλότυπου οριοθετήθηκε από δύο δείκτες μικροδορυφορικού DNA (*D2S3013* και *D2S3014*). Τα δεδομένα συμφωνούσαν με την ήδη υπάρχουσα αντίληψη ότι υπάρχει ένας κύριος απλότυπος που σχετίζεται με συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης τους Καυκάσιους [37].

Μετά τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων του Enattah, οι μεταγενέστερες μελέτες ασχολήθηκαν με τους απλοτύπους που περιλαμβάνουν τους παραπάνω 2 πολυμορφισμούς. Το 2003 ο Poulter [44] αναφέρει ότι η περιοχή του γονιδίου της λακτάσης η οποία βρίσκεται σε ανισορροπία γενετικής σύνδεσης φτάνει το 1 Mb συμπεριλαμβάνοντας τα δύο αλληλόμορφα -14 kb T και -22 kb A ως μέρος ενός πιο εκτεταμένου A απλότυπου. Επίσης βρήκε ότι το αλληλόμορφο T σε 31 από 36 Βρετανούς εθελοντές πράγματι σχετιζόταν με φυσιολογική έκφραση της λακτάσης

αλλά όχι σε 11 εθελοντές μη βρετανικής καταγωγής οι οποίοι είχαν ανεπάρκεια λακτάσης σύμφωνα με τα στοιχεία του φαινοτύπου. Τα δεδομένα δείχνουν ότι ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός είναι πολύ πιθανό να είναι η αιτία της συνεχιζόμενης έκφρασης της λακτάσης αλλά δεν εξηγεί από μόνος του τη διαφοροποίηση της έκφρασης που πιθανά οφείλεται σε γενετική ετερογένεια [44].

Ο Bersaglieri [45] από την άλλη θεωρεί ότι ο απλότυπος που κυριαρχεί στους Ευρωπαίους και οδηγεί σε φυσιολογική έκφραση της λακτάσης στην ενήλικη ζωή εκτείνεται σε μία περιοχή μεγαλύτερη από 1 Mb. Επιπλέον, συμπεραίνει ότι η φυσική επιλογή υπέρ του γνωρίσματος της συνεχιζόμενης έκφρασης είναι πρόσφατη (υπολογίζεται τα τελευταία 5.000-10.000 χρόνια) λόγω του μεγάλου μήκους του απλότυπου [45].

Η Coehlo χρησιμοποίησε δείκτες μικροδορυφορικού DNA για να αναλύσει τους απλότυπους από 794 χρωμοσώματα πληθυσμών διαφορετικών εθνικοτήτων της Ευρώπης (Πορτογαλία, Ιταλία) και της Αφρικής (Καμερούν, Μοζαμβίκη, Σάο Τόμε). Τα αποτελέσματα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ο απλότυπος T₋₁₃₉₁₀/A₋₂₂₀₁₈, ο οποίος σχετίζεται με τη φυσιολογική έκφραση του ενζύμου, εμφάνιζε έλλειψη ανασυνδυασμένου DNA σε μία περιοχή 61,4 kb η οποία περιλαμβάνει 3 δείκτες μικροδορυφορικού DNA (D2S3013, D2S3010, D2S3016). Αυτό σημαίνει ότι έχει μια καταγωγή μοναδική και σχετικά πρόσφατη. Οι συγγραφείς υποθέτουν ότι το αλληλόμορφο T₋₁₃₉₁₀ κατάγεται από την Ευρασία, εμφανίστηκε πριν τη Νεολιθική περίοδο και προέρχεται από ανεξάρτητες μεταλλάξεις στην Ευρώπη και την Αφρική. Και σ' αυτή την περίπτωση οι ερευνητές θεωρούν ότι η έκφραση της λακτάσης και στην ενήλικη ζωή αποτέλεσε εξελικτικό πλεονέκτημα κι έτσι η επιλογή έπαιξε σημαντικό ρόλο στην εξάπλωσή της [46].

Ο Enattah το 2007 [47], δημοσίευσε τα αποτελέσματα μίας μελέτης η οποία περιλάμβανε 1611 δείγματα DNA από 37 πληθυσμούς. Από τα δεδομένα προέκυψε ότι ο πολυμορφισμός C/T₋₁₃₉₁₀ εντοπίζεται σε δύο διαφορετικούς και ιδιαίτερα αποκλίνοντες απλότυπους στους πληθυσμούς παγκοσμίως. Ο πρώτος είναι ο πιο συνηθισμένος απλότυπος, τον οποίο ονομάζουν LP H98, και εντοπίζεται σε όλους τους πληθυσμούς που ανέλυσε. Οι πληθυσμοί προέρχονταν από όλες τις ηπείρους όπως Ασία (διάφορες φυλές του Πακιστάν, Κορέα, Ιράν, Κίνα κ.α.), Ευρώπη (Γαλλία, Βάσκοι, Νότια Ιταλία), Αφρική (Σομαλία, Μαρόκο, Σουδάν κ.α.) και Αμερική

(Αφροαμερικανοί, Γιούτα των ΗΠΑ). Οι υπόλοιποι απλότυποι κατάγονται από τον ίδιο πρόγονο με τον προηγούμενο και εντοπίζονται σε γεωγραφικά απομονωμένους πληθυσμούς που ζουν δυτικά των Ουραλίων Όρων και βόρεια του Καύκασου. Το μοτίβο της κατανομής του απλοτύπου LP H98 υποστηρίζει και την καυκάσια καταγωγή του αλληλομόρφου [47].

Σχέσεις γονοτύπου-φαινοτύπου

Η συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης συμπεριφέρεται ως ένα επικρατές χαρακτηριστικό καθώς ακόμα και τα μισά επίπεδα ενεργότητας της λακτάσης είναι επαρκή για την πέψη σημαντικής ποσότητας λακτόζης. Ωστόσο καθώς τα επίπεδα της υδρολάσης δεν βρίσκονται σε μεγάλη περίσσεια, στην περίπτωση της ετεροζυγωτίας, σε συνθήκες στρες ή ήπιας παθολογίας τα άτομα αυτά είναι πιο επιρρεπή στην εμφάνιση δυσανεξίας στη λακτόζη σε σχέση με τους ομοζυγώτες για την συνεχιζόμενη έκφραση. Από την άλλη, οι ομοζυγώτες για την εμφάνιση υπολακτασίας δεν βιώνουν απαραίτητα συμπτώματα δυσανεξίας, ιδιαίτερα εάν καταναλώνουν μέτριες ποσότητες γάλακτος ή άλλων τροφίμων που περιέχουν λακτόζη [41].

Στο συμπέρασμα ότι τελικά μάλλον οι φαινότυποι είναι τρεις, ανάλογα με το γενετικό υπόβαθρο για τη δυσανεξία στη λακτόζη, φαίνεται να καταλήγει και ο Dzialanski με τους συνεργάτες του [48] σε μία μελέτη που δημοσιεύτηκε στα τέλη του προηγούμενου έτους. Ο σκοπός της μελέτης ήταν να αξιολογηθούν οι πιθανές διαφορές στην ενεργότητα της λακτάσης και στα συμπτώματα μετά την κατανάλωση λακτόζης ουσιαστικά ανάμεσα στους γονοτύπους C/T₋₁₃₉₁₀ και T/T₋₁₃₉₁₀. Συγκεκριμένα, δόθηκαν σε 487 εθελοντές 50 γρ. λακτόζης και στη συνέχεια έγινε μέτρηση του υδρογόνου στην αναπνοή τους και της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα τους. Στη συνέχεια λήφθηκαν δείγματα από το βλεννογόνο του στόματος με σκοπό τον προσδιορισμό του γονοτύπου και συμπληρώθηκαν ερωτηματολόγια σχετικά με την εμφάνιση συμπτωμάτων στα οποία συμμετείχαν περίπου τα μισά άτομα. Στα αποτελέσματα φάνηκε ότι οι ετεροζυγώτες είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση υδρογόνου στην αναπνοή τους αλλά δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα της γλυκόζης όπως επίσης και στην εμφάνιση συμπτωμάτων. Ο

φαινότυπος, δηλαδή η ικανότητα πέψης της λακτόζης, των ατόμων επηρεάζεται από γενετικούς αλλά και διατροφικούς παράγοντες γι' αυτό και η αυτό-αξιολόγηση των ατόμων σχετικά με την ανοχή τους ή όχι στη λακτόζη δεν είναι ιδιαίτερα ακριβής. Οι άνθρωποι τελικά ρυθμίζουν και προσαρμόζουν την κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών, είτε συνειδητά ή και ασυνείδητα, στο επίπεδο λακτόζης που μπορούν να ανεχθούν. Επίσης μπορεί να επιτευχθεί προσαρμογή μέσω αλλαγών στην εντερική μικροχλωρίδα, σχετικά με την ανεκτή ποσότητα καταναλισκόμενης λακτόζης αν και δεν υπάρχουν ξεκάθαρα στοιχεία να το υποστηρίξουν. [41, 48].

Λειτουργικές μελέτες των πολυμορφισμών C/T₋₁₃₉₁₀ και G/A₋₂₂₀₁₈

Οι πολυμορφισμοί C/T₋₁₃₉₁₀ και G/A₋₂₂₀₁₈ εντοπίζονται σε μη κωδικεύουσες περιοχές του ανθρώπινου γονιδιώματος και συγκεκριμένα στα ιντρόνια 13 και 9 του γονιδίου *MCM6* αντίστοιχα. Το γονίδιο αυτό είναι μέρος μιας οικογένειας γονιδίων (*MCM 2-7*) τα οποία είναι υπεύθυνα για την έναρξη της αντιγραφής του DNA, εξασφαλίζοντας ότι συμβαίνει μόνο μία φορά κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Μέχρι πρότινος δεν είχε περιγραφεί ξανά κάποια νόσος του ανθρώπινου είδους που να σχετίζεται με το γονίδιο *MCM6*. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι η λειτουργία του *MCM6* δεν περιορίζεται μόνο στον ιστό που παράγεται, σε αντίθεση με τη λακτάση. Επίσης δεν υπάρχει καμία συσχέτιση μεταξύ του επιπέδου των αντιγράφων του *MCM6* και της λακτάσης. Βάσει μελετών που είχαν ως δείγμα οικογένειες, 2 μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί σχετίζονται με τη συνεχιζόμενη ή μη έκφραση της λακτάσης στις φινλανδικές οικογένειες: ο C-T που βρίσκεται 13910 ζεύγη βάσεων ανοδικά του γονιδίου της λακτάσης και ο G-A που βρίσκεται 22018 ζεύγη βάσεων πάνω από το γονίδιο της λακτάσης και απέχουν 8 χιλιάδες ζ.β. μεταξύ τους [36]. Από την αρχική μελέτη του Enattah που δημοσιεύτηκε το 2002 [37] προέκυψε ότι ο πολυμορφισμός G/A₋₂₂₀₁₈ δεν σχετιζόταν με υπολακτασία σε 6 από τις 59 περιπτώσεις (10%). Έτσι διατυπώθηκε η άποψη ότι λόγω της κοντινής τους απόστασης ο πολυμορφισμός G/A₋₂₂₀₁₈ πιθανά βρίσκεται απλά σε ανισορροπία γενετικής σύνδεσης με τον C/T₋₁₃₉₁₀.

Πιο πρόσφατες μελέτες έχουν προσφέρει στοιχεία σχετικά με τον λειτουργικό ρόλο του πολυμορφισμού C/T₋₁₃₉₁₀ στη ρύθμιση της ενεργότητας της λακτάσης. Σε

άτομα με το αλληλόμορφο T βρέθηκε 11 φορές μεγαλύτερη ποσότητα mRNA του γονιδίου της λακτάσης στο βλεννογόνο του εντέρου τους σε σχέση με τα άτομα που είχαν το αλληλόμορφο C. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός επιδρά στη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου της λακτάσης στο επίπεδο της μεταγραφής. Άλλες *in vitro* μελέτες έδειξαν ενισχυτική επίδραση αναφέροντας μεγαλύτερη αύξηση στην ενεργότητα του υποκινητή της λακτάσης από το αλληλόμορφο T σε σχέση με το αλληλόμορφο C. Ωστόσο δεν διαπιστώθηκε κάτι ανάλογο για τον πολυμορφισμό G/A₋₂₂₀₁₈. Η ρύθμιση της ενεργότητας της λακτάσης έχει προταθεί ότι μπορεί να είναι είτε στο επίπεδο της μεταγραφής είτε στο επίπεδο της μετάφρασης. Έχουν ταυτοποιηθεί πολλοί μεταγραφικοί παράγοντες οι οποίοι συνδέονται στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου της λακτάσης αλλά δεν έχει ξεκαθαριστεί ο ρόλος τους ως γενετικοί τροποποιητές της συνεχιζόμενης ή μη έκφρασης της λακτάσης στον άνθρωπο [36].

Τα αποτελέσματα που δημοσίευσαν το 2003 οι Olds και Sibley συνάδουν με τα παραπάνω. Το αλληλόμορφο T του πολυμορφισμού C/T₋₁₃₉₁₀ αυξάνει σε μεγαλύτερο βαθμό της ενεργότητα του υποκινητή της λακτάσης σε σχέση με το αλληλόμορφο C, ενώ όσο αφορά τον πολυμορφισμό G/A₋₂₂₀₁₈ φαίνεται ότι επίσης συνδέεται με ενίσχυση του υποκινητή της λακτάσης αλλά η επίδραση αυτή είναι σε μικρότερο βαθμό. [49]

Παρόλα αυτά υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν τη συσχέτιση του πολυμορφισμού G/A₋₂₂₀₁₈ με την ενεργότητα της λακτάσης. Στη μελέτη των Kuchay et. al. [50] φαίνεται ότι σε παιδιά άνω των 5 και άνω των 8 ετών της βόρειας Ινδίας ο γονότυπος G/G₋₂₂₀₁₈ σχετίζεται με ενεργότητα λακτάσης <10 U/g. Η ευαισθησία της γενετικής δοκιμασίας για τη διάγνωση της υπολακτασίας έφτανε το 94,4% και η ειδικότητα το 94,1%. Επίσης ο Kuokkanen και οι συνεργάτες του [51] μετρώντας την ενεργότητα της λακτάσης σε δείγματα βιοψίας του εντερικού βλεννογόνου καταλήγουν στο ίδιο συμπέρασμα. Τα αλληλόμορφα και των δύο πολυμορφισμών που σχετίζονται συνεχιζόμενη έκφραση οδηγούν σε μεγαλύτερη έκφραση του ενζύμου δηλαδή αυξάνουν την έκφραση του mRNA και κατά συνέπεια ο ρυθμιστικός τους ρόλος φαίνεται να είναι στο επίπεδο της μεταγραφής.

Συχνότητα αλληλομόρφων

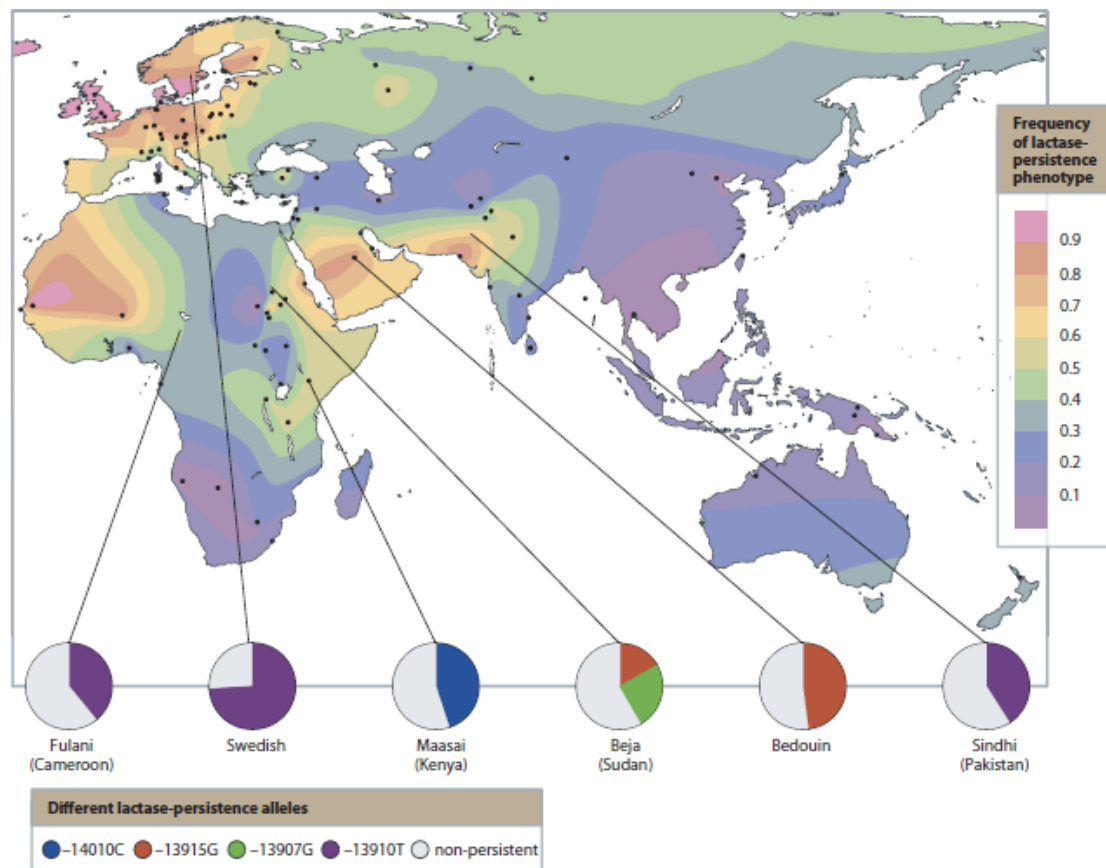
Η συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης είναι ένα συχνό χαρακτηριστικό για τους βόρειους και τους δυτικούς Ευρωπαίους και για τις κτηνοτροφικές ομάδες της νότιας Ασίας, αλλά είναι σπάνιο ή ακόμα και απόν σε όλο τον υπόλοιπο κόσμο. Ο πολυμορφισμός C/T₋₁₃₉₁₀ στο γονίδιο *MCM6* είναι αυτός που συσχετίζεται ισχυρά με την έκφραση της λακτάσης ιδιαίτερα στους Ευρωπαίους. Η συχνότητα του αλληλομόρφου T₋₁₃₉₁₀ που σχετίζεται με τη φυσιολογική έκφραση του ενζύμου διαφέρει στις διάφορες περιοχές της Ευρώπης. Στην ανατολική και νότια Ευρώπη εντοπίζεται στο 6-36% του πληθυσμού, στο 56-67% στην κεντρική και δυτική Ευρώπη και σε ποσοστό 73-95% στη Βρετανία και στην Σκανδιναβία. Τα αντίστοιχα ποσοστά για τη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης, δηλαδή για τον φαινότυπο, σ'αυτές τις περιοχές δείχνουν ότι ο προσδιορισμός του γονοτύπου είναι καλό διαγνωστικό εργαλείο για την Ευρώπη. Ωστόσο, η σύγκριση των συχνοτήτων γονοτύπου και φαινοτύπου για τους πληθυσμούς της Αφρικής και της Μέσης Ανατολής δείχνει ότι ο προσδιορισμός του γονοτύπου γι'αυτόν τον πολυμορφισμό δεν μπορεί να προβλέψει καλά τον φαινότυπο, δηλαδή την έκφραση της λακτάσης [52].

Στη μελέτη που δημοσίευσε το 2007 ο Enattah [47] χρησιμοποίησε 1611 δείγματα από 37 διαφορετικούς πληθυσμούς παγκοσμίως για τους οποίους προσδιόρισε τη συχνότητα των αλληλομόρφων T₋₁₃₉₁₀ και C₋₁₃₉₁₀ και τη συνέκρινε με τον επιπολασμό της συνεχιζόμενης έκφρασης της λακτάσης στους πληθυσμούς αυτούς. Ο πίνακας 2.4.1 είναι προσαρμοσμένος από τον πίνακα αυτής της μελέτης και περιλαμβάνει μερικούς από τους πιο διαδεδομένους πληθυσμούς και τις αντίστοιχες συχνότητες των αλληλομόρφων. [47]

Περιοχή ή Πληθυσμός	Αριθμός ατόμων	Αριθμός ατόμων με γονότυπο			Συχνότητα αλληλόμορφου (%)		Επιπολασμός συνεχιζόμενης έκφρασης λακτάσης (%)
		CC	CT	TT	C	T	
Νότια Κορέα	23	23	0	0	100	0	0
Κίνα	100	100	0	0	100	0	0
Komi (Ρωσία)	10	7	3	0	85	15	30
Udmurts (Ρωσία)	30	12	16	2	66,6	33,4	60
Mokshas (Ρωσία)	30	13	17	0	71,6	28,4	56,6
Ανατολική Φινλανδία	77	18	35	24	46,1	53,9	76,6
Δυτική Φινλανδία	154	25	68	61	38,3	61,7	83,7
Parsi (Ινδία)	29	21	8	0	86,2	13,8	27,6
Ιράν	21	17	4	0	90,5	9,5	19
Άραβες	51	42	8	1	90,2	9,8	17,6
Νότια Ιταλία	100	89	11	0	94,5	5,5	11
Γαλλία	17	6	9	1	61,7	38,3	58,8
Βάσκοι	85	7	44	34	34,1	65,9	91,7
Γιούτα (ΗΠΑ)	92	7	33	52	25,5	74,5	92,4
Σομαλία	79	74	5	0	96,8	3,2	6,3
Σουδάν	44	13	20	11	52	48	70,4
Μαρόκο	90	62	25	3	82,7	17,3	31,1
Αφροαμερικάνοι	50	44	3	3	91	9	12

Πίνακας 2.4.1: Προσαρμοσμένος από τον πίνακα 3: Population Frequencies of LP Alleles C/ T₋₁₃₉₁

Ο πίνακας 2.4.1 επιβεβαιώνει ότι σε κάποιες χώρες το αλληλόμορφο T₋₁₃₉₁₀ είναι πολύ σπάνιο ή μπορεί και να μην εντοπίζεται καθόλου (όπως στην Κορέα, στην Κίνα, χώρες της Μέσης Ανατολής), ενώ είναι αρκετά διαδομένο στις χώρες της Δύσης και ιδιαίτερα στη βόρεια Ευρώπη.



Εικόνα 2.4.1: Frequency of lactase-persistence alleles in different populations. Human Evolutionary Genetics Second ed (2014), Mark Jobling et al.

Συχνότητα αλληλομόρφων στον ελληνικό πληθυσμό

Η μελέτη των Paolo Anagnostou και συνεργατών [53] εξέτασε τη συχνότητα των αλληλομόρφων των πολυμορφισμών G/A₋₂₂₀₁₈ και C/T₋₁₃₉₁₀ στον ιταλικό και στον ελληνικό πληθυσμό. Χρησιμοποίησαν δείγματα αίματος και βλεννογόνου της παρειάς με σκοπό να εξάγουν το γενετικό υλικό και να προσδιορίσουν τον γονότυπο των εθελοντών. Οι εθελοντές ήταν 865 Ιταλοί από 20 διάφορες περιοχές της Ιταλίας και 100 Έλληνες από την Αθήνα. Οι Ιταλοί χωρίστηκαν σε 5 διαφορετικές γεωγραφικές ομάδες ανάλογα με την καταγωγή τους (Βορειο-ανατολική, κεντρική-βόρεια, κεντρική και νότια Ιταλία και Σαρδηνία). Για τους Έλληνες δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάλογα με την καταγωγή τους γι'αυτό τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται συνολικά. Στον πίνακα 2.5.1 παρουσιάζονται τα

αποτελέσματα της μελέτης και αναφέρεται ο επιπολασμός του φαινοτύπου για τους πληθυσμούς αυτούς όπως βρέθηκε από τη βιβλιογραφία [53].

Πίνακας 2.5.1:

TABLE 1. Allele frequencies of T_{13910} and A_{22018} and predicted prevalence of lactase persistence (LP) in the populations examined

	N	T_{13910}	SD	A_{22018}	SD	LP
Greece	100	0.090	0.020	0.120	0.023	0.160
Sardinia	153	0.072	0.014	0.078	0.015	0.137
North-East Italy	219	0.237	0.020	0.269	0.021	0.429
Central-North Italy	206	0.133	0.016	0.160	0.018	0.252
Central Italy	98	0.112	0.022	0.122	0.023	0.193
Southern Italy	189	0.080	0.013	0.106	0.015	0.153

Η συχνότητα των αλληλομόρφων που σχετίζονται με συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης είναι χαμηλή στην Ιταλία και την Ελλάδα. Αυτό ήταν αναμενόμενο καθώς ως χώρες της νότιας Ευρώπης εμφανίζουν υψηλό επιπολασμό υπολακτασίας. Παρατηρείται διαφορά στην ανοχή της λακτόζης που προβλέπεται από τον γονότυπο των ατόμων και της ανοχής που έχει αξιολογηθεί από άλλες μελέτες στις ίδιες περιοχές χρησιμοποιώντας φυσιολογικά τεστ. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική και σε όλες τις περιπτώσεις η συχνότητα της ανοχής στη λακτόζη που αξιολογείται από τα φυσιολογικά τεστ είναι μεγαλύτερη από αυτήν που προβλέπεται από τον γονότυπο. Οι ερευνητές αποδίδουν αυτές τις διαφορές πιθανά στο γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικοί πληθυσμοί για τα φυσιολογικά τεστ που έγιναν σε προγενέστερες μελέτες και ίσως να υπάρχει μια ετερογένεια για την ανοχή στη λακτόζη στα άτομα κάθε γεωγραφικής περιοχής. Επιπρόσθετα, λόγω του ότι οι σύγχρονες μελέτες αποδεικνύουν ότι σε κάποιους πληθυσμούς όπως της Σαουδικής Αραβίας υπάρχουν άλλοι πολυμορφισμοί που προβλέπουν καλύτερα την ανοχή στη λακτόζη, οι ερευνητές προτείνουν να μελετηθεί εκτενέστερα η πιθανή παρουσία άλλων πολυμορφισμών που σχετίζονται με τη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης στη νότια Ευρώπη [53].

Υποθέσεις για την εμφάνιση της μετάλλαξης της συνεχιζόμενης έκφρασης

Η γεωγραφική κατανομή της συχνότητας του πολυμορφισμού για τη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης παγκοσμίως δεν είναι ομοιογενής. Σε ποσοστό μεγαλύτερο του 70% οι Ευρωπαίοι έχουν φυσιολογική έκφραση του ενζύμου, ιδιαίτερα στην περιοχή της βόρειας Ευρώπης, αλλά και κάποιες συγκεκριμένες φυλές της Αφρικής που βασίζονται στην κτηνοτροφία όπως οι Beja του Σουδάν. Στη μέση Ανατολή, στις χώρες της Μεσογείου και στη νότια και κεντρική Ασία η συχνότητα κυμαίνεται μεταξύ του 30-70% ενώ στα νησιά του Ειρηνικού, στους ιθαγενείς Αμερικάνους, στην υποσαχάρια Αφρική και στην νοτιοανατολική Ασία η συχνότητα είναι πολύ μικρή (10-30%). Ο φαινότυπος της συνεχιζόμενης έκφρασης είναι πιο συχνός σε πληθυσμούς που έχουν ιστορικό κατανάλωσης φρέσκου γάλακτος και λιγότερος συχνός στους πληθυσμούς που δεν έχουν ανάλογο διατροφικό ιστορικό. Για παράδειγμα, η φυσιολογική έκφραση της λακτάσης είναι συχνό φαινόμενο για τα νομαδικά φύλα της αφρο-αραβικής ερήμου τα οποία εξαρτώνται διατροφικά από το γάλα. Σ' αυτές τις περιοχές, τα φύλα που έχουν αναπτύξει την κτηνοτροφία τείνουν να εμφανίζουν πιο συχνά τη φυσιολογική έκφραση του ενζύμου σε σχέση με γειτονικά φύλα που δεν είναι κτηνοτρόφοι. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιες πληθυσμιακές ομάδες όπου επικρατεί ο φαινότυπος της υπολακτασίας παρόλο που το γάλα είναι μέρος της διαίτας τους (π.χ. Μογγόλοι, Herero, Nuer και Dinka). Αρκετές φυλές όπως οι Dinka μάλλον χρησιμοποιούν τις αγελάδες περισσότερο σαν θρησκευτικό σύμβολο παρά ως διατροφική πηγή. Επίσης το γάλα συχνά ζυμώνεται για να παραχθούν γιαούρτι και τυρί τα οποία περιέχουν λιγότερη λακτόζη [41, 54]. Οι παραπάνω παρατηρήσεις έδωσαν το ερέθισμα για την ανάπτυξη της υπόθεσης ότι η συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης είναι αποτέλεσμα προσαρμογής στις διαιτητικές αλλαγές που πυροδοτήθηκαν από την ανάπτυξη της γεωργίας και της κτηνοτροφίας στην Ανατολή και την Αφρική [54].

Για να υποστηριχθεί η υπόθεση της προσαρμογής, η λογική εικασία είναι ότι η μείωση της έκφρασης της λακτάσης με την πάροδο της ηλικίας ήταν η προγονική κατάσταση καθώς και τα άλλα θηλαστικά εμφανίζουν υπολακτασία μετά τον απογαλακτισμό. Έχουν προταθεί αρκετές εξηγήσεις για τη διαφοροποίηση στην έκφραση της λακτάσης. Οι τρεις επικρατέστερες βασίζονται στην αυξημένη

συχνότητα των αλληλομόρφων που σχετίζονται με συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης στους πληθυσμούς που παρήγαγαν γαλακτοκομικά προϊόντα.

Α) *Διατροφική αξία*: Η λακτόζη ως συστατικό του φρέσκου γάλακτος αποτελεί πολύτιμη πηγή ενέργειας.

Β) *Περιεχόμενο σε νερό*: Το γάλα αποτελεί σημαντική πηγή υγρών σε άνδρες περιοχές. Για κάποια νομαδικά φύλα της ερήμου, το γάλα μπορεί να είναι η μοναδική πηγή νερού κάποιες περιόδους του χρόνου. Επίσης, η διάρροια ως συνέπεια της δυσανεξίας στη λακτόζη θα προκαλούσε μεγάλο πρόβλημα.

Γ) *Καλύτερη απορρόφηση ασβεστίου*: Αυτή η υπόθεση βασικά προσπαθεί να εξηγήσει την αυξημένη συχνότητα του φαινοτύπου της συνεχιζόμενης έκφρασης στη βόρεια Ευρώπη. Οι πληθυσμοί που ζουν σε βόρεια γεωγραφικά πλάτη εκτίθενται σε λιγότερη ηλιακή ακτινοβολία και άρα συνθέτουν λιγότερη βιταμίνη D. Αυτό σημαίνει ότι είναι περισσότερο επιρρεπείς στην εμφάνιση ραχίτιδας και οστεομαλακίας. Είναι γνωστό ότι το ασβέστιο μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της ραχίτιδας μέσω της μείωσης της διάσπασης της βιταμίνης D στο ήπαρ. Το γάλα αποτελεί εξαιρετική πηγή ασβεστίου και η λακτόζη βοηθάει στην απορρόφηση του, άρα τα άτομα που μπορούν να πέσουν τη λακτόζη και στην ενήλικη ζωή θα προσλαμβάνουν και θα απορροφούν περισσότερο ασβέστιο σε σχέση με τα άτομα με δυσανεξία [54].

Οι συχνότητες της συνεχιζόμενης έκφρασης της λακτάσης στη σύγχρονη εποχή θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα μίας διαδικασίας επιλογής, η οποία είναι σχετικά πρόσφατη και ισχυρή. Τα βιολογικά πλεονεκτήματα που αναφέρθηκαν (ενεργειακό περιεχόμενο, περιεχόμενο σε νερό, καλύτερη απορρόφηση ασβεστίου) δίνουν τη δυνατότητα σε ένα γεωργικό πληθυσμό να ξεπεράσει τις δυσκολίες επιβίωσης για παράδειγμα σε περίπτωση κακής σοδειάς. Επειδή η φυσιολογική έκφραση της λακτάσης κατά την περίοδο της ενήλικης ζωής δεν θα προσέφερε κάποιο εξελικτικό πλεονέκτημα εάν δεν υπήρχε πρόσβαση σε φρέσκο γάλα και λόγω της συσχέτισης που παρατηρείται μεταξύ της συχνότητας της συνεχιζόμενης έκφρασης και της εξάπλωσης της εξάρτησης από το γάλα ζωικής παραγωγής διατυπώθηκε η *ιστορικο-πολιτισμική υπόθεση* (*culture-historical hypothesis*). Σύμφωνα με αυτή, κάποιες πολύ σπάνιες περιπτώσεις πρώιμης προσαρμογής οδήγησαν στην εμφάνιση υπολογίσιμων συχνοτήτων του φαινοτύπου, όμως μόνο αφότου εμφανίστηκε σαν πρακτική η

παραγωγή γαλακτοκομικών. Υπάρχει ωστόσο και η αντίθετη άποψη, η υπόθεση της αντίστροφης αιτιολογίας, σύμφωνα με την οποία κάποιοι πληθυσμοί παρουσίαζαν ήδη αυτόν τον φαινότυπο σε αυξημένη συχνότητα πριν την εμφάνιση των γαλακτοκομικών προϊόντων και η παρουσία αυτού του χαρακτηριστικού ήταν αυτή που καθόρισε την εγκαθίδρυση της παραγωγής και κατανάλωσης γάλακτος σαν πρακτική [55, 56].

Το ερώτημα προς ποια κατεύθυνση ισχύει η παραπάνω σχέση απασχόλησε τον Burger και τους συνεργάτες του [56] γι' αυτό, απομονώνοντας δείγμα DNA από σκελετούς που διατηρούνταν σε αρχαιολογικούς χώρους, προσπάθησαν να εντοπίσουν το αλληλόμορφο που σχετίζεται με τη φυσιολογική έκφραση της λακτάσης στους Ευρωπαίους της πρώιμης Νεολιθικής περιόδου. Οι σκελετοί που επιλέχθηκαν προέρχονταν από την κεντρική Ευρώπη (Γερμανία, Ουγγαρία, Πολωνία, Λιθουανία), διατηρούνταν σε εξαιρετική βιομοριακή κατάσταση και λήφθηκαν από αυτούς δείγματα μιτοχονδριακού DNA και γονότυποι βραχέων εν σειρά επαναλήψεων (STR). Η ηλικία του αλληλομόρφου T₋₁₃₉₁₀ έχει υπολογιστεί από άλλες μελέτες στα 2.188-20.650 έτη και στα 7.450-12.300 έτη. Σύμφωνα με τα ευρήματα αυτά είναι αρκετά λογικό να θεωρηθεί ότι το συγκεκριμένο αλληλόμορφο υπήρχε σε υπολογίσιμες συχνότητες στους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς στην πρώιμη Νεολιθική ακόμα και στην προ-Νεολιθική περίοδο. Όσον αφορά το πότε άρχισε να υιοθετείται ως πρακτική η παραγωγή γάλακτος, υπάρχουν διάφορες απόψεις. Κάποιοι εικάζουν ότι εξαπλώθηκε στην Ευρώπη κατά την τρίτη χιλιετία π.Χ. και δεν είχε καθιερωθεί στις αρχές της Νεολιθικής περιόδου. Άλλοι, μέσω εξακρίβωσης του φύλου των βοοειδών και των γιδών οστεομετρικά, υπολογίζουν ότι οι πρακτικές παραγωγής γάλακτος ξεκίνησαν να εφαρμόζονται μεταξύ 7000 και 6500 χρόνων πριν. Υπάρχει η άποψη ότι οι τεχνικές της γαλακτοπαραγωγής έφτασαν στην Ευρώπη με τους πρώτους αγρότες και ήταν ένα χαρακτηριστικό της Νεολιθικής περιόδου. Αυτή η τελευταία άποψη στηρίζεται και από τις πρώτες αρχαιομετρικές αποδείξεις παραγωγής γάλακτος 7900-7500 χρόνια πριν στην Ουγγαρία και περίπου 6100 χρόνια πριν στη Βρετανία. Οι ημερομηνίες αυτές τοποθετούν την έναρξη της παραγωγής γάλακτος στην Ευρώπη κοντά στην αρχή της καλλιέργειας δημητριακών και της χρήσης των οικόσιτων ζώων. Ωστόσο τα αποτελέσματα της μελέτης του Burger δείχνουν ότι το επίμαχο αλληλόμορφο σχεδόν απουσίαζε από τα δείγματα DNA των σκελετών της Νεολιθικής περιόδου, πράγμα που σημαίνει ότι οι πρώτοι αγρότες στην

Ευρώπη δεν είχαν ακόμα προσαρμοστεί στην κατανάλωση φρέσκου γάλακτος. Άρα παρόλο που τα στοιχεία δείχνουν πράγματι ότι η φυσική επιλογή υπέρ του χαρακτηριστικού της συνεχιζόμενης έκφρασης ξεκίνησε με την εισαγωγή των βοοειδών στην Ευρώπη 8800 χρόνια πριν, είναι μάλλον απίθανο η κατανάλωση φρέσκου γάλακτος να είχε εξαπλωθεί στην Ευρώπη πριν η συχνότητα του αλληλομόρφου αυξηθεί αισθητά στις περιοχές της Κεντρικής Ευρώπης. Συμπερασματικά, μάλλον υπερτερεί η ιστορικο-πολιτισμική υπόθεση και όχι της αντίστροφης αιτιολογίας [56].

Η αλληλεξάρτηση της βιολογικής εξέλιξης της ανοχής στη λακτόζη στην ενήλικη ζωή και της πολιτισμικής εξέλιξης της γαλακτοκομίας είναι πιθανά το πιο μελετημένο παράδειγμα συνεξέλιξης γονιδιώματος και πολιτισμού. Ωστόσο τα υψηλά επίπεδα ανοχής στη λακτόζη στις βόρειες χώρες της Ευρώπης είναι δύσκολο να εξηγηθούν από την σκοπιά της ιστορικο-πολιτισμικής υπόθεσης. Ότι δηλαδή η διαδικασία της φυσικής επιλογής συντελέστηκε επί τόπου σ' αυτές τις χώρες. Παρόλο που στις χώρες αυτές η κατανάλωση φρέσκου γάλακτος σήμερα είναι από τις υψηλότερες στον κόσμο, με τη Φινλανδία και τη Σουηδία να είναι πρώτες στην κατανάλωση, υπάρχουν δύο λόγοι για τους οποίους η δύναμη της φυσικής επιλογής σε τοπικό επίπεδο δεν μπορεί να έπαιξε ρόλο στη γονιδιακή εξέλιξη. Πρώτον, οι ενήλικες στην Σουηδία και στην Φινλανδία δεν συνήθιζαν να καταναλώνουν φρέσκο γάλα μέχρι τα τελευταία χρόνια. Στην Φινλανδία μάλιστα η κατανάλωση φρέσκου γάλακτος αυξήθηκε ουσιαστικά περί το 1860 οπότε και αναπτύχθηκε η βιομηχανία γάλακτος, ενώ εθνογραφικές πηγές υποστηρίζουν ότι μόνο παιδιά ηλικίας 1-2 ετών κατανάλωναν φρέσκο γάλα κατά τον 18^ο και 19^ο αιώνα. Ο δεύτερος λόγος είναι ότι ακόμα και αν οι ενήλικες είχαν προτίμηση για το φρέσκο γάλα, αυτό δεν ήταν αρκετό για συστηματική κατανάλωση. Η εξημέρωση και χρήση των βοοειδών δεν ήταν ιδιαίτερα διαδεδομένη και ούτε ιδιαίτερα παραγωγική στη βόρεια Ευρώπη ώστε να παρέχει συνεχή πρόσβαση σε φρέσκο γάλα. Στις χώρες αυτές η κτηνοτροφία καθιερώθηκε περίπου κατά την εποχή του σιδήρου (1600-600 π.Χ.) και στην Φινλανδία διαδόθηκε μόλις κατά της διάρκεια της ύστερης μεσαιωνικής και μετά-μεσαιωνικής περιόδου. Μία εναλλακτική εξήγηση για τα υψηλά επίπεδα της συνεχιζόμενης έκφρασης της λακτάσης στη σημερινή εποχή στη Σουηδία και τη Φινλανδία είναι η μετανάστευση πληθυσμών που ανέχονταν τη λακτόζη στις χώρες αυτές. [57]

Ο Itan και οι συνεργάτες του [52], αφού επεξεργάστηκαν γενετικά και αρχαιολογικά δεδομένα, κατέληξαν στο ότι η συνεξέλιξη της ανοχής στη λακτόζη και της γαλακτοπαραγωγής ξεκίνησαν περίπου 7500 χρόνια πριν, μεταξύ των λαών της κεντρικής Βαλκανικής χερσονήσου και της κεντρικής Ευρώπης. Οι πληθυσμοί αυτοί φαίνεται να μετανάστευσαν στις βόρειες χώρες, στη Φινλανδία περίπου 4000 χρόνια πριν, μεταφέροντας τις κτηνοτροφικές τους πρακτικές και τις καλλιέργειες δημητριακών και σταδιακά αντικατέστησαν τους κυνηγούς και τροφοσυλλέκτες που ζούσαν ήδη εκεί. Μπορεί οι περιοχές αυτές στις οποίες εικάζεται ότι ξεκίνησε η συνεξέλιξη να φαίνονται αρκετά απομακρυσμένες από την βορειοδυτική Ευρώπη, όπου παρατηρείται η μέγιστη συχνότητα του αλληλομόρφου, ωστόσο έχει φανεί και από άλλες περιπτώσεις ότι το γεωγραφικό κέντρο βάρους ενός αλληλομόρφου μπορεί να είναι αρκετά απομακρυσμένο από την τοποθεσία καταγωγής ιδιαίτερα όταν μεσολαβεί ένα μεγάλο κύμα μετανάστευσης. Άρα σύμφωνα με τον Itan η εξάπλωση του αλληλομόρφου γενικότερα στην Ευρώπη οφείλεται στον συνδυασμό της φυσικής επιλογής και δημογραφικών διεργασιών μέσω της εξάπλωσης των αγροτών από τα Βαλκάνια στην υπόλοιπη Ευρώπη [52, 57].

Η Malmstrom [58] επίσης ασχολήθηκε με τη διερεύνηση της συχνότητας του αλληλομόρφου T₋₁₃₉₁₀ στον σκανδιναβικό πληθυσμό της Νεολιθικής εποχής. Στα αποτελέσματα φαίνεται μία πολύ μικρή συχνότητα, της τάξης του 5%, σ' αυτόν τον πληθυσμό κυνηγών-τροφοσυλλεκτών της μεσο-νεολιθικής εποχής σε αντίθεση με τη συχνότητα του αλληλομόρφου αυτού σήμερα (74%). Οι ερευνητές συμπεραίνουν πως η τόσο μεγάλη διαφορά είναι απίθανό να προέκυψε λόγω γενετικής παρέκκλισης και προτείνουν δύο εξηγήσεις. Η πρώτη υπόθεση είναι ότι ο πληθυσμός της Σκανδιναβικής χερσονήσου κατά τη Νεολιθική εποχή έχει προγονική σχέση με το σημερινό πληθυσμό της και μεσολάβησε η δύναμη της φυσικής επιλογής για την τόσο μεγάλη αύξηση της συχνότητας του αλληλομόρφου. Η δεύτερη υπόθεση είναι ότι οι κυνηγοί-τροφοσυλλέκτες που κατοικούσαν στην Σκανδιναβική χερσονήσο αντικαταστάθηκαν από αγρότες που μετανάστευσαν από την Κεντρική Ευρώπη κατά τη νεολιθική περίοδο [58].

Σχετικά με τις νότιες χώρες της Ευρώπης, τα ποσοστά επιπολασμού της συνεχιζόμενης έκφρασης της λακτάσης είναι χαμηλά και λόγω αυτού δεν φαίνεται να εμπλέκεται ο μηχανισμός της φυσικής επιλογής στη συχνότητα του αλληλομόρφου.

Από τη μελέτη των Αναγνώστου et al. [53], η οποία εξέτασε την εξάπλωση και την εξέλιξη της συνεχιζόμενης έκφρασης στη νότια Ευρώπη (Ιταλία και Ελλάδα), φαίνεται πως μόνο στην περιοχή της βορειοανατολικής Ιταλίας μπορεί να έχει επιδράσει η φυσική επιλογή για την εξάπλωση του αλληλομόρφου όπου και παρατηρείται ο μεγαλύτερος επιπολασμός (0,237) σε σύγκριση με την υπόλοιπη Ιταλία και την Ελλάδα. Στις υπόλοιπες περιοχές η συχνότητα του αλληλομόρφου οφείλεται μάλλον σε ανάμιξη του γενετικού υλικού σε συνδυασμό με την εμφάνιση της γαλακτοκομίας στη νότια Ευρώπη [53].

Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγει και ο Gerbault την ίδια χρονιά (2009) [59], ότι δηλαδή η πίεση της φυσικής επιλογής έπαιξε πολύ σημαντικό ρόλο στο βορειοδυτικό τμήμα της Ευρώπης συνδυαστικά με την μετανάστευση των πληθυσμών αλλά στο νοτιοανατολικό τμήμα το φαινόμενο της γενετικής παρέκκλισης αρκεί για να εξηγήσει τις παρατηρούμενες συχνότητες του αλληλομόρφου.

Βέβαια η νότια Ευρώπη, μέσω της Μεσογείου, όπως επίσης και οι παραδουνάβιες περιοχές αποτελούσαν τις δύο βασικές οδούς περάσματος στην Ευρώπη κατά τη νεολιθική περίοδο και άρα πιθανές οδούς διάδοσης του αλληλομόρφου. Η μικρή συχνότητά του σ' αυτές τις περιοχές, η υψηλή συχνότητά του στη βόρεια Ιβηρική χερσόνησο (66%) και τη Σκανδιναβία και η εξακριβωμένη παρουσία του στην κεντρική Ευρώπη υποδεικνύουν ότι πιθανά το αλληλόμορφο εξαπλώθηκε προς τα βόρεια μέσω κάποιας άλλης οδού [60, 61].

Πέρα από τις βόρειες χώρες της Ευρώπης, κάποιες περιοχές της Αφρικής εμφανίζουν επίσης αυξημένη συχνότητα του φαινοτύπου της ανοχής στη λακτόζη. Σ' αυτές τις περιοχές η συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με το γεωγραφικό πλάτος. Οι μεγαλύτερες συχνότητες εντοπίζονται στο βόρειο τμήμα της ηπείρου όπου εντοπίζονται και οι περισσότεροι κτηνοτροφικοί πληθυσμοί της Αφρικής. Υψηλή και σημαντική συσχέτιση υπάρχει επίσης μεταξύ των συχνοτήτων της ανοχής στη λακτόζη και της κτηνοτροφίας για 25 αφρικανικούς πληθυσμούς, παρατήρηση που στηρίζει την ιστορικο-πολιτισμική υπόθεση και στην περίπτωση της Αφρικής.

Ένα θέμα που προκύπτει για διερεύνηση στις περιοχές της βόρειας Αφρικής, όπου και παρατηρείται ο υψηλός επιπολασμός, είναι εάν οι σημερινοί πληθυσμοί των

περιοχών αυτών είναι κυρίως απόγονοι των γεωργών/κτηνοτρόφων της νεολιθικής εποχής ή αν η καταγωγή τους είναι ντόπια και εκτείνεται μέχρι τη μεσολιθική εποχή. Εδώ τα δεδομένα δεν είναι ξεκάθαρα. Για παράδειγμα, για τα 14-20 εκατομμύρια Αφρικανών που ζουν κυρίως στο Μαρόκο και την Αλγερία και μιλούν τη διάλεκτο Berber η κτηνοτροφία είναι βασική συνιστώσα της οικονομίας τους. Τα γενετικά δεδομένα τους δείχνουν ότι μπορεί να έχουν ισχυρή ντόπια καταγωγή, υπάρχουν όμως και αποτελέσματα μελετών που τους συνδέουν με φύλα με καταγωγή από τη Μέση Ανατολή της Νεολιθικής Περιόδου τα οποία θα μπορούσαν να τους έχουν μεταδώσει τη συνήθεια κατανάλωσης γάλακτος. Όσον αφορά το αλληλόμορφο T₋₁₃₉₁₀, εντοπίζεται σε κάποιους πληθυσμούς της βόρειας και κεντρικής Αφρικής, αλλά δεν παρατηρείται στους πληθυσμούς της υποσαχάριας Αφρικής. Μάλιστα η ηλικία του (5.000-12.300 έτη) συμπίπτει με την αρχή της χρήση των βοοειδών ως οικόσιτα ζώα στη βόρεια Αφρική (10.000 χρόνια πριν). Εξαιτίας της παραπάνω κατανομής του αλληλομόρφου στις περιοχές της Αφρικής και της παρουσίας του στη Μέση Ανατολή, πιστεύεται ότι η παρουσία του αλληλομόρφου στην Αφρική οφείλεται σε γονιδιακή ροή εντός της Αφρικής αλλά και έξω από αυτήν πιθανά κατά τη διάρκεια ιστορικών γεγονότων όπως η εγκατάσταση της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας στη βόρεια Αφρική και η εξάπλωση των Αράβων πριν και κατά τη διάρκεια της Οθωμανικής Αυτοκρατορίας. Όσον αφορά το αλληλόμορφο C₋₁₄₀₁₀, το οποίο σχετίζεται με την ανοχή στη λακτόζη στις χώρες της υποσαχάριας Αφρικής, η ηλικία του υπολογίζεται πιο πρόσφατα (περίπου 2.700-6.800 έτη) αλλά επίσης συμπίπτει με την εξάπλωση της κτηνοτροφίας στις χώρες νότια της Σαχάρας, την Κένυα και την Τανζανία αφού σύμφωνα με αρχαιολογικά δεδομένα η εξάπλωση αυτή υπολογίζεται μόλις στα 4.000 περίπου έτη πριν. Γενικότερα φαίνεται να υπήρξε μετακίνηση πληθυσμών και εντός της Αφρικής, όπως η μετανάστευση κτηνοτρόφων της ανατολικής Αφρικής σε περιοχές της νότιας Αφρικής με αποτέλεσμα να εντοπίζεται και σ' αυτές τις περιοχές το αλληλόμορφο C₋₁₄₀₁₀ και άρα η ανοχή στη λακτόζη. Η δύναμη, λοιπόν, της φυσικής επιλογής μετά τις πολιτισμικές αλλαγές και την διάδοση της κτηνοτροφίας στην Αφρική φαίνεται να έπαιξε και σ' αυτήν την ήπειρο ρόλο για την εξάπλωση των αλληλομόρφων που σχετίζονται με συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης επιβεβαιώνοντας την ιστορικο-πολιτισμική υπόθεση [40, 59, 62-64].

Σκοπός:

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της συσχέτισης των πολυμορφισμών C/T(-13910) και G/A(-22018), οι οποίοι σχετίζονται με τη ρύθμιση της έκφρασης της λακτάσης, και της κατανάλωσης γαλακτοκομικών στον ελληνικό πληθυσμό. Συγκεκριμένα, ερευνήθηκε η εγκυρότητα της υπόθεσης ότι η γενετικά καθοριζόμενη υπολακτασία έχει ως αποτέλεσμα την χαμηλότερη κατανάλωση γαλακτοκομικών συγκριτικά με την κατανάλωση των ατόμων με γενετική προδιάθεση για φυσιολογική έκφραση. Περαιτέρω σκοπός της εν λόγω μελέτης ήταν ο έλεγχος της κατανομής των πολυμορφισμών στο δείγμα καθώς και η σύγκριση όλων των παραπάνω με όσα αναφέρονται στη βιβλιογραφία μέχρι σήμερα.

Μεθοδολογία:

Πληθυσμός της μελέτης

Ο πληθυσμός που μελετήθηκε αποτελείται από άτομα ελληνικής καταγωγής, ηλικίας 57,7 $\pm$ 14,1 ετών, και αποτελούν μέρος του πληθυσμού της μελέτης «Θησέας» [THISEAS (The Hellenic Study of Interactions between SNPs and Eating in Atherosclerosis Susceptibility)]. Οι συμμετέχοντες στρατολογήθηκαν από νοσοκομεία, ΚΑΠΗ και δήμους από την περιοχή της Αθήνας. Από το συνολικό πληθυσμό του «Θησέα» στην παρούσα μελέτη συμπεριλήφθηκαν 634 άτομα για τα οποία υπήρχαν στοιχεία για τον γονότυπο των πολυμορφισμών C/T(-13910) και G/A(-22018).

Όλοι οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν τόσο προφορικά όσο και γραπτά για τους σκοπούς της μελέτης πριν συναινέσουν να συμμετάσχουν και έδωσαν τη γραπτή συγκατάθεση τους. Στη μελέτη «Θησέας» κλήθηκαν να συμμετάσχουν συνολικά 2886 άτομα, από τα οποία ολοκλήρωσαν τη μελέτη 2565 άτομα από το 2006 έως το 2010. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Αιμοληψία και ανάλυση αίματος

Από τους εθελοντές λήφθηκαν δείγματα αίματος μεταξύ 6 και 10 ωρών μετά από 12ωρη νηστεία. Η ανάλυση αίματος περιλάμβανε αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις: γλυκόζη νηστείας, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη και τριγλυκερίδια. Επιπλέον απομονώθηκαν το πλάσμα και ο ορός αίματος και αποθηκεύτηκαν στους -80°C για περαιτέρω αναλύσεις.

Αξιολόγηση δημογραφικών και ανθρωπομετρικών στοιχείων και του τρόπου ζωής

Αξιολογήθηκαν τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, ο τρόπος ζωής, το μορφωτικό τους επίπεδο, το προσωπικό και οικογενειακό ιατρικό ιστορικό, οι διατροφικές συνήθειες, οι καπνιστικές συνήθειες και η φυσική δραστηριότητα των συμμετεχόντων. Πραγματοποιήθηκαν συνεντεύξεις με όλους τους συμμετέχοντες ώστε να εξασφαλιστεί η ελληνική τους καταγωγή.

Αξιολόγηση ανθρωπομετρικών και κλινικών χαρακτηριστικών

Οι εθελοντές υπεβλήθησαν σε ερωτήσεις κατά τη διάρκεια των συνεντεύξεων σχετικά με το ιατρικό τους ιστορικό. Μετρήθηκε η αρτηριακή πίεση στο δεξί χέρι των εθελοντών σε κατάσταση ηρεμίας και το σωματικό βάρος και ύψος των συμμετεχόντων με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς παπούτσια και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο ΔΜΣ $[\text{βάρος (kg)} / \text{ύψος (m)}]^2$.

Αξιολόγηση φυσικής δραστηριότητας

Το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας (PAL) αξιολογήθηκε μέσω του ερωτηματολογίου φυσικής δραστηριότητας του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου (HAPAQ) το οποίο περιλαμβάνει παραμέτρους όπως: η συχνότητα, η διάρκεια και η ένταση των δραστηριοτήτων κατά την εργασία, τις δουλειές του σπιτιού και στον ελεύθερο χρόνο.

Διατροφική αξιολόγηση

Τα διατροφικά δεδομένα των εθελοντών συλλέχθηκαν μέσω FFQ 172 ερωτήσεων οι οποίες συνοδεύονταν από εικόνες. Οι ερωτήσεις αφορούσαν τη συχνότητα κατανάλωσης διάφορων ομάδων τροφίμων και ποτών και το μέγεθος της μερίδας που κατανάλωναν απ'το κάθε τρόφιμο. Από τα FFQ υπολογίστηκε η ημερήσια κατανάλωση πολλαπλασιάζοντας το πρότυπο μέγεθος μερίδας με τη συχνότητα κατανάλωσης· 1-3 φορές/μήνα, 1-2 φορές/εβδομάδα, 3-4 φορές/εβδομάδα, 5-6 φορές/εβδομάδα και 1 φορά/ημέρα. Όσον αφορά τα γαλακτοκομικά, μία μερίδα γάλακτος αντιστοιχούσε σε 240 mL και μία μερίδα γιαούρτι αντιστοιχούσε σε ένα κεσεδάκι. Μία μερίδα τυρί ισοδυναμούσε με 30 γρ. Το FFQ περιλάμβανε ξεχωριστές ερωτήσεις για την κατανάλωση πλήρων, ημίπαχων και άπαχων γαλακτοκομικών. Τα FFQ ήταν αυτοσυμπληρούμενα αλλά υπήρχαν εκπαιδευμένοι επαγγελματίες στον τομέα της διατροφής για να βοηθήσουν τους συμμετέχοντες κατά τη διάρκεια της συμπλήρωσης.

Για τον υπολογισμό της ενέργειας και της πρόσληψης των μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Nutritionist Pro version 2.2 (Axxya Systems-Nutritionist Pro, Stafford, TX, USA).

Απομόνωση Γενετικού Υλικού και Γονοτύπηση

Το γενωμικό DNA των συμμετεχόντων απομονώθηκε από ολικό αίμα με τα αντιδραστήρια iPrep PureLink gDNA (Invitrogen Ltd, Invitrogen Corp, USA) σε αυτοματοποιημένο σύστημα έκλουσης νουκλεϊκών οξέων iPrep Purification Instrument (Invitrogen Ltd, Invitrogen Corp, USA). Η λύση των κυτταρικών μεμβρανών επιτυγχάνεται με το διάλυμα Lysis και η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών με το ένζυμο πρωτεϊνάση K. Το διάλυμα στη συνέχεια αναμιγνύεται με τα μικροσφαιρίδια (Dynabeads MyOne SILANE), τα οποία δεσμεύουν το gDNA και διαχωρίζονται από το υπόλοιπο διάλυμα με μαγνητικό διαχωρισμό. Τα μικροσφαιρίδια ξεπλένονται με τα διαλύματα πλύσης για την απομάκρυνση των προσμίξεων και το gDNA εκχυλίζεται στο διάλυμα εκχύλισης.

Η γονοτύπηση των δειγμάτων DNA έγινε χρησιμοποιώντας το Illumina Metabochip στο Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton, UK. Ο αλγόριθμος που χρησιμοποιήθηκε για την ονοματοδοσία των γονοτύπων ήταν ο GenoSNP. Δεν χρησιμοποιήθηκαν όλα τα δείγματα DNA που απομονώθηκαν. Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν: συντελεστής δείγματος <95%, συντελεστής μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών 98%, ασυμφωνία μεταξύ του φύλου όπως αυτό είχε καταγραφεί κατά τη συλλογή δείγματος και του φύλου όπως προέκυψε από τον έλεγχο ετεροζυγωτίας του φυλετικού χρωμοσώματος X, και δείγματα με βαθμό ετεροζυγωτίας μεγαλύτερο από ± 3 τυπικές αποκλίσεις. Η εθνικότητα εξετάστηκε με τη δημιουργία διαγράμματος πολυδιάστατης κλιμάκωσης (MDS) στο PLINK.

Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 23.0 for Windows.

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται στους πίνακες αποτελεσμάτων ως μέσες τιμές $\pm$ μία τυπική απόκλιση, ενώ οι κατηγορικές παρουσιάζονται σαν απόλυτες συχνότητες.

Όσον αφορά τους γονοτύπους των πολυμορφισμών C/T(-13910) και G/A(-22018): Οι δύο πολυμορφισμοί βρίσκονται σε ανισορροπία γενετικής σύνδεσης γι' αυτό οι γονότυποι των εθελοντών χωρίστηκαν σε 2 κατηγορίες λαμβάνοντας υπόψη συνδυαστικά και τους δύο πολυμορφισμούς. Στην πρώτη κατηγορία συμπεριλαμβάνονται όλοι οι συνδυασμοί των γονοτύπων που έχουν ως φαινότυπο τη συνεχιζόμενη έκφραση της λακτάσης (A/G C/C, A/G C/T, A/G T/T, A/A T/T, A/A C/T, A/A C/C, G/G C/T, G/G T/T) και έλαβαν την τιμή 1. Στην δεύτερη κατηγορία ανήκει μόνο ο συνδυασμός G/G C/C που έχει ως φαινότυπο την ανεπάρκεια της λακτάσης και έλαβε την τιμή 2.

Οι στατιστικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

Περιγραφική στατιστική: Συχνότητες για την περιγραφή των χαρακτηριστικών του δείγματος (φύλο, ηλικία, ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, ενεργειακή πρόσληψη, κατανάλωση γαλακτοκομικών) ξεχωριστά για κάθε κατηγορία απλοτύπου.

Έλεγχος χ^2 για: α) τη συσχέτιση των απλοτύπων με το φύλο, β) τη συσχέτιση των απλοτύπων με τις μερίδες γάλακτος [<1 μερίδα/ημέρα, >1 μερίδα/ημέρα] γ) τη συσχέτιση των απλοτύπων με τις μερίδες γιαουρτιού [<1 μερίδα/ημέρα, >1 μερίδα/ημέρα].

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA): Για το αν η κατανάλωση άπαχων γαλακτοκομικών διαφέρει ανάλογα με τον απλότυπο, την ηλικία και το BMI.

Mann–Whitney U test: Επειδή οι τιμές κατανάλωσης γαλακτοκομικών δεν ακολουθούν κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε το Mann–Whitney U test αντί για το t-test για τον έλεγχο της υπόθεσης: Η ανεπάρκεια της λακτάσης (απλότυπος 2) σχετίζεται με χαμηλότερη κατανάλωση γάλακτος, γιαουρτιού και συνολικά γαλακτοκομικών σε σχέση με το φαινότυπο της συνεχιζόμενης έκφρασης (απλότυπος 2).

Σε όλες τις μεθόδους επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το 5%.

Αποτελέσματα:

Χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης

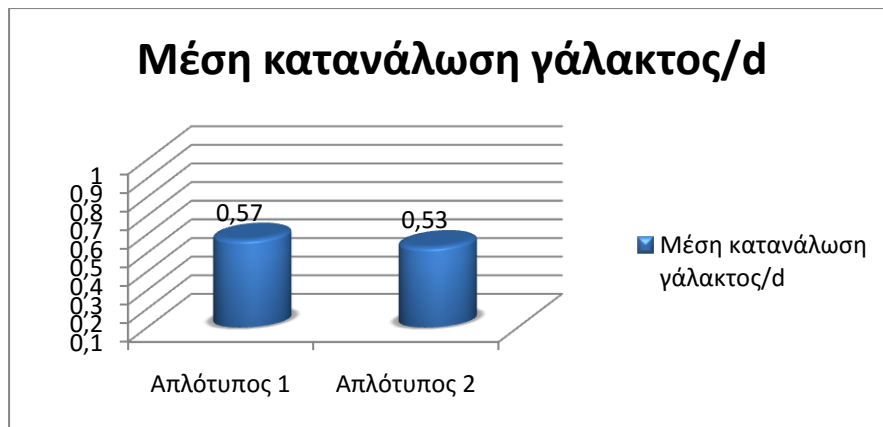
Στον πίνακα 3.3.1 περιγράφονται τα γενικά χαρακτηριστικά του δείγματος της μελέτης. Όσον αφορά το ΔΜΣ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα άτομα με ανεπάρκεια λακτάσης (Απλότυπος 2) και φυσιολογική έκφραση του ενζύμου (Απλότυπος 1). Η διαφορά είναι περίπου 1 μονάδα και δεν θεωρείται κλινικά σημαντική. Οι μέσοι όροι της ηλικίας και των προσλαμβανόμενων θερμίδων είναι επίσης παρόμοιοι στις δύο ομάδες των γονοτύπων.

Πίνακας 3.3.1:

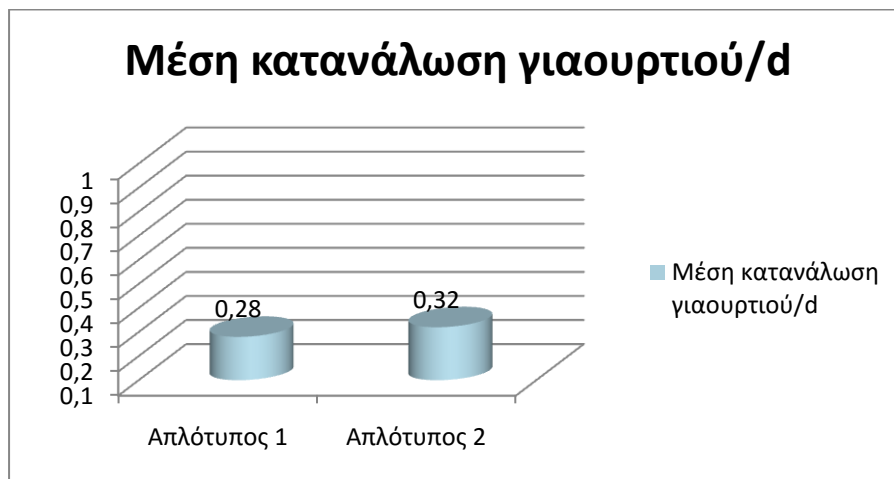
Γενικά Χαρακτηριστικά Δείγματος							
	Απλότυπος 1			Απλότυπος 2			
	N	Μέσος όρος	SD	N	Μέσος όρος	SD	p- value
Ηλικία	161	55,47	14	473	57,88	13	0,03
BMI	153	27,24	3,77	446	28,59	4,21	0,001
Kcal	161	1955,2	1484,4	473	1920,7	1130,9	0,42

Στα γραφήματα (3.3.1,2,3) αποτυπώνονται οι συνήθειες των συμμετεχόντων σχετικά με την κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών. Όπως φαίνεται η μέση κατανάλωση γάλακτος και για τις δύο ομάδες γονοτύπων είναι περίπου μισή μερίδα ανά ημέρα (1 μερίδα αντιστοιχεί σε 240 mL γάλα). Η κατανάλωση γιαουρτιού είναι ακόμα μικρότερη, 0,3 της μερίδας ανά ημέρα και για τους δύο γονοτύπους (1 μερίδα αντιστοιχεί σε 1 κεσεδάκι γιαούρτι). Η μέση κατανάλωση τυριού είναι η μόνη που ξεπερνάει την μία μερίδα την ημέρα και σχεδόν φτάνει τις δύο και σ' αυτή την περίπτωση όμως χωρίς σημαντική διαφορά ανάμεσα στους δύο γονοτύπους.

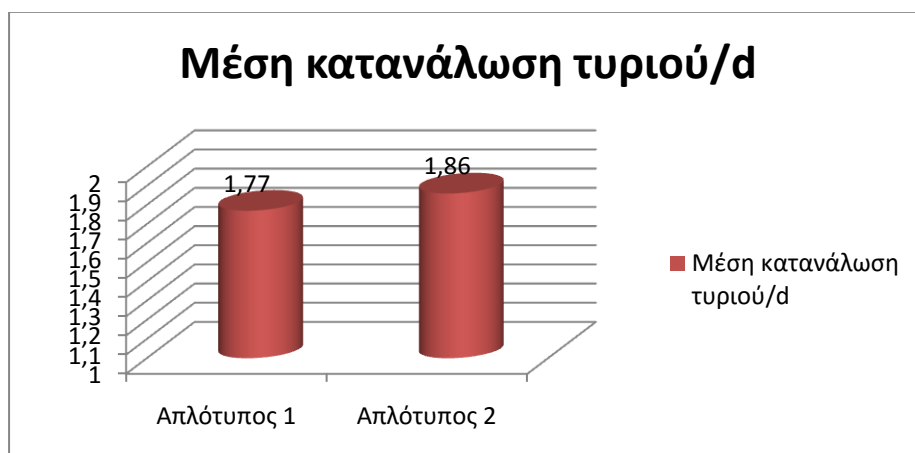
Γράφημα 3.3.1:



Γράφημα 3.3.2:



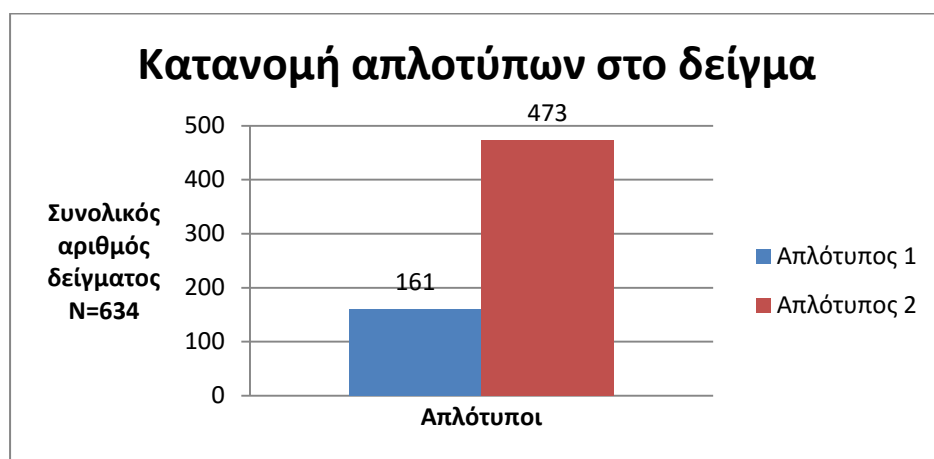
Γράφημα 3.3.3



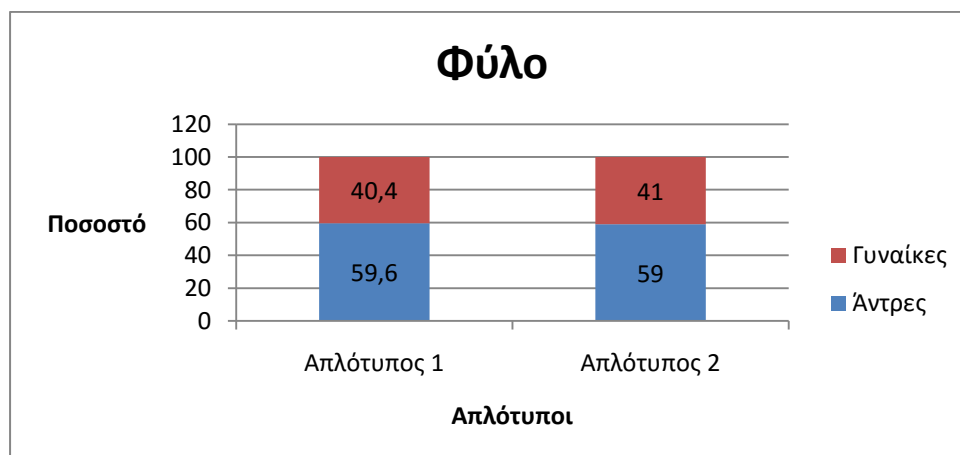
Κατανομή γονοτύπων

Η κατανομή των γονοτύπων στο δείγμα και στα δύο φύλα παρουσιάζονται στα γραφήματα (3.3.4,5). Όσον αφορά την κατανομή στο δείγμα, φαίνεται ότι η ανεπάρκεια της λακτάσης (Γονότυπος 2, G/G C/C) είναι πολύ συχνότερη σε σχέση με τη συνεχιζόμενη έκφραση. Τα 473 από τα 634 άτομα (~75%) έχουν υπολακτασία. Όσον αφορά την κατανομή των γονοτύπων στα δύο φύλα δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μετά από έλεγχο χ^2 ($p=0,926$).

Γράφημα 3.3.4:



Γράφημα 3.3.5:



Συσχέτιση των γονοτύπων με την κατανάλωση γαλακτοκομικών

Στον πίνακα 3.3.2 φαίνεται η συσχέτιση των δύο ομάδων γονοτύπων με την κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών. Η συσχέτιση έγινε για κάθε ομάδα γάλακτος και γαλακτοκομικών ξεχωριστά αλλά και συνολικά. Η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά που προέκυψε ήταν με τα άπαχα γαλακτοκομικά. Γι' αυτό το λόγο πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης αυτής της μεταβλητής στα δύο φύλα, στις ομάδες των γονοτύπων και σε σχέση με το ΔΜΣ. Το αποτέλεσμα δεν ήταν στατιστικά σημαντικό ($p=0,86$).

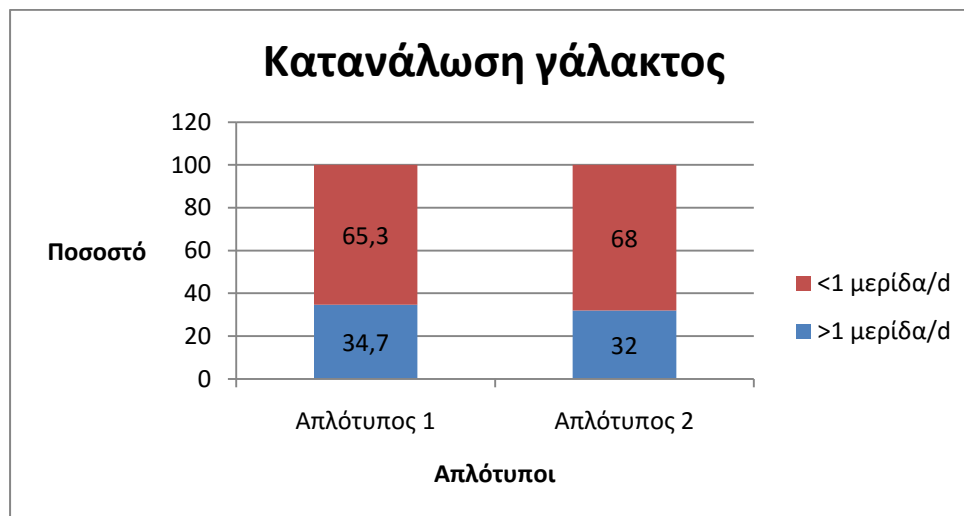
Πίνακας 3.3.2:

Συσχέτιση των γονοτύπων με την κατανάλωση γαλακτοκομικών							
	Απλότυπος 1			Απλότυπος 2			<i>p-value</i>
	N	Μέσος όρος	SD	N	Μέσος όρος	SD	
Πλήρη γαλακτοκομικά/d	159	0,38	0,5	461	0,34	0,5	0,45
Ημίπαχα γαλακτοκομικά/d	99	0,49	0,7	319	0,48	0,8	0,695
Άπαχα γαλακτοκομικά/d	97	0,06	0,5	316	0,08	0,37	0,046
Πλήρες τυρί/d	159	1,63	3,7	460	1,51	2,16	0,89
Ημίπαχο τυρί/d	158	0,20	0,3	460	0,34	0,76	0,39
Γαλακτοκομικά συνολικά	97	0,89	0,8	316	0,86	0,87	0,578
Τυρί συνολικά	159	1,77	3,8	460	1,86	2,3	0,20
Γαλακτοκομικά & Τυρί	97	3,48	4,95	316	3,25	2,77	0,97
Γάλα/d	95	0,57	0,6446	309	0,53	0,80	0,23
Γιαούρτι/d	95	0,28	0,35	309	0,32	0,46	0,60

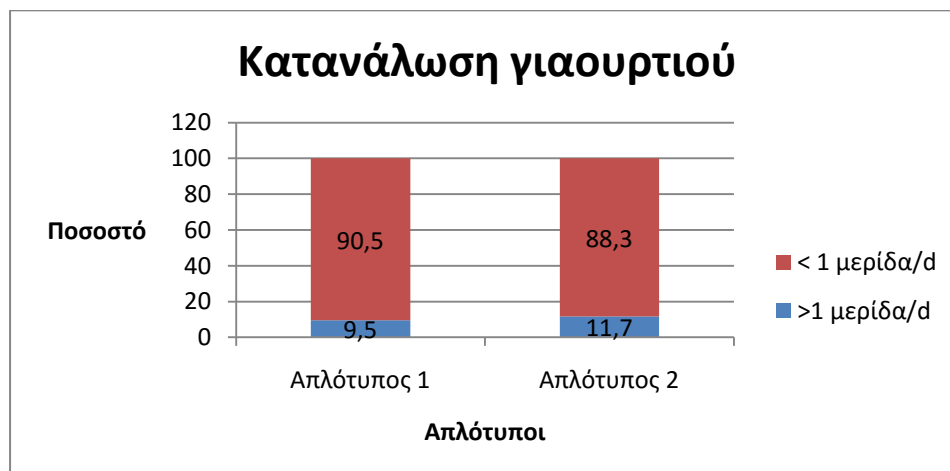
Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν δύο ακόμη έλεγχοι χ^2 οι οποίοι αφορούν: α) την κατανάλωση περισσότερο ή λιγότερο από 1 μερίδα γάλακτος την ημέρα ανάλογα με

τους απλοτύπους και β) την κατανάλωση περισσότερο ή λιγότερο από 1 μερίδα γιαουρτιού την ημέρα ανάλογα με τους απλοτύπους. Δεν βρέθηκε εξάρτηση της κατανάλωσης γάλακτος και γιαουρτιού $> ή < 1$ μερίδα και των απλοτύπων καθώς το p και στις δύο περιπτώσεις ήταν $< 5\%$ (0,619 και 0,709 αντίστοιχα). Τα παραπάνω αποτυπώνονται στα γραφήματα 3.3.6,7.

Γράφημα 3.3.6:



Γράφημα 3.3.7:



Συζήτηση

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της σχέσης των πολυμορφισμών C/T(-13910) και G/A(-22018) με την κατανάλωση γαλακτοκομικών στον ελληνικό πληθυσμό. Συγκεκριμένα, η υπόθεση που ερευνήθηκε είναι ότι η ανεπάρκεια της λακτάσης οδηγεί σε μειωμένη κατανάλωση γαλακτοκομικών και κυρίως γάλακτος καθώς αυτό περιέχει μεγάλη ποσότητα λακτόζης. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε μέρος του πληθυσμού της μελέτης «THISEAS». Τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν είναι 634 και τα στοιχεία που χρησιμοποιήθηκαν είναι το φύλο, η ηλικία, ο ΔΜΣ, η ενεργειακή πρόσληψη και η κατανάλωση γαλακτοκομικών και τυριών ανά ημέρα. Εκτός από τη διερεύνηση της σχέσης της υπολακτασίας με την κατανάλωση γαλακτοκομικών, προκύπτουν επίσης δεδομένα για τον επιπολασμό της γενετικής προδιάθεσης για υπολακτασία στην Ελλάδα.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, 473 άτομα από τα 634 του συνολικού δείγματος έχουν γονότυπο για τους δύο πολυμορφισμούς G/G C/C, άρα υπολακτασία. Αυτό αντιστοιχεί στο 75% περίπου του δείγματος. Το ποσοστό ξεπερνά κατά πολύ το 44,7% που βρήκαν ο Καναγκίνης και οι συνεργάτες του το 1974 [10] στο τμήμα της ηπειρωτικής Ελλάδας. Σε εκείνη τη μελέτη η ανεπάρκεια είχε προσδιοριστεί με τη μέτρηση της γλυκόζης ορού, άρα το εύρημα τους αντιπροσώπευε τη δυσαπορρόφηση της λακτόζης. Το 1982 οι Λαδάς, Παπανίκος και Αραπάκης [11] βρίσκουν ότι ο επιπολασμός της υπολακτασίας στην Ελλάδα μπορεί να φτάνει έως και το 75%, αποτέλεσμα που συμφωνεί με αυτό της παρούσας μελέτης. Ωστόσο η μεθοδολογία και αυτής της μελέτης δεν περιλάμβανε γενετικό τεστ αλλά τεστ αναπνοής υδρογόνου ως μέθοδο διάγνωσης. Η πιο πρόσφατη μελέτη στην οποία χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία του ελληνικού πληθυσμού ήταν το 2009 από τον Αναγνώστου και τους συνεργάτες του [53]. Σ' αυτή τη μελέτη η διαγνωστική μέθοδος ήταν το γενετικό τεστ και υπολογίστηκαν οι συχνότητες των αλληλομόρφων και των δύο πολυμορφισμών που έχουν ως φαινότυπο τη φυσιολογική έκφραση της λακτάσης. Για το αλληλόμορφο T₋₁₃₉₁₀ ήταν 9% και για το αλληλόμορφο A₋₂₂₀₁₈ 12%. Άρα η υπολακτασία σύμφωνα με τους γονοτύπους υπολογίζεται σε πολύ υψηλά ποσοστά, περίπου 90%. Το 2007 δημοσιεύτηκαν τα αποτελέσματα της έρευνας του Enattah [47] στα οποία συμπεριλαμβάνεται η νότια Ιταλία. Η νότια Ιταλία γειτονεύει γεωγραφικά με την Ελλάδα και από τη μελέτη των Αναγνώστου και συνεργατών [53]

φαίνεται να έχει τον ίδιο επιπολασμό ανεπάρκειας. Από τα αποτελέσματα του Enattah ο επιπολασμός της ανεπάρκειας στη νότια Ιταλία είναι ακόμα υψηλότερος (~95%) απ'αυτόν που αναφέρει ο Αναγνώστου. Επιπλέον είναι πολύ υψηλότερος και από τον επιπολασμό που προκύπτει από την παρούσα μελέτη για την Ελλάδα.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί το σχόλιο των Αναγνώστου et al. [53] σχετικά με τις διαφορές που εντοπίζουν στον επιπολασμό που υπολόγισαν με τη γενετική μέθοδο και σ'αυτόν που αναφέρεται στη βιβλιογραφία για τις ίδιες περιοχές. Παρατηρούν ότι όταν ο επιπολασμός της συνεχιζόμενης έκφρασης έχει προσδιοριστεί από λειτουργικές δοκιμασίες (μέτρηση γλυκόζης, τεστ αναπνοής υδρογόνου κλπ) είναι μεγαλύτερος από αυτόν που προσδιορίζεται γενετικά. Επειδή αυτή η διαφοροποίηση εμφανίζεται σταθερά προτείνουν την περαιτέρω διερεύνηση των πολυμορφισμών που σχετίζονται με την έκφραση της λακτάσης στη Νότια Ευρώπη καθώς μπορεί να διαφοροποιούνται από τους ήδη γνωστούς.

Οι εθελοντές της παρούσας μελέτης κλήθηκαν να συμπληρώσουν ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) από τα οποία προκύπτει μια εικόνα της κατανάλωσης γαλακτοκομικών στον ελληνικό πληθυσμό. Συγκεκριμένα, φαίνεται στο γράφημα 3.3.1 ότι η μέση κατανάλωση γάλακτος ανά ημέρα είναι περίπου μισή μερίδα, δηλαδή περίπου 130 mL και δεν διαφέρει ανάμεσα στις δύο ομάδες γονοτύπων. Ακόμα μικρότερη είναι η μέση κατανάλωση γιαουρτιού (0,3 της μερίδας) ενώ η κατανάλωση τυριού φτάνει σχεδόν τις δύο μερίδες την ημέρα (γραφήματα 3.3.2, 3.3.3). Άρα ο ελληνικός πληθυσμός δεν συνηθίζει να καταναλώνει μεγάλες ποσότητες γαλακτοκομικών και ιδιαίτερα γάλακτος (το οποίο περιέχει τη μεγαλύτερη ποσότητα λακτόζης) και φαίνεται να προτιμά την κατανάλωση τυριών.

Τα αποτελέσματα συμφωνούν με τα δεδομένα της μελέτης του Καναγκίνη και συνεργατών [10], οι οποίοι παρατήρησαν ότι μόνο το 52% των Ελλήνων της ηπειρωτικής Ελλάδας έπιναν γάλα και στους Κρητικούς το ποσοστό ήταν ακόμη μικρότερο (34%). Το ότι ένα μεγάλο ποσοστό δεν έπινε γάλα τους δυσκόλεψε στη συλλογή πληροφοριών για την ανοχή στο γάλα των ίδιων καθώς και των οικογενειών τους. Το πρόβλημα ήταν πολύ έντονο στην Κρήτη και ειδικά στις αγροτικές περιοχές. Γενικότερα αυτοί που έπιναν γάλα προέρχονταν από την Αθήνα ή άλλες αστικές περιοχές. Όσοι κατάγονταν από αγροτικές περιοχές δεν συνήθιζαν να πίνουν γάλα και

οι μικρές ποσότητες που παρήγαγαν μέσω της κτηνοτροφίας μετατρέπονταν και καταναλώνονταν ως τυρί [10].

Ο Λαδάς και οι συνεργάτες του [11] κατέγραψαν επίσης τις συνήθειες κατανάλωσης γάλακτος των εθελοντών τους. Και εκείνοι παρατήρησαν ότι η κατανάλωση γάλακτος επηρεάζεται από παράγοντες όπως η διαμονή σε αστικό κέντρο ή αγροτική περιοχή, τη διαθεσιμότητα του γάλακτος και το υπόβαθρο του υπό μελέτη πληθυσμού.

Το 2002 δημοσιεύτηκαν τα αποτελέσματα της μελέτης EPIC [65] σχετικά με την κατανάλωση γαλακτοκομικών σε 10 ευρωπαϊκές χώρες, συμπεριλαμβανομένης της Ελλάδας. Ο ελληνικός πληθυσμός, μαζί με κάποιες περιοχές της Ιταλίας, είχε την χαμηλότερη κατανάλωση γαλακτοκομικών (γάλα, γιαούρτι, τυρί, επιδόρπια κρέμας, παγωτό, βούτυρο κλπ.). Η μέση κατανάλωση ήταν 190 g ανά ημέρα για τους άντρες και τις γυναίκες από τα οποία περίπου τα 100 g προέρχονταν από την κατανάλωση γάλακτος (53,3%) [65].

Στοιχεία για την κατανάλωση γαλακτοκομικών στον ελληνικό πληθυσμό υπάρχουν και από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. Η κατανάλωση των εθελοντών στο baseline ήταν περίπου 6 μερίδες γαλακτοκομικών την εβδομάδα για τα δύο φύλα, δηλαδή περίπου 1 μερίδα την ημέρα. Η ομάδα των γαλακτοκομικών περιλάμβανε την κατανάλωση γάλακτος και προϊόντων ζυμωμένου γάλακτος (γιαούρτι, τυρί, βούτυρο) [66]. Μεταγενέστερα αποτελέσματα της ίδιας μελέτης παρουσιάζουν ως μέση κατανάλωση γαλακτοκομικών τις 12 μερίδες την εβδομάδα για τους άντρες και τις γυναίκες, δηλαδή 1,7 μερίδες την ημέρα. Και σ' αυτή την περίπτωση τα γαλακτοκομικά περιλάμβαναν την κατανάλωση γάλακτος, γιαουρτιού, τυριού και βουτύρου [67].

Ο βασικός σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της υπόθεσης ότι η ανεπάρκεια λακτάσης οδηγεί σε μειωμένη κατανάλωση γαλακτοκομικών και ιδιαίτερα γάλακτος. Στον πίνακα 3.3.2 φαίνεται ότι αυτή η υπόθεση δεν επιβεβαιώνεται. Οι διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες γονοτύπων στην κατανάλωση γάλακτος, γιαουρτιού, τυριού ξεχωριστά για κάθε ποσοστό λίπους, γαλακτοκομικών ξεχωριστά για κάθε ποσοστό λίπους αλλά και στην κατανάλωση συνολικά όλων των κατηγοριών δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Η ανεπάρκεια της λακτάσης (γονότυπος

2) δεν φαίνεται να επηρεάζει την κατανάλωση γάλακτος το οποίο είναι και το τρόφιμο με τη μεγαλύτερη ποσότητα λακτόζης άρα και το πιο πιθανό να οδηγήσει στην εμφάνιση συμπτωμάτων. Άλλωστε όπως δείχνει και το γράφημα 3.3.1 η μέση κατανάλωση γάλακτος συνολικά στον πληθυσμό είναι μικρή (1/2 μερίδα/ημέρα). Η ποσότητα αυτή αντιστοιχεί στην μισή ποσότητα λακτόζης που φαίνεται από τη βιβλιογραφία ότι μπορεί να είναι κατά κανόνα ανεκτή από τους ασθενείς με υπολακτασία (12 g/ημέρα) [4, 7]. Επιπλέον, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην κατανάλωση περισσότερο από 1 μερίδα ή λιγότερο από 1 μερίδα γάλακτος ή γιαουρτιού ανάμεσα στους εθελοντές με υπολακτασία ή φυσιολογική έκφραση του ενζύμου (γραφήματα 3.3.6, 3.3.7).

Τα αποτελέσματα του Καναγκίνη [10] δεν συμφωνούν με αυτά της παρούσας μελέτης. Έδειξε ότι όσο μεγαλύτερο ήταν το ποσοστό δυσαπορρόφησης λακτόζης στους υπό μελέτη πληθυσμούς τόσο περισσότερα ήταν τα άτομα που δεν κατανάλωναν γάλα. Από την άλλη, ο Λαδάς και οι συνεργάτες του [11] παρατήρησαν ότι τα άτομα με δυσαπορρόφηση κατανάλωναν γάλα με την ίδια συχνότητα με τους εθελοντές με φυσιολογική απορρόφηση. Γενικότερα από τη βιβλιογραφία σε άλλες περιοχές όπου έχουν προσδιοριστεί οι γονότυποι των πολυμορφισμών της υπολακτασίας (Φινλανδία, Εσθονία, Ρωσία, Ινδία, Αμερική) [25-32] φαίνεται ότι η ανεπάρκεια της λακτάσης μπορεί να μειώσει την κατανάλωση γάλακτος σε σχέση με τα άτομα με φυσιολογική έκφραση του ενζύμου. Όμως σε κάποιες από αυτές τις περιοχές η γενικότερη κατανάλωση γάλακτος είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με τον ελληνικό πληθυσμό (π.χ. Φινλανδία, Αμερική). Επίσης στις περισσότερες από αυτές έχει προσδιοριστεί και ο φαινότυπος μέσω ερωτηματολογίων και φαίνεται ότι η μειωμένη κατανάλωση παρατηρείται στα άτομα που εμφανίζουν δυσανεξία στη και όχι σ'αυτούς που δεν παρουσιάζουν συμπτώματα. Η παρουσία του γονοτύπου δεν μπορεί να προβλέψει απόλυτα την εμφάνιση της δυσανεξίας η οποία εξαρτάται και από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Συμπέρασμα

Είναι γεγονός ότι η Ελλάδα ανήκει στην κατηγορία υψηλού επιπολασμού υπολακτασίας. Οι πολυμορφισμοί C/T(-13910) και G/A(-22018) σχετίζονται ισχυρά με την ανεπάρκεια λακτάσης ιδιαίτερα στη βόρεια Ευρώπη. Στη νότια Ευρώπη παρατηρούνται διαφορές στις συχνότητες των αλληλομόρφων (γονότυπος) με τη συχνότητα της υπολακτασίας που εμφανίζουν τελικά οι πληθυσμοί (φαινότυπος). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την ανάγκη περαιτέρω έρευνας για τους πολυμορφισμούς που ευθύνονται για τη ρύθμιση της λακτάσης σ' αυτές τις περιοχές. Η κατανάλωση γάλακτος στον ελληνικό πληθυσμό είναι γενικά αρκετά μικρή κι αυτό μπορεί να αποτελεί μία πιθανή εξήγηση για το ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στους ασθενείς με υπολακτασία. Επιπλέον, η συσχέτιση θα πρέπει να μελετηθεί συμπεριλαμβάνοντας στοιχεία για το φαινότυπο εκτός από το γονότυπο των ατόμων καθώς η εμφάνιση συμπτωμάτων είναι αυτή που ίσως μπορεί να οδηγήσει σε μικρότερη κατανάλωση.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Carter, S.L. and S. Attel, *The diagnosis and management of patients with lactose-intolerance*. Nurse Pract, 2013. **38**(7): p. 23-8.
2. Levitt, M., T. Wilt, and A. Shaukat, *Clinical implications of lactose malabsorption versus lactose intolerance*. J Clin Gastroenterol, 2013. **47**(6): p. 471-80.
3. Lember, M., *Hypolactasia: a common enzyme deficiency leading to lactose malabsorption and intolerance*. Pol Arch Med Wewn, 2012. **122 Suppl 1**: p. 60-4.
4. Lomer, M.C., G.C. Parkes, and J.D. Sanderson, *Review article: lactose intolerance in clinical practice--myths and realities*. Aliment Pharmacol Ther, 2008. **27**(2): p. 93-103.
5. Wilt, T.J., et al., *Lactose intolerance and health*. Evid Rep Technol Assess (Full Rep), 2010(192): p. 1-410.
6. Di Rienzo, T., et al., *Lactose intolerance: from diagnosis to correct management*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2013. **17 Suppl 2**: p. 18-25.
7. Deng, Y., et al., *Lactose Intolerance in Adults: Biological Mechanism and Dietary Management*. Nutrients, 2015. **7**(9): p. 8020-35.
8. Dan N. Logo, D.L.K., J. Larry Jameson, Anthony S. Fauci, Stephen L. Hauser, Joseph Loscalzo, *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18 ed. Vol. 1. 2012, United States of America: The McGraw-Hill Companies.
9. Sahi, T., *Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia*. Scand J Gastroenterol Suppl, 1994. **202**: p. 7-20.
10. Kanaghinis, T., et al., *Primary lactase deficiency in Greek adults*. Am J Dig Dis, 1974. **19**(11): p. 1021-7.
11. Ladas, S., J. Papanikos, and G. Arapakis, *Lactose malabsorption in Greek adults: correlation of small bowel transit time with the severity of lactose intolerance*. Gut, 1982. **23**(11): p. 968-73.
12. Alpers, D.H., *Diet and irritable bowel syndrome*. Curr Opin Gastroenterol, 2006. **22**(2): p. 136-9.
13. Montalto, M., et al., *Management and treatment of lactose malabsorption*. World J Gastroenterol, 2006. **12**(2): p. 187-91.
14. Heaney, R.P., *Dairy intake, dietary adequacy, and lactose intolerance*. Adv Nutr, 2013. **4**(2): p. 151-6.
15. Swagerty, D.L., Jr., A.D. Walling, and R.M. Klein, *Lactose intolerance*. Am Fam Physician, 2002. **65**(9): p. 1845-50.
16. Suchy, F.J., et al., *NIH consensus development conference statement: Lactose intolerance and health*. NIH Consens State Sci Statements, 2010. **27**(2): p. 1-27.
17. Honkanen, R., et al., *Lactose intolerance associated with fractures of weight-bearing bones in Finnish women aged 38-57 years*. Bone, 1997. **21**(6): p. 473-7.
18. Honkanen, R., et al., *Does lactose intolerance predispose to low bone density? A population-based study of perimenopausal Finnish women*. Bone, 1996. **19**(1): p. 23-8.
19. Gugatschka, M., et al., *Calcium supply, bone mineral density and genetically defined lactose maldigestion in a cohort of elderly men*. J Endocrinol Invest, 2007. **30**(1): p. 46-51.
20. Patricia M. Bannan, M.D.L., *Calcium, dairy products, and osteoporosis: implications of lactose intolerance*. Primary Care Update for Ob/Gyns, 1996. **3**(4): p. 146-151.
21. Corazza, G.R., et al., *Lactose intolerance and bone mass in postmenopausal Italian women*. Br J Nutr, 1995. **73**(3): p. 479-87.

22. Di Stefano, M., et al., *Lactose malabsorption and intolerance and peak bone mass*. Gastroenterology, 2002. **122**(7): p. 1793-9.
23. Suarez, F.L., et al., *Lactose maldigestion is not an impediment to the intake of 1500 mg calcium daily as dairy products*. Am J Clin Nutr, 1998. **68**(5): p. 1118-22.
24. Lukito, W., et al., *From 'lactose intolerance' to 'lactose nutrition'*. Asia Pac J Clin Nutr, 2015. **24 Suppl 1**: p. S1-8.
25. Lember, M., et al., *Lactase non-persistence and milk consumption in Estonia*. World J Gastroenterol, 2006. **12**(45): p. 7329-31.
26. Kull, M., R. Kallikorm, and M. Lember, *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): p. 415-21.
27. Anthoni, S.R., et al., *Molecularly defined adult-type hypolactasia among working age people with reference to milk consumption and gastrointestinal symptoms*. World J Gastroenterol, 2007. **13**(8): p. 1230-5.
28. Almon, R., M. Sjostrom, and T.K. Nilsson, *Lactase non-persistence as a determinant of milk avoidance and calcium intake in children and adolescents*. J Nutr Sci, 2013. **2**: p. e26.
29. Khabarova, Y., et al., *Lactase non-persistent genotype influences milk consumption and gastrointestinal symptoms in Northern Russians*. BMC Gastroenterol, 2011. **11**: p. 124.
30. Baadkar, S.V., M.S. Mukherjee, and S.S. Lele, *A study on genetic test of lactase persistence in relation to milk consumption in regional groups of India*. Genet Test Mol Biomarkers, 2012. **16**(12): p. 1413-8.
31. Baadkar, S.V., M.S. Mukherjee, and S.S. Lele, *Study on influence of age, gender and genetic variants on lactose intolerance and its impact on milk intake in adult Asian Indians*. Ann Hum Biol, 2014. **41**(6): p. 548-53.
32. Obermayer-Pietsch, B.M., et al., *Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures*. J Bone Miner Res, 2004. **19**(1): p. 42-7.
33. Carroccio, A., et al., *Lactose intolerance and self-reported milk intolerance: relationship with lactose maldigestion and nutrient intake*. Lactase Deficiency Study Group. J Am Coll Nutr, 1998. **17**(6): p. 631-6.
34. Barr, S.I., *Perceived lactose intolerance in adult Canadians: a national survey*. Appl Physiol Nutr Metab, 2013. **38**(8): p. 830-5.
35. O'Connor, L.E., T.K. Eaton, and D.A. Savaiano, *Improving Milk Intake in Milk-Averse Lactose Digesters and Maldigesters*. J Nutr Educ Behav, 2015. **47**(4): p. 325-30 e1.
36. Jarvela, I.E., *Molecular genetics of adult-type hypolactasia*. Ann Med, 2005. **37**(3): p. 179-85.
37. Enattah, N.S., et al., *Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia*. Nat Genet, 2002. **30**(2): p. 233-7.
38. Enattah, N.S., et al., *Correlation of intestinal disaccharidase activities with the C/T-13910 variant and age*. World J Gastroenterol, 2007. **13**(25): p. 3508-12.
39. Ingram, C.J., et al., *Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence*. Hum Genet, 2009. **124**(6): p. 579-91.
40. Tishkoff, S.A., et al., *Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe*. Nat Genet, 2007. **39**(1): p. 31-40.
41. Swallow, D.M., *Genetics of lactase persistence and lactose intolerance*. Annu Rev Genet, 2003. **37**: p. 197-219.

42. Harvey, C.B., et al., *Lactase haplotype frequencies in Caucasians: association with the lactase persistence/non-persistence polymorphism*. Ann Hum Genet, 1998. **62**(Pt 3): p. 215-23.
43. Hollox, E.J., et al., *Lactase haplotype diversity in the Old World*. Am J Hum Genet, 2001. **68**(1): p. 160-172.
44. Poulter, M., 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**(Pt 4): p. 298-311.
45. Bersaglieri, T., et al., *Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene*. Am J Hum Genet, 2004. **74**(6): p. 1111-20.
46. Coelho, M., et al., *Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence*. Hum Genet, 2005. **117**(4): p. 329-39.
47. Enattah, N.S., et al., *Evidence of still-ongoing convergence evolution of the lactase persistence T-13910 alleles in humans*. Am J Hum Genet, 2007. **81**(3): p. 615-25.
48. Dzialanski, Z., et al., *Lactase persistence versus lactose intolerance: Is there an intermediate phenotype?* Clin Biochem, 2016. **49**(3): p. 248-52.
49. Olds, L.C. and E. Sibley, *Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element*. Hum Mol Genet, 2003. **12**(18): p. 2333-40.
50. Kuchay, R.A., et al., *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. **8**(1): p. 145-51.
51. Kuokkanen, M., et al., *Transcriptional regulation of the lactase-phlorizin hydrolase gene by polymorphisms associated with adult-type hypolactasia*. Gut, 2003. **52**(5): p. 647-52.
52. Itan, Y., et al., *The origins of lactase persistence in Europe*. PLoS Comput Biol, 2009. **5**(8): p. e1000491.
53. Anagnostou, P., et al., *Tracing the distribution and evolution of lactase persistence in Southern Europe through the study of the T(-13910) variant*. Am J Hum Biol, 2009. **21**(2): p. 217-9.
54. Mark Jobling, E.H., Toomas Kivisild, Chris Tyler-Smith, *Human Evolutionary Genetics* Second ed 2014, United States of America: Garland Science. 500-503.
55. Kruttli, A., et al., *Ancient DNA analysis reveals high frequency of European lactase persistence allele (T-13910) in medieval central Europe*. PLoS One, 2014. **9**(1): p. e86251.
56. Burger, J., et al., *Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(10): p. 3736-41.
57. Vuorisalo, T., et al., *High lactose tolerance in North Europeans: a result of migration, not in situ milk consumption*. Perspect Biol Med, 2012. **55**(2): p. 163-74.
58. Malmstrom, H., et al., *High frequency of lactose intolerance in a prehistoric hunter-gatherer population in northern Europe*. BMC Evol Biol, 2010. **10**: p. 89.
59. Gerbault, P., et al., *Impact of selection and demography on the diffusion of lactase persistence*. PLoS One, 2009. **4**(7): p. e6369.
60. Witas, H.W., et al., *Hunting for the LCT-13910*T allele between the Middle Neolithic and the Middle Ages suggests its absence in dairying LBK people entering the Kuyavia region in the 8th millennium BP*. PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0122384.
61. Plantinga, T.S., et al., *Low prevalence of lactase persistence in Neolithic South-West Europe*. Eur J Hum Genet, 2012. **20**(7): p. 778-82.
62. Ranciaro, A., et al., *Genetic origins of lactase persistence and the spread of pastoralism in Africa*. Am J Hum Genet, 2014. **94**(4): p. 496-510.

63. Macholdt, E., et al., *Tracing pastoralist migrations to southern Africa with lactase persistence alleles*. Curr Biol, 2014. **24**(8): p. 875-9.
64. Myles, S., et al., *Genetic evidence in support of a shared Eurasian-North African dairying origin*. Hum Genet, 2005. **117**(1): p. 34-42.
65. Hjartaker, A., et al., *Consumption of dairy products in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort: data from 35 955 24-hour dietary recalls in 10 European countries*. Public Health Nutr, 2002. **5**(6B): p. 1259-71.
66. Pitsavos, C., et al., *Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study*. BMC Public Health, 2003. **3**: p. 32.
67. Panagiotakos, D.B., et al., *Association between the prevalence of obesity and adherence to the Mediterranean diet: the ATTICA study*. Nutrition, 2006. **22**(5): p. 449-56.