



VILNIAUS UNIVERSITETAS

DANUTĖ KALIBATIENĖ

INTESTININĖS ENZIMOPATIJOS

Mokslinė monografija



VILNIAUS
UNIVERSITETO
LEIDYKLA
2014

Monografijos leidyba patvirtinta
Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto tarybos posėdyje
2014 m. balandžio 23 d.

Recenzavo:
Prof. Limas KUPČINSKAS
Prof. Laimas JONAITIS
Prof. Algimantas IRNIUS

ISBN 978-609-459-321-5

© Danutė Kalibatienė, 2014
© Vilniaus universitetas, 2014

TURINYS

PRATARMĖ	5
1. VIRŠKINIMO TRAKTO FERMENTAI IR INTESTININĖS ENZIMOPATIJOS	8
1.1. Virškinimo trakto fermentai	8
1.2. Disacharidazių nepakankamumas	9
1.3. Sukrazės-izomaltazės nepakankamumas	11
1.4. Trehalazės nepakankamumas	14
2. LAKTAZĖS NEPAKANKAMUMAS	19
2.1. Laktozės metabolizmas	19
2.2. Plonosios žarnos gleivinės fermentas laktazė	20
2.3. Pieno ir laktozės netoleravimas: istorinė apžvalga	24
2.4. Laktazės aktyvumo pokyčių klasifikacija ir terminija	26
2.5. Pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetika	28
2.6. Laktazės nepakankamumo fenotipo paplitimas	38
2.7. Laktazės aktyvumo persistavimo / nepersistavimo genotipų paplitimo tyrimai	44
2.8. Laktazės nepakankamumo paplitimas Lietuvoje	47
2.9. Netolygaus laktazės persistavimo / nepersistavimo genotipų paplitimo teorijos	62
2.10. Laktazės nepakankamumo diagnostikos metodai	75
2.11. Laktazės nepakankamumo poveikis sveikatai	94
2.12. Antrinis laktazės nepakankamumas	107
2.13. Laktazės nepakankamumo sąsajos su lėtinėmis ligomis	111
2.14. Laktazės nepakankamumo gydymas	114

3. CELIAKINĖ LIGA	124
3.1. Celiakinės ligos apibrėžtis	124
3.2. Celiakinės ligos paplitimas	124
3.3. Etiologija ir patogenezė	126
3.4. Celiakinės ligos diagnostikos kriterijai	134
3.5. Celiakinės ligos klinikiniai fenotipai	134
3.6. Celiakinės ligos klinikinės asociacijos	137
3.7. Celiakinės ligos gydymas	140
LITERATŪRA	145
AUTORĖS DARBAI IR PUBLIKACIJOS MONOGRAFIJOS TEMA	176
SANTRUMPOS	177
SANTRAUKA	178
ABSTRACT	182

PRATARMĖ

Intestininės enzimopatijos – tai organizmo būklė, kai sumažėja arba visiškai išnyksta plonosios žarnos fermentų (enzimų), dalyvaujančių virškinimo procese, aktyvumas ir dėl to sutrinka tam tikrų maisto medžiagų pasisavinimas. Intestininės enzimopatijos gali būti pirminės, nulemtos genetiškai, ir antrinės, susijusios su ligomis, kuriomis sergant pažeidžiama plonosios žarnos gleivinė.

Prieš keliasdešimt metų pasirodė pirmosios mokslinės publikacijos, gvildenančios plonosios žarnos fermentų aktyvumo sumažėjimo problemą ir svarbą medicinos praktikoje. Nuo to laiko daugiausia tyrinėta dažniausiai pasitaikanti intestinalinė enzimopatija – laktazės nepakankamumas. Pasirodė daug straipsnių, atspindinčių įvairius pieno cukraus (laktozės) pasisavinimo aspektus, tačiau problema lieka nepakankamai aiški iki šiol. Daugelis mokslininkų sutaria, kad pieno cukraus pasisavinimo sutrikimų paplitimas įvairių šalių gyventojų populiacijose priklauso nuo rasės ir istorinių bei kultūrinių veiksnių. Atlikus epidemiologinius tyrimus paaiškėjo, kad didesnioji žmonijos dalis negali pasisavinti pieno cukraus. Tokiems žmonėms suvalgius pieno sutrinka fiziologiniai virškinimo procesai plonojoje žarnoje, atsiranda pieno netoleravimo klininių požymių. Matyt, dėl to daugelis pasaulio tautų, išskyrus europiečius ir išeivius iš Europos kituose žemynuose, neturi šviežio pieno vartojimo maistui tradicijų.

Netolygaus laktazės nepakankamumo paplitimo atskirose gyventojų populiacijose reiškiniai paaiškinti buvo pasiūlyta keletas teorijų: dietinio slopinimo, indukcijos, istorinė-kultūrinė, nišos konstrukcijos ir kitos. Šios teorijos aptariamose monografijoje. Daugiausia autorių palaiko istorinę-kultūrinę teoriją, tačiau jai galutinai įrodyti trūksta kai kurių šalių, tarp jų ir Rytų Europos gyventojų, tyrimų rezultatų. Kadangi didelė suaugusių žmonių dalis negali vartoti pieno, nes jų žarnyne yra sumažėjęs laktazės fermentinis aktyvumas ir todėl nehidrolizuojamas pieno cukrus, iškyla keletas problemų. Keičiasi požiūris į sveikų suaugusių žmonių mitybą. Atsiranda poreikis plėsti belaktozių pieno produktų ir sintetinės laktazės gamybą. Iškyla klausimas dėl kalcio papildų vartojimo.

Teoriškai tiriant plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumo svarbą žmogui, atsiranda naujų klausimų: ar gali šio fermento funkciją pakeisti kiti veiksniai, pavyzdžiui, storosios žarnos mikroflora; ar sumažėjus laktazės aktyvumui ir sutrikus pieno cukraus hidrolizei pablogėja kitų maisto medžiagų pasisavinimas; ar europiečiams, mažiau vartojantiems pieno produktų, atsiranda kalcio ir D vitamino trūkumas; kokie

metodai yra geriausi šiai enzimopatijai diagnozuoti ir poreikis surasti naujų lengviau pritaikomų klinikinėje praktikoje būdų; pagaliau, ar pirminis laktazės nepakankamumas galėtų būti vienas iš genetinių žymenų žmonių etninei ir rasinei priklausomybei diferencijuoti. Analizuojant šią problemą, kyla dar vienas įdomus klausimas: gal kiekvienos tautos tam tikros mitybos tradicijos apskritai yra genetiškai determinuotos? Pasitvirtinus šiam faktui išeitų, kad negalima be išlygų perimti tolimų mums tautų maitinimosi įpročių, prieš tai neišsiaiškinus savųjų plonosios žarnos fermentų spektro ir galimybių. Antra vertus, pagal istorinę-kultūrinę teoriją, aplinkos veiksniai, tarp jų ir mitybos ypatumai, ilgainiui gali pakeisti genotipą (nišos konstrukcijos teorija). Šiam spėjimui pasitvirtinus, atsivertų plačios, labai įdomios perspektyvos dietologijai ir apskritai medicinai.

Monografijoje apžvelgta pasaulinė mokslinė literatūra apie plonosios žarnos enzimopatijas, daugiausia dėmesio skiriant dažniausioms iš jų – laktazės nepakankamumui ir celiakinei ligai, kuriai būdingas antrinis disacharidazių nepakankamumas. Monografijoje pateikiama ne tik kitų autorių publikacijų apžvalga, bet ir savo mokslinių tyrimų šiais klausimais medžiaga. Knygoje pateikta šiuolaikinė intesinių enzimopatijų apibrėžtis, terminija ir klasifikacija, išanalizuoti etiologijos ir patogenezės aspektai, amžiaus ir lyties ypatumai, klinikiniai simptomai, komplikacijos, sąsajos su kitomis ligomis, diagnostikos metodai ir gydymas.

Monografijoje pateikti autorės vienos ir kartu su doktorantais atliktų originalių laktazės nepakankamumo ir celiakinės ligos paplitimo lietuvių populiacijoje, patogenezės ir klinikinės raiškos tyrimų rezultatai. Autorė atliko epidemiologinius ir klinikius laktazės nepakankamumo tyrimus suaugusių Lietuvos gyventojų populiacijoje. Nustatė, kad šios intesinės enzimopatijos dažnis visoje populiacijoje yra 34 % ir jis didesnis vakarinėje Lietuvos dalyje. Laktazės nepakankamumo paplitimo tarp šalies gyventojų duomenys papildė šios enzimopatijos paplitimo regione žemėlapi. Autorė atliko epidemiologinius vaikų hipolaktazijos tyrimus, kurie atskleidė, kad pirminis laktazės nepakankamumas lietuvių populiacijoje pradeda atsirasti 6–7 metų amžiuje (0–8 %), o jo dažnis 17 metų amžiaus grupėje (32 %) statistiškai patikimai nesiskiria nuo šio rodiklio suaugusių Lietuvos gyventojų populiacijoje (34 %). Ši enzimopatija pradeda atsirasti Lietuvos vaikams kiek vėliau negu kituose pasaulio regionuose, suaugusiųjų laktazės aktyvumo dydis susiformuoja paauglystėje, o daugelyje kitų tautų tai atsitinka ikimokykliniame ir jaunesniame mokykliniame amžiuje.

Ištyrėme pirminio laktazės nepakankamumo genetinių žymenų dažnį gyventojų grupėje. Tyrimas atskleidė, kad genotipų, siejamų su hipolaktazija, dažniai lietuvių pogrupyje buvo C/C_{-13910} – 42,5 % ir G/G_{-22018} – 37,5 %, rusų pogrupyje C/C_{-13910} – 44,7 % ir G/G_{-22018} – 39,5 %, lenkų pogrupyje C/C_{-13910} – 68,0 % ir G/G_{-22018} – 60,0 %.

Šios enzimopatijos genotipo dažnis nesutampa su laktazės aktyvumo sumažėjimo fenotipu. Netoleruojančių laktozės asmenų grupėje pirminį laktazės nepakankamumą atspindinčių C/C₋₁₃₉₁₀ ir G/G₋₂₂₀₁₈ genotipų dažnis buvo tik 73,6 % ir 64,2%, o genotipų C/T₋₁₃₉₁₀, T/T₋₁₃₉₁₀ ir G/A₋₂₂₀₁₈, A/A₋₂₂₀₁₈, siejamų su pakankamu laktazės aktyvumu, dažnis buvo atitinkamai 20,8 %, 5,7 % ir 30,2 %, 5,7 %. Nustatėme, kad genetinių metodų jautrumo reikšmės svyravo nuo 64 % (G/A₋₂₂₀₁₈ varianto genotipavimas) iki 74 % (C/T₋₁₃₉₁₀ varianto genotipavimas), o specifiškumas abiem atvejais buvo panašus – atitinkamai 63 % iki 64 %. Teigiamo rezultato prognozinės vertės buvo 50–51 %, o neigiamo rezultato – svyravo nuo 79,3 % iki 83,1 %.

Celiakinė liga yra viena iš dažniausių ligų, sukeliančių antrinį plonosios žarnos fermentų, tarp jų ir laktazės, aktyvumo sumažėjimą, dėl to sutrinka maisto medžiagų absorbcija. Disacharidazių aktyvumo sumažėjimas ir celiakinė liga priklauso maisto medžiagų pasisavinimą plonojoje žarnoje sutrikdančių patologinių būklių ir ligų grupei. Pastarąjį dešimtmetį daug dėmesio skiriama celiakinės ligos klinikinių asociacijų tyrimui. Monografijoje pateikėme sveikų asmenų (kraujo donorų) ir reumatoidinio artrito ligonių celiakinės ligos serologinių žymenų tyrimo rezultatus, pagal kuriuos galima spėti, kad celiakinės ligos dažnis šalies gyventojų populiacijoje yra apie 2 %. Mūsų tyrimai patvirtino gliuteninės enteropatijos ir reumatoidinio artrito sąsajas su oksidacinio streso rodiklių kitimais.

Iki šiol šalyje nebuvo išleista monografijos, kurioje būtų apžvelgiama užsienio ir šalies autorių mokslinė medžiaga apie plonosios žarnos enzimopatijas. Tikimės, kad monografija bus įdomi ir naudinga ne tik mokslininkams, bet ir įvairių specialybių gydytojams, dirbantiems klinikinėje praktikoje: gastroenterologams, dietologams, vidaus ligų, vaikų, šeimos gydytojams ir kitiems.

Nuoširdžiai dėkoju gerbiamiems recenzentams už vertingus patarimus rengiant šį leidinį.

Autorė

VIRŠKINIMO TRAKTO FERMENTAI IR INTESTININĖS ENZIMOPATIJOS

1.1. Virškinimo trakto fermentai

Plonosios žarnos funkcijoms priskiriama sulčių sekrecija, maisto virškinimas, suvirškintų maisto medžiagų rezorbcija ir turinio stūmimas link storosios žarnos (peristaltinė funkcija). Plonosios žarnos vidinio paviršiaus plotas priklauso ne tik nuo jos ilgio (4–5 metrai), bet ir nuo gleivinės ypatumų. Gleivinė yra susiraukšlėjusi žiedinėmis raukšlėmis, kurių aukštis siekia 5 mm, jos paviršiuje yra daug mažų, tankiai išsidėsčiusių išaugų – gaurelių (angl. *villus*), kurių aukštis yra iki 0,7 mm. Apikalinės gaurelių dalys padengtos mikrogaureliais. Visa tai padidina plonosios žarnos gleivinės virškinimo ir rezorbcijos plotą iki 200–250 m² ir 100 kartų viršija kūno paviršiaus plotą. Didžiausias mikrogaurelių kiekis yra dvylikapirštėje ir tuščiojoje žarnose, kur virškinimas yra intensyviausias [1, 2].

Virškinimo trakto fermentus (enzimus) išskiria seilių liaukos, skrandis, kasa ir plonosios žarnos gleivinė. Seilėse esanti amilazė burnoje pradeda skaidyti krakmolą. Skrandžio sulčių pepsinas skaido baltymus, o lipazė – trigliceridus. Kasa išskiria fermentus amilazę, lipazę ir kolipazę, fosfolipazę, tripsiną ir chimotripsiną, skaidančius atitinkamai angliavandenius, riebalus ir baltymus. Plonosios žarnos gleivinės epitelinėse ląstelėse (enterocituose) esantys intstininiai fermentai geba hidrolizuoti angliavandenių, baltymų ir riebalų tarpinius skaidymo produktus į smulkesnes dalis, kurias gleivinė gali rezorbuoti. Intstininiams enzimams priklauso enterokinazės, disacharidazės ir peptidazės. Disacharidazių grupę sudaro sukrazės-izomaltazės kompleksas, laktazė florizinhidrolazė, maltazės-glikoamilazės kompleksas ir trehalazė. Peptidazių grupei priskiriamos endopeptidazės, veikiančios vidines peptidų jungtis, egzopeptidazės, veikiančios galutines peptidų jungtis, aminopeptidazės, veikiančios amidines peptidų jungtis, ir karboksipeptidazės, veikiančios karboksines peptidų jungtis. Auto-digestijai išvengti skrandis ir kasa gamina neaktyvias fermentų formas – pepsinogeną skrandyje bei tripsinogeną ir chimotripsinogeną kasoje, kuriuos intstininiai fermentai enterokinazės aktyvina dvylikapirštėje žarnoje [2, 3].

Plonojoje žarnoje vyksta ertminis ir membraninis maisto medžiagų virškinimas. Plonosios žarnos gleivinės Lieberkühno liaukos gamina ir išskiria žarnos sultis, kuriose yra organinių ir neorganinių medžiagų, iš kurių svarbiausi bikarbonatai, palaikantys

optimalią fermentų poveikiui šarminę terpę. Brunnerio liaukos išskiria muciną, kuris dengia gleivinę, prijungia imunoglobulinus ir saugo ją nuo žalingų veiksnių. Ertminio virškinimo metu intestinalinėse sultyse kasos ir skrandžio fermentai angliavandenius, baltymus ir lipidus hidrolizuoja iki tarpinių ir iš dalies iki galutinių produktų. Plonosios žarnos ertmėje kasos fermentai amilazė skaido krakmolą, lipazė ir kolipazė – trigliceridus, fosfolipazė – fosfolipidus, tripsinas ir chimotripsinas – baltymus [1, 2].

Membraninis virškinimas ir rezorbcija vyksta dengiančiuose plonosios žarnos gleivinę mikrogaureliuose. Šis procesas glaudžiai susijęs su cheminiais dariniais, vadinamais transporteriais, kurie perkelia galutinius ertminio skaidymo produktus į enterocitų vidų. Fermentai, atsakingi už terminalinį virškinimą, yra integruoti į enterocitų plazmos membranos proteinus, laisvu pavidalu jų žarnos ertmėje nėra. Apikalinės plazmos membranos dalys, kuriose yra susikaupę intestinaliniai fermentai, išsikiša į išorę ir formuoja mikrogaurelius, kurie sudaro šepetinį kraštą (angl. *brush border*). Todėl šie intestinaliniai fermentai dar vadinami šepetinio krašto fermentais [2, 3].

Intestinaliniai fermentai baigia hidrolizuoti tarpinius skilimo produktus: disacharidus, tripeptidus, dipeptidus ir diglicerolius. Peptidazės skaido tripeptidus ir dipeptidus iki peptidų, aminopeptidazės veikia peptidų N-galinę dalį (angl. *N-terminal*) ir susidaro aminorūgštys. Disacharidazės skaido oligosacharidus į monosacharidus. Maltazė hidrolizuoja maltozę į gliukozę, sukrazė hidrolizuoja sukrozę (sacharozę) į gliukozę ir fruktozę, laktazė hidrolizuoja laktozę (pieno cukrų) į gliukozę ir galaktozę. Fruktozė tiesiogiai difunduoja į gaurelius, o gliukozės ir galaktozės rezorbcijai reikalinga aktyvi pernaša. Mikrogaurelių lipazė baigia skaidyti diglicerolius iki riebalų rūgščių ir monogliceridų, kurie transportuojami į enterocitus. Patekę į enterocitus, riebalų rūgštys ir monogliceridai resintetinami į riebalus. Susidarę maži riebalų lašeliai eksicitozės būdu patenka į vadinamąsias pienines (angl. *lacteal*) limfagysles, kurios drenuoja gaurelius [4].

1.2. Disacharidazių nepakankamumas

Iš intestinalinių enzymopatijų dažniausiai klinikinėje praktikoje pasitaiko disacharidazių nepakankamumas. Disacharidazės – tai fermentai, skaidantys oligosacharidus į monosacharidus, kuriuos žarnynas gali pasisavinti. Jos susideda iš dviejų monosacharidų, susijungusių pagal esterų susidarymo reakciją. Disacharidams priklauso laktozė, laktulozė, celobiozė, maltozė, izomaltozė, sukrožė, trehalozė ir melibiozė. Maisto produktuose ir gėrimuose daugiausia būna maltozės (krakmolo), sukrožės (cukraus), laktozės (pieno cukraus) ir trehalozės. Keletas šepetinio krašto intestinalinių fermentų skaido disacharidus į monosacharidus. Tai sukrazė-izomaltazė, laktazė florizinhidrolazė, maltazė-glikoamilazė ir trehalazė. Europiečio dienos maisto racioną sudaro apie 400 g angliavandenių, iš jų 60 % maltozė (grūdinių kultūrų krakmolas ir gyvūninis

glikogenas), 30 % sukrozė (vaisiai, medus, šakniagumbiai, sėklos) ir 10 % laktozė (pienas ir jo produktai) [5–7].

Fermentų aktyvumo sumažėjimas yra paveldimas arba atsiranda dėl plonosios žarnos gleivinės pažeidimo. Esant disacharidazių nepakankamumui, atitinkamas monosacharidas nerezorbuojamas, dėl to jaučiami nemalonūs virškinimo sutrikimo požymiai: pykinimas, vidurių pūtimas, dujų kaupimasis, pilvo diegliai, viduriavimas, dažnai atsirandantys per valandą po to, kai suvartojama maisto, turinčio šių disacharidų. Nors tokio pobūdžio simptomai, ypač kalbant apie vaikus, gali nurodyti disacharidazių nepakankamumą, dažnai klaidingai diagnozuojami kaip maisto alergija ar maisto netoleravimas [6, 7].

Intestininių enzymų išsidėstymas plonosios žarnos gleivinėje jau nemažai ištirtas, aprašyti keletas disacharidų maldigestijos sindromų. Dažniausias iš jų yra pirminis laktazės nepakankamumas. Laktazės aktyvumas kūdikiams ir mažiems vaikams būna didelis, tačiau suaugusiems žmonėms šio fermento aktyvumas mažėja ir pasireiškia laktozės netoleravimas. Ši intencinė enzymopatija ypač paplitusi Azijoje, Afrikoje ir apie Viduržemio jūrą gyvenančiose populiacijose. Kiti paveldimi disacharidazių aktyvumo sutrikimai yra reti, dažniausiai būna izoliuotas vienos disacharidazės nepakankamumas. Tai įgimtas sukrazės-izomaltazės nepakankamumas ir trehalazės nepakankamumas, kurie paveldimi autosominiu recesyviniu būdu. Šios enzymopatijos santykinai dažnesnės Grenlandijos ir Aliaskos eskimų populiacijose. Labai retai pasitaiko gliukozės-galaktozės malabsorbcija, kurią sukelia gliukozės pernešėjo nepakankamumas [6, 7].

Įgytas disacharidazių nepakankamumas yra palyginti dažnas, jis paveikia visas disacharidazes ir yra siejamas su plonosios žarnos gleivinės pažeidimais, kurie gali atsirasti dėl infekcinio uždegimo, autoimuninių sutrikimų, tokių kaip Krono liga, ilgalaikio antibiotikų ar kitų vaistų vartojimo, dėl toksinų (alkoholio ar chemoterapijos) poveikio. Tiksliai ir laiku atlikta disacharidazių nepakankamumo diagnozė ypač svarbi tiriant vaikus, nes neatpažinus šios patologijos, gali atsirasti tokių nepageidaujamų padarinių, kaip augimo sutrikimas, nepakankama mityba, dehidracija [8].

Diagnozei patikslinti atliekami disacharidų toleravimo mėginiai nustatant glikeminės kreivės pakilimo dydį arba vandenilio koncentracijos iškvėpiamame ore padidėjimą. Geriausias būdas aiškiai diagnozei nustatyti yra histomorfologiškai ištirti plonosios žarnos gleivinės biopsinę medžiagą ir nustatyti disacharidazių aktyvumą [8].

1.3. Sukrazės-izomaltazės nepakankamumas

Sukrazė-izomaltazė (SI) – plonosios žarnos gleivinės šepetiniame krašte esantys fermentai, atsakingi už maistinės sukrozės (sacharozės) ir maltozės hidrolizę į gliukozę ir fruktozę. SI glikoproteinas susideda iš dviejų homologinių subvienetų – sukrazės ir izomaltazės. Plonojoje žarnoje SI sintetinama į vieną polipeptidą, turintį dvi aktyvias vietas [8]. Sacharozė (cukrinių runkelių, cukranendrių cukrus) – disacharidas, kurį sudaro α -D-gliukopiranozė ir β -D-fruktofuranozė, sujungtos 1,2-glikozidiniu ryšiu, molekulinė formulė $C_{12}H_{22}O_{11}$. Tai vienas iš labiausiai gamtoje paplitusių augalinės kilmės angliavandenių. Daug sacharozės yra įvairių augalų šakniagumbiuose, sultyse ir vaisiuose. Maltozė (salyklo cukrus) – disacharidas, sudarytas iš dviejų gliukozės molekulių, surištų $\alpha(1\rightarrow4)$ jungtimi. Izomaltazės izomere dvi gliukozės molekulės yra surištos $\alpha(1\rightarrow6)$ jungtimi. Maltozė – tai tarpinis produktas, atsirandantis amilazei hidrolizuojant polisacharidą krakmolą, kurio daug turi grūdinės kultūros ir bulvės [9, 10].

Igimto sukrazės-izomaltazės nepakankamumo (angl. CSID) paplitimas yra per mažai žinomas. Manoma, kad daliai pacientų, kenčiančių nuo lėtinio viduriavimo ir kitų virškinimo sutrikimų, laiku nebuvo diagnozuotas CSID. Vienas tyrimas atskleidė, kad CSID paplitimas Jungtinių Amerikos Valstijų gyventojų populiacijose siekia 8,9 % [9]. Kitų tyrimų duomenimis, CSID paplitimas yra mažas (2 %) tarp Kaukazo gyventojų [9] ir santykinai didelis Grenlandijos, Aliaskos ir Kanados eskimų populiacijose (10,5 %)[11].

Igimtas sukrazės-izomaltazės nepakankamumas yra reta, autosominiu recesyviniu būdu liga, kuri pirmą kartą aprašyta 1960 metais [12]. CSID sukelia homozigotinė arba heterozigotinė mutacijos SI gene (609845), kurios koduoja sukrozę-izomaltazę 3q26 chromosomoje [13, 14, 15]. SI genas yra apie 100 kb ilgio, jame yra 48 egzonai, koduojantys du fermentus: sukrazę ir izomaltazę [16]. Šiaurės Amerikos gyventojų populiacijose pasitaiko keturios mutacijos: p.G1073D, p.V577G, p.F1745C ir p.R1124X, kurių dažnis atitinkamai 31 %, 15 %, 7 % ir 6 %. Mažiausiai 83 % asmenų, sergančių CSID, turi vieną mutaciją, iš jų 35 % yra homozigotai ir 48% – heterozigotai [17]. Manoma, kad genetiniai molekuliniai tyrimai diagnozuoti CSID yra pigesni negu plonosios žarnos gleivinės biopsinės medžiagos tyrimas [18].

Sergantiems CSID pacientams J. Ouwendijk ir bendr. nustatė homozigotinę mutaciją SI gene (Q1098P; 609845.0001) [19]. R. Jacob ir bendr. identifikavo L340P mutaciją (609845.0002), kuri pasireiškė neįprasta intraląsteline SI segmentacija endoplazminiame tinkle [20]. N. Spodsberg ir bendr. atliko Q117R mutacijos (609845.0003) detekciją [21]. V. Ritz ir bendr. identifikavo L620P mutaciją (609845.0004), kuri blokuoja enzimo pernašą endoplazminiame tinkle [16]. P. Sander ir bendr. išanalizavo vienuolikos vengrų CSID ligonių sukrazės-izomaltazės geną ir nerado nė vienos anksčiau

nustatytos mutacijos. Tyrimas atskleidė 43 SI variantus, iš jų 15 – egzonų viduje ir 1 – jų sandūros vietoje. Aštuonios egzoninės mutacijos ir viena sandūros mutacija sukėlė aminorūgščių pasikeitimą, nulemiantį hipomorfinį arba nulinį alelį. Šešioms ligoniams iš vienuolikos CSID fenotipas paaiškinamas sudėtinu heterozigotiškumu [15].

H. P. Hauri ir bendr., tirdami CSID turinčius vaikus, plonosios žarnos gleivinės biopsinėje medžiagoje sukrazę-izomaltazę identifikavo imuniniais metodais. Kadangi šis baltymas buvo ne visiškai glikozilintas ir neįmanoma jo nustatyti šepetiniame membranos krašte imuniniu elektroniniu mikroskopu, autoriai spėja, kad CSID sukėlė intraląstelinės pernašos sutrikimas [22]. M. L. Lloyd ir W. A. Olsen įrodė sunkų intraląstelinį fermento judėjimo defektą [23].

J. A. M Fransen ir bendr. nurodė enzimo judėjimo ląstelėje anomalijas: pernašos blokavimą Goldžio aparate, intraląstelinės pernašos ir įsijungimo į šepetinio krašto membraną sutrikimus. Tokiais atvejais sukrazės-izomaltazės fermentinis aktyvumas dažniausiai būna išnykęs. Tačiau kartais fermentas būna įsiterpęs į šepetinio krašto membraną, bet įvykusi mutacija paveikia tik katalizinę SI dalį. Tuomet sukrazės aktyvumas išnyksta, o izomaltazės aktyvumas sumažėja nuo 50 % iki 90 % [14].

CSID pasižymi plačiu fenotipiniu heterogeniškumu, o jo klinikinė raiška svyruoja nuo minimalių iki gyvybei pavojingų simptomų. CSID požymiai nėra specifiniai ir yra panašūs į kitos kilmės virškinimo trakto veiklos sutrikimus. Klinikiniam vaizdui yra būdingas viduriavimas – nuo lengvų epizodų iki lėtinės diarėjos. Kūdikiams šie simptomai nepasireiškia tol, kol jie pradeda valgyti cukraus ir maisto produktų, kuriuose yra krakmolo. Lėtinis vandeningas viduriavimas ir prastas virškinimas yra dažniausi kūdikių ir mažų vaikų CSID simptomai. Kiti požymiai – žarnyno diegliai, meteorizmas, vėmimas, dehidracija, silpnumas, sudirgimas [10, 24].

Suaugusiems simptomai išlieka, bet gali pasireikšti silpniau nei vaikams. Gali atsirasti arba didėti pilvo pūtimas, dujų kaupimasis žarnyne ar epizodinis vandeningas viduriavimas suvartojus didesnę kiekį cukraus. Kai kuriems pacientams viduriavimas gali kaitaliotis su vidurių užkietėjimu, todėl neretai nustatoma klaidinga diagnozė – dirgliosios žarnos sindromas. Pacientui augant, CSID nepraeina. Normalaus sukrazės-izomaltazės fermentų aktyvumo neskatina vartojami maisto produktai, turintys cukraus ir krakmolo. Kai kurių populiacijų, ypač Grenlandijos ir Aliaskos eskimų, maisto racionas, kuriame mažai angliavandenių, bet daug baltymų ir riebalų, gali maskuoti CSID simptomus [10, 11].

Neabsorbuoti angliavandeniai paspartina plonosios žarnos turinio slinkimą, todėl pablogėja riebalų rūgščių ir monosacharidų absorbavimas. Žarnyno bakterijų fermentuojamas maistinių disacharidų perteklius sukelia dujų kaupimąsi, žarnyno pūtimą ir skausmą. Nepajėgumas suvirškinti sacharozės ir krakmolo gali turėti įtakos kitų

maistinių medžiagų absorbcijai (nustatoma steatorėja) ir žarnyno funkcijos hormonų pusiausvyrai. Sutrikdomas normalus hormonų: insulino, C-peptido ir žarnyną slopinančio peptido, kiekio padidėjimas [9, 27–29].

CSID kartais nediagnozuojamas arba diagnozuojamas pavėluotai, ypač jei pacientai jaučia nespecifinius virškinimo sutrikimo simptomus ir tiriamos kitos šio sutrikimo priežastys. Dažnai ligos diagnozė yra klaidinga: manoma, kad ligonius vargina maisto alergija arba karvės pieno bei sojos baltymų netoleravimas. Pasibaigus kūdikystei ir pradėjus vartoti įvairų maistą, darosi vis sunkiau tiksliai identifikuoti CSID [30].

CSID diagnostikai (1 lentelė) naudojami šie tyrimai: sacharozės toleravimo mėginys matuojant vandenilio koncentraciją iškvepiamame ore, sukrazės preparato (*Sucraid*) klinikinis mėginys, išmatų pH tyrimas, plonosios žarnos gleivinės histomorfologinis tyrimas ir disacharidazių, tarp jų ir sukrazės, fermentinio aktyvumo nustatymas [31, 32].

1 lentelė. Sukrazės-izomaltazės nepakankamumo diagnostikos metodai

Metodas	Teigiamas rezultatas	Klaidingai teigiamas	Klaidingai neigiamas
Sacharozės toleravimo mėginys matuojant vandenilio koncentraciją iškvepiamame ore	< 20 ppm H ₂ virš normos	Difuzinis plonosios žarnos gleivinės gaurelių pažeidimas	Sumažėjęs vandenilį gaminančių žarnyno bakterijų kiekis
Fermento sukrazės preparato (<i>Sucraid</i>) klinikinis mėginys	Pastebimas simptomų: viduriavimo, pilvo pūtimo, spazmų, sumažėjimas per vieną savaitę	Antrinis sukrazės nepakankamumas	Neadekvati dozė ir netinkamas preparato vartojimas
Išmatų pH tyrimas	pH < 6,0	Bet kurių angliavandenių malabsorbcija	
Plonosios žarnos gleivinės morfologinis tyrimas ir disacharidazių, tarp jų ir sukrazės, fermentinio aktyvumo nustatymas	Visiškas arba beveik visiškas sukrazės aktyvumo +/- izomaltazės aktyvumo sumažėjimas esant normaliam laktazės aktyvumui ir normaliai gleivinės sandarai	Netinkamas biopsinės medžiagos paėmimas. Biopsija atlikta proksimalioje dvylikapirštės žarnos dalyje	

Jei neįmanoma ar sunku atlikti plonosios žarnos biopsiją ar vandenilio koncentracijos iškvepiamame ore mėginį, patariama taikyti sukrazės preparato klinikinį mėginį. Deja, sukrazės preparato poveikis antrinio sukrazės nepakankamumo atvejais nėra iširtas.

CSID gydymo pagrindas – visą gyvenimą trunkanti griežta dieta be cukraus. Retai kada reikia laikytis dietos nevarojant krakmolo produktų, išskyrus kūdikius ar pacientus, kuriems cukraus atsisakymas nesumažina klinikinių simptomų. Vis dėlto, atsižvelgiant į cukraus vartojimo paplitimą, pacientams sunku laikytis tokios dietos. Dietos nesilaikymas pasireiškia pasikartojančiais žarnyno dispepsijos požymiais, vaikams – sumažėjusiu svoriu ir ūgiu. Pakaitinė fermento terapija padeda efektyviai kontroliuoti sukrazės nepakankamumą, didžiąjai daliai pacientų gerokai sumažina klinikinius simptomus.

H. K. Harms ir bendr. pastebėjo, kad liofilizuotos mielės būna efektyvios gydant sukrazės-izomaltazės nepakankamumą. *In vitro* konstatuotas gana didelis mielių sukrazės aktyvumas, bet mažas maltazės ir izomaltazės aktyvumas, visiškai nėra laktazės aktyvumo. Sukrazės aktyvumą slopina skrandžio sultys, todėl liofilizuotų mielių preparatus reikia vartoti pavalgius. Vaikams nerekomenduojama skirti liofilizuotų mielių [34]. W. R. Treem ir bendr. paskelbė preliminarius invertazės preparato klinikinio pritaikomumo rezultatus. Autorių nuomone, invertazės (beta-fruktofuranozidazės) preparatas turi pranašumą, lyginant su mielėmis, – bekvapis, beskonis, efektyvus esant mažesniai pH. Invertazė hidrolizuoja tik sukrozę ir sumažina klinikinius simptomus [28].

1.4. Trehalazės nepakankamumas

Trehalozė yra disacharidas, natūraliai randamas vabzdžiuose, augaluose, grybuose ir bakterijose. Pagrindinis maistinis trehalozės šaltinis yra grybai. Trehalozė vartojama kepiniams, gėrimams, konditeriniams gaminiams, uogienėms, pusryčių košėms, ryžiams ir makaronams kaip stabilizatorius ar formavimo priemonė, pasižyminti mažu saldumo intensyvumu. Trehalozę į gliukozę hidrolizuoja fermentas trehalazė (TREH; {275360}), kurios randama žmonių ir daugumos gyvūnų žarnų sienelių gleivinėse, taip pat inkstuose, kepenyse ir kraujo plazmoje [35, 36, 37].

Izoliuotas trehalazės nepakankamumas (TN) – tai autosominiu recesyviniu būdu paveldima intestininė enzymopatija, kuri nustatoma retai pavieniems asmenims, o jos paplitimas daugelyje populiacijų yra neištirtas. Nedaugelio atliktų tyrimų duomenimis, trehalazės nepakankamumas labai retas JAV baltųjų gyventojų populiacijoje (2 %) [38] ir dažnesnis tarp Grenlandijos eskimų (8 %) [39].

E. Gudmand-Høyer ir bendr. ištyrė 97 suaugusių Grenlandijos eskimų plonosios žarnos gleivinės biopsijos medžiagą, 8 % asmenų nustatė trehalazės nepakankamumą ir 5 % asmenų – sukrazės nepakankamumą (≥ 6 TV/g baltymų). Keturiems iš penkių asmenų, be sukrazės nepakankamumo, nustatytas ir laktazės nepakankamumas. Atlikus trehalozės toleravimo mėginį, vertinant gliukozės koncentracijos kraujyje

padidėjimą, iš aštuonių tiriamųjų, turinčių sumažėjusį plonosios žarnos gleivinės trehalazės aktyvumą, tik trims asmenims glikeminė kreivė nebuvo pakilusi [39].

H. Arola ir bendr. ištyrė trehalazės nepakankamumo dažnį suaugusių suomių populiacijoje. Tiriamųjų grupę sudarė 64 asmenys, kuriems buvo atlikti trehalazės toleravimo mėginys matuojant glikemijos pakilimą ir vandenilio koncentracijos padidėjimą iškvepiamame ore, taip pat trehalazės koncentraciją kraujo serume ir jos aktyvumą dvylikapirštės žarnos gleivinės biopsinėje medžiagoje.

Po mėginio trehalazės netoleravimo požymius jautė 19 asmenų (~30 %), tačiau trehalazės nepakankamumas nustatytas tik 2 tiriamiesiems (3 %). Įvairių tiesioginių ir netiesioginių trehalazės aktyvumo tyrimų rezultatai tarpusavyje koreliavo, koreliacijos koeficientas buvo 0,6 [35].

Jungtinėje Karalystėje atliktame tyrime dalyvavo 400 pacientų, kuriems buvo įtariamas malabsorbcijos sindromas. Visiems pacientams atlikta dvylikapirštės žarnos gleivinės biopsija, gleivinės histomorfologinis ištyrimas ir nustatytas disacharidazių aktyvumas. 369 pacientams, kurių histomorfologinė gleivinės struktūra buvo normali, trehalazės aktyvumas rastas normalus (4,8–37 TV/g baltymų). Izoliuotas pirminis trehalazės nepakankamumas nustatytas 3,2 % tiriamųjų. Vienam pacientui trehalazės nepakankamumas buvo ribinis. 31 pacientui su gaurelių atrofija buvo diagnozuotos virškinimo trakto ligos ir smarkiai sumažėjęs visų disacharidazių, įskaitant ir trehalazę, aktyvumas (antrinis disacharidazių nepakankamumas). Kai šiems pacientams buvo paskirta dieta be gliuteno, krakmolo, sukrozės ir trehalozės, visų disacharidazių, išskyrus laktazę, aktyvumas normalizavosi [36].

Klinikiniai tyrimai rodo, kad trehalozė dažniausiai toleruojama gerai. Trehalozei jautriems žmonėms virškinimo sutrikimų atsiranda vienu kartu suvartojus 20 g ar daugiau šio disacharido. Jei asmuo, turintis trehalazės nepakankamumą, vartoja trehalozės turinčio maisto, ji nesuvirškinama ar tik iš dalies suvirškinama, o maža jos dalis (apie 0,5 %) gali būti pasisavinama pasyvios difuzijos būdu, kaip ir kitos disacharidazės. Difuzijos būdu absorbuota trehalozė metabolizuojama į gliukozę kepenyse ar inkstuose arba gali būti pašalinama nepakitusi kartu su šlapimu. Nepasisavininta trehalozė žarnyno mikrofloros fermentuojama į trumpagrandines riebalų rūgštis (acetatus, propionatus ar butiratus). Fermentacijos produktai sukelia nemalonius klinikinius trehalazės netoleravimo simptomus: vandeningą viduriavimą, žarnyno dieglius ir žarnų dispepsijos požymius [40–43].

H. Arola ir bendr. analizavo 64 asmenų trehalazės netoleravimo klinikinius požymius siekdami atskirti simptomus, būdingus šiai enzimopatijai. Tiriamiesiems buvo atliktas trehalazės toleravimo mėginys matuojant glikemijos pakilimą ir vandenilio koncentracijos padidėjimą iškvėptame ore, suvartojus jiems ryte po nakties nevalgymo

25 g trehalozės. Trehalazės aktyvumas buvo vertinamas tiriant dvylikapirštės žarnos gleivinės biopsinę medžiagą. Iš devyniolikos asmenų, kurie netoleravo trehalozės, trylika patyrė pykinimą ir pilvo pūtimą, o šešiams pasireiškė viduriavimas. Visi šie simptomai galimi ir esant kitoms ligoms, pasireiškiančioms malabsorbcijos požymiais. Taigi, patognomoninių trehalazės nepakankamumo požymių nenustatyta [35].

Japonijoje K. Ushijima ir bendr. ištyrė 30 sveikų suaugusių gyventojų (15 vyrų ir 15 moterų). Visiems atliktas trehalozės toleravimo mėginys matuojant glikeminės kreivės pakilimą ir vandenilio koncentracijos iškvėptame ore padidėjimą kas 30 min. trijų valandų laikotarpiu. Tiriamiesiems buvo sugirdomos įvairios trehalozės dozės: 10, 20, 30 arba 40 g. Trehalazės nepakankamumas buvo nustatomas, jei vandenilio dujų koncentracija iškvėptame ore daugiau nei 20 ppm viršydavo standartinę normą. Mėginio metu ir po jo buvo registruojami trehalazės netoleravimo požymiai: viduriavimas, vidurių pūtimas ir gurguliavimas, žarnyno skausmai. Trehalozės malabsorbcijos rodikliai buvo 0 %, 40 %, 43 %, ir 75 % nuo atitinkamos 10, 20, 30, ir 40 g dozės, o virškinimo sutrikimų simptomų rodikliai buvo 0 %, 40 %, 43 %, ir 50 %. Malabsorbcija pasireiškė daugiau nei pusei tiriamųjų, kuriems buvo paskirta 40 g trehalozės dozė. Autoriai nenustatė rasinių skirtumų gebėjimui pasisavinti trehalozę mongolų (japonų), baltaodžių ir juodaodžių grupėse, tik japonams gerokai dažniau pasireiškė žarnyno dispepsijos požymiai [44].

R. Bergoz ir bendr., ištyrę 50 sveikų savanorių, palygino trehalozės ir gliukozės pasisavinimą plonojoje žarnoje kaip malabsorbcijos rodiklį. Keliais etapais buvo atliekami 50 g trehalozės ir 50 g gliukozės mėginiai. Kiekvieno mėginio metu buvo iširta gliukozės koncentracija kraujyje prieš tai ir po 15, 20, 60, 90, ir 120 minučių išgėrus trehalozės ir gliukozės tirpalų. Pasisavintos trehalozės kiekis per pirmas 60 minučių buvo vertinamas apskaičiavus glikemijos kreivių pakilimo abiejų mėginių metu skirtumą. Asmenims, turintiems normalų trehalazės aktyvumą, šis rodiklis svyravo nuo 0,3 iki 1,5, vidurkis buvo 0,7. Mažesnis nei 0,26 indeksas buvo siejamas su plonosios žarnos gleivinės pažeidimo sukelta malabsorbcija [45].

W. Heine ir bendr. tyrė trehalozės pasisavinimą lygindami su gliukozės rezorbcija. Tyrimo populiaciją sudarė 60 sveikų savanorių, kuriems buvo atliktas trehalozės toleravimo mėginys ir gliukozės mėginys matuojant glikeminės kreivės pakilimą ir vandenilio koncentracijos iškvėptame ore padidėjimą 30, 60, 90 ir 120 minučių po 50 g trehalozės kartu su 400 ml vandens suvartojimo. Nustatytas trehalozės pasisavinimo indeksas (vidurkis 0,7) parodė, kad šis disacharidas nebuvo visiškai hidrolizuotas į gliukozę plonojoje žarnoje. Tyrimo metu 10 savanorių suvartojo vieną 25 g trehalozės dozę kartu su 200 ml vandens vieną valandą po pusryčių, ši disacharido dozė nesukėlė jiems viduriavimo ar kitų žarnyno sutrikimų simptomų [46].

T. Oku ir M. Okazaki studijoje dvidešimt savanorių moterų suvartodavo per dieną trehalozės dozę, ištirpintą 200 ml vandenyje, 2–3 valandos po valgio. Trehalozės dozė kasdien buvo didinama nuo 10 iki 20, 30, 40, 50 ir 60 g kiekvieną kartą. Disacharidas laktuliozė buvo vartojama kontrolei. Visoms tiriamosioms klinikiniai simptomai ir fizinė būklė buvo fiksuojama prieš ir po trehalozės suvartojimo. Pusė tiriamųjų neturėjo žarnyno sutrikimo simptomų, netgi testuojamų didžiausia trehalozės doze (60 g), o laktuliozės sukeltas viduriavimas pasireiškė 75 % moterų nuo 40 g dozės. Kitai daliai tiriamųjų trehalozė ir laktuliozė sukėlė ryškius virškinimo sutrikimo simptomus: pykinimą, vidurių pūtimą ir gurguliavimą, bet tokios pačios dozės laktuliozės poveikis buvo daug stipresnis nei trehalozės. Ribinė viduriavimo sukėlimo dozė buvo 0,65 g trehalozės/kg kūno svorio ir 0,26 g laktuliozės/kg kūno svorio [47].

Trehalozės vartojimas maistui nėra pagrįstas moksliniais tyrimais ir nereguliuojamas visame pasaulyje. Tačiau šio disacharido vartojimo mastus galima nuspėti analizuojant produktų, kuriuose yra trehalozės, suvartojimo kiekius. Trehalozės suvartojamo kiekio tyrimai buvo atlikti JAV ir Australijoje. Jungtinėse Valstijose suvartojami trehalozės kiekiai nurodyti maisto produktų tyrime, kurį 1994–1996 metais atliko žemės ūkio departamentas. Šiame trejus metus trukusiame šalies tyrime, duomenys apie dienos (24 valandų) mitybą buvo renkami iš gyventojų populiacijoms atstovaujančių šeimų (2 lentelė). Spėjamas suaugusiųjų suvartotos trehalozės kiekis iš visų nurodytų maisto šaltinių, išskyrus kramtomąją gumą, buvo vidutiniškai 7,2 g per dieną. Spėjamas vidutinis trehalozės suvartojimas per vieną valgymą (išskyrus dažnesnius valgymo atvejus) svyravo nuo 3,9 g iki 9,7 g [48].

2 lentelė. Trehalozės kiekis maisto produktuose ir jų maksimalus naudojimo lygis JAV

Maisto produktai	Trehalozės koncentracija (%)	Maksimalus vartojimo dažnis (%)
Kepinių kremas	20–25	5–6
Cukriniai aptepai	50	10
Glajus	25	5
Apdoroti vaisiai (uogienės, įdarai, užtepai)		10–20
Konditerijos gaminiai		7
Sausainiai		10
Biskvitinis pyragas		8–10
Kieti saldainiai		20
Ledai		10
Greitai paruošiami makaronai / ryžiai		2

M. M. Murphy ir C. L. Kruger tyrė, kiek suvartojama trehalozės kramtant cukrinę ir becukrę kramtomąją gumą. Apklausa buvo atliekama paštu, į tyrimą buvo įtraukta 1500 asmenų. Remiantis faktu, kad trehalozė sudaro apie 10 % visos kramtomosios gumos kiekio, nes ji naudojama kaip nehigroskopinis saldiklis gumos apvalkalui, numanomas vidutinis gumos trehalozės suvartojimas buvo 0,4 g per dieną. M. M. Murphy ir C. L. Kruger duomenimis, įtraukiant į apskaitą ne tik maisto produktus, bet ir kramtomąją gumą, kurioje yra trehalozės, spėjamas vidutinis šio disacharido suvartojimas JAV buvo daugiau kaip 17 g per dieną. Australijoje numanomas vidutinis suaugusiųjų trehalozės suvartojimas (įskaitant ir kramtomąją gumą) svyravo nuo 6 g iki 10 g per dieną.

APIBENDRINIMAS. Intestininiams fermentams priklauso enterokinazės, disacharidazės ir peptidazės. Disacharidazių grupę sudaro sukrazės-izomaltazės kompleksas, laktazė ir trehalazė. Peptidazių grupei priskiriamos endopeptidazės, veikiančios vidines peptidų jungtis, egzopeptidazės, veikiančios galutines peptidų jungtis, aminopeptidazės, veikiančios amidines peptidų jungtis, ir karboksipeptidazės, veikiančios karboksines peptidų jungtis. Intestininiai fermentai enterokinazės aktyvina pepsinogeną ir tripsinogeną. Membraninis virškinimas ir rezorbcija vyksta plonosios žarnos gleivinės mikrogau-reliuose. Fermentai, atsakingi už galutinį virškinimą, yra integruoti į enterocitų plazmos membranos proteinus. Intestininiai fermentai baigia hidrolizuoti tarpinius maisto medžiagų skilimo produktus: disacharidus, tripeptidus, dipeptidus ir diglicerolius.

Šiuo metu iš intestinalinių fermentų daugiausia yra ištirtos disacharidazės: sukrazė-izomaltazė, laktazė florizinhidrolazė, maltazė-glikoamilazė ir trehalazė. Intestinalinių fermentų aktyvumo sumažėjimas yra paveldimas arba atsiranda dėl plonosios žarnos gleivinės pažeidimo. Dažniausia intestinalinė enzimopatija yra pirminis laktazės nepakankamumas. Kiti paveldimi disacharidazių aktyvumo sutrikimai yra reti. Tai įgimtas sukrazės-izomaltazės nepakankamumas ir trehalazės nepakankamumas. Įgytas intestinalinių fermentų nepakankamumas yra palyginti dažnas, jis yra siejamas su plonosios žarnos gleivinės pažeidimais, kurie gali atsirasti dėl virškinimo trakto ligų.

Laktazės nepakankamumas (hipolaktazija) yra dažniausia žmogaus fermento stoka, kurios paplitimas įvairiose pasaulio populiacijose skirtingas. Laktazės nepakankamumas gali būti pirminis, susijęs su laktazės geno C/C_{-13910} variantu, ir antrinis, susijęs su plonosios žarnos gleivinės pažeidimu. Laktazės fermentinio aktyvumo sumažėjimas sukelia laktozės (pieno cukraus) malabsorbciją ir laktozės netoleravimo klinikinius požymius [1].

2.1. Laktozės metabolizmas

Laktozė, pagrindinis pieno angliavandenis, sudaro 40 % pieno energetinės vertės ir yra unikalus cukrus, nes laisvų molekulių pavidalu randamas tik piene [2]. Laktozė yra pagrindinis daugumos jaunų žinduolių, tarp jų ir augančio žmogaus organizmo kūdikystėje ir vaikystėje, energijos šaltinis [3]. Laktozės, kaip energijos šaltinio, svarba suaugusiųjų mityboje yra daug mažesnė, nes gali būti pasisavinami ir kiti angliavandeniai. Dažniausiai vartojamame gyvulinės kilmės karvės piene yra nuo 3 % iki 5,1 % laktozės [4]. Chemiškai laktozė (β -D-galactopyranosyl(1→4)-glucose) yra disacharidas, susidedantis iš dviejų monosacharidų – D-gliukozės ir D-galaktozės, sujungtų β -1,4-glikozidine jungtimi [5]. Laktozė yra redukuojantysis cukrus ($C_2H_{22}O_{11}$), nes turi hemiacetilinę hidroksilo grupę prie C1 gliukozės atomo [6]. Laktozė yra nehigroskopiška medžiaga, todėl naudojama vaistų gamyboje, yra paplitusi maisto pramonėje, tad ir nevertodami pieno ar jo produktų laktozės gauname nuolat [7].

Laktozė sintetinama pieno liaukoje antruoju nėštumo (maždaug 140 dienų prieš gimdymą – 1 laktogenezė) ir laktacijos (2 laktogenezė) periodu. Šios sintezės metu kraujo gliukozė paverčiama gliukozės 6-fosfatu, UDP-gliukoze ir UDP-galaktoze. Epitelinių ląstelių Goldžio aparato vezikulėse gliukozė ir UDP-galaktozė, dalyvaujant laktozės sintetazei, yra sintetinama į laktozę [8]. Iš epitelinių ląstelių laktozė yra išskiriama į pieno liaukų lakūnas, tačiau nedidelė jos dalis paraceliuliniu būdu gali patekti į kraują ir į šlapimą [2]. Žmogaus piene yra nuo 6,2 % iki 7,5 % laktozės [9].

Laktozės kiekis motinos piene nėra priklausomas nuo maitinančios moters mitybos ir jos gliukozės koncentracijos kraujyje. Naujagimiams laktozė yra pagrindinis energijos šaltinis. Jiems reikia apie 120 kcal/kg per parą, dėl to pieno cukraus turi būti

suvalgyta maždaug 12,6 g/kg svorio. Gliukozė dalyvauja gliukoneogenezėje ir tokiu būdu netiesiogiai amino rūgščių sintezėje. Laktozė ir (arba) gliukozė veikia kitų pieno ingredientų, pavyzdžiui, kalcio, pasisavinimą.

Dar viena svarbi laktozės funkcija – naujagimių storosios žarnos kolonizacija, nes fiziologinėmis sąlygomis ne visa patenkanti į organizmą laktozė yra suskaidoma, o likusi jos dalis pasiekia storąją žarną ir tampa palankia žarnyno mikrofloros terpe [9].

Laktozės vartojimas priklauso nuo individo amžiaus. Kūdikiams angliavandeniai (svarbiausias iš jų pieno cukrus) sudaro 35–55 % suvartotų paros kalorijų. Laktozės suvartojimas mažėja pradėjus kūdikį maitinti papildomai. Suaugusieji (europiečiai) per dieną suvartoja apie 300 g angliavandenių, iš jų apie 52 % sudaro krakmolai (grūdų produktai ir bulvės), 37 % – sacharozė (cukrus), 5 % – laktozė (pieno produktai) ir 3 % – fruktozė (vaisiai ir medus). Minimaliai vartojama glikogeno, gliukozės, maltozės ir celiuliozės [9].

2.2. Plonosios žarnos gleivinės fermentas laktazė

Plonosios žarnos enterocitų mikrogaurelinės membranos fermentas laktazė (*lactase-phlorizin-hydrolase*, LPH) skaldo pieno cukrų laktozę į monosacharidus gliukozę ir galaktozę [10]. Šių monosacharidų absorbcijoje dalyvauja nuo natrio priklausomas gliukozės nešiklis (*Na⁺/glucose transporter*). Esant šios grandies defektui, gali pasireikšti sunkus viduriavimas suvalgius angliavandenių [11].

Dėl plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumo žinduoliai išgyvena, nes pienas yra būtinas jaunų žinduolių mitybos racione, todėl laktazės veikla yra esminė daugumos žinduolių ankstyvo vystymosi etape. Pasibaigus žindymo laikotarpiui, laktazės gamyba dažniausiai sumažėja, nors šio sumažėjimo mechanizmai ir evoliucinės priežastys nėra iki galo suprasti. Tačiau kai kurie žmonės išskiria laktazę ir būdami suaugę ir gali suvirškinti šviežiame piene esančią laktozę. Šis bruožas vadinamas laktazės persistavimu (laktazės išsilaikymu) [12, 52].

Laktozei suskilus, gliukozė ir galaktozė aktyviai absorbuojamos, tačiau jų pasisavinimo mechanizmai skirtingi. Galaktozė absorbuojama efektyviau negu gliukozė, šių monosacharidų absorbcijos koeficientai esti atitinkamai 122 ir 100 [13]. Gliukozė organizme utilizuojama bendra tvarka. Galaktozė – nereikalingas, net toksiškas produktas, kuris iš organizmo šalinamas keliais skirtingais būdais. Didžioji dalis (apie 94 %) galaktozės kepenyse metabolizuojama į gliukozę *Leloir* cikle. Šis ciklas labai efektyvus, per pusę valandos, dalyvaujant reguliuojančiam fermentui *UDP (galactose-4-epimerase)*, maždaug 50 % absorbuotos galaktozės paverčiama gliukoze. Likusią galaktozės dalį metabolizuoja eritrocitai arba ji pasišalina su šlapimu. Inkstuose galaktozės

tubulinė reabsorbicija daug mažesnė negu gliukozės, praktiškai nėra galaktozės inkstinio slenkščio, todėl nemažas šio monosacharido kiekis patenka į šlapimą. Galaktozės koncentracija šlapime yra dešimt kartų didesnė negu kraujyje [14].

LPH – tai disacharidazių grupei priklausantis glikoproteinas, esantis plonosios žarnos absorbcinių epitelio citų mikrogaueliuose [10, 15]. Brandi LPH forma lokalizuojasi tik galutinai susiformavusių enterocitų apikalinių membranų gauelių viršūnėje. Ji C-galiniu transmembraniniu domenu įsiterpia į šepetinio krašto membraną [10, 80]. Fermento sritis, pasižyminti laktaziniu aktyvumu, yra arčiau membranos nei ta, kuriai būdingas florizinhidrolazinis aktyvumas [16]. Kol kas neaišku, kodėl absorbcinio enterocito citoplazmoje LPH yra vien tik žemiau apikalinės membranos [5]. Kitos disacharidazės išsidėsčiusios plačiau iki gauelių vidurio. Laktazė turi du aktyvumo centrus vienoje polipeptidinėje grandinėje [17, 18].

Vieno iš jų, laktazės EC: 3.2.1.108, funkcija – disacharido laktozės hidrolizė į jį sudarančius monomerus gliukozę ir galaktozę. Kito, glikozilkeramidazės EC:3.2.1.62, funkcija – arilinių ir alkilinių β glikozidazių skaidymas į floriziną ir β glikozilkeramidus [19]. Žmogaus laktazės molekulė susideda iš 1927 aminorūgščių, jos molekulinis svoris 160,000 kDa, atskyla nuo savo pirmtako 866-oje molekulės pozicijoje [20].

Laktazė optimaliai veikia terpėje, kurios pH apie 5,5–6,0. Laktazė florizinhidrolazė fermentų nomenklatūroje, sudarytoje Fermentų komisijos prie Tarptautinės biochemijos ir molekulinės biologijos sąjungos (*IUBMB*), yra įrašyta į trečiosios hidrolazių klasės antrojo glikozilazių poklasio pirmąjį popoklasį – EC: 3.2.1.108, 3.2.1.2, 3.2.1.62. Fermentą laktazę koduoja vienas atskiras laktazės florizinhidrolazės genas *LCT*, esantis 2q 21 chromosomoje. Genas sudarytas iš 17 egzonų, kurie apima beveik 49 kb. Informacinė RNR koduoja žmogaus LPH nuo pradėties kodono iki baigmės (stop) kodono, sudarydama galutinį transliacijos produktą iš 1927 aminorūgščių. Sekų palyginimai parodė, kad koduojančią sritį sudaro keturi subvienetai, kurie yra homologiniai β glikozidazinei daliai. Tai leidžia daryti prielaidą, kad laktazės genas yra dviejų amplifikacijų, įvykusių evoliucijos metu, išdava [89, 21].

LPH baltymo pirmtakas glikoproteinas yra sudarytas iš penkių domenų: 1) atskeliamos 19 aminorūgščių ilgio signalinės sekos, 2) prebaltyminės dalies, kurioje yra I ir II sritys, iš 849 aminorūgščių, 3) brandaus baltymo, kuriame yra III ir IV sritys, 4) tvirtinimosi membranoje hidrofobinio segmento ir 5) C-galinio citozolinio hidrofilinio domeno [15, 22]. LPH žmogaus organizme išsiskiria tik plonojoje žarnoje. Išskiriamo fermento kiekis kinta proksimaline ir distaline kryptimi: pradeda didėti ribotame plote nuo skrandžio prievartės dalies iki plonosios žarnos. Čia, apytiksliai ties pirmuoju žarnos ilgio ketvirtadaliu išsiskiria didžiausias LPH kiekis. Laipsniškas laktazės aktyvumo mažėjimas vyksta trečiame žarnos ilgio ketvirtadalyje [23, 24].

Per žmogaus gyvenimą plonosios žarnos laktazės aktyvumas dėsningai kinta. Iki 24-os gestacinio amžiaus savaitės fermento aktyvumas yra mažas. Paskui jis ima didėti ir trečiąjį nėštumo trečdalį prilygsta išnešiotų naujagimių laktazės fermentiniam aktyvumui ar net viršija tą, kuris paprastai esti 2–11 mėnesių kūdikiams [25]. Didelis laktazės aktyvumas išlieka visą žindymo periodą, o nuo 2 iki 20 metų amžiaus palaipsniui mažėja. Dalies suaugusių žmonių laktazės aktyvumas sumažėja iki 10 % naujagimystės laikotarpio fermento aktyvumo [24]. Tokia organizmo būseną yra vadinama laktazės nepersistavimu arba pirmine suaugusiųjų hipolaktazija.

LPH fermentinio aktyvumo mažėjimas daugiausia valdomas transkripciniu lygmeniu [26–28]. Svarbi šiuo aspektu ir potranskripcinio lygmens įtaka. Tačiau yra duomenų ir apie tai, kad kai kuriais pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos atvejais nustatomas didelis laktazės iRNR kiekis. Tokiems asmenims susidarančių normalių iRNR kiekių mažėjimą ar įvairius paties LPH fermento intraceliulinio virsmo pokyčius – sulėtėjusią transkripto pernašą, fermento brandos sutrikimą, galutinio produkto įsitvirtinimo membranoje pažeidimą, gali sukelti potransliaciniai ar potranskripciniai veiksniai [10, 29].

Nustatyta, kad laktazės aktyvumas sumažėja ne dėl fermento virtimo į neaktyvią formą, bet dėl laktazės baltymo kiekio sumažėjimo. Laktazės baltymo mRNR kiekis koreliuoja su šio fermento aktyvumu. Manoma, kad suaugusiųjų laktazės baltymo kiekis reguliuojamas geno transkripcijos lygmeniu. Be genetinių, laktazės aktyvumą gali šiek tiek veikti ir kiti veiksniai [30, 31].

Laktazės aktyvumą slopina monosacharidai (gliukozė, galaktozė, fruktozė), suvalgyti kartu su pieno cukrumi. Šis poveikis atsiranda esant pH-6, kuris yra optimalus laktazės aktyvumui ir maksimaliai cukrų pernašai. Kasos fermentai, dalyvaujant tulžies rūgštims, skatina laktazės atsipalaidavimą nuo enterocito membranos ir kartu sumažina laktozės malabsorbciją [32]. Esant LPH fermentinio aktyvumo sumažėjimui, iš nesuskaldytos laktozės, patekusios į storąją žarną, hipoksinėmis sąlygomis susidaro vandenilio, anglies dioksido ir metano dujos bei kiti metabolitai. Iš jų kaip potencialiai toksiškos gali būti vertinamos tokios medžiagos: acetaldehidas, acetoinas, butan-2,3-diolas, dimetilglioksalis (diacetilas), etanolis, formiatas, metanas, propan-1,3-diolas, indolas, skatolas ir trumpagrandinės riebalų rūgštys, lygiai kaip ir peptidų toksinai [33].

Susidariusios medžiagos pasižymi toksiniu poveikiu nervų sistemos žymėtiesiems jonų kanalams. Laktozė pati savaime, kaip ir galaktozė, tampa toksinu, kai patenka į kraują. Nustatyta, kad 10–15 g laktozės (šis kiekis ekvivalentiškas tam, kuris yra vienoje stiklinėje pieno) gali sukelti laktozės netoleravimo simptomus nuo 41 % iki 75 % asmenų, turinčių sumažėjusį laktazės aktyvumą [37]. Nehidrolizuota LPH pagreitina laktozės malabsorbuotojų orocekalinį tranzitą, tačiau tokio laktozės poveikio

nepavyko nustatyti laktozės toleruotojams. Manoma, kad šis reiškinys negali būti pakankamai pagrįstas vien dėl nesuskaidytos laktozės osmosinės perkrovos sukeltu žarnyno pertempimu. Todėl spėjama, kad laktozė gali tiesiogiai paveikti vidinius žarnyno judrumo veiksnius [35].

Nehidrolizuota laktozė veikia kaip osmosinis faktorius, sulaikantis plonosios žarnos spindyje vandenį ir traukiantis jį iš audinių, nes tuščiosios žarnos epitelis yra labai laidus vandeniui. Kartu kaupiasi ir natrio chloridas. Storojoje žarnoje bakterijos, daugiausia anaerobai, pradeda skaldyti laktozę į labai mažo molekulinio svorio cukrus, kurie dar labiau padidina osmosinį efektą. Susidaro trumpagrandinės riebalų rūgštys bei jų dariniai – laktatai, acetatai, butiratai, proprionatai, sukcinatai, ir dujos – vandenilis, anglies dvideginis, metanas. Dėl bakterinės laktozės fermentacijos labai sumažėja storosios žarnos turinio pH. Tai dar labiau padidina žarnų peristaltiką ir sukelia viduriavimą. Hipolaktazijos klinika priklauso nuo to, kiek ir kaip storosios žarnos mikroflora sugeba utilizuoti šiuos produktus [2, 36, 37].

Esant sumažėjusiam LPH aktyvumui, patologiinių fiziologinių sutrikimų dydis priklauso ne tik nuo plonosios žarnos laktazės aktyvumo sumažėjimo, bet ir nuo daugelio kitų veiksnių. Labai svarbus vienkartinis suvalgyto maisto kiekis. Jeigu jis bus labai didelis ir viršys normalaus laktazės aktyvumo galimybes, tai kils dispepsinių sutrikimų [2]. Svarbus maisto pasišalinimo iš skrandžio greitis – kuo jis mažesnis, tuo laktozės absorbcija didesnė. Patenkant į plonąją žarną mažoms pieno cukraus porcijoms, dažnai užtenka net subnormalaus laktazės aktyvumo joms hidrolizuoti. Kitas veiksnys – tai laktozės tranzito žarnynu laikas. Įrodyta, kad kuo ryškesni laktozės netoleravimo simptomai, tuo šis laikas trumpesnis [38]. Labai svarbus yra storosios žarnos mikrofloros vaidmuo. Mikroflora gali daugiau ar mažiau kompensuoti laktazės aktyvumo trūkumą, sušvelnindama laktozės netoleravimo simptomus. Svarbu, koku pavidalu yra vartojamas pieno cukrus: ištirpintas vandenyje, piene, pieno produktuose ar termiškai paruoštuose maisto patiekaluose. Nuo to priklauso skrandžio turinio pasišalinimo greitis, kurį, kaip žinoma, veikia maisto sudėtis ir konsistencija [39]. Esant sumažėjusiam LPH aktyvumui, plonojoje žarnoje sutrinka ne tik pieno cukraus, bet ir kitų maisto ingredientų absorbcija. J. C. Debongnie ir bendr. nustatė, kad esant laktazės nepakankamumui plonojoje žarnoje iš suvalgyto pieno mažiau pasisavinama baltymų, kalcio, magnio ir fosforo ir gaunama 14 % mažiau kalorijų negu normaliai.

Žmonės, turintys laktazės nepakankamumą, dažniau serga osteoporoze, kurios etiopatogenezę nėra aiški. Manoma, kad viena iš jos priežasčių yra kalcio trūkumas organizme [40]. M. Wheadon ir bendr., ištyrę Naujosios Zelandijos moteris, nustatė, kad laktazės nepakankamumas yra vienas iš II tipo osteoporozės atsiradimo rizikos veiksnių senyvos moterims [41]. G. Finkenstedy ir bendr. praneša, kad jų ištirtoms

moterims, sergančioms idiopatine osteoporoze, buvo labai sumažėjusi laktozės absorbcija, dėl to jos vartojo mažai pieno [42]. Antra vertus, M. Griessen ir bendr. teigia, kad esant laktazės nepakankamumui geriau pasisavinamas kalcis iš pieno [43]. F. H. Wirth ir bendr. mano, kad laktozės absorbuotojų ir malabsorbuotojų kalcio pasisavinimas yra toks pat. Taigi kol kas ši problema lieka neišaiškinta [44].

2.3. Pieno ir laktozės netoleravimas: istorinė apžvalga

Pienas yra labai svarbus kasdienės mitybos produktas, kuriame gausu organizmui reikalingų medžiagų: lipidų, proteinų, aminorūgščių ir mineralų. Piene taip pat yra imunoglobulinų, hormonų, augimo faktorių, citokinų, nukleotidų, peptidų, poliaminų, fermentų ir kitų biologiškai aktyvių medžiagų [45]. Pienas yra svarbiausias, lengviausiai gaunamas ir pigiausias kalcio šaltinis [46]. Todėl pieno ir jų produktų vartojimas labai pagerina mitybos kokybę [47].

Tačiau jau seniai žinoma, kad pienas gali sukelti virškinimo sutrikimų. 400 metų prieš m. e. Hipokratas rašė, kad „pienas netinka karščiuojantiems ir besiskundžiantiems vidurių pūtimu bei gurguliavimu ligoniams“ [48]. Antrajame mūsų eros šimtmeityje Galenas plačiai išnagrinėjo pieno poveikį žmogaus organizmui, jis gerai žinojo, kad esti žmonių, gerai ir blogai toleruojančių pieną. Teigė, kad pieną galima rekomenduoti tik gerai jį pakeliantiems žmonėms. Valgomas vienas be duonos pienas gali sukelti vidurių pūtimą. Tuos, kurie netoleruoja pieno, vargina atsirūgimai, meteorizmas, pilnumo jausmas [49].

1860 metais aprašyta, kad pieno cukrus šunims sukelia viduriavimą. Tik 1903 metais F. Rohmann ir J. Nagano nustatė šio reiškimo pataloginius fiziologinius mechanizmus. Šunų plonojoje žarnoje dėl labai mažo laktazės aktyvumo pieno cukrus lieka nehidrolizuotas ir sukelia stiprų osmosinį efektą bei viduriavimą [50]. 1890 metais nustatyta, kad laktazės aktyvumas esti didelis tik jaunų gyvūnų. Vėliau buvo rasta plonosios žarnos vieta, kur laktazės aktyvumas esti didžiausias, tyrinėtas fermento aktyvumas plonosios žarnos sultyse. 1906 metais L. B. Mendel ir R. Plimmer paskelbė darbus apie šuniukų žarnyne aptiktą laktazę – florizinhidrolazę. Tuo pat metu buvo pastebėti ir laktazės fermentinio aktyvumo amžiniai skirtumai mažylių ir suaugusių gyvūnų žarnyne [50]. Buvo sudarytos žiurkės, kiaulės, pelės, šuns ir triušio laipsniško laktazės fermentinio aktyvumo kitimo kreivės.

Ilgą laiką nuomonės dėl tikslios laktazės fermentinio aktyvumo vietos organizme buvo prieštaringos, kol 1950–1960 metais nustatyta, kad laktozės hidrolizė vyksta plonosios žarnos gleivinės epitelinių ląstelių išorinėje membranoje, tai yra šepetiniame krašte, o žarnyno sulčių laktazė praktinės reikšmės neturi [51].

Klinikiniai laktazės nepakankamumo požymiai plačiau pradėti tyrinėti XX šimtmetyje. 1901 metais A. Jacobi ir A. Schmidt su J. Strasburger aprašė kūdikių viduriavimą, kurį sukeldavo pienas. 1921 metais J. Howland rašė, kad yra nemažai ligonių, kurie nenormaliai reaguoja į pieno cukrų, jiems atsiranda diarėja ir padidėjusi fermentacija žarnyne, matyt, dėl laktozės hidrolizei reikalingų tam tikrų fermentų stokos. Tačiau tik XX amžiaus viduryje ši organizmo būklė atpažinta ir pradėta diagnozuoti [34, 52].

Nors gyvūnų laktazės tyrimai vyko aktyviai, tačiau žmogaus plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumą vertinančių tiesioginių stebėjimų buvo tik keli. 1959 metais A. Holzel ir bendraautorai aprašė dvynukes, nuo gimimo sirgusias sunkiu vandeningu viduriavimu, kurį sukeldavo pieno cukrus. Joms buvo nustatytas labai mažas laktazės aktyvumas plonosios žarnos gleivinės bioptate [50].

Trūko aiškumo ir dėl didelio laktazės fermentinio aktyvumo mažėjimo po kūdikystės. Tačiau 1963 metais dvi nepriklausomos Italijos ir Švedijos mokslininkų grupės paskelbė tyrimo rezultatus apie izoliuotą suaugusiųjų plonosios žarnos laktazės nepakankamumą sveikiems asmenims, o dar po metų buvo pasiūlytas tikslus fermentinis žarninių disacharidazių nustatymo metodas. Šie tyrimai paneigė tuo metu vyravusią nuomonę, kad sveikiems suaugusiems žmonėms būdingas didelis laktazės aktyvumas. Priešingai, buvo nustatyta, kad suaugusiųjų laktazės aktyvumas yra mažas [53, 54].

XX amžiaus tris paskutinius dešimtmečius visame pasaulyje buvo plačiai tiriamas laktazės nepakankamumo paplitimas, panaudojant laktozės toleravimo mėginį. Pastebėta, kad vienų šalių suaugusių gyventojų populiacijose vyrauja didelis laktazės aktyvumas, kitų – mažas [55]. Paaiškėjo, kad laktazės nepakankamumas paplitęs tose geografinėse platumose, kur tarp gyventojų nėra pienininkystės ir pieno vartojimo maistui tradicijų, ir priešingai, o suaugusiųjų hipolaktazija pradeda atsirasti pasibaigus laktacijos periodui, t. y. 2–20 gyvenimo metais [50]. Nuo to laiko mokslinės minties raida, siekiant suprasti laipsnišką laktazės aktyvumo mažėjimą, vystėsi dviem kryptimis. Viena siejosi su adaptacine teorija, kuri laktazės aktyvumo mažėjimą grindė nepakankamu pieno ir jo produktų vartojimu, ir po penkerių tyrimo metų buvo paneigta, nes mokslinių darbų išvadose buvo teigiama, kad maitinimas laktoze nesustabdo fermentinio aktyvumo mažėjimo, o laktozės stokojanti dieta neprovokuoja laktazės aktyvumo sumažėjimo. Kita kryptis paremta genetinė laktazės aktyvumo mažėjimo teorija, kurios atsiradimo prielaidas lėmė šeimų ankstyvųjų tyrimų rezultatai. Ši teorija teigia, kad suaugusiųjų laktazės aktyvumas nepriklauso nuo mitybos, o yra nulemtas genetiškai. Vėlesnių tyrimų naudojant netiesioginius laktazės aktyvumo vertinimo metodus rezultatai įrodė pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetinę prigimtį ir recesyvinį paveldėjimo būdą [56]. Tad tolesni tyrimai pakrypo į priežastinių veiksnių paiešką.

2.4. Laktazės aktyvumo pokyčių klasifikacija ir terminija

Laktazės aktyvumui apibūdinti yra vartojama daug terminų. Kad išvengtume painiavos, būtina apžvelgti pagrindines definicijas, pateikiamas literatūroje [13, 57–59].

Pieno netoleravimas. Tai būklė, kai suvalgius pieno atsiranda sveikatos sutrikimų. Pagrindinės pieno netoleravimo priežastys – tai laktazės nepakankamumas ir alergija pieno baltymams. Piene randama įvairių baltymų, bet stipriausias antigenines savybes ir didžiausią praktinę reikšmę turi beta-laktoglobulinas [60].

Esant alergijai pieno baltymams gali vystytis keletas patologinių procesų, tarp jų pieno sukeltas kolitas, lėtinis plonosios žarnos gleivinės uždegimas ir jo komplikacijos – proteininė enteropatija ir lėtinis mikrokraujavimas. Dėl alerginio gleivinės pažeidimo gali atsirasti ir antrinis laktazės nepakankamumas, riebalų malabsorbavimas, *Heiner* sindromas (geležies stokos anemija, plaučių hemosiderozė ir karvės pieno baltymų netoleravimas). Dažniausia klinikinė pieno baltymų netoleravimo gastrointestininė apraiška – viduriavimas ir vėmimas. Be to, esant alergijai pieno baltymams gali kilti ir kitų sistemų hipererginės reakcijos – bronchinė astma, alerginis rinitas, atopinis dermatitas, urtikarija, angioedema, sisteminė anafilaksija. Esant alergijai pieno baltymams, dažnai būna ir odos bei kvėpavimo takų pakitimai. Taigi pieno netoleravimas – tai klinikinis terminas, apibūdinantis ligonių nusiskundimus [60].

Laktozės netoleravimas. Tai klinikinė diagnozė, pagrįsta tokiais pat dispepsiniais sutrikimais, kaip ir pieno netoleravimas, atsirandantis tik pavartojus pieno cukraus. Literatūroje aprašyta labai retas šeiminis laktozurinis laktozės netoleravimas. Sergant šia liga, vargina viduriavimas, šlapime randama laktozės, lėtėja vaiko vystymasis, tačiau plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumas yra normalus. Šios ligos priežastis neaiški, jos genetinė prigimtis dar neįrodyta. Manoma, kad padidėja tokių ligonių skrandžio gleivinės laidumas laktozei ir kitoms smulkioms molekulėms. Gydančią belaktoze dieta, 12–18 mėnesių vaikams laktozės toleravimas atsitauso [13, 58].

Laktozės malabsorbicija. Šis terminas vartojamas tais atvejais, kai pieno cukraus hidrolizės sumažėjimas nustatomas laktozės absorbcijos testais: glikeminės kreivės pakilimo, vandenilio koncentracijos iškvepiamame ore įvertinimo ir kt. Pabrėžtina, kad laktozės malabsorbicija nebūtinai turi derintis su laktozės netoleravimo klinicine diagnoze [13, 58].

Laktazės nepakankamumas. Šis terminas vartojamas tais atvejais, kai laktazės aktyvumo sumažėjimas, o labai retais atvejais išnykimas nustatomas biocheminiu bei histologiniu būdu tiriant plonosios žarnos gleivinės biopsatą. Laktazės nepakankamumas gali būti pirminis arba antrinis. Pirminis laktazės nepakankamumas

skirstomas į tipus: įgimtą laktazės stoką, tranzitinę formą ir pirminę suaugusiųjų hipolaktaziją. Pirmasis ir antrasis pirminio laktazės nepakankamumo tipai vertinami kaip patologinės būklės, o trečiasis tipas yra fiziologinė organizmo būklė [13, 61, 161].

Įgimtas laktazės aktyvumo sumažėjimas – naujagimių alaktazija (angl. *lactase deficiency, congenita; new-born alactasia; hereditary disaccharidase intolerance II*). Tai labai reta genetiškai nulemta plonosios žarnos enzimopatija, paveldima autosominiu recesyviniu būdu (MIM # 223000). Ji pasireiškia gausiu vandeningu viduriavimu pirmomis dienomis po gimimo [62].

Laktazės aktyvumas plonosios žarnos biopsinėje medžiagoje svyruoja nuo 0 iki 10 TV/g baltymų. Tokiam kūdikiui po maitinimo motinos pienu ar pieno mišiniu su laktoze išsivysto stiprus osmosinės kilmės viduriavimas, lydimas dehidracijos, metabolinės acidozės, kūno svorio mažėjimo. Nepaisant išvardytų simptomų, kūdikis išlieka aktyvus. Belaktozė dieta yra būtina tokio kūdikio normalaus augimo ir vystymosi sąlyga. Literatūroje aprašyta daugiau kaip 40 atvejų, didžioji dalis – Suomijoje, kur ligos dažnis siekia 1:60 000. Ne Suomijos teritorijoje aprašyti tik pavieniai atvejai [62]. Nustatyta, kad tokiems pacientams galima rasti penkias atskiras mutacijas LCT koduojančioje srityje. Jos keičia baltyminę fermento struktūrą ir jį inaktyvina [62–64].

Įgimtas laktozės netoleravimas (angl. *lactose intolerance, congenital; lactose intolerance neonatal*). Ši enzimopatija (MIM 150220) paveldima autonominiu dominantiniu būdu ir pirmą kartą aprašyta 1958 m. Ji buvo vertinama kaip praeinanti įgimtos naujagimių alaktazijos forma. Tačiau dabar paaiškėjo, kad tai atskira sunki liga, kuri pasireiškia vėmimu ir sutrikusiu vystymusi. Ja sergant vystosi dehidracija, kepenų pažeidimas, inkstų kanalėlių nekrozė. Šlapime randama laktozės ir kitų disacharidų bei aminorūgščių [64]. Laktozė, patekusi į kraują, toksiškai veikia smegenis ir sukelia lęšiukų drumstėjimą. Nors ligos baigtis gali būti ir mirtina, jos laiku nediagnozavus, tačiau nutraukus pieno vartojimą, galimas visiškas pagerėjimas. Sulaukus 6 mėn. amžiaus galima grįžti prie įprastinio maitinimo, nes vaikui augant fermento aktyvumas didėja ir normalizuojasi [65].

Pirminio laktazės nepakankamumo tranzitinė (angl. *transient*) arba raidos (angl. *developmental*) forma. Ši enzimopatija būna neišnešiotiems kūdikiams, gimusiems iki 36 savaičių amžiaus. Kaip jau minėta, šiuo laikotarpiu laktazės aktyvumas siekia tik 30 % naujagimių laktazės aktyvumo. Vaikui augant, fermento aktyvumas didėja ir dažniausiai normalizuojasi [66]. Pirminis suaugusiųjų (angl. *adult-type*) arba vėlyvasis (angl. *late-onset*) laktazės nepakankamumas [67], arba pirminė suaugusiųjų hipolaktazija [58] – tai tolygus laktazės aktyvumo mažėjimas po normalaus laktacijos periodo iki maždaug 10 % naujagimių laktazės aktyvumo arba kartais iki

visiško išnykimo suaugusiems žmonėms. Laktazės aktyvumo sumažėjimas suaugusiojo amžiuje yra genetiškai nulemtas, paveldimas autosominiu recesyviniu būdu (MIM 223100) [68]. Įgimtas laktazės aktyvumo sumažėjimas ir pirminė suaugusiųjų hipolaktazija yra susiję su DNR variantais, veikiančiais laktazės florizinhidrolazės gene [19].

Pirminė suaugusiųjų hipolaktazija traktuojama ne kaip liga, o kaip organizmo būklė, nes daugelyje pasaulio šalių ji paplitusi daugiau negu 60 %, o Pietryčių Azijos šalyse (Japonijoje, Kinijoje, Tailande, Filipinuose ir kt.) – iki 90–100 %.

Antrinis laktazės nepakankamumas (angl. *secondary hypolactasia*) atsiranda smarkiai pažeidus plonosios žarnos gleivinę [69]. Laktazės ir kitų fermentų aktyvumo sumažėjimą sukelia enteritas, celiakinė liga, parazitinės ligos (*Giardia lamblia* invazija), *Candida* kolonizacija plonojoje žarnoje, plonosios žarnos cistinė fibrozė, karvės pieno proteininė enteropatija, radiacinė enteropatija, anatomiciniai pakitimai – trumpos žarnos sindromas, plonosios žarnos rezekcija, gastroenterostomija [70, 71].

Pasveikus gleivinės morfologiniai pakitimai ir fermentų aktyvumas paprastai atsikuria. Antrinis laktazės nepakankamumas gali būti ūminis ir lėtinis, priklausomai nuo jį sukėlusios ligos eigos [6]. Dabar daugelis autorių vartoja T. Sahi pasiūlytą terminiją. Šis autorius išskiria pirminę selektyvią suaugusiųjų hipolaktaziją, kai yra sumažėjęs tik laktazės aktyvumas, kitų fermentų aktyvumas išlieka normalus, o plonosios žarnos gleivinė nepakitusi. Jo nuomone, antrinio laktazinio nepakankamumo formos (celiakija, infekcinis enteritas ir pan.) turi būti aiškiai skiriamos nuo pirminės hipolaktazijos [50].

G. Flatz vietoje hipolaktazijos siūlo šiuos terminus: laktazės restrikcija (angl. *lactase restriction*) – blogas pieno cukraus pasisavinimas, ir laktazės persistavimas (angl. *lactase persistence*) – geras pieno cukraus pasisavinimas, taip pat rekomenduoja terminus: mažas laktozės hidrolizavimo tūris bei didelis laktozės hidrolizavimo tūris [67]. Deja, šie terminai nepriegijo ir kol kas plačiau nevertojami.

Be jau paminėtų, mokslinėje literatūroje gali dažnai pasitaikyti tokie mažo laktazės fermentinio aktyvumo fenotipą apibūdinantys terminai: laktazės nepersistavimas, alaktazija (visiškas laktazės aktyvumo nebuvimas), laktozės maldigestija (mažas laktozės hidrolizavimo tūris). Normalaus laktazės aktyvumo fenotipui apibūdinti vartojami laktazės persistavimo ir normolaktazijos terminai bei jau anksčiau minėtasis didelis laktozės hidrolizavimo tūris [57, 58].

2.5. Pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetika

Daugelis mokslinių tyrimų įrodė, kad plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumas yra genetiškai nulemtas. Pirmieji genetiniai tyrimai atlikti 1970-aisiais metais Suomijoje. T. Sahi ir K. Launiala [72], ištyrę 326 šeimų, nustatė, kad plonosios žarnos laktazės aktyvumo mažėjimas kontroliuojamas autosominiu recesyviniu būdu.

Laktazės geno (*603202), išsidėsčiusio 2q21-22 chromosomoje, visa egzoninė seka ir struktūra buvo nustatyti 1991 metais [73]. Kiek vėliau, 1993 metais, C. B. Harvey su kolegomis patikslino, kad tai yra antrosios q chromosomos 21 ruožas, tačiau laktazės fermentinio aktyvumo pokyčių priežastinis mechanizmas vis dar nebuvo aiškus [74]. W. Boll ir bendr. ištyrė visą *LCT* egzonų ir intronų seką ir pastebėjo jos identiškumą asmenims, paveldėjusiems skirtingą laktazės fermentinį aktyvumą [75]. C. B. Harvey su kolegomis, tęsdami mokslinius genetiškai nulemtą laktazės fermentinio aktyvumo tyrimus, panaudojo nepusiausviros sankabos analizės metodą didesnėje nei 70 kb *LCT* srityje ir įrodė egzistuojant DNR polimorfizmus [76].

LCT geno kaimynystėje esančių kelių mikropalydovinių žymenų paveldimumo tyrimas naudojant sankibos, sankibos nepusiausviros ir haplotipų analizę buvo vykdomas suomių šeimose, kurias sudarė apie 200 narių. Remiantis tyrimo rezultatais, regionas, susijęs su laktazės persistavimu / nepersistavimu, buvo susiaurintas iki 47 kilobazių dydžio fragmento laktazės geno išorėje. Šios srities sekų palyginimas asmenims su laktazės persistavimo / nepersistavimo haplotipais leido aptikti ir identifikuoti dvi vieno nukleotido pakaitas (VNP): citoziną (C) su timidinu (T) bei guaniną (G) su adenozinu (A), kurios yra nutolusios per 13910 ir 22018 bazių porų nuo *LCT* geno pradžios kodono [63]. Fenotipinės DNR variacijos, susijusios su paveldėtu mažu laktazės fermentiniu aktyvumu, buvo atskleistos analizuojant *LCT* koduojančios ir promotorinės srities sekas pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos atvejais [75, 77].

2002 metais N. S. Enattah ir kolegos, taikydami sankibos nepusiausviros (angl. *lineage disequilibrium* – LD) ir haplotipų analizę, atrado dvi vieno nukleotido pakaitas (VNP): C/T₋₁₃₉₁₀ ir G/A₋₂₂₀₁₈ [63], esančias *MCM6* (*601806) geno 9 ir 13 intronuose. Jos buvo susietos su paveldimais laktazės fermentinio aktyvumo pokyčiais [78–80]. 2003 metais L. Olds ir E. Sibley apibūdino naujai atrastų dviejų VNP, C/T₋₁₃₉₁₀ ir G/A₋₂₂₀₁₈, funkcinę įtaką laktazės geno transkripcijai. Jie nustatė, kad 200 bp ilgio DNR sritis apie C/T₋₁₃₉₁₀ variantą *in vitro* sąlygomis gali veikti kaip *cis* elementas, stiprinantis laktazės promotoriaus transkripcinę aktyvumą [81].

2004 metais T. Bersaglieri ir kolegos tyrė Europos populiacijas ir nustatė, kad dažniausiai su laktazės persistavimu siejamas haplotipas yra beveik 1 Mb ilgio. Jie pateikė įrodymų, kad šis haplotipas labai greitai išplito dėl nesenos atrankos, kurios amžių įvertino nuo 5000 iki 10 000 metų. Tai sutapo su gyvulių prijaukinimo ir pieno vartojimo pradžia, kai laktazės persistavimas suaugusiems individams tapo labai svarbus [82].

Po papildomų tyrimų, vertinusių laktazės aktyvumo ir laktazės / sukrazės santykį daugiau nei 200 biopsinės medžiagos bandinių, gautų iš etniškai skirtingų populiacijų narių, mokslininkai pastebėjo, kad tik pirmasis DNR variantas C/T₋₁₃₉₁₀ visiškai susijęs su skirtingais laktazės fermentinio aktyvumo lygmenimis. C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo

homozgotinė forma yra susijusi su pirmine suaugusiųjų hipolaktazija, arba laktazės nepersistavimu, o C/T_{-13910} ir T/T_{-13910} genotipai siejosi su dideliu laktazės aktyvumu, arba laktazės persistavimu. Šis ryšys buvo patvirtintas tiriant dar per 600 DNR bandinių, išskirtų iš biopsinės žarnyno medžiagos, lygiagrečiai įvertinant disacharidazių aktyvumą ir laktazės / sukrazės santykį (L/S) [83, 84].

Molekuliniiais biologiniais tyrimais nustatytas C/C_{-13910} genotipo dažnis buvo panašus į anksčiau skelbtus suaugusiųjų hipolaktazijos paplitimo duomenis keliose populiacijose, tarp jų suomių, prancūzų, jutų ir somaliečių tyrimo grupėse [63, 85]. Remiantis šeiminiiais tyrimais, dvi vieno nukleotido pakaitos, C į T, nutolusios 13910 bazių porų, ir G į A, nutolusios 22018 bazių porų nuo *LCT* geno pradžioje esančio metionino, visiškai išsiskyrė pagal laktazės persistavimo / nepersistavimo požymį suomių šeimose. G/A_{-22018} variantas nevisiškai sutapo su pirmine suaugusiųjų hipolaktazija, tai yra 6 asmenys iš 59 (10 %) buvo heterozigotai, jie turėjo G/A_{-22018} genotipą, o kiti 53 buvo homozigotai G_{-22018} alelio atžvilgiu. Tai leido iškelti prielaidą apie artimą išsidėstymą, o DNR G/A_{-22018} varianto ryšį su C/T_{-13910} variantu įvertinti kaip sankibos nepusiausvirą [63].

Neseniai keliose studijose buvo pastebėtas C/T_{-13910} varianto funkcinis vaidmuo valdant laktazės aktyvumą [63, 206, 293]. Asmenims su laktazės persistavimo T_{-13910} aleliu nustatyti keletą kartų didesni iRNR kiekiai žarnos gleivinėje, palyginti su asmenimis, kurie paveldėjo laktazės nepersistavimo C_{-13910} alelį. Tai leidžia manyti, kad *LCT* geno aktyvumas yra veikiamas transkripciniu lygmeniu [83]. Tokie duomenys sutampa su anksčiau atliktų tyrimų, kuriuose buvo pastebėta *cis* elemento (aktyvinančiojo baltymo) įtaka laktazės nepersistavimo fenotipui, taip pat su *in vitro* tyrimų, nustatusių didesnę laktazės promotoriaus aktyvumą T/T_{-13910} varianto atveju [81, 86].

Du DNR variantai, C/T_{-13910} ir G/A_{-22018} , yra išsidėstę 9 ir 13 intronuose, priklausančiuose minichromosomų valdymo genui (*MCM6*) [83]. *MCM6* yra genų šeimos *MCM 2-7* narys, jis reikalingas DNR replikacijos iniciacijai. *MCM6*, priešingai nei *LCT*, išsidėstymas organizme nėra apribotas vienu audiniu. *MCM6* ir *LCT* transkripcijos lygmenys nesusiję tarpusavyje [87]. Molekulinio defekto nustatymas pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos atveju pabrėžia introninių sričių svarbą genų reguliavime ir pasiūlo naujas priemones tiriant laktazės fermento aktyvinimą [88].

Atjunkytų žinduolių organizmuose, kai laktozė, kaip pagrindinė maisto medžiaga, išnyksta iš raciono, laktazės fermento raiška (MIM 603202) labai greitai mažėja. Žmogaus organizme ši žinduoliams normali būklė, vadinama laktazės aktyvumo sumažėjimu (angl. *lactase nonpersistence* – LNP), dar vadinama suaugusiųjų laktazės nepakankamumu arba hipolaktazija, arba laktozės netoleravimu (MIM 223100), atsiranda daugumai žmonių ir suaugusiems individams riboja galimybę vartoti šviežią pieną. Tačiau šiaurės

europiečių ir keliose kitose etninėse populiacijose laktazės aktyvumas žarnyne didelei daliai suaugusių individų (iki 80–90 %) išlieka visą gyvenimą; ši būklė vadinama išlikusiu laktazės aktyvumu, laktazės persistavimu (angl. *lactase persistence* – LP) arba laktazės toleravimu (MIM 223100). LP ir NLP fenotipas yra nulemtas genetiškai. LP dominuoja, palyginti su LNP [56].

Kelios mokslininkų grupės įrodė, kad suaugusių Šiaurės Europos gyventojų vieno nukleotido pakaita (VNP) C/T₋₁₃₉₁₀ visiškai koreliuoja su išlikusiu laktazės aktyvumu. VNP C/T₋₁₃₉₁₀ pakaita visiškai koreliuoja su laktazės persistavimo fenotipu suomių populiacijoje, taip pat 600 asmenų tyrimo grupėje, sudarytoje iš penkių Šiaurės Europos populiacijų [92, 84].

N. S. Enattah ir bendr. išanalizavo iš 37 populiacijų gautų 1611 DNR mėginių bazinius alelius. Tyrimas parodė, kad T₋₁₃₉₁₀ variantas randamas dviejuose labai skirtinguose pagrindiniuose bendrųjų populiacijų haplotipuose. Pirmasis iš dažniausių LP haplotipų (LP H98) rastas visose tirtose populiacijose, o kitų (LP H8–H12), kildinamų iš to paties protėvių alelių haplotipo, aptikta geografiniu požiūriu ribotose populiacijose, gyvenančiose Uralo vakaruose ir Kaukazo šiaurinėje dalyje. LP T₋₁₃₉₁₀ H98 pasiskirstymo pasaulyje modelis patvirtina šio alelio kilmę iš baltosios rasės. Įvairiais matematiniais modeliais atlikti amžiaus skaičiavimai rodo, kad bendrasis LP T₋₁₃₉₁₀ H98 alelis (maždaug 5000–12 000 metų amžiaus) yra santykinai senesnis už kitus ribotose geografinėse teritorijose paplitusius LP alelius (maždaug 1400–3000 metų amžiaus). Duomenys apie visame pasaulyje randamus įvairius laktazės toleravimą lemiančius alelių haplotipus leidžia manyti, kad T₋₁₃₉₁₀ buvo nepriklausomai įterptas daugiau nei vieną kartą ir šiuo metu žmonių organizmuose vis dar vyksta konvergencinė LP alelių evoliucija [89].

Įrodyta, kad su LP koreliuojanti VNP pakaita T₋₁₃₉₁₀, esanti 14 kb aukščiau laktazės geno, yra išvestinis variantas, palyginti su C₋₁₃₉₁₀ pakaita, kuri yra paveldėta žmogaus genomo forma. Kitas variantas, G/A₋₂₂₀₁₈, esantis dar aukščiau laktazės geno, taip pat yra glaudžiai, tačiau ne visiškai susijęs su LP ir LNP fenotipu; labiausiai tikėtina priežastis – reikšminga sankibos nepusiausvyra (angl. *linkage disequilibrium* – LD) šioje genomo srityje [90, 91]. Daugelis mokslinių tyrimų įrodo, kad C/T₋₁₃₉₁₀ variantas reguliuoja laktazės aktyvumą. Tai papildomai patvirtina, jog šio nukleotido pokyčiai yra tikrasis laktazės geno, esančio žarnyno ląstelėse, transkripciją reguliuojantis elementas [81, 92].

Suaugusių individų, turinčių LP T₋₁₃₉₁₀ alelį, žarnyno gleivinėje randamas gerokai didesnis *LCT* kopijų skaičius, palyginti su C₋₁₃₉₁₀ alelio neturinčiais individualais, o tai leidžia manyti, kad *LCT* reguliuoja transkripciją [83]. Šie duomenys sutampa su *in vitro* tyrimuose gautais rezultatais, rodančiais, kad *LCT* aktyvoklio aktyvumas ląstelėse,

į kurias perkeltas T_{-13910} variantas, gerokai padidėja [90, 99, 26]. J. T. Troelsen ir bendr. tirdami peles nustatė, kad reguliuojantys laktazės aktyvumą elementai išsidėstę penkių sekų 2 kb lygmenyje [93].

Nustatyta [94, 95], kad transkripcijos faktoriai Cdx2, HNF-1a ir GATA reguliuoja laktazės raišką (ekspresiją). Laktazės genas turi šių faktorių surišimo vietas proksimalaus promotoriaus srityje [116]. Molekuliniiais tyrimais gauta teigiama koreliacija tarp laktazės fermentinio aktyvumo dydžio ir laktazės nešiklio ribonukleino rūgšties (mRNA) raiškos. Tai įrodo, kad laktazės aktyvumo molekulinis reguliavimas priklauso nuo geno transkripcijos. Tačiau kai kuriems individams esama disociacijos tarp laktazės mRNA ir šio fermento aktyvumo. Manoma, kad posttranskripcijos faktoriai turi įtakos laktazės biosintezės mažėjimui galbūt dėl dalinės fermento pernašos iš endoplazminio tinklo į Goldžio aparatą blokavimo [97].

Suomių šeimų haplotipų analizės duomenimis, visi LP aleliai suomių, kilusių iš vieno bendro protėvio, grupėje yra identiški, paveldėti. Kiti Europos populiacijų tyrimai taip pat leidžia teigti, kad yra vienas pagrindinis alelinis haplotipas, vadinamas haplotipu A, koreliuojantis su LP. Šie duomenys rodo bendrą visuotinio LP T_{-13910} alelio kilmę [98].

N. S. Enattah ir bendr. apžvelgė LP T_{-13910} alelio ir alelinio haplotipo žymių ~30 kb *LCT* lokuse dažnį įvairiose pasaulio populiacijose, siekdami iširti LP alelinį pagrindą žmonių organizmuose [119]. Iš 1611 mėginių, gautų iš 37 populiacijų visame pasaulyje, mokslininkai nustatė aštuonių VNP genotipą ir vieną nukleotidų iškritimo ar įterpimo polimorfizmo atvejį (genetinio banko^{GenBank} prieigos numeris DQ109677), apimančius *LCT* ~30 kb sritį ir gretimus du *LCT* variantus, C/ T_{-13910} ir G/ A_{-22018} , susijusius su LP ir LNP (vieno VNP apimama dalis – 3,3 kb). Išskyrus du VNP – C/ T_{-13910} ir G/ A_{-22018} , visi kiti genotipuoti VNP visose populiacijose buvo bendri variantai, o nedidelių alelių dažnis buvo > 7 %. Nors tiriant šiuo metodu gali likti nepastebėti kai kurie reti alelių variantai, ypač LNP alelių, tačiau iš viso pasaulio surinktuose mėginiuose identifikuojamas šio tyrimo objektas – patys dažniausi laktazės persistavimo alelių įvairovės modeliai. LP T_{-13910} alelio dažnis įvairiose populiacijose sistemiškai koreliavo su registruojamu laktazės persistavimo dažniu, nustatytu tiriant disacharidazės aktyvumą žarnyno biopsijos mėginiuose ir (arba) analizuojant laktozės toleravimo mėginio rezultatus šiose populiacijose [80, 99].

21-oje populiacijoje iš 37 iširtųjų laktazės persistavimo paplitimo charakteristikos buvo žinomos, todėl buvo galima nustatyti stiprią koreliaciją (koreliacijos koeficientas $r = 0,973$, $p < 0,0001$) su T_{-13910} alelio dažniu. Analizuojant toliau, apsiribota haplotipais, kurių dažnis nors vienoje populiacijoje buvo daugiau 4 % pagal Arlekino^{Arlequin} programos skaičiavimus, kad būtų išvengta klaidingų išvadų remiantis retais haplotipais, kurie galėjo būti sudarant haplotipus naudojamo algoritmo artefaktai [100].

N. S. Enattah ir bendr. nustatė devynis skirtingus haplotipus (H8, H9, H11, H12, H48, H49, H95, H97, H98), kurių aleliuose buvo T_{-13910} LP variantas, ir 14 haplotipų (H1, H2, H4, H27, H34, H46, H51, H52, H54, H55, H81, H82, H84, H87), kurių aleliuose buvo C_{-13910} LNP variantas. Gautus haplotipus palyginus su haplotipais, apskaičiuotais programos PHASE 2.1 versija taikant didžiausios tikimybės algoritmą, neatitikimų nerasta. Koreliacija tarp laktazės persistavimo charakteristikų dažnio, įvertinto pagal laktozės toleravimo mėginio ir (arba) disacharidazės aktyvumo tyrimo rezultatus, ir LP dažnio, nuspėto pagal C/T_{-13910} alelio paplitimą, tirta naudojant *Hardy-Weinberg* lygtį [89].

Vienas iš devynių haplotipų (H98) akivaizdžiai dominavo laktazės persistavimo aleliuose daugumoje tirtų populiacijų. Pastebėtos tik kelios išimtys: udmurtų, eržų ir mokšų populiacijose nuosaičiu dažniu buvo randami kiti penki LP haplotipai (H8–H12). Tarp šių kitų laktazės persistavimo alelių didžiausias H8 dažnis (5 %) buvo eržų populiacijoje, o H11 alelio dažnis atitinkamai mokšų ir udmurtų populiacijose buvo 11 % ir 7 %. Iš 14 identifikuotų laktazės nepakankamumo (LNP) haplotipų visose populiacijose rasti trys haplotipai (H1, H2 ir H84). Įdomu tai, kad tyrinėjant šių visame pasaulyje paplitusių *LCT* alelių struktūrą pastebėta, jog pagrindinis LP H98 alelis labiausiai skiriasi nuo pagrindinio LNP H1 alelio, šie du haplotipai skiriasi kiekviename VNP. Kitas dažnas LNP H84 alelis skiriasi nuo pagrindinio LP H98 alelio tik dviejų kritinių variantų (C/T_{-13910} ir G/A_{-22018}), koreliuojančių su laktazės persistavimu, pozicijose. Taigi, du dažni LNP aleliai H1 ir H84 haplotipuose pasižymi labai skirtingu aleliniu pagrindu, o haplotipų įsiterpimo tarp jų dažnis yra nedidelis, labiausiai tikėtina, kad jie prarasti dėl rekombinacijų ir (arba) genų dreifo. Nuodugnai iširtose populiacijose H84 (LNP) ir H98 (LP) identiška seka randama ne tik 30 kb srityje, kai kuriose populiacijose ji aptikta iki 700 kb srityje, pavyzdžiui, suomių populiacijoje, o tai rodo glaudų jų ryšį su evoliucija.

Norėdami iširti ryšius tarp įvairių *LCT* alelių haplotipų, mokslininkai sudarė visame pasaulyje surinktų mėginių 30 kb *LCT* sričių medianas jungiantį (MJ) haplotipų rinkinį, į kurį įėjo 23 haplotipai, mažiausiai vienoje populiacijoje randami > 4 % dažniu. Rinkinys buvo sudarytas naudojant NETWORK programinę įrangą ir taikant iš anksto nustatytus parametrus. Palyginimai su primatų (šimpanzių, orangutanų, gorilų ir rezus beždžionių) haplotipų sekomis atskleidė, kad H1 yra paveldėtas žmogaus *LCT* geno haplotipas; todėl MJ rinkinyje jis buvo naudojamas kaip pamatinis haplotipas. MJ haplotipų rinkinys dar aiškiau atskleidžia dvi skirtingas LP haplotipų grupes, kuriose yra T_{-13910} variantas. Šias grupes skiria daugiau kaip penki mutacijų etapai. Pirmoje laktazės persistavimo haplotipų grupėje yra H8, H9, H11 ir H12, antroje grupėje – H48, H49, H95, H97 ir H98; visose tirtose populiacijose dažniausiai buvo randamas

LP H98. Pirmoji grupė (H8–H12), kuri yra santykinai dažna udmurtų, mokšų, erzų ir iranėčių populiacijose, negali būti nesudėtingos rekombinacijos tarp dažnai randamų LNP haplotipų H1, H2, H4 ir H84 ir pagrindinio LP alelio H98 rezultatas. Šis radinys gali būti kelių istorinių rekombinacijų rezultatas arba nurodyti dvi skirtingas LP T_{-13910} alelio kilmės vietas – Kaukazo šiaurėje ir Uralo vakaruose gyvenančias populiacijas; pastaroji versija atrodo labiausiai tikėtina [89].

MJ haplotipų rinkinys, apimantis iš 37 populiacijų surinktus aštuonis VNP ir vieną iškritimo / įterpimo žymenį 30 kb *LCT* srityje, sudarytas naudojant programinės įrangos NETWORK 4.1.1.2 versiją. Į analizę įtraukti visi haplotipai, kurių apskaičiuotasis dažnis nors vienoje populiacijoje yra daugiau kaip 4 %. Medianas jungiantis haplotipų rinkinys taip pat atskleidžia, kad skirtingiems fenotipams atstovaujantys du haplotipai, LNP H87 ir LP H95, yra susiję su LP H98. Siekdami įvertinti galimybę, kad šie haplotipai yra rekombinantiniai, mokslininkai, ieškodami atokiau esančių žymenų, nustatė 14 iš 19 individų, turinčių H87 genotipą. Per šią analizę aptiktas vienas svarbus haplotipo blokas, apimantis > 800 kb sritį, esančią šalia C/T_{-13910} . Nustatyta H87 haplotipo *MCM6* geno 13 introno visos 3435 bp srities, kurioje yra C/T_{-13910} seka ir išsiaiškinta, kad VNP H87, esanti šalia C_{-13910} alelio, yra to paties 800 kb haplotipo bloko dalis. Taigi, negauta įrodymų, kad C_{-13910} H87 alelis susiformavo įvykus rekombinacijai, todėl padaryta išvada, jog H87 buvo alelinis pagrindas atsirasti LP T_{-13910} ir susidaryti LP H98. Kalbant apie H95, trijų iš šešių individų, kuriems atliktas genotipavimas ieškant atokiau esančių VNP žymenų, šis haplotipas nutrūko ties 450 kb, 3' C/T_{-13910} ir negauta įrodymų, kad H95 susidarė dėl rekombinacijų su kitais haplotipais (H84 ir H98). Tai paskatino daryti prielaidą, kad H95, esantis LP T_{-13910} , atsirado ne dėl H98 mutacijos, vadinasi, LP T_{-13910} per pastarąją žmonijos istoriją atsirado daugiau kaip vieną kartą [89].

MJ rinkinio analizė leidžia manyti, kad bendras paveldimas LNP haplotipo pagrindas, iš kurio išsivystė pagrindiniai LP H98 variantai, yra LNP H84. Įvertintas LNP H84 alelio dažnis tirtose populiacijose, kuris galėtų padėti paaiškinti istorinę LP H98 kilmę. Didelis H84 paplitimas būdingas rytinėje Uralo kalnų dalyje, ugrų kalba kalbančioje populiacijoje, joje paplitimas siekia 33 %. Didelis H84 paplitimas be jokių LP mutacijų būdingas ir toliau į rytus esančiose populiacijose, pavyzdžiui, kinų hanių (36 %). Didelis šio specifinio alelio paplitimas taip pat pastebimas Pietų Korėjoje – ten H46, iš H84 per vieną mutacijos etapą atsiradusio haplotipo, dažnis siekia 22 %. Europinėje Rusijos dalyje Uralo vakaruose gyvenančiose populiacijose (komių, udmurtų, samių) šio haplotipo dažnis yra 33–35 %. Pateikti paplitimo duomenys leidžia teigti, kad paveldėtas H84 alelis, dažniausia LP H98 mutacijos (-ų) vieta, kildintinas iš Azijos populiacijų. Galima aiškinti ir priešingai, jei bus vadovujamasi prielaida, kad LNP H84 atsirado dėl geno konversijos iš įprasto LP H98, bet ne atvirkščiai. Atsižvelgiant į

santykinai nedidelį LP H98 amžių ir faktą, jog įprastas LNP H84 haplotipas buvo rastas visose 37 populiacijose, kas rodo, kad pasaulio populiacijose jis atsirado anksčiau nei numanomas LP H98 atsiradimo laikas, tai yra mažai tikėtina [89].

Išanalizuotas rečiau aptinkamo LNP H87 haplotipo paplitimo modelis. Remiantis MJ rinkiniu, šis haplotipas yra artimiausias alelinis haplotipas, kuriame įvyko LP H98 mutacija. Didžiausias H87 alelio dažnis nustatytas Dagestano nogų (8 %) ir hazarų (7 %) populiacijose. Šis alelis aptiktas Dagestano nogų, hazarų, balochų, sindų, brahų, makranio balochų, iraniečių, baskų, Utos ir Suomijos (rytų regiono) gyventojų populiacijose. Remiantis H87 paplitimo analize, galima daryti prielaidą, kad LP T₋₁₃₉₁₀ H98 mutacija atsirado kaukaziečių protėvių populiacijoje [98].

Manoma, kad dabartiniam laktazės persistavimo alelių pasiskirstymui turėjo įtakos selekcija ir kiti demografiniai procesai, pavyzdžiui, genų dreifas, galėjęs turėti didelį poveikį LP alelių dažniui tam tikrose populiacijose ir nulemti tendencingą visuotinio laktazės persistavimo charakteristikų istorijos interpretaciją [99, 101]. Pavyzdžiui, didelis sankibos nepusiausvyros intervalas, sviri priežastis rinktis *LCT* sritį, gali prieštarauti interpretacijai, grindžiamai populiacijose aptinkamu laktazės persistavimo alelių dažniu [102, 103].

Nors medianas jungiantys haplotipų rinkiniai gali būti naudojami dideliems duomenų blokams ir įvairioms charakteristikoms analizuoti, atkreiptinas dėmesys į tai, kad algoritmui, naudotam sudarant MJ haplotipų rinkinį, reikia parinkti sritį, kurioje nevyksta rekombinacijos, pavyzdžiui, mtDNR sritį [104]. N. S. Enattah ir bendr., [63] siekdami kiek įmanoma sumažinti rekombinacijų skaičių kritinėje *LCT* srityje, VNP analizavo labai mažoje DNR srityje (30 kb), naudojo tik tuos haplotipus, kurių dažnis populiacijoje buvo didesnis kaip 4 %. Mokslininkai pripažįsta, kad tam tikros rekombinacijos galėjo įvykti ir turėti įtakos rezultatų aiškinimui. Tačiau nepaisant šių trūkumų jie mano, jog analizės duomenys suteikia tvirtą pagrindą hipotezei, kad LP T₋₁₃₉₁₀ mutacijos, nulėmusios laktazės persistavimo charakteristikų evoliucijos istoriją, vyko daugiau kaip viename alelyje. Savo išvadą grindžia kritinių pagrindinių alelių, apibūdinamų LNP H84 ir H87 haplotipais, dažniu. Interpretacijos taip pat grindžiamos didelėmis įvairių populiacijų tiriamosiomis grupėmis, ir nors analizuoti DNR mėginiai nepaima visų pasaulio gyventojų, jie atspindi kritines regionines Eurazijos populiacijas.

Siekdami toliau tirti įprasto laktazės persistavimo mutacijos istorinę kilmę dviejose skirtingose populiacijose: suomių ir fulanių, N. S. Enattah, T. Sahi, E. Savilahti ir kt., naudodami žymens *D2S3014*, rodančio didžiausią sankibos nepusiausvirą tarp laktazės persistencijos fenotipą turinčių suomių, LD nykimo analizę (angl. *LD-declay method*), nustatė jauniausią bendrą LP H98 T₋₁₃₉₁₀ alelių prototipą (TMRCA) suomių populiacijoje. Vienai kartai taikydami 25 metų laikotarpį ir N. Risch ir bendr. pasiūlytą

algoritmą, mokslininkai nustatė, kad visoje suomių populiacijoje aptinkamų alelių apskaičiuotasis amžius yra 5275 metai (95 % PI 4875–5640) [63].

Naudojant tą patį žymenį *D2S3014*, Sudano fulanių populiacijoje LD nykimo analizės būdu apskaičiuotas LP H98 T₋₁₃₉₁₀ alelių amžius buvo 6475 metai (95 % PI 5875–7100). Su trimis šalia esančiais žymenimis (*D2S3013*, *D2S3015* ir *D2S3016*), rodančiais LP aleliuose esančią mažesnę sankibos nepusiausvirą, vidutinio kvadratinio atstumo (angl. *ASD*) metodu, naudojamu „Ytime“ programoje, šioje populiacijoje apskaičiuotas 9252 metų amžius (95 % PI 100–34 000) [101].

Kitose populiacijose laktazės persistavimo mutacijos amžiui apskaičiuoti remiantis nustatytais haplotipų dažniais naudoti du skirtingi metodai. Taikant pirmąjį metodą, siekta išnaudoti *LCT* srities pasirinkimo teikiamus pranašumus ir skirtingose populiacijose apskaičiuoti LP T₋₁₃₉₁₀ alelių amžių. Anksčiau atliktuose tyrimuose apskaičiuotas selekcijos koeficientas *s*, rodantis LP alelio ir LNP perteklinės dalies atitikimą, svyravo nuo 0,02 iki 0,19. Darant prielaidą, kad LP modelis dominuoja, tikėtina *s* vertė turėtų būti 0,04–0,05, o pradinio alelio dažnis *p*₀ turėtų būti 0,001 [101].

Kad būtų galima apytiksliai apskaičiuoti pasirinkto alelio amžių, naudojant kiekvienoje populiacijoje nustatytą dabartinį alelio dažnį (*p*), taikyta bendroji selekcijos formulė: $(\ln(p/q)+1/q=\ln(p_0/q_0)+1/q_0+st)$ [105]. Naudodojant antrąjį filogenija grindžiamą metodą, analizuotos 30 kb srities haplotipų sekos. Amžius buvo apskaičiuojamas kiekvienoje populiacijoje sudarius 30 kb *LCT* haplotipų MJ rinkinius, pagal juos apskaičiuoti *rho* statistiniai duomenys (*ρ*) apie vidutinį bazinio haplotipo LNP H1 mutacijų skaičių tirtose populiacijose. Apskaičiuojant LP T₋₁₃₉₁₀ alelio TMRCA, įvertinti standartiniai nuokrypiai (SDs) ir vienos kartos 25 metų laikotarpis, skaičiavimams naudota programinės įrangos NETWORK 4.1.1.2 versija, kurioje buvo taikoma formulė $t=\rho/\mu$; čia *t* yra laikas nuo jauniausio alelių prototipo atsiradimo (TMRCA), o *μ* – mutacijos dažnis srityje per metus [104].

Naudojant filogenija grindžiamą metodą mutacijos dažniui srityje skaičiuoti, reikia pasirinkti kalibravimo tašką. Mutacijos dažniui srityje apskaičiuoti kaip vidinio kalibravimo tašką mokslininkai pasirinko vidutinio kvadratinio atstumo (ASD) reikšmę suomių populiacijoje, anksčiau nustatytą atliekant alelių amžiaus skaičiavimus suomių ir fulanių populiacijose LD nykimo metodu. Manoma, kad tyrime naudojamas LD nykimo metodas rodo apatinę mutacijos dažniui kalibruoti taikomą ribą – $4,54 \times 10^{-8}$ bp per metus, t. y. viena mutacija per 700 metų. Laikoma, kad antrasis ASD grindžiamas metodas rodo viršutinę mutacijos dažniui kalibruoti taikomą ribą – $2,59 \times 10^{-8}$ bp per metus, t. y. viena mutacija per 1225 metus [104].

Nors mutacijų dažnio skaičiavimo metodai apima daug prielaidų ir neapibrėžtumų, pagal tyrimo rezultatus LP haplotipų (H8–H12) grupės amžiaus skaičiavimai akivaizdžiai

rodo, jog LP variantai juose atsirado gerokai vėliau (prieš 1400–3000 metų), palyginti su antrosios grupės, į kurią patenka LP H98 haplotipas, amžiaus skaičiavimais (5000–12 000 metų). Tai pagrindžia LP T_{-13910} alelio dvejopos kilmės sampratą. Didžiausias LP H98 T_{-13910} alelio amžius buvo apskaičiuotas populiacijose iš labai skirtingų regionų – Sudano fulanių Afrikoje, Utos ir Suomijos gyventojų, baskų ir udmurtų populiacijų, alelio amžius svyravo nuo 5040 ± 792 iki $10\,735 \pm 1193$ (\pm SN) metų. Įdomu pažymėti, kad atsižvelgus į didelį laktazės persistavimo ir LP T_{-13910} alelio paplitimą tarp fulanių ir šiaurės europiečių, taip pat į beveik identišką LP H98 alelinį haplotipą, kuriame yra T_{-13910} alelis ne tik tirtoje 30 kb srityje, bet tam tikrose gyventojų grupėse ir 800 kb srityje, abiejose populiacijose apskaičiuotas T_{-13910} alelio amžius yra panašus. Tai gali būti įrodymas, kad Afrikoje gyvenančių fulanių ir šiaurės europiečių geno mutacija yra vienos kilmės ir galbūt šiems gyventojams yra būdinga bendra pieno kultūra. Ankstesni fulanių populiacijos tyrimai taip pat parodė, kad jų genetiniame fonde gali būti baltosios rasės genų priemaišų, tai paremia LP H98 T_{-13910} alelio kilmės iš baltosios rasės hipotezę [106].

Nors mažai tikėtina, kad visose populiacijose pirminis alelių dažnis yra toks pat ar kad per istoriją visos populiacijos patyrė vienodą atrankos įtaką, taikant atrankos metodą pateikiama labai pagrįstų su dauguma populiacijų susijusių skaičiavimų, kurių analizės palyginamos su kitais metodais gautais rezultatais. Daugelyje tyrimų gautų LP H98 T_{-13910} alelio amžiaus skaičiavimų populiacijose, pavyzdžiui, šiaurės europiečių, rezultatai labai gerai tarpusavyje koreliuoja [106, 101].

Įdomu, kad M. Burger ir bendr. paskelbtoje publikacijoje teigia, jog Europos gyventojų populiacijose vis dar yra asmenų, neturinčių LP H98 T_{-13910} alelio, kurio amžius 7000–7800 metų, o tai rodo, kad tarp neolito Europos valstiečių laktazės persistavimas buvo retas. Šie duomenys dar kartą pagrindžia skaičiavimus, susijusius su LP H98 T_{-13910} alelio atsiradimu viso pasaulio populiacijose [107]. Tokio pat alelinio haplotipo H98 aptikimas labai skirtingose populiacijose, įskaitant europiečius, azijiečius, arabus, kai kuriuos piečiau Sacharos gyvenančius afrikiečius ir šiaurės afrikiečius, paremia hipotezę, kad LP H98 T_{-13910} alelis kildintinas iš vieno šaltinio ir atsirado palyginti seniai [63, 98, 108].

S. Myles ir bendr. pateikė LP H98 T_{-13910} alelio buvimo trijose šiaurės Afrikos berberų populiacijose Maroke ir Alžyre interpretaciją, kurioje teigiama, kad LP H98 T_{-13910} alelio radimas yra genetinis Europos ir Azijos šalių bendros pieno kultūros įrodymas [109]. Pagal dar naujesnius duomenis, faktas, jog T_{-13910} varianto nėra daugumoje Sacharos pietuose gyvenančių populiacijų, kuriose laktazės persistavimas yra paplitęs, leidžia teigti, kad visame pasaulyje turi būti kitų LP mutacijų [110]. Įdomu pažymėti, kad dviejose publikacijose aprašyti daugiau kaip trys variantai, nepriklausomai atsiradę netoli C/ T_{-13910} VNP, koreliuoja su laktazės persistavimu Afrikoje [111, 112].

Daugelio tyrimų rezultatai rodo, kad LP H98 T₋₁₃₉₁₀ alelis kildintinas iš baltosios rasės ir labai tikėtina, jog žmonijos istorijoje nepriklausomai atsirado daugiau kaip vieną kartą. Sukaupiti duomenys taip pat leidžia manyti, kad laktazės geno -13910 sričiai būdingas kritinis funkcinis vaidmuo, ką rodo neseniai paskelbti pranešimai apie kitas šioje vietoje ar šalia vykstančias mutacijas: variantai -13907, -13915, -13913, -13914 ir -14010, kurie, kaip įrodyta, skirtingose populiacijose koreliuoja su laktazės persistavimu. Kai kurie iš tų genotipų pasiekė didelį paplitimo dažnį populiacijose, o kiti iki šiol registruojami retai. Šie duomenys tvirtai pagrindžia konvergencinės ir vis dar vykstančios adaptacinės laktazės persistavimo evoliucijos, kaip atsako į suaugusiųjų pieno vartojimą įvairiose žmonių populiacijose, hipotezę [89].

A P I B E N D R I N I M A S . Suaugusiųjų laktazės persistavimas yra paveldimas autosominiu dominantiniu būdu, tačiau molekulinis lygmeniu šis procesas kol kas nėra galutinai supastas. Nustatytas laktazės geno DNR sekos koduojančioje srityje VNP polimorfizmas. Keletas haplotipų yra susiję su laktazės persistavimu / nepersistavimu, ypač VNP T alelis, esantis 14 kb aukščiau laktazės geno. Šis alelis reguliuoja laktazės mRNR. Tačiau, tiriant Afrikos gyventojų populiacijas, nerasta T alelio, bet toje pačioje srityje 100 bp aukščiau laktazės geno aptikti kiti su laktazės persistavimu susiję aleliai. Taigi, T₋₁₃₉₁₀ alelis kaip pirminio laktazės nepakankamumo diagnostikos rodiklis taikytinas tik europiečiams. Afrikos gyventojams šis rodiklis netinkamas. Kol kas lieka neaišku, ar šios VNP pakaitos tiesiogiai susijusios su laktazės aktyvumo raiška, ar yra papildomų, mums nežinomų reguliuojančiųjų veiksnių.

2.6. Laktazės nepakankamumo fenotipo paplitimas

Pirmą kartą pirminė suaugusiųjų hipolaktazija aprašyta 1963 metais. Nuo to laiko ši problema pradėta plačiai ir giliai studijuoti. XX a. septintą dešimtmetį JAV atlikti pirmieji populiaciniai praktiškai sveikų žmonių tyrimai atskleidė netikėtus hipolaktazijos paplitimo etninius ir rasinius skirtumus. Dabar šios intestinalinės enzymopatijos paplitimas yra ištirtas didžiojoje pasaulio regionų dalyje. Skirtingų rasių ir populiacijų pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos paplitimas yra nevienodas ir labai įvairuoja. Pirmieji hipolaktazijos fenotipo tyrimai buvo atliekami panaudojus laktozės absorbcijos mėginių ir (arba) vandenilio koncentracijos iškvėpiamame ore mėginių. Tokiu būdu buvo nustatyta, kad maždaug 70 % viso pasaulio gyventojų intestinalinės laktazės aktyvumas yra sumažėjęs arba išnykęs [56].

Hipolaktazijos procentas įvairuoja priklausomai nuo gyventojų etniškumo ir yra susijęs su pieno produktų vartojimu. Laktazės aktyvumo išsilaikymas visą suaugusio

žmogaus gyvenimą (laktazės persistavimas) atsirado dėl genetinės atrankos. Pirminio laktazės nepakankamumo paplitimas yra labai mažas populiacijose tų gyventojų, kurie vartoja daug pieno produktų, pavyzdžiui, kai kuriose Šiaurės Europos srityse aptinkama apie 2 % atvejų. Priešingai, kitose šalyse laktazės nepakankamumo dažnis yra labai didelis: 50–80 % ispanų, 60–80 % juodaodžių ir žydų, beveik 100 % Azijos ir Amerikos indėnų populiacijose [56].

E. Gudmand-Hoyer, A. Sahi nuomone, pasaulyje mažiausias hipolaktazijos dažnis yra Šiaurės Vakarų Europoje: Danijoje ir Švedijoje (1–3 %). Mažas laktazės nepakankamumo paplitimas, iki 10 %, randamas Anglijoje, Airijoje, Olandijoje, Šiaurės Vakarų Vokietijoje ir tarp švediška kalbančių Suomijos gyventojų [50, 56, 113].

Enzimopatijos paplitimas gerai ištirtas Suomijoje, ten nustatyti ryškūs regioniniai skirtumai. Mažiausias hipolaktazijos paplitimas (8 %) rastas Suomijos pietuose ir vakaruose tarp švediška kalbančių gyventojų. Tarp suomiškai kalbančių gyventojų hipolaktazija paplitusi 17 % atvejų. Nustatytas kylantis šio rodiklio gradientas iš vakarų į rytus. Šiaurės Suomijoje (Laplandijoje) hipolaktazijos dažnis svyruoja nuo 25 % tarp besiverčiančių žvejyba lapių iki 60 % tarp besiverčiančių elnininkyste lapių. Stebėtinais mažas hipolaktazijos paplitimas (vidurkis 37 %) tarp kalnų lapių ir lapių žvejų, nes jie vartoja maistui elnių pieną tik apie 300 metų, ir tai tik porą mėnesių per metus. Karvės pieną jie pradėjo vartoti maždaug tik prieš 150–180 metų. Manoma, kad galbūt selekcinė galia Laplandijoje buvo stipresnė negu centrinėje Europoje. Daroma prielaida, kad lapiai iš dalies gavo laktazės persistavimo geną iš savo kaimynų suomių ir norvegų [63].

Hipolaktazijos dažnis Europoje didėja pietų ir rytų kryptimis. Hipolaktazijos 10–25 % paplitimas yra teritorijoje, kurią riboja Luaros upė Prancūzijoje, Alpės ir Austrijos rytų siena, Bohemija ir Vokietija. Į rytus ir pietus nuo šios teritorijos laktazės malabsorbcijos dažnis siekia 71–72 % (Turkija, Pietų Italija) [56].

Pasak T. Sahi, didžiausi ir labiausiai patikimi hipolaktazijos paplitimo tyrimai atlikti Europoje, tačiau žemyne vis dar yra šalių, kuriose šis reiškinys neištirtas. Labai tikslūs pagal atsitiktinės atrankos metodą atlikti tyrimai tik Suomijoje, Estijoje, kai kuriose Vidurio Europos šalyse, Italijoje [56]. Mažiausias šiuo metu žinomas suaugusiųjų hipolaktazijos paplitimas Danijoje (4 %) ir Didžiojoje Britanijoje (5 %) [114]. Kai kuriose šalyse atskleisti dar mažesni rodikliai, bet abejojama jų patikimumu. Antai vieno tyrimo duomenimis, Pietų Švedijoje hipolaktazija paplitusi apie 1 %, tačiau neaprašyti nei tyrimo metodai, nei subjektai. Danijoje 1969 metais E. Gudmand-Hoyer ir bendr. nustatė, kad tarp jų parinktų hospitalinių ligonių hipolaktazija svyravo nuo 2,6 % iki 6,6 %. Norvegijoje ištirti tik 55 gastroenterologiniai ligoniai, iš kurių 19-ai nustatyta hipolaktazija, ir tikima, kad ši enzimopatija šalyje paplitusi ne daugiau kaip 5 %. Olandijoje ištirti 8–10 metų amžiaus 106 vaikai, tarp jų 2 % atvejų nustatytas laktazės

nepakankamumas, deja, jie dar per jauni suaugusiųjų hipolaktazijai atsirasti. Tik 20 suaugusiųjų ištirta Belgijoje, vienam rasta hipolaktazija (5 %). Airijoje iš 50 ištirtųjų 4 % turėjo laktazės nepakankamumą [56].

Nepaisant minėtų pavyzdžių, vis dėlto ryškėja bendri hipolaktazijos paplitimo Europoje dėsniniai: ji mažiausiai paplitusi Šiaurės Vakarų Europoje apie Šiaurės jūrą ir pietvakarinėse Baltijos jūros pakrantėse. Būtent iš šio regiono yra kilusi germanų populiacija. Iš čia anglosaksai keliavo į Pietų Britaniją 4-ame mūsų eros amžiuje. Šalyse į pietus ir į rytus nuo šio arealo hipolaktazija daug dažnesnė [56].

Hipolaktazijos paplitimą Vidurio Europoje daugiausiai tyrė G. Flatz ir bendraautorai, naudodami laktazės toleravimo mėginį. Vokietijoje hipolaktazija svyruoja nuo 6–9 % iki 22–23 %: mažiausias procentas Šiaurės Vakarų Vokietijoje, kur gyventojų etninė sudėtis mažai pasikeitė nuo Pirmojo pasaulinio karo laikų; didžiausias procentas – rytuose ir pietvakariuose, kur migracijos procesai po Antrojo pasaulinio karo gerokai pakeitė gyventojų etninę sudėtį. Hipolaktazijos paplitimo vidurkis visoje Vokietijoje apie 15 % [115]. Lenkijoje suaugusiųjų hipolaktazija paplitusi 37 % [115]. Tai atitinka šios enzimopatijos dažnį kaimyninėse Rytų Vokietijoje ir Lietuvoje (30–37 %). Hipolaktazijos paplitimas Austrijoje (15 % vakaruose ir 25% rytuose) atitinka šiuos rodiklius Bavarijoje (14 %) ir Vakarų Vengrijoje (28 %). Visoje Vengrijoje gyventojų populiacijoje hipolaktazija paplitusi 37 %, tačiau tarp Vengrijos čigonų – net 56 % atvejų [116, 117].

Tyrimai, atlikti Čekijoje ir Slovakijoje, nėra labai patikimi, bet tarp čekų išeivių Vakarų Bohemijoje hipolaktazija nustatyta 12,5 % asmenų, tarp Kanados čekų emigrantų – 18 %. Šie rodikliai panašūs į hipolaktazijos paplitimo dydį gretimose vokiečių Bavarijoje (14 %). Ištyrus čekų tautybės gastroenterologinius ligonius, laktazės nepakankamumas nustatytas 30 % [118]. Yra tam tikrų neaiškumų dėl hipolaktazijos paplitimo Prancūzijoje ir Šveicarijoje. Prancūzų kareivių grupėje (n-131) 37 % asmenų nustatytas laktazės nepakankamumas, bet tarp kareivių, kurių visi keturi seneliai buvo prancūzai, hipolaktazija diagnozuota tik 28 % atvejų. Tarp kareivių, kilusių iš Šiaurės Prancūzijos, hipolaktazijos dažnis buvo mažesnis (23 %), negu tarp kilusių iš Pietų Prancūzijos (50 %). Prancūzų Alpių regione hipolaktazija paplitusi 42 % [119].

Pietų Europoje sunku nustatyti hipolaktazijos paplitimo dėsninumus, nes literatūroje labai daug prieštaringų pranešimų apie šios enzimopatijos dažnį atskirose šalyse. Mažai patikimų tyrimų Ispanijoje. Valensijoje ištyrus 119 žmonių, nesergančių virškinimo sistemos ligomis, rasta 28 % hipolaktazijos atvejų, Pietų Ispanijoje ištyrus 309 medicinos studentus, rasta 19 % hipolaktazijos atvejų, tačiau tyrimų metodai yra abejotini. Italijoje hipolaktazijos paplitimas labai skirtingas: centrinėje dalyje – 19 %, apie Neapolį – 80 %, Sicilijoje – 70 %. Šiaurės Italijoje du tyrimai parodė tą patį rezultatą – 51 % [120].

S. Ladas ir bendr. nustatė 75 % hipolaktazijos atvejų tarp to paties amžiaus 200 graikų. Ankstesniame tyrime panaudotas laktazės toleravimo mėginys, vėles-

niame – vandenilio koncentracijos nustatymo iškvepiamame ore mėginys. Skirtingi tyrimų rezultatai iš dalies gali būti paaiškinti skirtingų metodikų panaudojimu. Tuo labiau kad vėlesniuose tyrimuose S. Ladas, ištyręs 100 ligonių, nustatė 55 % hipolaktazijos atvejų. Kipre hipolaktazijos paplitimas sudaro 66 % [38].

Rytų Europos šalyse hipolaktazijos paplitimas, įvairių autorių duomenimis, labai įvairus. Rusijos Federacijoje pirminio laktazės nepakankamumo dažnis svyruoja nuo 13 % iki 50 % [121–123]. 37 % dažnis nustatytas rusų kilmės studentų grupėje Estijoje [124] ir 57 % atsitiktinai parinktoje rusų stačiatikių, apie du šimtus metų gyvenančių prie rytinės Estijos sienos, grupėje [125]. Dauguma šių tyrimų atlikta naudojant laktazės toleravimo mėginį. 1998 metais Kozlovas ir bendr. Uralo gyventojams nustatė 51 % hipolaktazijos dažnį [122].

Neseniai Rusijoje pradėti *LCT* geno tyrimai. DNR pavyzdžių, paimtų iš įvairių Rusijos Federacijos regionų, analizė atskleidė, kad laktazės nepakankamumo genotipas rusams svyruoja tarp 36 % ir 50 % [123]. Iširtos trys nedidelės atsitiktinai parinktos suomių-ugrų populiacijos Rusijoje. Tarp suaugusių marių, gyvenančių Volgos vidurupyje, hipolaktazija paplitusi 81 %, tarp hantų, gyvenančių Vakarų Sibire, – 94 %, tarp ižorų, gyvenančių į vakarus nuo Sankt Peterburgo, – 41 % (291), marių populiacijoje – 81 % [126].

Gerai iširta estų populiacija, kurioje hipolaktazijos dažnio vidurkis yra apie 26 %. Pietų Estijoje hipolaktazija paplitusi 24 % atvejų, tačiau vakaruose ji daug dažnesnė (32 %), Saremos saloje – 23 %, setų populiacijoje, mažoje pietryčių estų etninėje grupėje, hipolaktazijos paplitimas yra 47–52 % [125].

Azijoje hipolaktazijos paplitimas didelis. Turkijoje, ištyrus 470 kariškių grupę, nustatytas 71 % hipolaktazijos dažnis [127] Izraelyje hipolaktazija paplitusi 71 % atvejų [128]. Libane ir Jordanijoje enzimopatijos dažnis panašus – 75–78 %. Kitose arabų šalyse hipolaktazijos paplitimas dar didesnis, pavyzdžiui, Irake – 86 %. Tačiau tarp beduinų, tradiciškai vartojančių kumelių pieną, laktazės nepakankamumas pasitaiko daug rečiau: Jordanijoje – 24 %, panašiai Saudo Arabijoje [129].

Kai kuriose Pakistano ir Šiaurės Indijos populiacijose ši enzimopatija paplitusi mažiau negu 30 % [68]. Pietų Indijoje hipolaktazijos dažnis yra apie 60–70 %, Šiaurės Indijoje – 27 %, Šri Lankoje – 73 % [130], Afganistane – 83 % atvejų. [131]. Šie rodikliai atspindi tradicinius pieninės gyvulininkystės regionus Indijos pusiasalyje.

Labiausiai hipolaktazija paplitusi Tolimuosiuose Rytuose: 100 % Šiaurės Tailande, 97 % Centriniam Tailande [132]. Gretimose šalyse situacija panaši: 100 % Vietname [133] ir 91 % Indonezijoje [134]. Nemažai tyrimų atlikta Kinijoje. Hipolaktazija paplitusi 86 % tarp Šanchajaus gyventojų, [135], 92 % Šiaurės Kinijoje. Kitose Kinijos populiacijose laktazės malabsorbcijos dažnis kiek mažesnis: 88 % tarp mongolų, 76 % tarp kazachų [136] ir 43 % tarp uigurų [135]. Nėra patikimų laktazės nepakankamumo

paplitimo tyrimų Japonijoje. Dviejose nedidelėse studijose, kuriose pritaikyti netikslūs diagnostikos kriterijai, nustatyta, kad tarp japonų hipolaktazija paplitusi nuo 73 % iki 87 % [56]. Pietų Korėjoje laktozės malabsorbcijos dažnis yra apie 76 % [137].

Afrikos žemyne didžiausi tyrimai atlikti Egipte. 1982 metais G. Flatz ir bendraautoriai ištyrė hipolaktazijos paplitimą (73 %) tarp 570 suaugusių egiptiečių [138]. Tarp juodaodžių Afrikos gyventojų hipolaktazija su mažomis išimtimis paplitusi nuo 70 % iki 95 %. Patikimiausi tyrimai atlikti Sudane [139, 140]. Ten išskiriamos dvi pagrindinės etninės grupės: bedžų gentys Šiaurės Rytų Sudane, auginančios galvijus, ir nilotai Pietų Sudane, užsiimantys žemdirbyste. Bedžų gentyse hipolaktazija paplitusi 17 %, tarp nilotų – 75 %. Piečiau Sudano esančioje Tanzanijoje bantų gentyse laktozės malabsorbcija dar dažnesnė – apie 90 % [141]. Hipolaktazijos paplitimas gana įvairus Centrinėje Afrikoje ir regione piečiau Sacharos. Nigeryje gyvulininkyste besiverčiančiose tuaregų gentyse laktazės nepakankamumas paplitęs 13 % [142], klajoklių fulanių gentyse Nigerijoje – 22 % [143]. Visi šie žmonės tradiciškai vartoja maistui pieną. Tose populiacijose, kur pienas nevartojamas, hipolaktazija labai dažna – daugiau kaip 90 % Nigerijoje.

Šiaurės ir Pietų Amerikos šalyse hipolaktazija mažiausiai (< 30 %) paplitusi tarp Europos baltaodžių gyventojų išeivių. Jungtinėse Amerikos Valstijose atlikta labai daug hipolaktazijos paplitimo tyrimų, bet daugelis jų neparemti gerai parinkta reprezentacine gyventojų grupe [56]. H. A. Buller ir R. J. Grand duomenimis, hipolaktazija paplitusi 100 % tarp vietinių gyventojų (indėnų), 81 % – tarp juodaodžių, 71 % – tarp italų, 24 % – tarp baltaodžių gyventojų [144]. Kaip ir buvo galima tikėtis, laktozės malabsorbcijos paplitimas tarp Amerikos čiabuvių esti labai didelis. Tarp Amerikos indėnų hipolaktazijos dažnis svyruoja nuo 62 % [145] iki 100 % [146]. Tarp Kanados eskimų hipolaktazija paplitusi 82 % atvejų [147]. Panašus rodiklis ir Grenlandijos eskimų.

Lotynų Amerikoje hipolaktazijos paplitimas gana didelis. Deja, ištirtų gyventojų skaičiai paprastai yra maži, todėl tyrimų rezultatai nėra patikimi, išskyrus keletą studijų. Viena iš jų – tai didelis tyrimas, atliktas Meksikoje (600 gyventojų). Laktozės malabsorbcijos dažnis siekė 66 % Meksike [148] ir 74 % kaimo vietovėse [148]. Didelės gyventojų grupės ištirtos Čilėje ir Urugvajuje. Hipolaktazija paplitusi mišrioje Čilės populiacijoje 70 % [149] ir Urugvajaus populiacijose – 65 % [150].

Laktazės aktyvumo persistavimas (LP), tai yra išlikimas didelio visą gyvenimą, genetiškai nulemtas autosominiu dominantiniu būdu. Žmonių, turinčių tokį genotipą, pasaulyje gerokai mažiau negu turinčių autosominį recesyvinį genotipą, nulemiantį pirminį suaugusiųjų laktazės nepakankamumą. Šiais laikais laktazės aktyvumo persistavimo dažnis tarp pasaulio suaugusių gyventojų yra apie 35 %, [151, 152], bet šis skaičius labai skiriasi įvairiose žmonių populiacijose

Didelis laktazės persistavimo dažnis paprastai būdingas šiaurinės Europos populiacijoms: svyruoja nuo 15–54 % rytinėje ir pietinėje Europoje iki 62–86 % centrinėje ir

vakarinėje Europoje, netgi iki 89–96 % Didžiojoje Britanijoje ir Skandinavijoje [152, 153]. Indijoje LP dažnis yra didesnis šiaurėje (63 %) nei tolimesniuose pietuose (23 %) ar rytuose [154].

Iš Rytų Azijos yra palyginti mažai duomenų, bet atrodo, kad LP ten yra retas. Afrikoje LP paplitimas yra labai nevienodas, dažnas jo paplitimas pastebimas daugiausia piemenų populiacijose [151, 155, 80, 156]. Pavyzdžiui, *beni amir* populiacijoje (Sudane) LP siekia 64 %, o Dounglawi vietovėse (Sudane), kaimyninėse ne piemenų populiacijose, LP dažnis yra apie 20 % [121, 140].

Fermentinio aktyvumo mažėjimo pradžią nustatyti yra sunku, tačiau pastebėta, kad populiacijose, kuriose pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos dažnis yra didelis, laktazės fermentinio aktyvumo stokos simptomai pasireiškia jau ankstyvoje vaikystėje [7, 157]. Daugumai tailandiečių vaikų pirminis laktazės nepakankamumas išsivysto iki dvejų metų amžiaus [158]. Kinų vaikams laktazės nepakankamumas gali prasidėti nuo trečiųjų iki aštuntųjų gyvenimo metų [159, 71, 160]. Afrikiečių populiacijose laktazės aktyvumas pradeda mažėti trečiaisiais vaiko gyvenimo metais, kitų šaltinių duomenimis – nuo vienerių iki aštuonerių metų [161, 162].

Baltaodžių populiacijose retai pasitaiko, kad mažas laktazės aktyvumas būtų nustatytas jaunesniems nei penkerių metų amžiaus vaikams [163, 218]. Suomių populiacijoje pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos pradžios intervalas itin platus – nuo penkerių iki dvidešimties metų [165]. Tačiau naujausiais tyrimais, atliktais derinant du laktazės fermentinio aktyvumo sumažėjimo vertinimo metodus, nustatyta, kad didžiajai daliai vaikų, turinčių C/C₋₁₃₉₁₀ genotipą, jau aštuonerių metų, o dvylikos metų amžiaus jau visiems paaugliams laktazės fermentinis aktyvumas buvo sumažėjęs [56]. Lietuvoje, D. Kalibatiėnės duomenimis [166], 7–8 metų amžiaus vaikams laktazės aktyvumas pradeda mažėti, etniniai hipolaktazijos paplitimo skirtumai vaikų populiacijoje ima ryškėti 9–10 metų amžiuje.

APIBENDRINIMAS. Pirminis laktazės nepakankamumas, arba pirminė suaugusiųjų hipolaktazija, traktuojama ne kaip liga, o kaip būklė, nes daugelio pasaulio šalių gyventojų populiacijose vaikams ji atsiranda 2–3 metų amžiuje, o tarp suaugusiųjų paplitusi daugiau negu 60 %, Pietryčių Azijos šalių (Japonijos, Kinijos, Tailando, Filipinų) kai kuriose srityse – iki 100 %. Deja, nors atlikta labai daug hipolaktazijos paplitimo tyrimų Afrikoje, Azijoje, Pietų Amerikoje, kai kur kitur, tačiau ne visi jie atitinka mokslinius reikalavimus, keliamus tokio pobūdžio studijoms. Kai kuriuose tyrimuose taikytos nepakankamai tikslios metodikos, per mažas ištirtų žmonių skaičius, nepatikimas kontingentas, pasirinktas ne pagal atsitiktinės atrankos metodą. Pažymėtina, kad pastarąjį dešimtmetį paplito laktazės aktyvumo perasistavimo / nepersistavimo genotipų paplitimo tyrimai genotipavimo metodu.

2.7. Laktazės aktyvumo persistavimo / nepersistavimo genotipų paplitimo tyrimai

Pirminio laktazės nepakankamumo paplitimo tyrimai tapo daug tikslesni pastarąjį dešimtmetį pradėjus taikyti genetinius diagnostikos metodus.

C. A. Mulcare su kolegomis [110] ištyrė VNP C/T₋₁₃₉₁₀ 1671 asmeniui iš septynių Afrikos šalių skirtingų kultūrinių regionų. Dalies ištirtų asmenų grupių rezultatus palygino su jau turima fenotipine informacija. Penkiose iš septynių grupių laktazės persistavimo dažnis buvo 25 % ir daugiau. Įvertinę atlikto tyrimo rezultatus, mokslininkai nusprendė, kad T alelis tirtųjų grupėje buvo pernelyg retas, todėl juo negalima paaiškinti laktazės persistavimo fenotipo dažnio Afrikoje.

S. A. Tishkoff ir bendr. [111] ištyrė hipolaktazijos genotipo-fenotipo asociaciją Tanzanijos, Kenijos ir Sudano gyventojų populacijose. 470-yje DNR bandinių identifikuoti trys VNP variantai: G/C₋₁₄₀₁₀, T/G₋₁₃₉₁₅ ir C/G₋₁₃₉₀₇, asocijuoti su laktazės persistavimu. Mokslininkai nustatė, jog šios VNP pakaitos kilo iš Europos populiacijų, turinčių C/T₋₁₃₉₁₀ DNR variantą.

M. Carina ir bendr. [167], pritaikę du metodus, ištyrė laktazės persistavimo pozityvios selekcijos požymius Kenijos masajų populiacijoje ir gautus duomenis palygino su kitomis *HapMap* kolekcijos populiacijomis. Mokslininkai nustatė, jog masajų grupėje nesenos teigiamos atrankos laktazės persistavimo geno atžvilgiu požymiai buvo daug stipresni negu kitose Afrikos žemyno populiacijose, taip pat Šiaurės Vakarų ir Vidurio Europos gyventojų grupėse. Matyt, intensyvią pozityvią selekciją masajų populiacijoje inspiravo Rytų Afrikos laktazės persistavimo haplotipas, kuris skiriasi nuo Šiaurės Vakarų Europos gyventojų LP haplotipo.

Buvo ištirtas hipolaktazijos dažnis [168] 439 žydų, kilusių iš Europos (aškenazių) (n=96), Irako (n=96), Maroko (n=96) ir arabų beduinų populiacijų (n=151). DNR buvo gaunama iš leukocitų. LCT-13910C/T, LCT-22018G/A ir LCT-13915T/G VNP pakaitos ištirtos naudojant polimerazės grandininės reakcijos metodą. CC (LCT-13910C/T) genotipo, susijusio su hipolaktazija, dažnis arabų beduinų grupėje buvo 97 %, irakiečių grupėje – 93 %, aškenazių grupėje – 83 %, marokiečių grupėje – 82 %. GG (LCT-22018G/A) suaugusiųjų hipolaktazijos genotipo dažnis šiose grupėse buvo toks pat kaip CC genotipo, išskyrus Irako žydus, kuriems GG genotipas buvo nustatomas 83 % atvejų. Heterozigotinių ir homozigotinių genotipų (CT, TT-13910C/T ir GA, AA-22018G/A), susijusių su laktazės persistavimu, buvo 3 % arabų beduinų grupėje, 7 % aškenazių grupėje, 17 % irakiečių grupėje ir 18 % marokiečių grupėje. Tarp genotipų variantų nustatyta reikšminga koreliacija. Tyrimas atskleidė, kad hipolaktazijos paplitimas žydų populiacijoje yra didelis, tačiau skiriasi priklausomai nuo ištirtų

asmenų geografinės kilmės. LCT-13915*G alelio, susijusio su laktazės persistavimu, dažnis afrikiečių ir arabų populacijose buvo 41 %. Laktazės persistavimo genotipas žydų etninėse grupėse svyravo nuo 4 % iki 18 %.

A. R. Al-Abri ir bendr. [169] ištyrė laktazės persistavimą Arabijos pusiasalio suaugusių gyventojų, kilusių iš Omano ir Jemeno, etninėse grupėse. Laktazės persistavimo alelio 13915*G paplitimas buvo didžiausias Pietų Omano Dhofari arabų populiacijoje (0,72), mažesnis – Jemeno arabų grupėje (0,54) ir mažiausias – Šiaurės Omano arabų populiacijoje (0,14). Alelio 13910*T dažnis buvo itin mažas Šiaurės ir Pietų Omano arabų populacijose (0,00–0,01) ir Jemeno gyventojų grupėje (0,002). Tačiau Omano azijietiškos kilmės gyventojų grupėje šio alelio dažnis buvo 0,160. Studijos rezultatai atskleidė, jog didžiausias LCT-13915*G alelio dažnis yra Arabijos pusiasalio pietuose gyvenančių arabų populiacijoje.

E. Heyer ir bendr. [170] tyrė laktazės persistavimo genotipo paplitimą Centrinės Azijos etninėse grupėse. Šiame regione nuo seno paplitusi gyvulininkystė. Neseniai įrodyta, kad kumelių pieno vartojimas maistui kazachų Botai kultūroje praktikuojamas nuo 5500 metų p. Kr. Mokslininkų tyrimo tikslas buvo įvertinti laktazės persistavimo genotipo raidą šiame regione, kuriame kartu gyvena žmonės, kalbantys indų-iranėnų kalbomis (tadžikai) ir tiurkų kalbomis (kazachai, karakalpakai, kirgizai, turkmėnai). Ištyrus 183 asmenis, nustatyta ženkli genetinė-fenotipinė koreliacija su Europoje paplitusių alelių (-13.910C>T, rs4988235) polimorfizmu. Kazachų, besiverčiančių gyvulininkyste, populiacijoje laktazės persistavimo genotipo paplitimas svyravo nuo 25 % iki 32 %, o tadžikų ir uzbekų, besiverčiančių žemės ūkiu, populiacijoje – nuo 11 % iki 30 %. Gerokai skiriasi -13.910*T alelio dažnis šiose populacijose: kazachų grupėje – 30 %, tadžikų-uzbekų grupėje – 19 %.

D. Nagy ir bendr. [171] ištyrė laktazės persistavimo / nepersistavimo genotipų paplitimą vengriškai kalbančių gyventojų grupėje, taip pat Karpatų teritorijoje archeologinių kasinėjimų metu rastų X–XI amžiaus užkariautojų ir senųjų vietinių gyventojų kaulų pavyzdžiuose. Dabartinių gyventojų tyrimo populiaciją sudarė 181 vengras ir 65 seklerų populiacijos atstovai. Iširti 23 senovės palaikų kaulai. C/T₋₁₃₉₁₀ VNP genotipavimas atliktas *dCAPS PCR-RFLP* metodu, papildomai atliktas mitochondrinės DNR mėginys. Senovės vengrų tyrimo medžiagoje T₋₁₃₉₁₀ alelis, susijęs su laktazės persistavimu, aptiktas 11 % atvejų ir išimtinai tik senųjų vietinių gyventojų grupėje. Tai įdomu turint galvoje, kad pieninė gyvulininkystė Karpatų teritorijoje pradėjo vystytis ankstyvuojau neolito laikotarpiu. Galėtų būti kelios šio reiškimo priežastys. Pirmiausia kultūriniai ypatumai – vengrai nuo seno maistui vartoja daugiau galvijų mėsos negu pieno, dažniausiai valgo fermentuotus pieno produktus. Kita priežastis gali būti tai, kad jų genofonde yra kiti aleliai, ne C/T₋₁₃₉₁₀, reguliuojantys laktazės genetinį polimorfizmą.

Mažas laktazės persistavimo dažnis rodo, kad vengrų protėviai yra kilę iš Azijos. Dabartiniai vengrai yra asimiliavęsi su aplink gyvenančiomis Europos tautomis, todėl jų C/T₋₁₃₉₁₀ alelio dažnis mažai tesiskiria nuo šio geno paplitimo kaimyninėse populiacijose.

L. Manco ir bendr. [172] tyrimo tikslas buvo nustatyti -13910C>T genotipo paplitimą Portugalijoje. Tyrime dalyvavo šalies pietinės dalies (n = 65), centrinės dalies (n = 70) ir šiaurinės dalies (n = 64) gyventojai. Papildomai buvo ištirta 40 asmenų, turinčių virškinimo sutrikimų. Taikyti tyrimo metodai – kvėpuojamojo oro vandenilio koncentracijos nustatymas ir genotipavimas. Visoje tiriamųjų grupėje LP-13910*T alelio dažnis buvo 0,349, šio alelio paplitimas pietuose (0,269) buvo mažesnis nei šiaurės (0,383) ir centriniuose (0,393) regionuose. Asmenų, turinčių virškinimo sutrikimų, LP-13910*T alelio dažnis (0,363) reikšmingai nesiskyrė nuo bendros populiacijos. Kvėpuojamojo oro vandenilio koncentracijos tyrimo duomenys 94 % atvejų atitiko genotipavimo rezultatus. Tyrimas parodė, kad Portugalijoje laktazės persistavimo genotipas paplitęs nevienodai.

T. Płoszaj ir bendr. [173] ištyrė LCT-13910C>T genotipų dažnį 223 kraujo donorų iš centrinės Lenkijos. Genotipavimas atliktas taikant polimerazės grandininės reakcijos ir tiesioginio sekvenavimo metodus. LCT-13910 T alelis, susijęs su laktazės persistavimu, nustatytas 51 % ištirtų asmenų. Tyrimo metu nerasta neeuropietišku alelių, susijusių su LP (LCT-13907C>G, LCT-13913T>C, LCT-13915T>G), ar naujų VNP variantų. Gauti rezultatai koreliuoja su kaimyninių populiacijų genotipavimo duomenimis ir patvirtina, kad Europoje vyraujantis genotipas, susijęs su laktazės persistavimu, yra LCT-13910C>T.

Y. Khabarovos ir bendr. [174] duomenimis, gimusių ir gyvenusių Šiaurės Vakarų Rusijoje jaunų žmonių populiacijoje C/C genotipo dažnis buvo 35,6 %. Kitų genotipų: C/G₋₁₃₉₀₇, T/C₋₁₃₉₁₃, T/G₋₁₃₉₁₅ ir G/C₋₁₄₀₁₀ šioje populiacijoje nenustatyta. Tyrimo rezultatai atskleidė gana didelį genotipo, susijusio su pirminiu laktazės nepakankamumu, dažnį Šiaurės Rusijoje. Autoriai daro išvadą: kadangi VNP variantai C/G₋₁₃₉₀₇, T/C₋₁₃₉₁₃, T/G₋₁₃₉₁₅ ir G/C₋₁₄₀₁₀ siejami su persistuojančiu laktazės aktyvumu pietinėje pasaulio dalyje, nebuvo rasti rusų populiacijoje, tai galbūt šie genotipai nedalyvauja laktazės aktyvumo reguliacijoje. Šis teiginys sutampa su kitų autorių nuomone.

D. Kalibatienė ir S. Varvuolyte atliko pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetinių žymenų tyrimą Lietuvos gyventojų populiacijoje [177, 233]. Genotipavimas atliktas išskiriant DNR iš kraujo bandinių ir naudojant genomines DNR išgryninimo rinkinį (UAB „Fermentas“, Lietuva). Atliekant tyrimą, vadovautasi rinkinyje pateiktu eksperimentiniu protokolu.

Įvertinus genotipų, siejamų su hipolaktazija, dažnius tiriamųjų etninėse populiacijose, nustatyta, kad lietuvių grupėje jie buvo tokie: C/C₋₁₃₉₁₀ – 42,5 % ir G/G₋₂₂₀₁₈ – 37,5 %.

Rusų grupėje rezultatai panašūs: C/C_{-13910} – 44,7 % ir G/G_{-22018} – 39,5 %. Lenkų grupėje pirminio laktazės nepakankamumo genetiniai žymenys buvo daug dažnesni: C/C_{-13910} – 68,0 % ir G/G_{-22018} – 60,0 %. Su pirminiu laktazės nepakankamumu siejamo C/C_{-13910} genotipo dažnis buvo didesnis negu G/G_{-22018} genotipo (3 lentelė).

3 lentelė. Genotipų, susijusių su pirminiu laktazės nepakankamu, dažnis Lietuvos gyventojų populiacijoje

Etninė grupė	Bendras tiriamųjų skaičius	Genotipai, susiję su hipolaktazija			
		C/C_{-13910} genotipas		G/G_{-22018} genotipas	
		n	%	n	%
Lietuviai	80	34	42,5	30	37,5
Rusai	38	17	44,7	15	39,5
Lenkai	25	17	68,0	15	60,0
Kiti	17	9	52,9	8	47,1
Iš viso	160	77	48,1	68	42,5

APIBENDRINIMAS. Europoje C/T_{-13910} alelis 86–100 % atvejų yra susijęs su laktazės aktyvumo persistavimu, o Afrikos ir kitų žemynų populiacijose kiti genotipai: $CT_{-13907}C>G$, $CT_{-13913}T>C$, $CT_{-13915}T>G$, nulemia laktazės aktyvumo persistavimą. Laktazės aktyvumo persistavimo fenotipas C/T_{-13910} , kuris yra dažnas Šiaurės Europos populiacijose, daug rečiau aptinkamas daugumoje subsacharinės Afrikos dalies populiacijų. Genotipavimo tyrimai įrodė, kad C/C_{-13910} genotipo homozigotinė forma, susijusi su pirminiu laktazės nepakankamu, daugiausia yra paplitusi Azijos, Afrikos vietinių gyventojų ir Amerikos indėnų populiacijose. Lietuvos gyventojų populiacijoje su laktazės nepakankamumu siejamų genotipų dažniai buvo: C/C_{-13910} – 42,5 % ir G/G_{-22018} – 37,5 %. Rusų grupėje rezultatai panašūs: C/C_{-13910} – 44,7 % ir G/G_{-22018} – 39,5 %. Lenkų grupėje pirminio laktazės nepakankamumo genetiniai žymenys buvo daug dažnesni: C/C_{-13910} – 68,0 % ir G/G_{-22018} – 60,0 %. Su pirminiu laktazės nepakankamumu siejamo C/C_{-13910} genotipo dažnis buvo didesnis negu G/G_{-22018} genotipo.

2.8. Laktazės nepakankamumo paplitimas Lietuvoje

Lietuvoje epidemiologiniai ir klinikiniai laktazės nepakankamumo tyrimai atliekami nuo 1984 metų. D. Kalibatienė [166] tyrė hipolaktazijos paplitimą Lietuvos gyventojų populiacijoje, taip pat lietuvių subpopuliacijose. Tyrimai atlikti Telšių rajono Tryškių ir Luokės apylinkėse (Žemaitija), Ukmergės rajono Taujėnų, Lėno ir Siesikų apylinkėse, Utenos rajono Tauragnų ir Vyžuonų apylinkėse (Rytų Aukštaitija), Vilniaus rajono

Nemenčinės, Lavoriškių, Mostiškių, Pagirių, Buivydžių ir Bezdonių apylinkėse (Pietų Aukštaitija). Buvo tiriami kaimo žmonės, gyvenantys sėsliai, toliau nuo didelių miestų, kuriuos, tikėtina, mažiau buvo paveikę pastariesiems dešimtmečiams būdingi migracijos bei gyventojų etninio maišymosi procesai.

Pagal apylinkių gyventojų sąrašus į vietinės ambulatorijas ir medicinos punktus tyrimams buvo pakviečiami visi vyresni nei 16 metų gyventojai. Į tyrimą nebuvo įtraukiami asmenys, sergantys anksčiau diagnozuotomis ligomis: cukriniu diabetu, onkologinėmis ligomis, virškinimo sistemos ligomis, toli pažengusia širdies ir kraujagyslių ateroskleroze (dėl galimų mezenterinių arterijų aterosklerozinių pakitimų), inkstų ligomis, infekcinėmis ligomis. Tyrime dalyvavo 61 % visų tų apylinkių suaugusių gyventojų (n=959). Įvertinus dalyvavusių tyrime žmonių skaičių, lytį ir amžių, buvo įsitikinta, kad šie rodikliai statistiškai patikimai nesiskyrė nuo bendros šių apylinkių gyventojų demografinės charakteristikos. Taigi, ištirti asmenys reprezentavo atskirų Lietuvos regionų gyventojus, o tyrimų rezultatai galėjo atspindėti laktazės nepakankamumo paplitimą visoje Lietuvoje.

Apklausus ir išnagrinėjus tiriamųjų užpildytas anketas, etninė priklausomybė buvo nustatoma iki antros kartos, tai yra, buvo tiriama tėvų ir visų keturių senelių tautybė, gimtoji kalba ir gimimo vieta. Atitinkamai etninei grupei buvo priskiriami tie žmonės, kurių ne mažiau kaip trys iš keturių senelių buvo tos pačios tautybės. Likusieji pateko į kitas etnines grupes arba etniškai mišrių gyventojų grupę. Ištirti lietuviai (n=751) buvo suskirstyti į grupes pagal jų ir jų tėvų bei senelių gimimo vietą, kalbą bei tarmę pagal Z. Zinkevičiaus (1966) sudarytą lietuvių kalbos tarmių žemėlapi. Lietuviai pagal tarmę buvo suskirstyti į tokias subpopuliacijas: 142 žemaičiai (19 %) ir 609 aukštaičiai (81 %). Pastarieji buvo suskirstyti į rytų (n= 395), pietų (n= 82 žmonės) ir vakarų (n= 65) aukštaičius. Įvairių tarmių atstovų buvo 67 lietuvių šeimose. Ištirtų lietuvių amžius svyravo nuo 16 iki 74 metų, tarp jų buvo 394 moterys ir 357 vyrai [166].

Laktazės nepakankamumui diagnozuoti buvo taikytas laktozės toleravimo mėginys LTT, kuriuo buvo vertinamas gliukozės koncentracijos pakilimas kraujyje ir ištirtų žmonių savijauta. Atlikta tiriamųjų anketinė apklausa. Anketoje tyrimo dalyviai pateikė nusiskundimus dėl sveikatos, duomenis apie lėtines ligas, vartojamus medikamentus. Grupė klausimų buvo skirta nustatyti laktazės nepakankamumo klinikiniams požymiams, virškinimo sutrikimams, kitoms ligoms, galinčioms paveikti virškinimo procesus, mitybos įpročiams.

Lietuvių populiacijoje laktazės nepakankamumo dažnis buvo 32 %, tačiau jis buvo skirtingas lietuvių subpopuliacijose (4 lentelė). Daugiausia hipolaktazija buvo paplitusi Vakarų Lietuvoje žemaičių grupėje (40 %), kiek mažiau Pietvakarių ir Vidurio Lietuvos vakarų aukštaičių grupėje (34 %), tačiau skirtumas buvo statistiškai nereikšmingas.

Gerokai mažesnis laktazės nepakankamumo dažnis buvo rytų aukštaičių, gyvenančių šiauriniuose ir rytiniuose Lietuvos rajonuose, grupėje (31 %), skirtumas statistiškai reikšmingas. Rečiausiai hipolaktazija nustatyta pietų aukštaičiams (24 %), skirtumas statistiškai reikšmingas. Tarmiškai mišrių lietuvių šeimose vyravo visų aukštaičių tarmių atstovai, labai mažai buvo šeimų, turinčių žemaičių. Tuo ir paaiškinamas palyginti nedidelis hipolaktazijos paplitimas šioje lietuvių grupėje (30 %). Taigi, Lietuvoje hipolaktazijos paplitimo gradientas kilo iš šalies pietryčių į vakarus [166, 175].

4 lentelė. Pirminio laktazės nepakankamumo paplitimas lietuvių populiacijoje

Lietuvių subpopuliacijos	Tiriamieji			
	Iš viso	Asmenys, kuriems nustatytas laktazės nepakankamumas		
		n	%±PI* %	P
Žemaičiai	142	57	40±4	
Rytų aukštaičiai	395	122	31±2	<0,05
Pietų aukštaičiai	82	20	24±5	<0,05
Vakarų aukštaičiai	65	22	34±6	>0,05
Lietuviai iš mišrių tarmių šeimų	67	20	30±6	>0,05

PI* – pasikliautinis intervalas

Laktazės nepakankamumo dažnis buvo skirtingas amžiaus grupėse: > 39 metų – 32 %, 40–59 metų – 35 %, < 60 metų – 36 %. Vyresnių asmenų grupėse hipolaktazijos dažnis buvo didesnis, tačiau skirtumas statistiškai nereikšmingas. Hipolaktazija buvo vienodai dažna vyrų (31 %) ir moterų (33 %) grupėse.

Kitos ištirtos etninės grupės buvo lenkai (n=162), baltarusiai (n= 36), rusai (n=33), kitų tautybių atstovai (žydai, totoriai, ukrainiečiai) (n=15), 114 ištirtųjų buvo kilę iš mišrių šeimų, kurias sudarė įvairių tautybių atstovai – karelai, čiuvašai, totoriai, kazachai, ukrainiečiai, azerbaidžaniečiai. Pirminio laktazės nepakankamumo dažnis buvo 42 % lenkų grupėje, 21 % rusų grupėje, 22 % baltarusių grupėje, 40 % mišrioje grupėje. Hipolaktazijos paplitimas tarp lenkų buvo statistiškai reikšmingai didesnis negu kitose etninėse grupėse [166].

D. Kalibatienė ir S. Varvuolytė atliko studiją, kurios tikslas buvo įvertinti ir palyginti hipolaktazijos dažnį pasitelkiant kelis metodus: anketinę apklausą, peroralinį laktozės toleravimo mėginį ir pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetinių žymenų tyrimą [176,177].

Tyrimas atliktas dviejose Vilniaus miesto pirminės sveikatos priežiūros įstaigose: UAB Baltupių šeimos medicinos centre ir Centro poliklinikos VŠĮ Naujamiesčio filiale.

Tyrimo dalyviai, registruoti minėtose medicinos įstaigose pacientai, buvo išsamiai supažindinti su tyrimo tikslais, galimomis komplikacijomis ir nauda. Pareiškę norą dalyvauti tyrime pacientai užpildė ir pasirašė informuoto asmens sutikimo formą.

Įtraukimo į tyrimą kriterijai: abiejų lyčių, vyresni nei 18 metų amžiaus asmenys, sergantys lengvo ar vidutinio sunkumo arterine hipertenzija. Atmetimo kriterijai: sunkios eigos arterinė hipertenzija, kitos lėtinės širdies ir kraujagyslių sistemos, plaučių, inkstų, kepenų, virškinimo trakto ligos dekompensacijos fazės (dėl galimo poveikio plonosios žarnos gleivinei ir organizmo metabolizmui), sveikatos sutrikimai ar jų gydymo metodai, galintys trikdyti laktozės toleravimo mėginio atlikimą ir paveikti jo rezultatus, pavyzdžiui, gliukozės toleravimo sutrikimas ar cukrinis diabetas, antibiotikų vartojimas. Iš viso ištirta 160 asmenų nuo 32 iki 79 metų amžiaus, amžiaus vidurkis – $55,77 \pm 9,33$ metų. Iš jų 114 moterų (71,3 %) ir 46 vyrai (28,8 %). Moterų amžiaus vidurkis – $55,98 \pm 9,34$ metų, o vyrų – $55,24 \pm 9,39$ metų ($p=0,65$).

Atlikta tiriamųjų anketinė apklausa ir įprastas klinikinis sveikatos būklės įvertinimas. Anketoje tyrimo dalyviai nurodė nusiskundimus dėl sveikatos, duomenis apie lėtines ligas, vartojamus medikamentus. Grupė klausimų buvo skirta nustatyti hipolaktazijos klinikiškai požymiams (pieno ir jo produktų netoleravimo simptomams), virškinimo sutrikimams, kitų ligų, galinčių paveikti virškinimo procesus, mitybos įpročių išaiškinimui. Dalis klausimų buvo skirta tiriamųjų etninei priklausomybei nustatyti – išsiaiškinti gimimo vietą (šalį, rajoną, apylinkę, kaimą) bei gimtąją kalbą ir tarmę paties tiriamojo bei jo tėvų ir senelių. Prie anketos pateiktas po mėginio atsiradusių laktozės netoleravimo simptomų registracijos klausimynas.

Laktozės toleravimo mėginys LTM buvo atliekamas visiems tyrimo dalyviams matuojant gliukozės koncentraciją kapiliariniame kraujyje vienos valandos laikotarpiu išgėrus 16,7 % 300 ml vandeninio laktozės tirpalo. Pagal gautus gliukozės koncentracijos kapiliariniame kraujyje matavimų rezultatus buvo vertinamas glikeminės kreivės pakilimas.

UAB „Fermentas“ Mokslinių tyrimų centre atlikti genetiniai tyrimai. Pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetinių žymenų tyrimas buvo atliekamas išskiriant DNR iš kraujo bandinių ir panaudojant genomines DNR išgryninimo rinkinį (UAB „Fermentas“, Lietuva). Atliekant tyrimą, vadovautasi rinkinyje pateiktu eksperimentiniu protokolu.

Po laktozės toleravimo mėginio nustatyta, kad iš 160 ištirtų pacientų 53 asmenims (33 %) laktazės aktyvumas buvo sumažėjęs. Hipolaktazija diagnozuota vienodai dažnai moterims (33 %) ir vyrams (33 %). Įvertinus hipolaktazijos dažnio ir tiriamųjų lyties tarpusavio priklausomybę, nustatyta, kad tai nepriklausomi požymiai ($\chi^2=0,008$; $df=1$; $p=0,903$).

Anketinės apklausos duomenimis, tiriamųjų grupėje 80 asmenų buvo lietuviai (50 %), 38 – rusai (24 %), 25 – lenkai (16 %) ir 17 – kitų tautybių (12 baltarusių, 2 ukrainiečių, 2 žydų ir 1 vokiečių) atstovai (11 %). Laktozės toleravimo mėginium nustatytas hipolaktazijos dažnis atskirose etninėse grupėse svyravo nuo didžiausio lenkų grupėje (44 %) iki mažiausio lietuvių grupėje (30 %), tačiau požymio skirstiniai tarp minėtų etninių grupių nesiskyrė ($\chi^2=4,579$; $df=4$; $p=0,333$). Hipolaktazija nustatyta 13 rusų (34 %) ir 5-iems kitų tautybių atstovams (29 %). Kitų tautybių asmenų tyrimų rezultatai toliau neanalizuoti, nes grupė mišri ir joje per maži atskirų tautybių atstovų skaičiai. Šio tyrimo metu nustatytas hipolaktazijos dažnis atskirose etninėse grupėse: lenkų (44 %), rusų (34 %) ir lietuvių (30 %), koreliuoja su D. Kalibatienės atlikto epidemiologinio hipolaktazijos tyrimo duomenimis. Tuomet buvo nustatytas sumažėjęs laktazės aktyvumas 34 % asmenų bendroje gyventojų populiacijoje ir 32 % lietuvių, 42 % lenkų ir 21 % rusų grupėse [166, 175].

Pagal C/C_{-13910} VNP genotipavimo rezultatus tiriamųjų grupėje 77 asmenys (48 %) turėjo C/C_{-13910} genotipą, susijusį su hipolaktazija. Genotipai, susiję su laktazės persistavimu, pasiskirstė taip: C/T_{-13910} genotipas su vienu laktazės persistavimo aleliu nustatytas 68 (42,5 %), T/T_{-13910} genotipas su dviem laktazės persistavimo aleliais – 15 (9,4 %) asmenų. Moterų grupėje ($n=114$) C/C_{-13910} genotipas buvo diagnozuotas 55 (48,2 %), vyrų grupėje ($n=46$) – 22 (47,8 %) asmenims. Abiejų lyčių hipolaktazijos C/C_{-13910} genetinio žymens proporcijos ($p>0,05$) nesiskyrė, C/C_{-13910} genotipo raiška nepriklausė nuo tiriamųjų lyties ($\chi^2=0,002$; $df=1$; $p=0,962$).

Kito G/A_{-22018} DNR varianto genotipavimo rezultatai buvo tokie: G/G_{-22018} genotipas, susijęs su hipolaktazija, nustatytas 68 asmenims (42,5 %). Genotipai, susiję su laktazės persistavimu, pasiskirstė taip: G/A_{-22018} genotipas – 74 (46,3 %), A/A_{-22018} genotipas – 18 (11,3 %) asmenų. G/G_{-22018} genotipas buvo nustatytas 50 moterų (43,9 %) ir 18 vyrų (39,1 %). Abiejų lyčių G/G_{-22018} genotipo dažnių skirtumas statistškai nereikšmingas ($p>0,05$). G/G_{-22018} genotipas ir tiriamojo lytis – nepriklausomi požymiai ($\chi^2=0,300$; $df=1$; $p=0,594$).

Įvertinus dviejų DNR variantų, siejamų su pirminiu laktazės nepakankamumu, dažnius tiriamųjų etninėse populiacijose, nustatyta, kad lietuvių grupėje jie buvo tokie: C/C_{-13910} – 43 % ir G/G_{-22018} – 38 %. Rusų grupėje rezultatai panašūs: C/C_{-13910} – 45 % ir G/G_{-22018} – 40 %. Lenkų grupėje laktazės nepakankamumo genetinių žymenų dažniai buvo gerokai didesni: C/C_{-13910} – 68 % ir G/G_{-22018} – 60 %. Palyginus laktozės toleravimo mėginio ir genotipavimo rezultatus, nustatyta, kad genotipavimo būdu hipolaktazija nustatoma dažniau (48 %), negu atliekant laktozės toleravimo mėginį (33 %). Be to, hipolaktazija buvo dažniau diagnozuojama taikant C/C_{-13910} žymenį (48 %) negu G/G_{-22018} (42,5 %) [233,177].

Svarbus laktazės nepakankamumo dažnio studentų grupėje tyrimas. Iki šiol nebuvo žinomas šios enzimopatijos paplitimas tarp jaunų Lietuvos gyventojų, todėl tyrimo rezultatai galėtų būti svarbūs teikiant mitybos patarimus aukštųjų ir aukštesniųjų mokyklų studentams bei moksleiviams, atliekant virškinimo sutrikimų diferencinę diagnostiką jauniems žmonėms. D. Kalibatienė atliko studentų hipolaktazijos paplitimo tyrimą, naudodama laktozės toleravimo mėginį ir anketinę apklausą [166].

Studentų amžius svyravo nuo 20 iki 26 metų, tarp jų buvo 51 mergina ir 29 vaikinai. Tiriamųjų etninės grupės buvo tokios: 72 lietuviai iki antros kartos ir 8 asmenys iš mišrių šeimų: lietuvių ir rusų, lietuvių ir lenkų bei lietuvių ir žydų. Nustatytas gana didelis hipolaktazijos paplitimas tarp studentų – 33 asmenims iš 80-ies (41 %). 72 lietuvių grupėje buvo 28 asmenys, turintys laktazės nepakankamumą (39 %), 8 jaunuolių iš mišrių šeimų grupėje – 5 (63 %).

D. Kalibatienė ir S. Varvuolytė [176] pakartotinai tyrė pirminio laktazės nepakankamumo dažnį jaunų žmonių grupėje, naudodamos laktozės toleravimo mėginį ir genotipavimą. Tyrimo populiaciją sudarė asmenys, studijuojantys Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto trečiame kurse. Į tyrimą nebuvo įtraukti asmenys, sergantys cukriniu diabetu, gliukozės toleravimo sutrikimu, skydliaukės ir prieskydinių liaukų ligomis. Tyrime dalyvavo 119 studentų, iš jų 93 merginos (78 %) ir 26 vaikinai (22 %). Anketinės apklausos duomenimis, tiriamuosius sudarė šios etninės grupės: 97 lietuviai (82 %), 10 lenkų (8 %), 7 rusai (6 %), 5 priklausė kitoms etninėms grupėms (baltarusių, ukrainiečių ir totorių) (4 %).

Laktozės toleravimo mėginiu hipolaktazija nustatyta 38 tyrimo dalyviams (32 %). Gautus duomenis palyginus su D. Kalibatienės [166] atlikto 16–24 metų amžiaus asmenų tyrimo rezultatais (31 %), pasirinkus reikšmingumo lygmenį 0,01, nustatyta, kad proporcijos abiem atvejais lygios, tai yra rezultatai statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Studentų etninėse grupėse hipolaktazijos dažnis pasiskirstė taip: lietuvių grupėje – 28 %, rusų – 57 %, lenkų – 60 %. Hipolaktazijos dažnis šiose etninėse tyrimo dalyvių grupėse statistiškai patikimai skyrėsi ($\chi^2 = 6,352$; $df=2$; $p=0,042$).

Atlikus genotipavimą – dviejų vieno nukleotido pakaitų C/T ir G/A tyrimą, nustatyta, kad visoje studentų populiacijoje C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo, siejamo su pirminiu laktazės nepakankamumu, dažnis buvo 44 %, C/T₋₁₃₉₁₀ genotipo – 49 %, T/T₋₁₃₉₁₀ genotipo – 8 %. Etniniu požiūriu vienalytėje lietuvių grupėje C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo dažnis buvo 44 %, C/T₋₁₃₉₁₀ – 47 %, o T/T₋₁₃₉₁₀ – 9 %. Palyginus šiuos duomenis su laktozės toleravimo mėginio rezultatais, paaiškėjo, kad hipolaktazijos genotipo dažnis (44 %) gerokai didesnis negu fenotipo (28 %). Palyginus su ištirtų suaugusių lietuvių grupe (43 %), lietuvių studentų C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo, susijusio su hipolaktazija, dažnis buvo panašus (44 %).

Laktazės fermentinio aktyvumo pokyčiai vaikystėje

D. Kalibatienė atliko epidemiologinius vaikų hipolaktazijos tyrimus [166]. Anketavimu ir laktazės toleravimo mėginiu buvo ištirtas laktazės nepakankamumo dažnis šešių Vilniaus miesto vidurinių mokyklų pirmų–dvyliktų klasių mokinių populiacijoje. Anketoje, kurią pildė vaikai ir jų tėvai, buvo fiksuojami demografiniai požymiai (amžius, lytis) ir tautybė, kuri buvo nustatoma pagal gimimo vietą bei gimtąją kalbą ir tarmę paties tiriamojo, jo abiejų tėvų bei keturių senelių. Buvo analizuojami virškinimo sistemos sutrikimai, kitos ligos, pieno ir jo produktų vartojimas ir toleravimas. Tyrime nedalyvavo vaikai, sergantys lėtinėmis ligomis, ne anksčiau kaip prieš mėnesį sirgę bet kokios etiologijos viduriavimu, peršalimo ligomis, vartoję vaistus, ypač antibiotikus. Visiems vaikams atliktas laktazės (1 g/kg svorio) toleravimo mėginys, kurio metu buvo nustatoma galaktazės koncentracija šlapime. Kitą dieną tikrinta vaikų savijauta po mėginio.

Iš viso buvo ištirti 6–17 metų amžiaus 1252 mokiniai, iš jų 664 mergaitės ir 588 berniukai. Laktazės toleravimo mėginiu hipolaktazija nustatyta 295 mokiniams (24 %). Laktazės nepakankamumo paplitimas nepriklausė nuo vaikų lyties. Vaikų amžiaus grupėse laktazės nepakankamumo dažnis buvo skirtingas: 6–10 metų vaikų grupėje 0–20 %, 12–17 metų paauglių grupėje (26–31 %) (5 lentelė).

5 lentelė. Hipolaktazijos dažnis vaikų amžiaus grupėse

Vaikų amžius	Ištirti vaikai	Vaikai, kuriems nustatytas laktazės nepakankamumas		P
		n	%±PI* %	
6 metai	12	0	0	<0,001
7 metai	144	12	8±2	<0,001
8 metai	139	19	14±3	<0,001
9 metai	77	15	19±4	<0,05
10 metų	92	18	20±4	<0,05
11 metų	98	24	24±4	>0,05
12 metų	117	31	26±4	>0,05
13 metų	111	33	30±4	>0,05
14 metų	103	32	31±5	>0,05
15 metų	127	38	30±4	>0,05
16 metų	120	37	31±4	>0,05
17 metų	112	36	32±4	>0,05

PI* – pasikliautinis intervalas

Tyrimas parodė, kad pirminis laktazės nepakankamumas Lietuvos gyventojų populiacijoje pradeda atsirasti 6–7 metų amžiuje (0–8 %). Laktazės nepakankamumo dažnis 17 metų amžiaus grupėje (32 %) statistiškai patikimai nesiskyrė nuo šio rodiklio suaugusių Lietuvos gyventojų populiacijoje (34 %).

Laktazės nepakankamumas diagnozuotas 112 lietuvių iš 529 (21 %), 102 lenkams iš 331 (31 %) ir 37 rusams iš 221 (17 %). Lenkų vaikams hipolaktazija diagnozuota statistiškai patikimai dažniau negu lietuvių ir rusų vaikams. Pirminė hipolaktazija buvo diagnozuota 0–5 % 6–7 metų lietuvių bei rusų vaikų ir 9 % lenkų vaikų grupėse, 9–10 metų amžiuje dar daugiau išryškėja šios enzimopatijos dažnio skirtumai etninėse vaikų grupėse.

Mokslinėje literatūroje yra labai mažai publikacijų apie hipolaktazijos paplitimą vaikų populiacijose. Kai kurių autorių duomenimis, vaikų hipolaktazija yra labai paplitusi [178]. Šis faktas iš esmės keičia vyravusį požiūrį į racionalią vaikų mitybą ir dietoterapiją, todėl mokslinėje visuomenėje sukėlė daug diskusijų ir prieštaravimų. Įsigilinus į šią problemą paaiškėjo, kad kai kurie laktazės nepakankamumo paplitimo tarp vaikų tyrimai buvo atlikti metodiškai netiksliai: naudotos neadekvačios ir nestandartizuotos pieno cukraus dozės, neatsižvelgta į vaikų amžiaus grupes, tirti hospitaliniai ligoniniai, sirgę virškinimo trakto ligomis. Paaiškėjo, kad yra labai mažai studijų, kur ištirtų vaikų skaičius būtų pakankamai didelis (ne mažiau kaip 100), o jų ištyrimas būtų atliktas metodiškai gerai.

Vieną iš didžiausių ir tiksliausių tyrimų yra atlikę D. M. Paige ir bendraautoriai JAV [178]. Jie ištyrė 1–12 metų amžiaus 409 juodaodžius vaikus. Visiems buvo atliktas laktozės (2 g/kg svorio) toleravimo mėginys, nustatant vienos valandos glikeminę kreivę. Laktazės nepakankamumo dažnis ištirtų vaikų grupėse pasiskirstė taip: 1–2 metų amžiuje – 27 %; 5–6 metų – 33 %; 11–12 metų – 74 %, o pastarasis dydis buvo toks pat, kaip ir tų vaikų suaugusių giminaičių grupėje. Šie rodikliai nepriklausė nuo vaikų socialinių ekonominių gyvenimo sąlygų ir lyties.

J. D. Johnson ir bendr. [179] duomenimis, indėnų pimų vaikų populiacijoje laktazės nepakankamumas paplitęs taip: 3–4 metų amžiaus grupėje – 40 %, 4–5 metų – 71 %, 5–7 metų – 92 %; vyresnių kaip 8 metų – 100 % atvejų. K. Tadesse ir bendr. [180] Honkonge ištyrė 169 kinų vaikus, naudodami laktozės (1 g/kg svorio) toleravimo mėginį ir nustatydami vandenilio koncentraciją iškvėpiamame ore. Laktazės nepakankamumo dažnis 3–4 metų amžiaus vaikų grupėje buvo 41 %, 5–6 metų – 65 %, 7–8 metų – 80 %, 9–10 metų – 94 %, 11–12 metų – 94 % atvejų ir nesiskyrė nuo šio rodiklio vidurkio Honkongo suaugusių kinų grupėje. C. E. Woteki ir bendr. [181] duomenimis, sveikų vaikų pirminio laktazės nepakankamumo pradžia įvairiose etninėse populiacijose yra įvairi. Maždaug 20 % iki 5 metų amžiaus ispanų, juodaodžių ir azijiečių vaikų yra nustatomas laktazės aktyvumo sumažėjimas ir laktozės malabsorbcija.

Baltaodžiams 4–5 metų amžiaus vaikams laktozės netoleravimo požymių nebūna. Naujausi genetiniai laktazės aktyvumo polimorfizmo tyrimai parodė, kad Tailando 1–2 metų amžiaus vaikų grupėje pasitaikė laktazės aktyvumo sumažėjimo atvejų, o suomių vaikams šio fermento aktyvumas pradeda mažėti 10–20 gyvenimo metais [182]. Pagal G. Flatz ir bendr. [183] tyrimų rezultatus, tarp 8–10 metų amžiaus 124 vokiečių vaikų hipolaktazija paplitusi 14,5 % atvejų, ir šis rodiklis statistiškai patikimai nesiskiria nuo enzimopatijos dažnio vidurkio tarp suaugusių vokiečių. Estijoje 7–14 metų amžiaus vaikams hipolaktazija diagnozuota 12 % atvejų. N. Kretchmer [143] duomenimis, daugelyje pasaulio etninių grupių pirminis laktazės nepakankamumas atsiranda 3–5 metų amžiuje.

T. V. Afanasyeva ir bendr. [184] ištyrė laktazės nepakankamumo dažnį Šiaurės Sibiro regione gyvenančių vaikų populiacijoje. Tiriamieji priklausė mongoloidų etninėms grupėms: tai evenkai, beveik nevartojęs pieno ir jo produktų, ir tuviai, kurių protėviai kilę iš Pietų Sibiro regionų, kur pienininkystės kultūra buvo išvystyta. Enzimopatija diagnozuota taikant laktozės toleravimo mėginį ir kokybinį galaktozės tyrimą šlapime, panaudojus mėginio juosteles „Kabi Diagnostika“ (Švedija). Tiriamųjų grupę sudarė 7–14 metų amžiaus 529 evenkų vaikai ir 582 tuvių vaikai. Laktazės nepakankamumas nustatytas 69,0 % evenkų vaikų (CI 64,2–73,4) ir 65,19 % tuvių vaikų (CI 60,8–69,4). Taigi, hipolaktazija yra šiek tiek dažnesnė evenkų vaikų populiacijoje negu tuvių. Tyrimo rezultatai įrodo, kad pirminis laktazės nepakankamumas vaikams yra genetiškai nulemtas, tačiau jo paplitimui turi įtakos ir gyventojų kultūriniai ypatumai (pieno produktų vartojimas maistui).

Literatūroje yra labai mažai nuodugnių didelio skaičiaus vaikų tyrimų pamečiui. Bendri duomenys apie laktazės nepakankamumo paplitimą, neatsižvelgiant į vaikų amžių, negali suteikti informacijos apie pirminės hipolaktazijos vystymosi pradžią kiekvienoje etninėje populiacijoje. Turint galvoje, kad pasibaigus laktacijos periodui pirminė hipolaktazija vystosi palaipsniui, vaikus reikėtų tirti suskirsčius į smulkias amžiaus grupes, o ne apskritai.

Vaikams laktazės nepakankamumas būna pirminis arba antrinis. Pirminis gali būti įgimtas, kitaip dar vadinamas laktazės stoka arba naujagimių alaktazija. Tai labai reta plonosios žarnos enzimopatija, genetiškai determinuota, paveldima autosominiu recesyviniu būdu. Prieš belaktozio pieno gamybos pradžią ši liga dažnai baigdavosi mirtimi. Naujagimių alaktazija dažnesnė Suomijoje [67].

Pasitaiko pirminio laktazės nepakankamumo tranzitinė (angl. *transient*) arba raidos (angl. *developmental*) formos. Šios enzimopatijos formos būna neišnešiotiems kūdikiams, gimusiems iki 36 savaičių amžiaus. Šiuo laikotarpiu vaisiaus laktazės aktyvumas sudaro tik 30 % naujagimių laktazės aktyvumo. Naujagimiui augant, fermento aktyvumas didėja ir dažniausiai normalizuojasi [185].

Vėlyvasis (angl. *late-onset*) laktazės nepakankamumas, arba pirminė suaugusiųjų hipolaktazija (angl. *adult-type*), – tai vaikams po normalaus laktacijos periodo beprasidedantis genetiškai nulemtas tolygus laktazės aktyvumo mažėjimas iki maždaug 10 % naujagimių laktazės aktyvumo arba kartais iki visiško išnykimo 17–18 metų amžiuje. Vieniems laktazės aktyvumas pradeda mažėti 2–3 metų amžiuje, kitiems paauglystėje. Enzimopatijos pradžia priklauso nuo gyventojų etniškumo ir kultūrinių-istorinių veiksnių, turinčių atrankinį poveikį [58, 67].

Antrinis laktazės nepakankamumas atsiranda pažeidus plonosios žarnos gleivinę. Tuomet sumažėja arba visai išnyksta ne tik laktazės, bet ir kitų plonosios žarnos fermentų aktyvumas, pakinta gleivinės morfologija. Tokius sutrikimus gali sukelti infekcinis gastroenteritas, parazitinė plonosios žarnos infekcija, celiakija, radiacinis ir medikamentinis enteritas, Krono liga. Pasveikus morfologiniai gleivinės pakitimai ir fermentų aktyvumas paprastai atsitauso. Antrinis laktazės nepakankamumas gali būti ūminis ir lėtinis, priklausomai nuo jį sukėlusios ligos eigos [186].

D. H. Paige [187] teigia, kad vaikams dažniau būna antrinis nei pirminis laktazės aktyvumas, nes jie daug dažniau nei suaugusieji serga žarnyno ligomis, susijusiomis su trumpalaikiu žarnyno gleivinės pažeidimu, kartu ir su fermentų aktyvumo sumažėjimu. Vaikams būtina labai aiškiai skirti pirminį laktazės nepakankamumą nuo antrinio, kruopščiai surenkant anamnezę, o prireikus – ir kompleksiskai ištiriant. Atliekant laktozės toleravimo mėginį būtina skirti adekvačias pieno cukraus dozes pagal vaikų svorį, o ne visiems vienodai. Reikia prisiminti, kad vaikams daug dažniau negu suaugusiems asmenims pieno netoleravimas būna dėl alergijos pieno baltymams, o ne dėl nesugebėjimo absorbuoti pieno cukraus.

Laktazės fermentinio aktyvumo pokyčiai senstant

Biologinis senėjimo procesas lemia visų organų sistemų, tarp jų ir virškinimo, struktūrinius ir funkcinis pakitimus. Lėtėja biologinės oksidacijos reakcijos, mažėja ląstelių energiniai išteklių, atsiranda neurohumoralinių pakitimų. Senėjimas santykinai nedaug paveikia virškinimo traktą, nes šis turi didelį funkcinį rezervą. Senstant silpnėja skonio pojūtis ir mažėja seilių gamyba, silpnėja skrandžio evakuacinė funkcija ir mažėja skrandžio gleivinės atsparumas, todėl didėja jos pažeidimo rizika vartojant vaistus, ypač nesteroidinius nuo uždegimo [188, 189].

Senėjimo procesas palyginti nedaug paveikia plonąją žarną – šiek tiek pasikeičia enterocitų gaurelių struktūra ir mezenterinio rezginių neuronų sudėtis, tačiau dar nėra įrodyta, kad šie pokyčiai yra kliniškai reikšmingi. Senstant labiausiai pakinta žarnos motorika, sulėtėja turinio tranzitas, sumažėja enterocitų pralaidumo ir absorbcijos

funkcija. Net ir esant pakankamam D vitamino kiekiui, mažėja kalcio pasisavinimas dėl plonosios žarnos rezistencijos D vitamino poveikiui, todėl vyresnio amžiaus žmonėms didėja maistinio kalcio poreikis. Kalcio malabsorbicija tampa pagrindiniu veiksniumi, susijusiu su kaulų masės mažėjimu senstant tiek moterims, tiek ir vyrams [188].

Senstant suplonėja žarnyno gleivinė, kai kuriose plonojo žarnyno dalyse kartais gleivinė gali visiškai išnykti. Dėl to sumažėja funkcionuojančių sekrecinių liaukų, žarnyno fermentų gamyba, kinta plonojo žarnyno membraninių fermentų aktyvumas. Blogėja absorbcinė žarnyno funkcija – blogiau pasisavinami baltymai, angliavandeniai, lipidai. Senstant kinta žarnyno mikroflora: mažėja rūgimo, daugėja puvimo bakterijų. Kai žarnyne ima vyrauti puvimo procesas, daugėja endotoksinų ir dar labiau sutrikdoma žarnyno funkcinė būklė. Dėl aterosklerozinių pakitimų senatvėje gali mažėti mezenterinė kraujotaka ir pasireikšti ūminė arba dažniausiai lėtinė žarnyno išemija, kuri taip pat nulemia struktūrinius ir funkcinius žarnyno pakitimus [190, 188].

Laktazės fermentinio aktyvumo mažėjimas vyresniame amžiuje yra vienas iš plataus kompleksinio žarnyno senėjimo spektro komponentų. Pastebėta, kad vyresniame amžiuje enterocitų apoptozė gyvūnams ir žmonėms yra susijusi su nediferencijuotų epitelocitų pagausėjimu, o tai lemia funkcinių žarnyno nevisavertiškumą ir lėtesnį fermento susidarymą [191, 192]. Palyginti nedaug paskelbta mokslinių tyrimų apie laktazės netoleravimą pagyvenusiems asmenims, be to, jų rezultatai prieštaringi. Vieni autoriai teigia, kad pagyvenusiems ir seniems žmonėms hipolaktazijos dažnis nekinta [193, 194], kiti [195, 196] yra nustatę, kad vyresniame amžiuje laktazės netoleravimas ir laktazės malabsorbicija dažnėja.

Naujojoje Zelandijoje ištyrus 80 sveikų moterų pastebėta, kad 40–59 metų amžiaus grupėje laktazės malabsorbavimo dažnis padidėjo 15 %, o 60–79 metų amžiaus grupėje – 50 % [197]. Panašūs rezultatai šioje šalyje buvo gauti ir ankstesnių tyrimų metu [198]. Tuo remdamiesi mokslininkai teigia, kad gebėjimas skaidyti laktozę aiškiai sumažėja septintajame gyvenimo dešimtmetyje. M. Di Stefano su kolegomis [193] pastebėjo laktazės malabsorbicijos dažnio didėjimo tendenciją, tirdami normalios mitybos suaugusiuosius nuo 23 iki 94 metų. Ryškus laktazės malabsorbicijos padidėjimas nustatytas vyresnių nei 74 metų asmenų grupėje. Panašūs rezultatai ir tyrimo, vertinusio amžiaus, rasės ir lyties tarpusavio sąveikos įtaką laktozės virškinimui. Čia pastebėtas aiškus laktazės malabsorbicijos dažnio padidėjimas vyresnių kaip 50 metų asmenų grupėje. Juodaodžių rasės atstovų amžinis skirtumas buvo dar didesnis.

D. R. Rao ir bendr. [194] ištyrė 89 suaugusiųjų nuo 20 iki 89 metų amžiaus (52 juodaodžių, 46 baltaodžių), iš jų 48 vyrų ir 50 moterų, laktozės toleravimą. Vyresnio amžiaus (>50 metų) tiriamųjų grupėje nustatytas gerokai didesnis laktazės malabsorbicijos

dažnis (46 %) nei jaunesnių suaugusiųjų (26 %). Jaunesnių suaugusiųjų grupėje laktozės malabsorbuotųjų buvo 2,4 karto daugiau tarp juodaodžių nei baltaodžių, o vyresniųjų grupėse šis santykis jau buvo 3,6. Skirtumai tarp amžinių ir etninių grupių buvo itin reikšmingi. Tyrimo rezultatai taip pat parodė, kad laktozės malabsorbcijos dažnis gerokai didesnis juodaodžių grupėje.

Tačiau yra ir kitokių duomenų. Pavyzdžiui, atliekant laktazės nepakankamumo paplitimo tyrimą kaimiškoje suomių populiacijoje, nenustatyta patikimo šios enzimopatijos dažnių skirtumo vyresnių ir jaunesnių suaugusiųjų grupėse [199]. F. L. Suarez ir D. A. Savaiano neaptiko hipolaktazijos dažnių skirtumo dviejose amžinėse grupėse: vyresnių kaip 65 metų ir 20–40 metų [200]. Laktozės malabsorbcijos skirtumai nenustatyti ir Šiaurės Indijos gyventojams, atliekant iškvepiamojo oro vandenilio dujų koncentracijos matavimo mėginį [201]. Duomenys apie laktozės malabsorbcijos klinikinių simptomų amžinius kiekybinės ir kokybinės raiškos pokyčius yra priešaringi. M. Di Stefano ir kolegos pastebėjo aiškia laktozės malabsorbcijos sukeliamų simptomų ir jų intensyvumo mažėjimo tendenciją seniems žmonėms [193]. Suomių atliktame tyrime teigiama, kad simptominių laktozės malabsorbuotųjų amžiaus vidurkis buvo didesnis nei 46 metai, o besimptominių laktozės malabsorbuotųjų – 31 metai [199].

Amžinių laktazės fermentinio aktyvumo pokyčių įtakos organizmo metabolizmui tyrimų atlikta nedaug. Tiriant Pietų Italijos regiono moteris pomenopauziniu laikotarpiu pastebėti reikšmingi kai kurių biocheminių rodmenų skirtumai tyrimo dalyvių grupėse, sudarytose pagal laktazės fermentinį aktyvumą. Asmenų, turinčių hipolaktaziją, grupėje nustatytos statistiškai reikšmingai mažesnės gliukozės, trigliceridų ir insulino koncentracijos kraujo serume, o didelio tankio lipoproteinų, priešingai – didesnės [202].

Laktozės netoleravimo problema svarbi geriatrijoje. Vyresnio amžiaus žmonėms mažėja kalcio absorbcavimas žarnyne, todėl daugiau jo reikia gauti su maistu. Pienas ir jo produktai yra pagrindiniai kalcio šaltiniai žmogaus organizmui, o sutrikus jų virškinimui ir atskirų maistinių medžiagų pasisavinimui, galimi kaulų mineralų tankio pakitimai bei kaulų lūžių rizika. B. M. Obermayer-Pietsch ir bendr. [203] tyrimai parodė, kad laktozės malabsorbcavimas vyresniame amžiuje yra susijęs su kalcio pasisavinimo ir kaulų mineralų tankio sumažėjimu bei osteoporoziniais kaulų lūžiais.

N. G. Enattah ir bendr. [204], ištyrę 483 senus žmones (vyresnius kaip 85 metai), nustatė, kad šlaunikaulio bei riešo kaulų lūžiai buvo gerokai dažnesni asmenims, turintiems hipolaktaziją. M. S. Buchowski ir bendr. [205] tyrė premenopauzinio laikotarpio juodaodžių moterų laktozės maldigestijos ir laktozės netoleravimo sąsajas su kalcio suvartojimu. Vidutinis kalcio suvartojimas buvo daug mažesnis moterims, kurios netoleruoja laktozės. Laktozę toleruojančioms moterims pagrindinis kalcio šaltinis buvo pienas ir jo produktai (45 %), o laktozės netoleruojančioms moterims – įvairūs kiti

produktai (46 %). Netoleruojančių laktozės moterų kūno masės indeksas buvo didesnis, o kalcio suvartojimas turėjo neigiamą ryšį su kūno masės indeksu.

M. Wheadon ir bendr. [206], ištyrę Naujosios Zelandijos moteris, nustatė, kad pagyvenusiame amžiuje laktozės netoleravimas yra vienas iš II tipo osteoporozės atsiradimo rizikos veiksnių. Antra vertus, M. Griessen ir bendr. [43], G. M. Halpern ir bendr. [207], F. H. Wirth ir bendr. [44] mano, kad kalcio pasisavinimas nepriklauso nuo laktazės aktyvumo. Taigi, kol kas ši problema lieka kontroversiška ir nepakankamai ištirta.

D. Kalibatienė ir S. Varvuolytė [208] ištyrė plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumą pagyvenusiems ir vidutinio amžiaus asmenims ir palygino hipolaktazijos dažnį dviejose tiriamųjų grupėse, taip pat su D. Kalibatienės anksčiau atlikto epidemiologinio hipolaktazijos tyrimo rezultatais [166, 175]. Tyrimas atliktas Vilniaus Baltupių šeimos medicinos centre ir Vilniaus centro poliklinikos Naujamiesčio filiale. Įtraukimo į tyrimą kriterijai: sutikimas dalyvauti tyrime ir amžius (40 metų ir vyresni). Atmetimo kriterijai: cukrinis diabetas ir kitos angliavandenių apykaitos sutrikimo ligos, suvokimo ir orientacijos sutrikimai, organinės virškinimo sistemos ligos.

Iš viso ištirta 140 asmenų, sergančių lengva ar vidutine arterinės hipertenzijos forma ir neturinčių kitų žymesnių sveikatos sutrikimų, kurie galėtų paveikti ar trikdyti laktozės toleravimo mėginio atlikimą arba jo interpretavimą. Ištirtų asmenų amžius svyravo nuo 40 iki 79 metų, amžiaus vidurkis – $56,38 \pm 8,69$, 98 moterys (70 %) ir 42 vyrai (30 %). Tiriamieji suskirstyti į dvi grupes – 91 asmuo priskirtas vidutinio amžiaus (40–59 metai) ir 49 asmenys pagyvenusio amžiaus (60–79 metai) grupėms. Vidutinio amžiaus grupėje buvo 64 moterys (70,3 %) ir 27 vyrai (29,7 %), pagyvenusių žmonių grupėje – 34 moterys (69,4 %) ir 15 vyrų (30,6 %).

Palyginimui epidemiologinio hipolaktazijos tyrimo grupę sudarė D. Kalibatienės [166] ištirti lietuvių populiacijos vyresnio amžiaus asmenys. Šią grupę sudarė 674 tiriamieji, iš jų 491 asmuo (72,8 %) priskirtas vidutinio amžiaus grupei (40–59 metai) ir 183 (27,2 %) – senyvo amžiaus grupei (60–79 metai).

Atlikta visų tiriamųjų anketinė apklausa ir klinikinis ištyrimas. Viena grupė klausimų skirta pieno ir jo produktų toleravimo, virškinimo sutrikimams, ypač po valgio, nustatyti, kitoms ligoms, galinčioms paveikti virškinimo procesus, taip pat šeimos mišrios dietos įpročiams išsiaiškinti. Kita dalis klausimų buvo skirta etninei priklausomybei nustatyti, išsiaiškinant gimimo vietą (šalis, rajonas, apylinkė, kaimas) bei gimtąją kalbą ir tarmę paties tiriamojo bei jo tėvų ir keturių senelių. Anketoje pateiktas atsiradusių laktozės netoleravimo simptomų registravimo klausimynas. Plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumui įvertinti taikytas laktozės toleravimo mėginys.

Tyrimo rezultatai parodė, kad iš 140 ištirtųjų 68 asmenys save priskyrė lietuvių (48,6 %), 33 – rusų (23,6 %), 24 – lenkų (17,1 %) ir 15 – kitoms (10,7 %) etninėms grupėms. D. Kalibatienės populiacinio tyrimo grupėje (674 asmenys) buvo 436 lietuviai (64,7 %), 20 rusų (3 %), 102 lenkai (15,1 %) ir 116 kitų arba mišrių tautybių asmenų (17,2 %). Kitų tautybių grupei priklausė baltarusiai, ukrainiečiai, žydai.

Laktazės toleravimo mėginu nustatyta, kad iš 140 ištirtųjų 88 asmenims (62,9 %) plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumas buvo nesumažėjęs, o 52 asmenims (37,1 %) diagnozuota hipolaktazija. Populiacinio tyrimo grupėje iš 674 ištirtųjų 436 asmenims laktazės aktyvumas nebuvo sumažėjęs (64,7 %), o 238 asmenims nustatyta hipolaktazija (35,3 %). Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp hipolaktazijos dažnių ligonių ir populiacinio tyrimo grupėse nebuvo. Populiacinio tyrimo grupėje vyresniame amžiuje hipolaktazijos dažnis nedidėjo. 60–79 metų ligonių grupėje jis buvo didesnis (51,0 %), palyginti su 40–59 metų amžiaus grupe (29,7 %), tačiau atlikus statistinius paskaičiavimus nustatyta, kad amžius ir hipolaktazijos dažnis yra nepriklausomi požymiai.

Išanalizavus hipolaktazijos dažnį atskirose etninėse grupėse, pastebėta, kad vyresnio amžiaus ligonių grupėje hipolaktazijos dažnis buvo įvairus, mažiausias rusų grupėje, tačiau statistiškai patikimo skirtumo nekonstatuota, matyt, dėl nedidelio tiriamųjų skaičiaus pogrupiuose. Populiacinio tyrimo grupėje hipolaktazija buvo diagnozuojama statistiškai reikšmingai dažniau lenkų grupėje ir rečiau rusų grupėje. Lyginant hipolaktazijos dažnį ligonių ir populiacinio tyrimo grupėse, nustatyta, kad lenkų ir mišrios tautybės asmenims laktazės nepakankamumas pasireiškė vienodai dažnai. Nebuvo statistiškai reikšmingo hipolaktazijos dažnio skirtumo lietuvių grupėse, ir tik rusų grupėje daug dažniau hipolaktazija pasireiškė ligoniams.

Vyresnio amžiaus lietuvių ligonių grupėje hipolaktazija diagnozuota gerokai dažniau (48,6 %), lyginant tiek su tos grupės vidutinio amžiaus žmonėmis (35,0 %), tiek su to paties amžiaus populiacinio tyrimo lietuvių grupe (34,4 %). Populiacinio tyrimo grupėje hipolaktazijos dažnis buvo panašus vidutinio ir vyresnio amžiaus žmonėms (statistiškai reikšmingo skirtumo negauta). Dėl mažo tiriamųjų skaičiaus kitų etninių grupių šiuo požiūriu nenagrinėjome.

Taigi, D. Kalibatienės ir S. Varvuolytės tyrimų duomenimis [208], tiek ligonių, tiek populiacinio tyrimo grupėse hipolaktazijos dažnis nepriklausė nuo amžiaus, o laktazės nepakankamumo dažnio didėjimo tendencija asmenims, vyresniems kaip 60 metų, buvo statistiškai nereikšminga.

APIBENDRINIMAS. Monografijoje pateikti autorės vienos ir kartu su doktorante atliktų originalių laktazės nepakankamumo paplitimo lietuvių populiacijoje, patogenezės ir klinikinės raiškos tyrimų rezultatai. Autorė atliko epidemiologinius ir klinikiškus laktazės nepakankamumo tyrimus suaugusių Lietuvos gyventojų populiacijoje. Nustatė, kad šios intestininės enzimopatijos dažnis visoje populiacijoje yra 34 % ir jis didesnis vakarinėje Lietuvos dalyje. Laktazės nepakankamumo paplitimo tarp šalies gyventojų duomenys papildė šios enzimopatijos paplitimo regione žemėlapi. Autorė atliko epidemiologinius vaikų hipolaktazijos tyrimus, kurie atskleidė, kad pirminis laktazės nepakankamumas lietuvių populiacijoje pradeda atsirasti 6–7 metų amžiuje (0–8 %), o jo dažnis 17 metų amžiaus grupėje (32 %) statistiškai patikimai nesiskiria nuo šio rodiklio suaugusių Lietuvos gyventojų populiacijoje (34 %). Ši enzimopatija pradeda atsirasti Lietuvos vaikams kiek vėliau negu kituose pasaulio regionuose, o suaugusiųjų laktazės aktyvumo dydis susiformuoja paauglystėje, o daugelyje kitų tautų tai atsitinka ikimokykliniame ir jaunesniame mokykliniame amžiuje.

Hipolaktazijos fenotipo paplitimas Lietuvos suaugusių gyventojų populiacijoje statistiškai reikšmingai priklauso nuo tautybės: lietuvių grupėje – 32 %, lenkų – 42 %, rusų – 21 %, baltarusių – 22 %. Hipolaktazijos dažnis lietuvių subpopuliacijų grupėse taip pat yra skirtingas: žemaičių grupėje – 40 %, pietų aukštaičių – 24 %, rytų aukštaičių – 31 %, vakarų aukštaičių – 34 %. Ryškėja laktazės nepakankamumo paplitimo didėjimo tendencija iš pietrytinės Lietuvos dalies link vakarinės. Hipolaktazijos dažnis Lietuvos gyventojų populiacijoje pasirodė netikėtai didelis, lyginant su literatūros duomenimis apie hipolaktazijos paplitimą Europoje. Šios srities mokslininkai teigia, kad hipolaktazijos paplitimas yra mažiausias (iki 10 %) teritorijoje prie Baltijos ir Šiaurės jūros [6, 60].

Gana didelį hipolaktazijos dažnį lietuvių populiacijoje negalima paaiškinti vien maitinimosi ar ekologiniais ypatumais (indukcijos teorija), nes daugelis šalies gyventojų (lietuvių, lenkų, rusų, baltarusių) turi labai panašias ir senas mitybos tradicijas bei gyvena toje pačioje ekologinėje kultūrinėje aplinkoje. Vertinant hipolaktazijos paplitimą kaimyninėse šalyse, žinoma, kad Lenkijoje jis yra 37,5 % [209], Rusijos Federacijoje apie 35,6 % [174]. Galima teigti, kad jis panašus kaip ir Lietuvoje (~34 %).

Remiantis literatūros duomenis, nemažas hipolaktazijos paplitimas yra ir kai kuriose kitose Vidurio Europos šalyse. Vokietijoje laktazės nepakankamumo dažnis svyruoja nuo 6–9 % šiaurės vakaruose iki 22–23 % rytuose ir pietuose, Austrijoje nuo 15 % vakaruose iki 25 % rytuose, Vengrijoje nuo 28 % vakaruose iki 41,7 % šiaurės rytuose. Tik Lenkijoje šio rodiklio vidurkis 37,5 % ir nerasta jo ženkesnių teritorinių svyravimų [154, 117]. Taigi, hipolaktazijos paplitimo lietuvių populiacijoje duomenys nesiskiria nuo šio rodiklio Vidurio Europos šalyse, o kaip tik papildė enzimopatijos paplitimo regione žemėlapi.

2.9. Netolygaus laktazės persistavimo / nepersistavimo genotipų paplitimo teorijos

XX a. antroje pusėje daugelyje pasaulio šalių atlikti populiaciniai tyrimai atskleidė laktazės aktyvumo polimorfizmą – Šiaurės Vakarų Europos ir Šiaurės Amerikos šalyse vyrauja didelio laktazės aktyvumo fenotipas, o daugelyje Afrikos, Azijos šalių – sumažėjusio laktazės aktyvumo (pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos) fenotipas [6, 60].

Dvi teorijos pasiūlytos laktazės persistavimo / nepersistavimo skirtingam paplitimui paaiškinti: kultūrinė-istorinė ir priežastinė [99, 210].

Kultūrinė-istorinė teorija

Keletas pasaulyje žinomų hipolaktazijos tyrimų specialistų: F. Simoons, R. McCracken, T. Sahi, H. Arola, E. Gudmand-Hoyer ir kai kurie kiti, yra paskelbę publikacijų, kuriose iškeliama kultūrinė-istorinė hipotezė, aiškinanti pirminio laktazės nepakankamumo paplitimo pasaulio gyventojų populiacijose skirtumus. F. Simoons [211] pirmasis atkreipė dėmesį į tai, kad hipolaktazijos paplitimo skirtumai yra tokie dideli, kad jų negalima paaiškinti vien tik atsitiktinėmis genų mutacijomis. Jis pastebėjo, kad šie skirtumai susiję su žmonių kultūrinės istorijos raida, ir iškėlė paaiškinančią šį reiškinį hipotezę, kuri pirmą kartą pasirodė spaudoje 1970 metais. Vėliau ji buvo pavadinta F. Simoons kultūrinė-istorinė pirminės hipolaktazijos paplitimo teorija, kurią dabar pripažįsta daugelis šios srities specialistų. F. Simoons teorijoje išskiriami trys pagrindiniai teiginiai: pirminis laktazės nepakankamumas (hipolaktazija) yra genetiškai nulemtas; visiems suaugusiems placentiniams žinduoliams, tarp jų ir žmogui, laktazės nepakankamumas yra normali būklė; istorinė žmonių diferenciacija į laktazės absorbuotojus ir malabsorbuotojus yra susijusi su pieninės gyvulininkystės atsiradimu ir raida.

F. Simoons [212] pirmasis savo teorijoje aiškino, kad išlikęs laktazės aktyvumas suaugusiems žmonėms yra genetiškai nulemtas. Šią prielaidą pagrindė šeimų, dvynių ir epidemiologiniais tyrimais etninėse gyventojų populiacijose.

Kultūrinė-istorinė teorija [121, 210] teigia, kad laktazės aktyvumo persistavimas (LP) išsivystė ir išliko po to, kai paplito pieno gamyba ir pieno produktų vartojimas. Mokslininkai siūlo kelis paaiškinimus, kaip ir kodėl laktazės persistavimas galėjo išlikti. Viena priežastis galėjo būti ta, kad pienas yra geras kalorijų šaltinis, taip pat ypač svarbus baltymų ir riebalų šaltinis. Paskaičiuota, kad priešistorinių karvių pieno gamyba svyravo tarp 400 ir 600 kg per melžiamą jų amžių. Netgi jei jaunikliai žindė karves, likdavo apie 150–250 kg [213]. Tai beveik tiek pat kalorijų kaip ir visos karvės mėsoje. Metams bėgant, pienas davė daugiau energijos bei maisto medžiagų nei galvijų mėsa. Tikėtina, kad nauda, kurią laktazės persistavimas davė ankstyvoms pienininkystės

populiacijoms, buvo ne tik padidėjęs maisto tiekimas ar ekonomiškėnis gyvulių panaudojimas. Kai kurie specifiniai pienininkystės pranašumai galėjo skirtis pagal laiką ir vietą. Stiprus selekcijos spaudimas laktazės persistavimui galėjo būti epizodinis ir atsirasti tik esant tam tikroms ekstremalioms aplinkybėms, tokioms kaip sausra, epidemija ar badas. Pavyzdžiui, pienas galėjo būti alternatyvus maisto šaltinis tarp pasėlių kultivavimo laikotarpių. Kai grūdinis maistas buvo neprieinamas, pavyzdžiui, tarp derliaus sezonų, ar kai pasėliai neišdygdavo, didelį laktazės aktyvumą turintys individai buvo pranašesni. Tai buvo ypač svarbu vaikams, nes pradėdant trejų metų amžiumi jų laktazės produkcija paprastai sumažėdavo, o mirtingumas, osteologinio priešistorinių griaučių tyrimo duomenimis, buvo padidėjęs [214].

Kultūrinė-istorinė hipotezė remiasi šių dienų archeologinių tyrimų duomenimis. Organinės liekanos, išlikusios ant archeologinių molinių indų, byloja, kad pienas buvo vartojamas jau prieš 8500 metų vakarinėje Turkijos dalyje [215], regione, kur laktazės persistavimo dažnis šiandien yra mažas. Šis faktas perša mintį, kad naminiai gyvūnai buvo melžiami prieš paplįtant laktazės persistavimui.

G. C. Cook ir M. T. Al-Torki [216] išklė sauso klimato hipotezė: regionuose, kuriuose buvo mažai vandens, pastoralinės gyventojų grupės galėjo vartoti pieną kaip skystį be patogenų. Jei gerdami pieną laktazės persistavimo neturintys individai būtų rizikavę dehidratuoti nuo viduriavimo, atranka tarp LP individų būtų didžiulė. Deja, ši sauso klimato hipotezė mažiau tinka Europai, kur laktazės persistavimo dažnis yra didžiausias.

Ištyrę Europoje koreliacijas tarp geografinės platumos ir LP dažnio, G. Flatz ir H. W. Rothauwe [217] išklė kalcio asimiliavimo hipotezė. Kalcis yra būtinas kaulų sveikatai, o jo pasisavinimas žarnyne priklauso nuo D vitamino. Dauguma žmonių visame pasaulyje didžiąją dalį D vitamino pagamina fotochemiškai odoje, veikiant ultravioletiniams spinduliams. Tačiau ultravioletinių spindulių poveikis nėra pakankamas veiksnys reikiamo D vitamino kiekio gamybai žmonėms, negaunantiems jo iš kitų šaltinių. Priešneolitinėje Europoje prie jūros gyvenusiems žmonėms, kurių maisto racione vyravo jūros produktai, turintys daug D vitamino, tai nebuvo problema, tačiau tai galėjo būti ankstyvųjų žemdirbių rūpestis. Gausus grūdinių produktų, kuriuose yra daug skaidulų, vartojimas gali sukelti 25-hidroksivitamino D₃ kiekio sumažėjimą kraujyje [218]. Taigi, manoma, kad tokie veiksniai kaip laktazės persistavimas ir pieno vartojimas buvo pranašumas ankstyvųjų žemdirbių populiacijose, gyvenusiose apie Baltijos jūrą, kur klimato sąlygos yra tinkamos grūdų auginimui ir žemės produktų vartojimui.

G. Bloom ir P. W. Sherman [219] išklė ekologinę pienininkystės barjero hipotezė, taip papildydami kultūrinę-istorinę teoriją. Jie teigė, kad pienininkystei, taip pat ir

laktazės persistavimo evoliucijai, buvo reikalinga aplinka, kurioje būtų galima auginti pieno duodančius kanopinius gyvulius.

Kiti mokslininkai teigia, kad laktazės persistavimo paplitimas gali būti susijęs su maliarija. Jų nuomone, laktazės persistavimas yra iš protėvių paveldėtas fenotipas, o laktazės nepakankamumo genotipas turėtų būtų paplitęs regionuose, kur buvo dažna maliarija. Tačiau ši hipotezė nebuvo patvirtinta LP ir LN genotipų tyrimais gliukozės 6-fosfato dehidrogenazės stokojančių subjektų iš Sardinijos grupėje [220].

Atkreipiant dėmesį į glaudų pienininkystės ir laktazės persistavimo ryšį, buvo iškelta dar viena hipotezė, kad pieno vartojimas hierarchinėse bendruomenėse buvo privilegija, prieinama tik kai kuriems individams, ir kad pienas ir jo produktai buvo pripažįstami kaip prestižinės klasės mitybos atributai [210]. Anot F. Simoons hipotezės [221], iš pradžių pirmykščiai žmonės pieno produktų nevartojo, vertėsi tik medžiokle ir augalų rinkimu. Manoma, kad pirmieji melžiami gyvuliai (avys) buvo prijaukinti maždaug 9000 metų prieš mūsų erą. Iš pradžių jie buvo tik skerdziami, maistui vartota jų mėsa. Pirmosios žinios apie pieno ir jo produktų vartojimą maistui Šiaurės Afrikoje ir Pietvakarių Azijoje siekia tik 4000–5000 metus prieš mūsų erą.

Vėliau pieninė gyvulininkystė plito po Euraziją ir Afrikos teritoriją, išsidėsčiusią piečiau Sacharos dykumos. Toli gražu ne visos tautos įsisavino pieno ir jo produktų gamybą. Net Didžiosios europiečių užjūrio ekspansijos metu (apie 1500-uosius mūsų eros metus) pasaulyje dar buvo gana dideli regionai, kurių gyventojai nevartojo pieno ir jo produktų maistui, nors ir augino naminius melžiamus gyvulius. Afrikoje – Kongo baseinas, užimantis maždaug vieną trečdalį žemyno; Azijoje – Birma, Tailandas, Malaizija, Vietnamas, Kinija, Korėja, Ramiojo vandenyno salos, taip pat visas Amerikos žemynas, prieš jį užkariaujant europiečiams. Tais laikais minėtų teritorijų gyventojai pieną vartojo tik žindymo laikotarpiu [222].

Priežastinė teorija

R. D. McCracken [223] teigia, kad tik tos populiacijos, kuriose laktazės persistavimas buvo paplitęs, galėjo vystyti pienininkystę ir pradėti vartoti maistui pieno produktus. Kitais žodžiais tariant, pagal šią teoriją žmonių grupės skirstomos prieš pienininkystės atsiradimą, atsižvelgiant į laktazės persistavimo dažnį, susijusį su genetiniu paveldėjimu, o ne su pieno vartojimo procesu. Pieno vartojimas nebūtinai turėjo sutapti su selektyviuoju pranašumu.

Anot R. McCracken [54], paleolito eroje gyvenusiems suaugusiems žmonėms, kaip ir kitiems placentiniams žinduoliams, laktazės aktyvumas išnykdavo arba labai sumažėdavo. Jie medžiojo, rinko augalus, bet gyvulininkystę verstinis dar nemokėjo,

pieno produktų negamino ir nevalgė. Atsiradus pieninei gyvulininkystei, susidarė tokia situacija, kad tie individai, kurių laktazės aktyvumas dėl atsitiktinių genų mutacijų išliko didelis visą gyvenimą, selekcijos požiūriu tapo pranašesni už kitus. Jie buvo aukštesni, stambesni, stipresni, sveikesni, galbūt turėjo daugiau vaikų, geriau galėjo rūpintis savo palikuonimis. Šis pranašumas buvo ypač svarbus gyvenant itin sunkiomis sąlygomis (badas, sausra, ligų epidemijos). Susiklosčius ypatingoms gyvenimo aplinkybėms, pagal klasikinius Mendelio dėsnius susiformavęs didelio laktazės aktyvumo genotipas pradėjo vyrauti tam tikrose gyventojų grupėse. Labai svarbus buvo ir kai kurių tautų sugebėjimas gaminti raugintus ir kitaip fermentuotus pieno produktus: sūrius, varškę, sviestą ir kitus, kuriuose laktozės buvo daug mažiau ir juos be didesnių padarinių galėjo valgyti žmonės, kuriems buvo sumažėjęs laktazės aktyvumas.

Antropologai, kultūrinės istorijos specialistai yra iškėlę daug hipotezių, aiškinančių, kodėl daugelis Afrikos, Azijos, Amerikos tautų neįsisavino pieninės gyvulininkystės, nors ir buvo prisijaukinusios melžiamų gyvulių. Dalis autorių pabrėžė ekologinių sąlygų reikšmę. Jų nuomone, pieninei gyvulininkystei vystytis trukdė Afrikoje pelkės ir džiunglės, taip pat musė cėcė, sukelianti miegligę, Kinijoje – labai intensyvi žemdirbystė, dėl ko trūko ganomų pievų, Pietų Azijoje – galvijų ligos ir labai blogos kokybės žolė ir panašiai [54].

Kiti mokslininkai mažiau kreipė dėmesio į gyvenimo sąlygas, bet akcentavo moralines ir psichologines žmonių savybes. Pavyzdžiui, kai pirmieji užkariautojai klausdavo vietinių gyventojų, kodėl jie nevartoja pieno, pastarieji atsakydavo, kad taip daryti yra negerai, neteisinga, nes tokiu būdu pienas vagiamas nuo gyvulių jauniklių. Šio teiginio įrodymu, vietinių gyventojų nuomone, buvo bloga savijauta išgėrus pieno. Šie faktai ir paskatino išsiaiškinti pieno netoleravimo priežastis, ar jos tik psichologinio pobūdžio, ar turi somatinį pagrindą [54].

Anot F. Simoons [221], šiuo metu jau yra aišku, kad didžiajai daliai pasaulio gyventojų po normalaus laktacinio periodo atsiranda pirminė hipolaktazija, nors atskirose etninėse grupėse skirtingu laiku: juodaodžiams – 2–4 metų vaikams, suomiams – 15–17 metų paaugliams. Didelis hipolaktazijos paplitimas (60–100 %) būdingas daugeliui tautų: Amerikos grynakraujams indėnams ir eskimams, daugumai Afrikos genčių, gyvenančių piečiau Sacharos dykumos, ir jų išėiviams Amerikoje, tautoms, gyvenančiomis apie Viduržemio jūrą (egiptiečiams, žydams, turkams, graikams, italams ir kt.), arabams ir Pietryčių Azijos šalių: Japonijos, Kinijos, Indijos, Filipinų, Kambodžos, Indonezijos, Ramiojo vandenyno salų gyventojams. Nedidelis pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos paplitimas (0–30 %) būdingas daug mažesnei žmonijos daliai: Šiaurės Vakarų Europos gyventojams ir jų išėiviams Amerikoje bei Australijoje, taip pat keletui etninių grupių

Afrikoje (pienine gyvulininkyste besiverčiančios gentys tusių, himų, fulanių ir kai kurios kitos).

Kultūrinė-istorinė hipotezė teigia mitybos įtaką tam tikro genotipo susiformavimui. G. Flatz ir H. W. Rotthauwe specifinio selekcinio pranašumo teorija papildoma F. J. Simoons hipoteze [224]. Jų nuomone, senovės Šiaurės Europos gyventojai, skirtingai nuo kitų kraštų, dėl nepakankamos ultravioletinės radiacijos (didelio debesuotumo) labai stokojo D vitamino, kuris gerina kalcio pasisavinimą organizme. Senovėje vėlyvas rachitas, osteomaliacijos, moterų dubens kaulų deformacijos dėl D vitamino trūkumo organizme buvo dažnas reiškinys. Tai patvirtina vikingų gyvenviečių Grenlandijoje tyrinėjimai. Šios kaulų ligos stipriai mažino reprodukcinę gyventojų funkciją. Kalcio ir D vitamino ypač trūko tiems žmonėms, kurie negalėjo gerti pieno. Įrodyta, kad pieno cukraus hidrolizė plonojoje žarnoje, taip pat kaip ir D vitaminas, gerina kalcio pasisavinimą iš maisto. Tie individai, kurių laktazės aktyvumas išlikdavo suaugusiojo gyvenimo tarpsniu ir pieno cukraus hidrolizė žarnyne vyko normaliai, turėjo selekcinį pranašumą prieš asmenis, kurie netoleravo laktozės. Šiaurės ir Vakarų Europos gyventojams, lyginant su kitais kraštais, ypač didelę reikšmę turėjo atsiradusi pieninė gyvulininkystė ir susidaręs laktazės persistavimą lemiantis genotipas.

Tokiu būdu europiečiai, kurie dėl atsitiktinių genų mutacijų turėjo didelį laktazės aktyvumą, galėjo valgyti pieną, kuriame gausu ne tik baltymų, riebalų, bet ir kalcio, kurį pasisavindavo net ir trūkstant D vitamino. Taip jie buvo pranašesni ne tik už savosios populiacijos žmones su hipolaktazija, bet ir specifiskai pranašesni už kitų kraštų gyventojus su laktazės nepakankamumu, kurie gaudavo pakankamai ultravioletinių spindulių, o jų maiste, kuriame vyravo daržovės ir vaisiai, netrūko D vitamino. Šių kraštų gyventojams nebuvo gyvybiškai svarbu turėti didelį laktazės aktyvumą ir vartoti pieną, nes D vitamino ir kalcio jie gaudavo užtektingai su kitu maistu ir dėl pakankamo ultravioletinio spinduliavimo.

Aiškindamas itin unikalų laktazės persistavimo reiškinį šiaurės ir vakarų europiečių populiacijose, F. Simoons [221] primena, kad, be didelio laktazės aktyvumo, šio arealo gyventojai turi ir kitų genetiškai nulemtų ypatybių. Didelė odos, plaukų, akių depigmentacija yra geno, lemiančio cholekalciferolio gamybą odoje, dominavimo rezultatas, atsiradęs dėl palyginti labai mažo ultravioletinio spinduliavimo šiose geografinėse platumose ir nepakankamo D vitamino kiekio maiste.

Kita svarbi problema, ar per palyginti trumpą istorinį pieninės gyvulininkystės laikotarpį galėjo susidaryti šiuo metu aptinkami hipolaktazijos paplitimo skirtumai. Turint galvoje, kad pieninė gyvulininkystė prasidėjo prieš 10 000–8000 metų, prisijaukinus ožkas ir avis, ir įvertinus dabartinį hipolaktazijos paplitimo pasaulyje svyravimą maždaug nuo 10 % iki 90 %, buvo apskaičiuota, kad laktazės persistavimo geno dažnis

tarp laktazės absorbuotojų yra 0,56, o tarp malabsorbuotojų – 0,05. Nuo pieninės gyvulininkystės pradžios pasikeitus 400-ams kartų, selekcijos intensyvumas homozigotinio hipolaktazijos geno atžvilgiu turėjo būti 0,01 tam, kad susidarytų dabartinis šios enzymopatijos paplitimo vaizdas. Šis selekcijos intensyvumo dydis yra dažnas ir įprastas [68]. T. Sahi [225] teigia, kad Europoje pieninė gyvulininkystė prasidėjo prieš 7000–6000 metų, nuo to laiko pasikeitė maždaug 250 kartų. Spėjant, kad tais laikais laktazės persistavimo geno dažnis buvo 0,5 %, paskaičiavus išaiškėjo, kad jo selekcinis pranašumas buvo maždaug apie 1 % per kartą. Taigi šie duomenys patvirtina kultūrinės-istorinės teorijos teisingumą, tačiau specialistai mano, kad galutiniam šios hipotezės įrodymui būtina ištirti kuo daugiau etninių grupių, ypač Europos.

Kitas klausimas, ar laktazės persistavimo genotipas susidarė vienoje tam tikroje teritorijoje, pavyzdžiui, Šiaurės Europoje, ir po to išplito po visą pasaulį, ar jis, skirtingų aplinkybių veikiamas, formavosi daugelyje vietų vienu metu. Tai ypač svarbu nagrinėjant laktazės persistavimo /nepersistavimo genotipų paplitimą tautose, priklausančiose indoeuropiečių kalbų grupei. Kai kurie mokslininkai mano, kad šių tautų protėviai yra kilę iš stepių tarp Ukrainos ir Turkestano. Iš ten jie išplito į vakarus po visą Europą ir į pietus link Turkijos, Irano ir Indijos. Manoma, kad laktazės persistavimo selekcija prasidėjo jau jų senovinėje tėvynėje [221].

Taigi, nagrinėjant šią problemą, iškyla daug neaiškių klausimų, į kuriuos vien tik medikai atsakyti negali, jiems turi padėti istorikai, antropologai, kitų mokslo sričių specialistai. F. J. Simoons ir kiti mokslininkai pasigenda hipolaktazijos paplitimo duomenų Rytų Europos šalyse, esančiose palyginti netoli nuo numanomos laktazės persistavimo genotipų formavimosi pradinės teritorijos. Šios hipolaktazijos paplitimo Europos žemėlapyje baltos dėmės neleidžia iki galo atskleisti laktazės persistavimo genotipo istorinio-kultūrinio formavimosi ir plitimo dėsningumą, todėl sunkina galutinį šios teorijos įrodymą ir suformulavimą. Pirminio laktazės nepakankamumo dažnio Lietuvoje tyrimų duomenys papildo hipolaktazijos paplitimo Vidurio ir Rytų Europos šalyse žemėlapi.

Pagal F. J. Simoons teoriją, Ukrainoje, galbūt ir Baltarusijoje hipolaktazijos paplitimas turėtų būti nedidelis, nes manoma, kad šiose teritorijose formavosi žmonių, turinčių didelio laktazės aktyvumo genotipą, populiacija, tačiau tai reikia įrodyti ir tam atlikti metodiškai korektiškus populiacinius tyrimus. Kad ir kaip būtų, gana didelis hipolaktazijos dažnis Lietuvoje sunkiai paaiškinamas šios enzymopatijos nedidelio paplitimo rytinėse ir pietinėse kaimyninėse teritorijose kontekste. Taigi peršasi išvada, kad lietuvių protėvių tėvynėje nebuvo daug aplinkos veiksnių, skatinančių laktazės persistavimo genotipo formavimąsi ir todėl populiacijoje vyravo laktazės nepakankamumas.

Remiantis kultūrinės-istorinės teorijos teiginiais, teoriškai Lietuvos teritorijoje didesnę pranašumą selekcinio požiūriu turėjo turėti žmonės su dideliu laktazės aktyvumu. Antra vertus, vertinant klimato įtaką, reikia pasakyti, kad ekologinė aplinka Lietuvoje (mažiau debesuota ir lietinga) skiriasi nuo Anglijos, Airijos, Belgijos, Danijos. Ten hipolaktazijos paplitimas ypač mažas. Dėl šios priežasties Lietuvos teritorijoje laktazės persistavimo genotipo selekcinis pranašumas nebuvo toks didelis, palyginti su minėtomis Vakarų Europos šalimis. Kai kurie autoriai mano, kad laktazės nepakankamumo dažnis nuo 30 % iki 60 % rodo etninę populiaciją esant mišrią. Pavyzdžiui, A.Czeizel ir bendraautoriai didelį hipolaktazijos paplitimą Vengrijoje (37 %) aiškina mongolidų rasės įtaka šiai tautai, priklausančiai Uralo kalbų šeimai [117].

Kitas neaiškus klausimas – tai hipolaktazijos paplitimo skirtumas tarp lietuvių subpopuliacijų – aukštaičių (30 %) ir žemaičių (40 %). Šis skirtumas per daug didelis, kad jį būtų galima paaiškinti vien tik epidemiologinio tyrimo taikant atsitiktinės atrankos metodą paklaidomis. Reikėtų ištirti, ar tarp šių subpopuliacijų nėra ir kitų genetinių žymenų skirtumų. Tam reikalinga daugelio kitų mokslo sričių (antropologijos, archeologijos, istorijos) specialistų pagalba.

Ištirtas laktazės nepakankamumo paplitimas estų, suomių ir marių populiacijose, tačiau šios tautos priklauso kitai Uralo kalbų šeimai. F. J. Simoons ir kiti autoriai tikisi, kad kada nors hipolaktazijos paplitimas bus ištirtas visoje Rytų Europos teritorijoje, Užkaukazėje, Kurdistane ir Irane ir galų gale bus užpildyta šios enzimopatijos paplitimo žinių spraga.

Kur yra šiuolaikinio laktazės persistavimo genotipo tėvynė? Kokiomis kryptimis šis genotipas plito? Kaip jį veikė tautų migracijos bei maišymosi procesai? Į šiuos ir kitus klausimus bus galima atsakyti tik tuomet, kai turėsime duomenis apie hipolaktazijos paplitimą kiekvienoje tautoje, tautelėje ir etninėje grupėje, priklausančioje ir indoeuropiečių, ir kitų kalbų šeimoms. Tada laktazės persistavimo / nepersistavimo genotipai, kaip ir kiti genetiniai žymenys, padės tiriant atskirų etninių grupių atsiradimo vietą, laiką, migracijos kelius, maišymosi laipsnį ir panašiai [221].

Afrikoje ir Azijoje didelis laktazės nepakankamumo paplitimas (60–100 %) yra įprastas ir nelabai svarbus reiškinys, nes šių regionų gyventojai vartoja pieno daug mažiau negu europiečiai. Tačiau pastaruoju metu dėl europietiškos sveikos mitybos principų populiarinimo ir naujų mitybos programų įgyvendinimo pieno vartojimas šiose šalyse didėja ir sukelia sveikatos sutrikimų. Pastebima, kad vis daugiau mokslininkų tiria laktazės nepakankamumo problemas šių pasaulio regionų gyventojų populiacijose.

Laktazės persistavimo ir pienininkystės koevoliucijos, kaip nišos konstrukcijos pavyzdžio, teorija

Keleto mokslininkų nuomone, intestininės laktazės aktyvumo persistavimo evoliucija yra vienas iš aiškiausių žmogaus nišos konstrukcijos pavyzdžių. Nišos konstrukcija – tai procesas, kurio metu, veikiant neįprastai stipriam atrankos spaudimui, organizme atsiranda nauji genai [226].

Biologinėje evoliucijoje veikia natūrali paveldimųjų bruožų atranka. Didžioji šių bruožų dalis paveldima genetiniu būdu, tėvams perduodant DNR savo vaikams. Tačiau kiti organizmo biologiniai aspektai gali būti paveldimi ne genetiškai – kultūriškai perduodant elgesio modelius ir aplinkos bruožus, kuriuos suformavo protėviai [227, 228].

Kadangi šis ne genetinis paveldimumas gali atlikti pagrindinį vaidmenį organizmo išlikime ir evoliucinėje rūšių trajektorijoje, jam buvo priskirtas „nišos konstrukcijos“ terminas [229]. Gilesnis ryšių tarp genetinės evoliucijos ir nišos konstrukcijos suvokimas gali iškilti iš evoliucinės teorijos, aiškinančios, kad žmonės nėra unikalūs gebėjimu pakeisti savo pačių aplinką [230]. Žmonių kultūros raida stipriai pakeitė jų aplinką, palikdama ryškius ekologinius ir evoliucinius padarinius [228].

Žmogaus genotipų ir kultūros koevoliucija pateikia keletą aiškiausių ir efektingiausių nišos konstrukcijos pavyzdžių. Genotipų ir kultūros koevoliucinė teorija apima kultūrinės variacijas, analizuojant skirtingus genų perdavimo būdus iš vienos kartos į kitą. Ši teorija gali būti panaudojama nagrinėjant evoliucines nišos konstrukcijos pasekmes, kai iš kartos kartai stabiliai perduodama išmokta informacija [231].

Iš tiesų, kultūriniai procesai gali pakeisti žmogaus selektyvinę aplinką ir taip turėti įtakos tam, kurie genotipai išliks ir reprodukuos. Jei kultūrinis žmogaus aplinkos keitimo paveldimumas tęsis pakankamai ilgai, kad sukeltų stabilų selekcijos spaudimą, tai galės pakreipti žmogaus evoliuciją. Žmogaus evoliucijoje tokių pavyzdžių yra daug, bet nė vienas jų nėra taip gerai išstudijuotas, aiškus ir plačiai paplitęs bei patvirtintas kaip laktazės persistavimo koevoliucija ir pienininkystė [321, 228].

Naujausi genetiniai tyrimai parodė, kad keletas VNP variantų asocijuojasi su laktazės persistavimu skirtingose populiacijose. Pirmiausia buvo identifikuotas -13910^*T , esantis ne laktazės gene, bet gretimo geno introne (*MCM6*). *In vitro* tyrimai atskleidžia, kad ši nukleotido pakaita turi poveikį laktazės aktyvumo skatinimui ir todėl panašu, kad gali sukelti laktazės persistavimą, nors kol kas neįmanoma atmesti glaudžių ryšių nebuvimo su kitu, dar neiširtu funkciniu variantu. Sudarytas interpoliuotas žemėlapis, parodantis globalinį -13910^*T genotipo pasiskirstymą. Žemėlapio duomenų palyginimas rodo, kad nors -13910^*T alelio dažniu galima paaiškinti laktazės persistavimo paplitimą Europoje, šis dažnis nepaaiškina LP paplitimo Afrikoje ir Vidurio Rytuose.

Tyrimai atskleidė papildomus alelius, kurie siejami su laktazės persistavimo paplitimu Afrikoje. Visi šie VNP variantai lokalizuojasi šimte -13910^*T nukleotidų, tame pačiame *MCM6* geno introne, srityje, kuri yra funkciškai svarbi laktazės aktyvumo pasireiškimui *in vitro*. Dėl to, kad šie skirtingi su LP susijusę aleliai randami keliuose skirtinguose haplotipuose, tampa aišku, kad laktazės persistavimas daugelį kartų evoliucionavo ir todėl yra konverguojančios evoliucijos pavyzdys [198, 152, 156, 232].

Įvertinus laktazės geno genetinę variaciją, galima sužinoti su laktazės persistavimu susijusių alelių amžių. Įvairių autorių duomenimis, -13910^*T genotipo kilmės data svyruoja nuo prieš 2188 ir 20 650 metų [233] ir prieš 7450 ir 12 300 metų [91]. Šie skaičiai gauti naudojant išplėstinės haplotipo homozigotės (IHH) ir glaudžiai susijusių mikropalydovų variacijų analizę [156].

Naudojantis IHH, panašios datos (prieš 1200–23 200 metų) buvo nustatytos vienam dažniausių VNP variantų Afrikos populiacijose -14010^*C . Tai datų duomenys apie alelius, kurių dažnis yra didelis daugelyje populiacijų. Nesunku numanyti, kad šių dienų aleliai yra gana reti, nes jų dažnis kinta iš lėto ir kryptingai genetiniu keliu. Santykinai naujų alelių didelį paplitimą negalima paaiškinti vien tik genetinio perdavimo būdu, šiam reiškiniui reikia dar ir staigaus bei stipraus natūralios atrankos poveikio. Iš tiesų, norint pamatuoti atrankos stiprumą, reikia išaiškinti VNP pakaitų -13910^*T ir -14010^*C amžiaus/dažnumo pasiskirstymą. Nustatyta, kad jis yra labai didelis (atitinkamai 1,4–19 ir 1–15 %), vienas iš didžiausių, nustatytų žmogaus genams, per maždaug 30 000 metų [101].

Priežastys, kodėl laktazės persistavimas turėtų turėti selekcinį pranašumą, yra vis dar diskutuojamos. Kadangi šis bruožas daugiausia aptinkamas pastoralinėse populiacijose ir kadangi šviežias pienas ir kai kurie maisto produktai yra vieninteliai žinomi natūralūs laktozės šaltiniai, neatrodo, kad genotipai susiję su laktazės persistavimu, būtų atsiradę populiacijose, neturinčiose šviežio pieno išteklių [99].

VNP pakaitų -13910^*T ir -14010^*C atsiradimo populiacijose datos sutampa su archeologinės naminių gyvūnų ir pienininkystės paplitimo Europoje bei pastoralizmo paplitimo pradžia Afrikoje (Pietų Saharoje, Kenijoje ir šiaurinėje Tanzanijoje). Tai įrodo, kad laktazės persistavimas koevoliucionavo kartu su kultūrine pienininkyste, kaip genotipo ir kultūros koevoliucijos procesas. Nepaisant to, koreliacija tarp laktazės persistavimo ir pieno suvartojimo nėra visiška [206, 153].

Bendras daugumos populiacijų, kuriose laktazės persistavimas yra labai paplitęs, bruožas yra pienininkystės istorija. Šviežio pieno prieinamumas kai kurioms žmonių grupėms buvo iššūkis, sukuriantis potencialų genetinį pagrindą nuolatinės laktazės gamybai per visą suaugusiojo gyvenimą. Kadangi tai yra abipusiškai priklausomi procesai, tai laktazės persistavimo geninės ir kultūrinės įvairovės analizę sunku atlikti atskirai [99].

Tyrimai, kada, kaip ir kodėl kai kurios populiacijos išsaugojo ir tinkamai išnaudojo kanopinius gyvulius, padės suprasti laktazės persistavimo paplitimo įvairovę. Archeologiniai duomenys gali būti panaudojami pateikiant įrodymus apie šį kultūrinį elgesį praeityje. Pavyzdžiui, du archeologiniai tyrimai: pieno produktų likučių analizė ir gyvulių skerdimo būdų nustatymas kasinėjimų vietose, suteikia informacijos apie pienininkystės atsiradimo laiką ir raidą. Tam, kad būtų visiškai suprasta laktazės persistavimo kilmė ir evoliucija, svarbu išanalizuoti archeologinius ir archeozoologinius tyrimų apie pienininkystės ir gyvulių prijaukinimo kilmę duomenis. Europoje naminių gyvulių paplitimas yra glaudžiai siejamas su neolito pabaiga Artimuosiuose Rytuose [234].

P. Gerbault ir bendr. [226] teigimu, Europoje prieš 8400 metų medžioklė ir augalų rinkimas buvo vieninteliai pragyvenimo šaltiniai. Maždaug prieš 6000 metų visame žemyne paplito ūkininkystė, kuri pradėjo išstumti medžioklę ir augalų rinkimą. Archeologijoje ūkininkystės pradžia apibrėžė naują periodą – neolitinę revoliuciją. Šis periodas charakterizuojamas nušlifuto akmens įrankių ir indų atsiradimu, sėslėniu gyvenimo būdu ir tam tikrų gyvulių prisijaukinimu.

Neolitinė kultūra paplito nuo savo kilmės zonos (Artimieji Rytai, Anatolija) į kitas vakarinės Eurazijos dalis ir į šiaurės Afriką. Šiuo metu pasiūlyti du ūkininkystės paplitimo Europoje aiškinimo modeliai. Pirmas, *kultūrinės difuzijos* ar *akultūracijos* modelis, kuris teigia, kad vietiniai medžiotojai-rinkėjai perėmė patirtį iš ūkininkaujančių kaimynų. Alternatyvus *deminės difuzijos* modelis teigia, kad neolito praktika plito į Europos pašarų teritorijas per ūkininkaujančių žmonių judėjimą. Vis dėlto nė viena iš šių teorijų iki galo nepaaiškina procesų, vykusių neolito pereinamuoju periodu. Matyt, realybėje buvo daugiau sudėtingesnių vietinę heterogeniją lėmusių ūkininkystės perėmimo procesų [235].

Europos genetinės įvairovės analizė atskleidžia europiečių genofondo akultūracijos ir migracijos vaidmenį ūkininkystės plitimo laikotarpiu. Paaiškėjo prieštaringi rezultatai, priklausantys nuo taikytų tyrimo metodų, tyrimo vietos ir duomenų šaltinio apie protėvių populiaciją [236]. Archeozoologiniai duomenys apie naminius gyvulius ypač vertinami nustatant aiškesnį neolito plitimo vaizdą ir su juo siejamas naujas išgyvenimo strategijas. Į tai įeina kaulų analizės: gyvūnų rūšių, lyties, mirties amžiaus, morfologijos, skerdimo ir naudojimo maistui žymių, tikslios datos ir senovės DNR tyrimai, ir gautų tyrimo rezultatų panaudojimas archeologiniame kontekste [151]. Morfologiniai pokyčiai ir skerdimo strategijos gali būti panaudojamos identifikuojant, kur ir kada laukiniai gyvūnai tapo naminiais gyvuliais [237].

Per neolito B fazę, dar prieš molinių indų atsiradimą (PPNB), pagrindinėje neolito zonoje keletas žmonių grupių pradėjo prijaukinti laukinius gyvūnus panašiu metu, bet skirtingose vietose. Po šimtų ar net tūkstančių metų periodo šis procesas baigėsi

prijaukintų gyvulių fenotipų įvairovės susiformavimu. Šie su prijaukinimu susiję fenotipai iliustruoja vieną iš žmogaus nišos konstrukcijos pasekmių kitų rūšių evoliucijai [238].

Neolito periodo seniausi gyvulių prijaukinimo įrodymai yra apie ožkas ir avis (prieš 11 000 metų), paskui – apie kiaules ir galvijus (prieš 10 500 metų). Tačiau tikroji gyvulininkystė, kaip didžiausia ekonominė veikla, Artimuosiuose Rytuose prasidėjo tik prieš 10 tūkstančių metų. Ne anksčiau nei prieš 9000 metų naminiai gyvuliai išplito vakarinėje ir pietinėje Antalijoje [239]. Iš ten jie kartu su žemės ūkio priemonėmis toliau plito dviem pagrindinėmis kryptimis: Viduržemio jūros kryptimi per Egėjo ir Adrijos jūras judėjo į vakarus į pietinę Italiją, Tirėnų salas, pietinę Prancūziją ir Iberijos pusiasalį ir Dunojaus kryptimi per Balkanų pusiasalį į pietvakarinę centrinės Europos dalį ir galiausiai į centrinę ir šiaurinę Europą. Šie du keliai galėjo susikirsti Graikijoje, Reino slėnyje ir žemyno šiaurės vakaruose, prieš kertant Britų salas [240].

Manoma, kad naminės ožkos ir avys į šias vietas buvo atgabentos iš Artimųjų Rytų, nes Europoje nėra jų tenykščių protėvių įrodymų. Senovės DNR tyrimai rodo, kad galvijai taip pat buvo atkeldinti iš Anatolijos ir Europoje nesikryžmino su Europos laukiniais galvijais – stumbrais. Naminės kiaulės taip pat buvo atvežtos į Europą iš neolito srities, senovės DNR įrodymai byloja, kad jos susimaišė su vietiniais laukiniais šernais [241].

Pienininkystės istorijoje yra labai svarbi tolesnė gyvulininkystės raida po ankstyvųjų naminių gyvulių atvežimo į Europą. Nustatyta, kad perėjimas į pienininkystės ekonomiką Pietų Europoje įvyko maždaug prieš 7 tūkstančius metų. Iš tiesų, nei ankstyvas neolitinis periodas Balkanuose (prieš 8200–7500 metų), nei anksčiausias neolitinis periodas centrinėje Europoje (prieš 7500–7000 metų) neatskleidė aiškių archeozoologinių ženklų apie išplitusią pienininkystę tuo laikotarpiu. Tačiau vėlesniais periodais, ypač centrinėje Europoje, yra įrodymų apie didelį gyvulių, siejamų su pienininkyste, pagausėjimą [242].

Tiriant organinius likučius ant archeologinių indų buvo nustatyti pieno apdorojimo būdai vakarinėje dabartinės Turkijos dalyje maždaug prieš 8500 metų [215]. Panašūs pieno produktų vartojimo įrodymai buvo pastebėti ir neolitinio periodo Rumunijos ir Vengrijos teritorijoje maždaug prieš 7900–7450 metų [243], Britanijoje maždaug prieš 6100 metų [244] ir Škotijoje maždaug prieš 3000 metų [245].

Archeozoologiniai duomenys aiškiai rodo, kad pienininkystė buvo praktikuojama anksti, dar neolitinėje Europoje. Tačiau senovės DNR tyrimų duomenys apie centrinę ir šiaurinę Europą rodo, kad laktazės persistavimo dažnis šiuo periodu buvo gana mažas [246]. Taigi, galima kelti hipotezę, kad ankstyvojo neolitinio periodo žmonės, kuriems laktazės persistavimas buvo retas arba jo visai nebuvo, nuo pat pradžių praktikavo pienininkystę pietryčių Europoje, o vėliau ji paplito centrinėje ir šiaurinėje Europoje, kurioje buvo auginama daug pašarų [238].

Kaulų kolageno izotopų studijos parodė, kad medžiotojai-rinkėjai daugiausia maitinosi jūrų maistu, o ūkininkų maisto racioną, netgi tų, kurie gyveno pakrantėje, daugiausia sudarė sausumos maistas [217]. Tačiau kiti autoriai nerado tokio maisto raciono įrodymų. Taip gali būti dėl to, kad medžiotojų, palyginti su ūkininkų, lokalizacija krypo link pakrančių regionų [107].

Kita galimybė būtų ta, jog regionuose, kuriuose buvo gausių vandens išteklių, pragyvenimo šaltinio pasikeitimo procesas (gyvulininkystės ir pienininkystės plėtojimas) būtų buvęs lėtesnis. Pavyzdžiui, Skandinavijoje, kur jūriniai ištekliai buvo gausūs, nerasta tiesioginių įrodymų apie staigius maisto raciono pasikeitimus link pienininkystės. Iš tiesų, ūkininkai nepakeitė medžiotojų-rinkėjų, ir šie (3200–2300 m. pr. Kr.) pietinėje Skandinavijoje beveik 1000 metų koegzistavo kartu su neolitinės *Funnel Beaker* kultūros atstovais (žemdirbiais) centrinėje ir šiaurinėje Europoje [107].

Taigi, laktazės persistavimo fenotipas ir pagrindinio su LP asociuojamo alelio Europoje – *13910*T* didžiausias dažnis pastebimas šiaurės vakarų Europoje, kur pienininkystė prasidėjo vėliausiai. Filogeografinė interpretacija būtų tokia, kad laktazės persistavimas pirmiausia paplito šiaurės vakarų Europos gyventojų populiacijose.

Selekcija reikšmingai formavo laktazės persistavimo plitimą, nors neaišku, ar ši selekcija buvo tęstinė ar epizodinė ir kaip ji skyrėsi priklausomai nuo platumų ar ekologinių zonų. Norint aiškiau suprasti laktazės persistavimo ir pienininkystės koevoliucijos procesą Europoje, svarbu atkreipti dėmesį į kultūrinius, demografinius ir selektyvinius procesus [151].

Pastaruoju metu paplito simuliacijos kompiuteriu modeliai, praplečiantys supratimą apie laktazės persistavimo ir pienininkystės koevoliuciją Europoje. Taikant tokius modelius, galima jungti skirtingus informacijos šaltinius. Antra vertus, labai svarbu identifikuoti pagrindinius evoliucinius parametrus, kurie suformavo tiriamus dalykus. Tai nėra paprasta, kai svarstomos skirtingos hipotezės, aiškinančios laktazės persistavimo paplitimą Europoje šiandien. Nors simuliacijos tyrimai ne visiškai atskleidžia tikslią evoliucinę laktazės persistavimo ir pienininkystės istoriją, jie turi pranašumų prieš vien genetinius ar vien archeologinius tyrimus. Simuliacijos modeliuose informacija pateikiama iš skirtingų šaltinių (genetikos, archeologijos, ekologijos). Modeliai leidžia palyginti alternatyvius scenarijus pagal pasirinktus parametrus. Galima testuoti daug parametrų derinių, o ekstremalus scenarijai, tokie kaip kultūrinė ar deminė difuzija, gali būti įvertinti taikant statistinius metodus. Atliktos simuliacijos padeda suvokti bendrus Europos neolitinio periodo bruožus ir procesus ir tirti alternatyvias galimybes [155, 247].

Laktazės persistavimo ir pienininkystės koevoliucijos simuliacijos, genetiniai ir archeologiniai tyrimai atskleidė, kad LP selekcija nebuvo pastovi bėgant laikui ir keičiantis vietai tuo metu, kai ji plito Europoje. Šiame procese buvo svarbūs demografiniai

pokyčiai. Tirdami demografinių pokyčių sąsajas su laktazės persistavimo paplitimu, Y. Itan ir bendr. [248] panaudojo kompleksinį demografinį simuliacijos modelį, kuriame populiacijos dydis buvo reguliuojamas logistiškai kiekvienoje grupėje be tiesioginių vienos grupės augimo pasekmių kitų grupių augimams, pavyzdžiui, konkurencijos tarp kultūrinių grupių dėl žemės išteklių.

Europoje medžiotojų-rinkėjų populiacijų iki šių dienų neišliko, todėl logiška manyti, kad ūkininkų nišos modifikacija galėjo turėti įtakos medžiotojų-rinkėjų paplitimo sumažėjimui ir dėl skirtingų LP ir LN populiacijų gebėjimų nišos konstrukcijos požiūriu medžiotojai-rinkėjai išnyko [238]. Laktazės aktyvumo genotipų paplitimas yra geras nišos konstrukcijos pavyzdys dėl dviejų priežasčių. Pirmą, dėl to, kad žmonių grupės, kurios pradėjo gerti pieną, modifikavo prieš tai egzistavusios selekcijos spaudimą, tokiu būdu generuodamos evoliucinį pagrindą, kuris galėjo suteikti pranašumą kai kuriems individams, palyginti su kitais, esant tam tikroms aplinkos sąlygoms. Antra, svarbus yra šio neolitinio elgesio bruožo išsaugojimas iki šių dienų. LP / pienininkystės koevoliucija iliustruoja, kaip kultūra gali turėti įtakos žmonių populiacijų genetiniams skirtumams. Štai kodėl tiriant žmogaus adaptaciją reikia atsižvelgti į nišos konstrukcijos faktorius. Genotipų / kultūros koevoliucijos tyrimai parodė, kad abu, genai ir kultūra, yra interaktyvūs ir veikia žmogaus fenotipų evoliuciją [249].

Aplinkos kintamieji veiksniai, tokie kaip augalija ir natūralaus vandens prieinamumas, matyt, turėjo įtakos kultūriškai skirtingų populiacijų paplitimui ir neolito periodo tranzitiniam greičiui, galėjo veikti ūkininkaujančių populiacijų judėjimą kartu su jų prijaukintais gyvuliais. Iš tiesų, nišos konstrukcijos tyrimai parodė, kad aplinkos veiksniai nėra statiniai, greičiau dinaminiai, jie keičiasi priklausomai nuo klimato ir žmonių veiklos, taip modifikuodami atrankos spaudimą populiacijoms [250].

APIBENDRINIMAS. Laktazės persistavimo ir pienininkystės koevoliucija nėra paprastas procesas, kaip galėtų pasirodyti iš pirmo žvilgsnio. Tai rodo genetiniai, archeologiniai ir simuliaciniai tyrimai. Laktazės persistavimo modelis Europoje yra savitas, skiriasi nuo Azijos ir Afrikos populiacijų, nes Europoje vyrauja VNP variantas (-13910^*T), susijęs su LP. Šiame žemyne gyvulininkystės ir pienininkystės paplitimas kildinamas iš ankstyvojo neolito periodo. Laktazės persistavimo paplitimo Europoje simuliacijos tyrimai pabrėžia, kad selekcija galėjo būti nepastovi atsižvelgiant į laiką ir vietą. Taigi, norint išsiaiškinti demografinį atrankos poveikį laktazės persistavimo fenotipui ir genotipui, reikia daugiau analizuoti genetinės variacijos modelius pagal vietą. Laktazės persistavimo ir su juo susijusio alelio bei pienininkystės koevoliucijos tyrimai sudaro pagrindą nišos konstrukciją formuojančių kitų genų ateities tyrimams.

2.10. Laktazės nepakankamumo diagnostikos metodai

Laktazės nepakankamumo diagnozės pagrindimo kriterijai yra virškinimo sutrikimo simptomų, kuriuos sukelia vartojamas pienas ir jo produktai, įvertinimas; teigiamas atsakas į pieno cukraus sumažinimą maiste; teigiami peroraliniai laktozės toleravimo mėginiai; biochemiškai nustatytas sumažėjęs laktazės fermentinis aktyvumas plonosios žarnos gleivinės biopsinės medžiagos bandinyje; su pirmine suaugusiųjų hipolaktazija siejamo C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo nustatymas [88, 52].

Laktazės nepakankamumas labai paplitęs, o jo klinikiniai požymiai nespecifiniai. Šią enzymopatiją sunku diagnozuoti, vertinant vien tik klinikinį vaizdą: pirma, dėl jo nespecifiškumo; antra, dėl to, kad žmonės toli gražu ne visuomet sugeba susieti virškinimo sutrikimus su pieno ir jo produktų vartojimu; trečia, ne visi žmonės, kurių laktazės aktyvumas sumažėjęs, jaučia pieno netoleravimo požymius.

Hipolaktazijos diagnostikos metodai skirstomi į tiesioginius (laktazės aktyvumo nustatymas plonosios žarnos gleivinės bioplate) ir netiesioginius (įvairios laktozės toleravimo mėginio modifikacijos, tiriant glikeminės kreivės pakilimą arba vandenilio koncentraciją iškvėpiamame ore arba galaktozės koncentraciją šlapime išgėrus laktozės tirpalo ir kiti).

H. Arola pateikia hipolaktazijos diagnostikos metodų klasifikaciją [13]:

1. Klinikinių požymių, atsiradusių išgėrus laktozės tirpalą, įvertinimas.
2. Laboratoriniai metodai:
 - 2.1. Invazyvūs metodai: plonosios žarnos gleivinės biopsija ir disacharidazių aktyvumo nustatymas biopsijos medžiagoje.
 - 2.2. Žarnyno rentgenodiagnostika.
 - 2.3. Išmatų tyrimas: išmatų pH, redukuojančių substancijų nustatymas; išmatų radioaktyvumo tyrimas po laktozės, žymėtos C¹⁴ izotopu, mėginio.
 - 2.4. Laktozės toleravimo (absorbcijos) mėginiai:

Iškvėpiamo oro mėginiai:

 - vandenilio koncentracijos iškvėpiamame ore nustatymas (*breath hydrogen test*) po laktozės mėginio;
 - iškvėpiamo oro radioaktyvumo nustatymas po laktozės, žymėtos C¹⁴, mėginio;
 - C¹³O₂ koncentracijos iškvėpiamame ore nustatymas po laktozės, žymėtos C¹³, mėginio.

Kraujo mėginiai:

 - laktozės toleravimo (absorbavimo) mėginys (LTM);
 - pieno toleravimo mėginys (PTM);
 - laktozės toleravimo (absorbavimo) mėginys su etanoliumi (LTME);
 - sutrumpintas laktozės toleravimo mėginys su etanoliumi (SLTME).

Šlapimo (urininiai) mėginiai:

- laktozės toleravimo mėginys, nustatant galaktozės kiekį šlapime po laktozės mėginio (LTMG);
- laktozės toleravimo mėginys su etanoliu, nustatant galaktozės koncentraciją šlapime [LTMG(U)];
- laktozės toleravimo mėginys naudojant 3-metilaktozę;
- laktozės / laktuliozės koeficiento nustatymas;
- laktozės toleravimo mėginys, nustatant visą galaktozės kiekį šlapime arba apskaičiuojant galaktozės / kreatinino koeficientą.

H. Arola, apžvelgdamas šiuos metodus, teigia, kad invazyvūs, rentgeniniai bei radiologiniai tyrimo metodai netinkami pirminėje sveikatos priežiūros sistemoje, taip pat atliekant populiarius tyrimus. Taikant išskvepiamo oro vandenilio koncentracijos nustatymo metodą, būna gana daug paklaidų. Todėl, šio tyrėjo nuomone, hipolaktazijos diagnostikai geriausiai tinka laktozės toleravimo kraujo mėginys ir šlapimo mėginiai.

Klinikinių laktazės nepakankamumo požymių įvertinimo mėginys

Sugirdžius 50 g laktozės, 4 valandas stebima lignonio savijauta. Jei tiriamasis jaučiasi gerai, diagnozuojama normolaktazija. Jam suviduriavus, tyrimas kartojamas, kasdien mažinant pieno cukraus dozę 10 g tol, kol tiriamasis per 4 val. skystai pasituštins ne daugiau kaip vieną kartą. Hipolaktazija diagnozuojama tuomet, kai mažiau kaip 40 g pieno cukraus sukelia viduriavimą ar kitus dispepsinius sutrikimus. Mėginys neinvazyvus, nereikalaujantis laboratorinės įrangos, parodo visos plonosios žarnos funkciją, tačiau ilgai trunkantis, varginantis lignonį ir ne visai patikimas, nes dispepsiniai sutrikimai gali atsirasti ir dėl kitų priežasčių.

Laktazės aktyvumo plonosios žarnos gleivinės tyrimas

Laktazės fermentinio aktyvumo nustatymas plonosios žarnos gleivinės biopsinėje medžiagoje vertinamas kaip auksinis standartas ir etaloninis metodas laktazės nepakankamumui tirti. Tai tiesioginis laktazės aktyvumo įvertinimo metodas. Siūloma su juo palyginti visus kitus netiesioginius laktazės aktyvumo tyrimo metodus [251]. Šis metodas turi būti taikomas, kai yra abejotini netiesioginių metodų rezultatai, su juo lyginami duomenys, gauti kitais hipolaktazijos nustatymo būdais [252].

Medžiaga tyrimui gaunama endoskopinio viršutinės virškinimo trakto dalies tyrimo metu iš distalinės dvylikapirštės žarnos segmento arba, panaudojant Krosbio (*Crosby*) kapsulę, biopsinė medžiaga paimama iš tuščiosios žarnos gleivinės. Esant

hipolaktazijai, laktazės aktyvumas plonosios žarnos gleivinėje visuomet sumažėjęs, bet ne visur vienodai. Kaip jau minėjome, esant normolaktazijai, laktazės aktyvumas didžiausias tuščiojoje žarnoje maždaug 1 metro ilgyje, pradedant nuo Treico (*Treitz*) raiščio. Į abi puses nuo šios vietos fermento aktyvumas staigiai mažėja. Todėl gleivinės biopatas imamas 10–20 cm toliau Treico raiščio, naudojant zondą su Krosbio kapsule, procedūra kontroliuojama rentgenologiškai [253].

Klinikinėje praktikoje dažnai biopsinės medžiagos gabaliukai paimami gastrofibroskopu iš dvylikapirštės žarnos gleivinės distalinės dalies, tačiau ši biopato paėmimo vieta nėra rekomenduojama dėl labai didelių individualių laktazės aktyvumo svyravimų šioje vietoje. Nustatyta, kad normaliai apatinės dvylikapirštės žarnos dalies gleivinėje laktazės aktyvumas sudaro tik 40 % šio fermento aktyvumo tuščiojoje žarnoje. Atliekant dvylikapirštės žarnos gleivinės tyrimą, taip pat reikia nustatyti laktazės ir sukrazės santykį bei ištirti gleivinės histologiją. Deja, dar nesudaryti laktazės nepakankamumo diagnostikos kriterijai, tiriant dvylikapirštės žarnos gleivinę [253, 254].

Dažniausiai disacharidazių aktyvumas nustatomas pagal standartinę metodiką, pasiūlytą A. Dahlqvist ir bendr. [255]. Procedūros metu paimami keli biopsinės medžiagos bandiniai. Pirmasis bandinys naudojamas histologiniam tyrimui, antrasis – laktazės ir sukrazės aktyvumui nustatyti, gali būti imamas ir trečiasis – imunohistocheminiam tyrimui. Gleivinės gabaliukai homogenizuojami 0,9 % natrio chlorido tirpale ir inkubuojami 60 min. su laktoze. Nustatomas susidariusios gliukozės kiekis. Tuo pačiu metu nustatomas sukrazės ir maltazės aktyvumas su maltozės ir sukrozės substratais. Esant selektyviai hipolaktazijai, maltazės ir sukrazės aktyvumas normalus. J. Banai ir bendraautoriai koregavo šį metodą, panaudodami fermentines juosteles gliukozei šlapime nustatyti. J. Banai ir bendr. pasiūlė gleivinės gabaliukus inkubuoti su laktoze 37 °C temperatūroje 5 min., iki pasikeis spalva. Inkubacijos laikas ir spalvos pasikeitimas koreliuoja su disacharidazės aktyvumu [252].

Laktazės aktyvumas matuojamas vienetais. Vienas vienetas prilygsta 1 μ mol hidrolizuoto disacharido per 1 min. 37 °C temperatūroje. Specifinis aktyvumas yra vertinamas vienetais miligramui drėgnos medžiagos [256]. Laktazės nepakankamumas diagnozuojamas tuomet, kai laktazės ir sukrazės santykis mažesnis nei 0,17 bei laktazės fermentinis aktyvumas mažesnis nei 5 TV/g baltymų ir 2 TV/g drėgnos gleivinės masės, esant normaliai gleivinės histologijai [257, 258].

Imunohistocheminis biopsinės medžiagos tyrimas atliekamas naudojant imunoperoksidazės techniką ir antilaktazinius antikūnus [259]. Naudojami pelės monokloniniai antikūnai prieš žmogaus laktazę ir sukrazę. Laktazės ir sukrazės išsiskyrimas ant enterocito membranos (greitasis mėginys) vertinamas balais: 2 – ryškiai pažymėta laktazė ar sukrazė, 1 – silpnai pažymėta laktazė ar sukrazė, 0 – nėra pažymėtos laktazės ar sukrazės.

Neseniai atliktų tyrimų duomenimis, kad plonosios žarnos gleivinės pažeidimo atveju matomas nevienodas laktazės aktyvumo pasiskirstymas žarnoje [260], todėl naudojant tyrimų derinį buvo vertinamas ir bendras plonosios žarnos laktazės skaidymo tūris [261].

Mažas laktazės aktyvumas biopsinėje medžiagoje dar nereiškia sumažėjusio bendro laktozės skaidymo tūrio plonojoje žarnoje. Bendras laktozės skaidymo tūris priklauso dar ir nuo substrato kontakto su laktaze trukmės. Histologiniai plonosios žarnos pokyčiai geriau koreliuoja su laktazės aktyvumu, nustatytu plonosios žarnos gleivinės biopate, nei su klinikiniais simptomais [262]. Įvairių autorių norminiai laktazės aktyvumo plonosios žarnos gleivinės biopsinėje medžiagoje rodikliai yra skirtingi (6 lentelė). Tai rodo sunkumus, su kuriais vis dar susiduriama nustatant ir interpretuojant disacharidazių aktyvumą plonosios žarnos gleivinės biopate.

6 lentelė. Plonosios žarnos gleivinės laktazės aktyvumas, įvairių autorių duomenimis [263]

Literatūros šaltiniai	Laktazės aktyvumas tuščiosios žarnos gleivinėje		Laktazės aktyvumas dvylikapirštės žarnos gleivinėje	
	Vienetai/1g baltymo ir vidurkis	Laktazės/sukrazės santykio vidurkis	Vienetai/1g baltymo ir vidurkis	Laktazės/sukrazės santykio vidurkis
Hipolaktazija				
A. Dahlqvist 1984	2,5 (0,1 – 8,6)	–	–	–
J. D. Welsh ir kt. 1978	6,6 (3,3 – 14)	0,10 (0,03 – 0,24)	–	0,06 (0,02 – 0,21)
N-G. Asp ir kt. 1971	4,1 (1,6 – 8,2)	0,05 (0,01 – 0,21)	–	–
A. D. Newcomer ir kt. 1975	–	0,045 (0,00 – 0,14)	–	–
R. Bergoz ir kt. 1981	3,9 (2,1 – 7,5)	0,05 (0,03 – 0,125)	2,5 (1,6 – 4,1)	0,05 (0,03 – 0,07)
Normolaktazija				
A. Dahlqvist 1984	40,0 (20 – 78)	–	–	–
J. D. Welsh ir kt. 1978	35,9 (13 – 85)	0,50 (0,28 – 0,94)	–	0,49 (0,29 – 1,30)
N-G. Asp ir kt. 1971	40,0 (20 – 78)	0,55 (0,15 – 2,2)	–	–
A. D. Newcomer ir kt. 1975	–	0,57 (0,21 – 1,0)	–	–
R. Bergoz ir kt. 1981	35,0 (11 – 107)	0,46 (0,32 – 1,8)	27,0 (7 – 100)	0,48 (0,28 – 1,8)

Pagrindiniai tuščiosios žarnos gleivinės tyrimo privalumai yra tie, kad gaunamas tiesioginis atsakymas apie gleivinės būklę ir disacharidazių bei kitų fermentų aktyvumą. Tiriant mikroskopu, gana greitai galima nustatyti kitas plonosios žarnos ligas, galėjusias sukelti antrinę laktazės nepakankamumą, bendrąją malabsorbiciją.

Deja, plonosios žarnos gleivinės biopsija yra invazyvus ir tiriamajam sunkus metodas. Nors ir taikoma rentgeno kontrolė, tai aklas tyrimo metodas, neretai galintis sukelti plonosios žarnos gleivinės kraujavimą ir perforaciją, dėl to kartais tenka tiriamąjį operuoti. Paskelbti rezultatai, atskleidžiantys 3866 plonosios žarnos gleivinės biopsijų patirtį. Devyniais atvejais buvo komplikacijų: septyniems prasidėjo kraujavimas iš plonosios žarnos, iš kurių vienam teko perpilti kraujo. Be to, tyrimo metu ligonis gauna nemažą rentgeno spindulių dozę, nes kontroliuojant kapsulės slinkimą, kartais reikia atlikti 1–3 rentgenoskopijas. Biocheminių biopsinės medžiagos tyrimų įranga ir reagentai yra brangūs. Vienas tyrimas užtrunka iki 6 valandų [264].

Svarbiausia, kad plonosios žarnos gleivinės bioptato morfologinio ištyrimo metodas nėra labai tikslus. Dažniausiai plonosios žarnos gleivinės pažeidimas būna ne ištinis, o židininis. Aklu būdu nepataikius paimti bioptato iš reikiamos vietos, rezultatai gali būti netikslūs. Atlikdami laktozės toleravimo mėginį, nustatome suminį plonosios žarnos gebėjimą hidrolizuoti ir absorbuoti laktozę, o tai praktiškai ir yra svarbiausia. Tiriant bioptatą, galima įvertinti tik kelių labai mažų gleivinės plotelių fermentų aktyvumą, nežinant, koks jis yra kitose žarnos vietose [2]. Plonosios žarnos gleivinės tyrimo metodo nerekomenduojama naudoti atliekant populiacinius tyrimus, pirminėje sveikatos priežiūros sistemoje. Jis taikytinas tik stacionaruose tais retais atvejais, kai yra neaiški plonosios žarnos pažeidimo priežastis, kai reikia diferencijuoti pirminį ir antrinę laktazės nepakankamumą.

Netiesioginio laktazės fermentinio aktyvumo įvertinimo funkciniai mėginiai

Laktazės nepakankamumo diagnostikai taikomas platus netiesioginių laktazės fermentinio aktyvumo įvertinimo funkcinį mėginių spektras. Dažniausiai praktikoje atliekamas laktozės toleravimo mėginys įvertinant glikeminės kreivės pakilimą ir (ar) vandens dujų koncentraciją iškvepiamame ore arba galaktozės koncentraciją šlapime [263].

Laktozės toleravimo mėginys nustatant glikeminės kreivės pakilimą (LTM)

Tai seniausias ir plačiausiai taikomas metodas. A. Holzel ir bendr. bei S. Auricchio ir bendr. panaudojo LTM laktazės nepakankamumo diagnostikai 1957–1963 metais. LTM metodiką nuodugnai aprašė I. A. Dahlquist, K. Villako ir bendr., H. Arola,

N. Solomons, A. D. Newcomer ir bendr. [263]. Laktozės toleravimo mėginio rezultatai atspindi visą plonosios žarnos laktozės hidrolizavimo tūrį [265].

Tyrimui skiriama 2 g laktozės vienam kilogramui svorio, ištirpinti 100–300 ml virinto vandens. Sveriantiems daugiau kaip 50 kg žmonėms laktozės dozė nebedidinama, ir visiems skiriama po 50 g pieno cukraus. Po peroralinio laktozės paskyrimo matuojamas vieno iš susidariusių skilimo produktų gliukozės kiekio padidėjimas kraujyje. Dažniausiai LTM atliekamas vieną valandą, nustatant gliukozės koncentraciją kapiliariniame kraujyje prieš laktozės tirpalo išgėrimą bei 20, 40 ir 60 minutę po pieno cukraus mėginio. Netikslinga LTM tęsti ilgiau negu 1 val., nes vėliau maksimaliai pakyla insulino koncentracija kraujyje ir pradeda slopinti glikemiją ir 75-ą ir 90-ą mėginio minutę gliukozės koncentracija sveikų žmonių kraujyje visuomet mažėja.

Pagal gautus gliukozės koncentracijos kitimus brėžiama glikeminė kreivė. Duomenims interpretuoti svarbus didžiausias glikeminės kreivės pakilimas: neviršijantis 1,1 mmol/l, vadinamoji plokščia kreivė (*flat curve*), yra siejamas su laktozės netoleravimu; didesnis nei 1,7 mmol/l – su laktozės toleravimu; įsiterpęs į 1,1 ir 1,7 mmol/l intervalą – su sumažėjusiu, tačiau pakankamu fermentiniu laktazės aktyvumu. Po mėginio registruojami atsiradę būdingi virškinimo sutrikimo simptomai bei nespecifiniai sisteminiai požymiai [266, 263].

Kai kurie autoriai siūlo tiriamiesiems, kuriems nustatyta plokščia glikeminė kreivė, po kelių dienų atlikti 25 g gliukozės ir 25 g galaktozės mėginį (GGM), siekiant atmesti monosacharidų malabsorbciją. Šio mėginio atlikimo technika tokia pati kaip ir LTM. Glikeminės kreivės pakilimas daugiau negu 1,1 mmol/l rodo gerą monosacharidų absorbcinę funkciją. Laktazės nepakankamumas diagnozuojamas tuomet, kai LAM metu glikemija nepakyla daugiau negu 1,1 mmol/l, o GGM metu būna didesnė negu 1,1 mmol/l. Gliukozės koncentracijų pakilimo LTM ir GGM metu santykis neturi viršyti 0,4. Kadangi monosacharidų gliukozės ir galaktozės absorbcinė funkcija būna sutrikusi labai retai, o taip atsitikus, jau anksčiau būna pasireiškę šio sutrikimo požymiai, tai daugelyje studijų laktozės absorbcijos mėginio metu GGM nenaudojamas [258]. LTM metu mažą laktazės aktyvumą turintys asmenys gali jausti laktozės netoleravimo, dažniausiai virškinimo sutrikimo, simptomus, kurie vertinami kaip laktazės nepakankamumo diagnozę patvirtinantis požymis [6, 267].

LTM specifškumas (iki 96 %) ir jautrumas (iki 94 %) pakankamai dideli [268]. Deja, šis mėginys netinka žmonėms, sergantiems cukriniu diabetu. Mėginio rezultatai gali būti netikslūs iki 23–30 % atvejų, esant sutrikusiai skrandžio evakuacinei funkcijai. Vaikams taikyti šį diagnostikos metodą yra problemiška dėl greito gliukozės absorbcijos, dėl to galimas didelis klaidingai teigiamų rezultatų dažnis. Dėl savo invazyvumo LTM netinka mažiems vaikams, ypač kūdikiams [80].

Mūsų tyrimuose [166, 220, 233, 177] visiems dalyviams atlikome laktozės toleravimo mėginį LTM. Tyrimo metodika: po 10–12 valandų trukusios naktinės nevalgymo pertraukos mėginys buvo atliekamas ryte nuo 7 iki 9 val. Pradžioje buvo išmatuojama gliukozės koncentracija kapiliariniame kraujyje. Po to tiriamieji išgerdavo kambario temperatūros (20–21 °C) 16,7 % 300 ml vandeninio laktozės tirpalo. Praėjus 20 min pradėdavome trijų gliukozės koncentracijos kapiliariniame kraujyje matavimų seriją, sudarytą iš lygių, jau paminėtų laiko trukmės intervalų. Bendra tyrimo trukmė buvo viena valanda.

Kapiliarinio kraujo gliukozės koncentracijai tirti buvo gaunama pagal standartinę medicininę kapiliarinio kraujo paėmimo procedūrą. Procedūros metu naudojome vienkartinius skarifikatorius (*SUPERIOR, EBERLE Federnfabrik GmbH, Vokietija*). Kapiliarinio kraujo lašą užlašindavome ant diagnostinės juostelės gliukozei *Accutrend GCT (Roche Centralized Diagnostics, Vokietija)* taip, kad padengtų visą reagentų sritį. Diagnostinės juostelės gliukozei reagentų srities 1 cm² buvo: 12,4 mg gliukozidazės, 35,0 mg bis-2(hidroksi-etil)-(4-hidroksiamino-cikloheksan-2,5-diemiliden)-amniochlorido, 191,4 mg 2,18-fosfomolibdato, 8,1 mg neaktyvių ingredientų ir buferio. Kiekviena diagnostinių juostelių gliukozei pakuotė kalibruota prietaisu, naudojant specialius gliukozės kodinius kalibratorius, atitinkančius tyrimo dalyvių gliukozės koncentracijos diapazono ribas.

Gliukozės koncentraciją kapiliariniame kraujyje matavome gliukomačiu *Accutrend GCT (Roche Centralized Diagnostics, Vokietija)*. Kiekvieno matavimo trukmė 12 sekundžių. Analizatoriaus veikimas pagrįstas atspindžio fotometrija. Prietaisui suteikti ISO 9001, EN 46001 ir CE pažymėjimai. Prietaisas Lietuvoje aprobuotas. Pagal gautas gliukozės koncentracijos kapiliariniame kraujyje matavimų reikšmes brėžime glikeminę kreivę. LTM metu ir po jo tyrimo dalyviai registravo laktozės netoleravimo simptomus, nurodydami jų atsiradimo laiką ir įvertindami intensyvumą.

Pagal gautas gliukozės koncentracijos kapiliariniame kraujyje matavimų rezultatus buvo vertinamas glikeminės kreivės pakilimas. Remiantis literatūros duomenimis, glikeminės kreivės pakilimas, neviršijantis 1,1 mmol/l, sietinas su žymiu plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumo sumažėjimu, didesnis nei 1,7 mmol/l – su pakankamu laktazės aktyvumu, o įsiterpiančius į intervalą nuo 1,1 iki 1,7 mmol/l – su vidutiniškai sumažėjusiu laktazės aktyvumu.

Virškinimo sutrikimų atsiradimas ir jų intensyvumas buvo vertinami pasitelkus klausimyną, kuris buvo sudarytas remiantis mūsų klinicine patirtimi ir pagal kitų autorių pavyzdžius [59, 389]. Klausimyną pildė patys tyrimo dalyviai. Pirmasis įrašas atspindėjo paciento būklę prieš laktozės toleravimo mėginį. Po to per pirmąsias keturias valandas nuo tyrimo pradžios buvo registruojami dispepsiniai sutrikimai

valandos trukmės intervalais, vėliau pereinant prie dviejų ir trijų valandų trukmės intervalų, tai yra sutrikimai buvo fiksuojami šeštą, devintą ir dvyliktą valandą skaičiuojant nuo tyrimo pradžios. Tiriamieji vertino tokius laktozės netoleravimo sukeltus simptomus: vidurių pūtimą, pilvo skausmą, pilvo gurguliavimą, pykinimą, galvos skausmą, viduriavimą, bei keletą retesnių: rėmenį, pilnumą epigastriume, vidurių užkietėjimą.

Tyrimo dalyviams buvo pasiūlyta pažymėti virškinimo sutrikimus, kurie, jų manymu, atsirado dėl išgerto laktozės tirpalo, tačiau nebuvo pateikti klausimyne. Buvo vertinamas klinikinių požymių intensyvumas (7 lentelė). Dvylikos valandų trukmės simptomų registravimo periodas pasirinktas dėl galimų individualių skrandžio evakuacijos greičio ir žarnų tranzito trukmės skirtumų, kurie galėtų daryti įtaką virškinimo simptomų atsiradimo laikui ir įvairovei [177].

7 lentelė. Laktozės netoleravimo simptomų registracijos klausimyno fragmentas

Dispepsijos simptomai	Simptomo intensyvumas										
	nebuvo	vos juntamas			saikingas			vidutiniškas		stiprus	
Tyrimo pradžioje	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Po 1 val.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Po 2 val.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Po 3 val.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Po 4 val.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Po 5–6 val.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Po 7–9 val.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Po 10–12 val.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vėliau? Kada?	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Atskirai kiekvienai laiko atkarpai buvo skaičiuojamos keturių būdingų laktozės netoleravimui simptomų: pilvo pūtimo, pilvo skausmo, pilvo gurguliavimo ir meteorizmo bei visų anksčiau išvardytų simptomų sumos. Keturių simptomų sumai galimas rezultato intervalas nuo 0 iki 40, o visiems aštuoniems – nuo 0 iki 80. Pastarasis intervalas gali plėstis, jei tiriamasis savo nuožiūra įrašė naujų simptomų. Kiekvieną dispepsinį sutrikimą vertinant atskirai dvylikos valandų trukmės periodu maksimalus rezultatas gali būti 90 balų.

Laktozės toleravimo mėginys su etanoliu (LTME)

Siekiant patobulinti laktozės toleravimo mėginį, pasiūlyta vertinti kraujyje ne gliukozės, bet galaktozės koncentraciją. Dėl labai greito galaktozės metabolizmo kepenyse, jos koncentracija kapiliariniame kraujyje būna labai maža ir sunkiai nustatoma. W. Fischer ir J. Zapf 1965 metais pasiūlė galaktozės metabolizmą kepenyse slopinti etanoliu. 10 min. prieš laktozės mėginį jie skirdavo 500 mg etanolio vienam kg svorio ir kartu su gliukoze nustatydavo galaktozės koncentraciją kraujyje 0, 20, 40, 60 ir 90 mėginio minutę. J. Jussila sumažino etanolio dozę iki 300 mg/kg ir skirdavo jį 15 min. prieš mėginį [263].

M. Isokoski ir bendr. [269] įrodė, kad tiksliai hipolaktazijos diagnozei pakanka vieną kartą 40-ą mėginio minutę nustatyti galaktozės koncentraciją kraujyje. Tokiu būdu, atliekant SLTME, galaktozės koncentracija veniniame kraujyje tiriama du kartus: prieš mėginį ir 40-ą minutę po 50 g laktozės ir 300 mg/kg svorio etanolio vandens tirpalo išgėrimo. Esant hipolaktazijai, galaktozės koncentracija kraujyje padidėja ne daugiau kaip 0,3 mmol/l. SLTME mėginio specifiskumas 89–97 %, jautrumas – 97–100 % [269].

LTME jautresnis ir specifiskesnis už LTM. Jis tinka sergantiems diabetu žmonėms. Galaktozė geriau ir greičiau už gliukozę absorbuojama žarnyne, todėl mėginio rezultatus mažiau veikia skrandžio evakuacinės funkcijos sutrikimai. LTME didžiausias trūkumas – etanolio naudojimas. Tai netinka vaikams, kai kuriems ligoniams, abstinencijos periodu ir pan. Dvi venos punkcijos vargina ir tiriamąjį, ir medicinos personalą. Sudėtinga galaktozės biocheminė analizė, kuriai reikia brangių reagentų. Dėl visų šių priežasčių LTME nėra paplitęs.

Laktozės toleravimo mėginys nustatant galaktozės koncentraciją šlapime (LTMEU)

Tai tolesnė LTME modifikacija. 40-ą minutę po pieno cukraus tirpalo išgėrimo nustatoma galaktozės koncentracija šlapime [45, 46, 47, 224]. Esant hipolaktazijai, galaktozės koncentracija šlapime mažesnė negu 2,0 mmol/l [270, 271]. Šiam tyrimui taip pat naudojamas etanolis (150 mg/kg), bet pastarųjų metų duomenimis, mėginį galima atlikti ir be alkoholio (LTMU) [272]. H. Arola ir bendr. pasiūlė LTMEU modifikacijas LTMUS ir LTMEUS, pagal kurias galaktozės koncentracija šlapime nustatoma specialia reagentine juostele „Galactosur“, kurią gamina Švedijos bendrovė *Kabi Vitrum AB* (8 lentelė).

8 lentelė. LTMEUS mėginio etapai [263]

Etapai	LTMEUS mėginio procedūros
1	Iš vakaro nuo 19 val. tiriamasis nevalgo, prieš miegą pasišlapina.
2	Ryte duodama išgerti 50 g laktozės ir 150 mg/kg svorio etanolio, ištirpinto 400 ml virinto vandens.
3	Surenkamas visas šlapimas, kurį tiriamasis išskiria per 40 min. po laktozės tirpalo išgėrimo. Tyrimo metu neleidžiama valgyti ir gerti.
4	Šlapimas praskiedžiamas vandeniu: 1 dalis šlapimo ir 5 dalys vandens. Jei nenaudojamas etanolis, šlapimas skiedžiamas santykiu 1/2. Po to pipete 2 ml praskiesto šlapimo suleidžiami į mėgintuvėlį, reagentinės juostelės chromatografinė dalis įdedama į šlapimą 12 min.
5	Po 12 min. reagentiniame juostelės paviršiuje atsiradusi žalia spalva rodo normolaktaziją (teigiamas mėginys), nepasikeitus reagentinio paviršiaus spalvai, diagnozuojama hipolaktazija (neigiamas mėginys).

Žalia arba melsvai žalia reagentinės juostelės spalva rodo esant šlapime daugiau nei 2,0 mmol/l galaktozės. Juostelė reaguoja tik su galaktoze, gliukoze jos spalvos nekeičia. Mėginys tinka ambulatoriniams ir epidemiologiniams tyrimams. LTMEUS specifiskumas – 97 %, jautrumas – 97 %.

LTMU be etanolio jautrumas yra šiek tiek mažesnis, todėl šis metodas toliau tobulinamas. 1989 metais J. Grant ir bendr. [273] pasiūlė tirti bendrą galaktozės kiekį tris valandas rinktame šlapime, laktozės / galaktozės ir galaktozės / kreatinino šlapime indeksus, išgėrus 50 g pieno cukraus tirpalo. Esant normolaktazijai, su šlapimu išsiskiria 44 ± 4 mg galaktozės, esant hipolaktazijai – tik 7 ± 2 mg. Autorių nuomone, tris valandas rinkto šlapimo galaktozės / kreatinino indekso įvertinimas labai gerai diferencijuoja laktozės absorbuotojus ir malabsorbuotojus. Esant normolaktazijai, jis yra $0,23 \pm 0,02$, esant hipolaktazijai – $0,04 \pm 0,004$. Ši modifikacija, atrodo, yra gera alternatyva kitiems hipolaktazijos diagnostikos metodams. Be to, tinkama visiems, nes nereikia etanolio.

Vandenilio koncentracijos iškvėpiamame ore nustatymo mėginiai

Vandenilio koncentracijos iškvėpiamame ore matavimo mėginiai disacharidų nevirškinimo diagnostikai plačiau naudojami apie 30 metų [274, 275]. Mėginys pagrįstas tuo faktu, kad žmogaus organizme nėra kitų vandenilio dujų susidarymo šaltinių, išskyrus bakterinį angliavandenių metabolizmą žarnyne [276, 275].

Storosios žarnos mikroflora sufermentuoja nesuskaldytą plonojoje žarnoje pieno cukrų. Šio proceso metu susidaro tam tikras kiekis vandenilio, kurio didžioji dalis kartu su kitomis dujomis pasišalina natūraliu keliu, o maždaug 14–21 % absorbuojama ir pasišalina per plaučius [277, 278]. Galutinis susidarantių žarnyne vandenilio dujų kiekis gali

pasižymėti ryškiais individualiais skirtumais [274]. Atliekant šį mėginį, tiriamajam *per os* duodama laktozės (taip pat kaip LTM) ir matuojama vandenilio dujų koncentracija iškvepiamame ore. Esant sumažėjusiam laktazės aktyvumui, nerezorbuotoji laktozės dalis patenka į plonąją žarną, kur bakterijos ją metabolizuoja iki vandenilio, o šis greitai rezorbuojamas, galiausiai pasišalina su iškvepiamu oru. Mėginio metu išmatuojama vandenilio koncentracija iškvepiamame ore. Mėginys atliekamas ryte 10–12 val. nevalgiusiam asmeniui, kuris ne trumpiau kaip vieną dieną iki tyrimo nevalgė daug skaidulinių medžiagų turinčių produktų, ne trumpiau kaip 12 val. nerūkė [275, 279].

Vandenilio koncentracijos iškvepiamame ore matavimai atliekami prieš išgeriant 2 g/kg (maksimaliai 25 g) laktozės, ištirpintos 100–300 ml vandens, ir po to 30 min. intervalais tris valandas. Kai iškvepiamame ore vandenilio koncentracija didesnė už bazinį 20 ppm lygmenį, diagnozuojamas laktazės nepakankamumas. Padidėjusi vandenilio dujų koncentracija turėtų būti išmatuojama daugiau nei viename iškvėpto oro bandinyje. Teigiamo rezultato atveju laktozės malabsorbcijos mėginio pikas pasiekiamas apie antrą trečią valandą nuo tyrimo pradžios [280]. Iškvepiamo oro vandenilio koncentracijos mėginio specifiškumas – 89 %, jautrumas – 74 %, lyginant su laktozės plonosios žarnos gleivinės bioplate aktyvumo nustatymo metodu [263].

Galima gauti klaidingai teigiamus ir klaidingai neigiamus rezultatus. Klaidingai teigiami rezultatai, nurodantys laktazės nepakankamumą, gali būti tais atvejais, kai tiriama sis buvo pavalgęs ir (ar) neseniai rūkė. Klaidingai neigiami rezultatai, nurodantys laktazės aktyvumo persistavimą, gali būti, jei tiriama sis neseniai vartojo antibiotikų, serga plaučių ligomis arba jo žarnyne nesigamina vandenilis. Mažiems vaikams iki 5 metų amžiaus laktazės aktyvumas būna didelis. Todėl tokio amžiaus vaikams teigiamas vandenilio mėginio rezultatas gali būti dėl pažeistos plonosios žarnos gleivinės arba bakterijų išplitimo joje. Abi šias ligas reikia diagnozuoti atliekant papildomus tyrimus.

Yra nemažai žmonių su laktozės netoleravimo simptomais, kuriems yra neigiami vandenilio mėginio rezultatai. Dviejų tyrimų [281, 282] metu nustatyta, kad 30–42 % asmenų buvo neigiami vandenilio mėginio rezultatai. Laktozės netoleravimo priežastimis taip pat gali būti kitų pieno sudėtinių dalių netoleravimas ir psichologiniai veiksniai [283]. Įrodyta, kad rūkymas, miegas, mažas fizinis aktyvumas didina vandenilio koncentraciją iškvepiamame ore. Todėl patariama 3–4 val. prieš tyrimą ir tyrimo metu nerūkyti [280, 284].

Kaip jau buvo paminėta, vandenilio koncentracijos iškvepiamame ore mėginys priklauso nuo vandenilį gaminančių bakterijų buvimo žarnyne. Tačiau keletas tyrimų parodė, kad yra nemažai žmonių, kurių žarnyne bakterijos vandenilio neišskiria. Atliekant tokiems asmenims mėginį, gali būti registruojami klaidingai neigiami rezultatai. Dėl tokių asmenų dalies populiacijoje nesutariama, nes šio reiškinio skirstinių

svyravimai yra gana dideli (2–20 %), kai kuriuose šaltiniuose nurodoma net iki 40 % [275, 285, 416]. Be to, paaiškėjo, kad kai kurios storosios žarnos bakterijos pasisavina vandenilį ir iš jo gamina metaną [286].

Maždaug 40–50 % tirtų žmonių žarnyno bakterijos sugeba metaną paversti vandeniliu, todėl būtina kartu su vandeniliu nustatyti ir metano koncentraciją iškvepiamame ore [287]. Pagaminamo vandenilio kiekis priklauso ir nuo storosios žarnos mikrofloros būklės. Kai kurios ligos: gastroenteritai, celiakinė liga, lėtinis pankreatitas, gydymas antibiotikais, imunosupresiniais vaistais, kai kuriais kitais medikamentais gali veikti mikrofloros kiekybinę ir kokybinę sudėtį ir kartu keisti šio tyrimo rezultatus. Priklausomai nuo antibiotikų rūšies, šie veiksniai gali didinti arba mažinti vandenilio koncentraciją iškvepiamame ore. Bakterijos, paplitusios plonojoje žarnoje, labai greitai utilizuoja laktozę, todėl vandenilio koncentracija staigiai pakyla ir tai galima pražiūrėti. Iki keturių mėnesių amžiaus kūdikiams laktozės hidrolizė storojoje žarnoje negalutinė, todėl jiems irgi netinka šis mėginys [288, 289].

Esant sutrikusiai virškinimo trakto motorinei funkcijai, pavyzdžiui, sulėtėjus skrandžio turinio slinkimui, galimi klaidingai neigiami kvėpuojamojo mėginio rezultatai, o dėl greito slinkimo plonąją žarną, priešingai, mėginio rezultatai gali tapti klaidingai teigiami [290]. Klaidingai teigiami rezultatai gali būti ir dėl burnos bakterinės floros poveikio, ir dėl nepaisomos rekomendacijos mažinti daug skaidulų turinčių maisto produktų vartojimą likus parai iki ištyrimo [275]. Vandenilio koncentracijos nustatymas iškvepiamame ore išgėrus laktozės tirpalo labai populiarus Vakarų šalyse, nes mažai invazyvus, lengvai atliekamas, deja, jis turi nemažai trūkumų.

Išmatų tyrimai

Esant laktazės nepakankamumui, kūdikių ir vaikų išmatų pH mažėja, išmatose mažėja ir redukuojančių substancijų kiekis, randama laktozė. Šių rodiklių tyrimai paprasti, galima juos atlikti palatoje, naudojant lakmuso juostelę, *Clinitest* tabletes arba specialų chromatografinį popierių laktozei nustatyti. Išmatų tyrimo metodas taikomas kūdikiams, bet jis visai netinka suaugusiems pacientams. Manoma, kad esant hipolaktazijai išmatų pH būna mažesnis kaip 6, redukuojančių medžiagų daugiau nei 0,5 %, išmatose randama laktozės [58, 291].

Išmatos turi būti tiriamos labai greitai, tuoj po defekacijos. Vandens sekrecijos pakitimai stipriai keičia tyrimo rezultatą. Be to, reikia prisiminti, kad kūdikių ir normalus fekalijų pH gali būti rūgštinis, išmatose gali būti nedidelis pieno cukraus kiekis. Kol kas dar nenustatytos standartinės laktozės dozės šiam tyrimui. Taigi, išmatų tyrimas hipolaktazijai diagnozuoti yra netikslus, tinka tik kūdikiams, šiuo metu vis rečiau taikomas.

Išmatų radioaktyvumo po C¹⁴ žymėtos laktozės mėginio tyrimas

Tiriamajam duodama išgerti 12,5 g laktozės, žymėtos radioaktyviuoju C¹⁴ (5 mikro-Ci), ir 4 g polietilenglikolio vandens (200 ml) tirpalo, tiriamas išmatų radioaktyvumas skysčių scintiliacijos būdu. Deja, dar nėra nustatyti aiškūs hipolaktazijos diagnozės tiriant šiuo metodu kriterijai, menka koreliacija tarp hipolaktazijos ir izotopo ekskrecijos su išmatomis, nepageidautinas organizmo apšvitinimas radioaktyviąja anglimi. Kol kas šis metodas naudojamas retai [58]. Kai kuriose studijose yra palyginami įvairių hipolaktazijos diagnostinių mėginių tikslumas, specifiskumas, jautrumas [272, 292]. A. D. Newcomer ir bendr. [293] nuomone, patikimiausi yra LTM, nustatant vandenilio koncentraciją iškvėpiamame ore, ir LTMU, o LTM, nustatant glikeminę kreivę, yra kiek mažiau jautrus. H. Arola [272] teigia, kad LTM, nustatant vandenilio koncentraciją iškvėpiamame ore, yra mažiau tikslus negu galaktozės mėginio modifikacijos. Jo nuomone, pirminėje sveikatos priežiūros sistemoje, taip pat atliekant epidemiologinius tyrimus, labiausiai tinka laktozės toleravimo mėginys, nustatant galaktozės koncentraciją šlapime. Šis metodas taikytinas ir stacionaruose.

Hipolaktazijos diagnostinio metodo pasirinkimas priklauso nuo sveikatos priežiūros sistemos grandies. Pirminėje sveikatos priežiūroje (poliklinikoje, PSPC) kartais pakanka paskirti lignonii belaktozę dietą dviem savaitėms. Jei dispepsiniai sutrikimai išnyksta, galima įtarti laktozės netoleravimą. Galima paskirti išgerti laktozės tirpalo ar pieno ir stebėti lignonio savijautą po to. Vis dar plačiai naudojamas laktozės toleravimo mėginys, nors jis ir nėra labai tikslus. Labiausiai rekomenduotini mėginiai yra LTMEU ir LTMU (be etanolio).

Plonosios žarnos gleivinės tyrimai atliekami tik ligininėse. H. Arola nuomone, plonosios žarnos gleivinės biopsijos metodas vien tik hipolaktazijos diagnozei nustatyti neleistinas, nes tam tikslui yra kitų pakankamai jautrių ir mažiau invazyvių metodų. Biopsinis tyrimas atliekamas tik tada, kai reikia įvertinti morfologinę plonosios žarnos gleivinės būklę diferencijuojant virškinimo sistemos ligas, o disacharidazių aktyvumas biopsinėje medžiagoje nustatomas tik papildomai šalia kitų tyrimų.

Pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetinių tyrimų metodai

Su laktazės nepakankamumu ir persistavimu susijusiems genotipams nustatyti naudojami įvairūs genetiniai metodai: tiesioginis sekvenavimas, restrikcijos fermentai, skirti atpažinti bazių porų sekai, susijusiai su laktazės nepersistavimo genotipu (*PCR-RFLP genotyping*) [459, 294], taip pat naudojamas pirosekvenavimo metodas [295] ir SNaPIT technologija [296]. Prieš dešimt metų klinikinei praktikai pasiūlytas laktazės genetinio polimorfizmo mėginys, paremtas kelių laktazės persistavimo / nepersistavimo tyrimų palyginimų duomenimis [84, 297].

Buvo lyginami plonosios žarnos gleivinės biopsinės medžiagos histocheminio ištyrimo ir genotipo C/C₋₁₃₉₁₀ nustatymo rezultatai. Visų 12 metų ir vyresnių vaikų ir didžiosios dalies 8 metų amžiaus vaikų grupėse nustatyta stipri koreliacija tarp C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo ir laktazės fermentinio aktyvumo sumažėjimo. C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo mėginio specifiškumas ir jautrumas buvo 93 % ir 100 %. Deja, šis mėginys nėra naudingas juodaodžių gyventojų populiacijose, nes jose kiti genotipai yra susiję su laktazės nepakanamumu. Be to, mėginys yra brangus.

D. Kalibatienės ir S. Varvuolytės pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetinių žymenų tyrimas [177, 233] buvo atliekamas išskiriant DNR iš kraujo bandinių ir naudojant genomines DNR išgryninimo rinkinį (UAB „Fermentas“, Lietuva). Atliekant tyrimą, vadovautasi rinkinyje pateiktu eksperimentiniu protokolu. Išskirtos DNR kiekis vizualiai įvertintas taikant gautų bandinių elektroforezės 1 % agarozės gelyje metodą (paruošimui naudotas etidžio bromidas). Elektroforezės procesas gelyje buvo fotografuojamas ultravioletinėje (UV) šviesoje.

Diagnostiniai (žymėtieji) ir nedidagnostiniai (reversiniai) pradmenys parinkti naudojant specialią pradmenų sukūrimo programą. Diagnostiniai pradmenys: 1) G/A tolimesnis – MCM6-G/A (5) 5'-CAA-TCT-TGG-CTC-AAT-GCA-GCC-TCC-AC-3' ir G/A artimesnis – MCM6-G/A (3) 5'-FAM-TGG-GAC-AAA-GGT-GTG-AGC-CAC-CG-3', 2) C/T – MCM6-C/T (5) 5'-GTT-GAA-TGC-TCA-TAC-GAC-CAT-GGA-ATT-C 3'. Nediagnostiniai pradmenys: G/A – MCM6 rev-G/A(5)-GTT-CAG-CCC-CAG-AGC-TGT-CTA-CAC-CA ir C/T – MCM6 rev-C/T(6)-CGT-TAA-TAC-CCA-CTG-ACC-TAT-CC.

Polimerazės grandininės reakcijos (PGR) atlikimas. Bendras atliekamų PGR reakcijų tūris buvo 20 µl. PGR mišinio sudėtinės dalys: 7,9 µl dejonizuoto H₂O, 2 µl 10X *Taq* buferio, 2 µl 0,2 µM diagnostinio pradmens, 2 µl 0,2 µM nedidagnostinio pradmens, 2 µl 2 mM dNTP (GAUC) mišinio, 1,6 µl 25 mM MgCl₂, 0,5 µl *Taq* DNR polimerazės (1,25 U/50 µl) (visi produktai iš UAB „Fermentas“, Lietuva), tiriamoji DNR 2 µl (0,5–5 ng/µl). Po DNR fragmento su C/T-13910 amplifikacijos gaunamas 390 bp dydžio PGR produktas. DNR sekos su G/A polimorfizmu fragmentai, panaudojant tolimesnius pradmenis, buvo reamplifikuoti. Po DNR fragmento su G/A₋₂₂₀₁₈ amplifikacijos gaunamas 477 bp dydžio PGR produktas.

Polimerazės grandininės reakcijos produkto skaldymas. Siekiant tinkamai paruošti padaugintus DNR fragmentus tolesniam tyrimui, buvo atliktas PGR produktų valymas ir skaldymas, atskiriant nuo pradmenų ir kitų galimų priemaišų. Buvo ruošiamas mišinys iš PGR produkto, 16 µl H₂O, 1 µl Exo1. Po atitinkamo terminio poveikio filtruojamas per specialią kolonėlę AutoSeq™G-50 (*Amersham Biosciences*, JAV). Taip 10 µl išvalyto PGR produkto toliau skaidoma panaudojant 1 µl UDG, o po to ir AP (visi fermentai iš UAB „Fermentas“, Lietuva).

Diagnostinei DNR fragmentų analizei, arba vieno nukleotido pakaitos (VNP) nustatymui, buvo naudojamas ABI PRISM 310 (*Applied Biosystems*, JAV) genetinis analizatorius. Diagnostiniai fragmentai (1 µl išvalyto PGR produkto) buvo sumaišomi su 12 µl ROX mišiniu, kurio sudėtyje yra 20, 29, 33, 38, 42, 47, 50, 60 ir 70 nukleotidų ilgio fragmentai. ROX yra vidinis dydžio standartas, kurį naudojant pasiekiamas ypač didelis tikslumas. Diagnostiniai fragmentai buvo tiriami taikant argoninio joninio lazerio indukuotą fluorescencinę kapiliarinę elektroforezę. Procesui optimizuoti naudojome po 1–2 µl polimero POP-4™, kaip separacinę matricą analizuojamų fragmentų pavyzdžiams atskirti kapiliare.

Elektroforezė truko 24 min. 60 °C temperatūroje 15 000 voltų įtampos sąlygomis. Elektroforezės metu buvo fiksuojamas fluorescencijos intensyvumas kaip laiko ir bangos ilgio funkcija. Po korekcijos fluorescuojantys pikai buvo spalviškai koduojami ir pateikiami kaip pikai elektroforegramoje. *GeneScan® Analysis Software* programos algoritmai automatiškai atpažįsta ir įvertina kiekvieno piko dydį pagal vidinį standartą, pateikdami informaciją apie piko plotą ir aukštį grafine ir lentelės forma. Kiekvienas VNP alelis, esantis diagnostiniame fragmente, yra tam tikro dydžio. Homozigotinio pavyzdžio atveju matomas vienas tam tikro dydžio fragmentas, heterozigotinio pavyzdžio atveju – du tam tikro dydžio diagnostiniai fragmentai.

Palyginome genotipavimo ir laktazės toleravimo tyrimų diagnostines vertes [177, 233]. Tyrimas atskleidė, kad pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genotipo dažnis nesutampa su laktazės aktyvumo sumažėjimo fenotipu. Palyginus genotipavimo ir laktazės toleravimo mėginio rezultatus, konstatuota, kad asmenų, kuriems LTM būdu nustatyta hipolaktazija, grupėje pirminį laktazės nepakankamumą atspindinčių C/C₋₁₃₉₁₀ ir G/G₋₂₂₀₁₈ genotipų dažnis buvo tik 73,6 % ir 64,2 %. Be to, šie genotipai buvo nustatomi ir asmenims su LTM diagnozuotu pakankamu laktazės aktyvumu (atitinkamai 35,5 % ir 31,8 %). Genotipai C/T₋₁₃₉₁₀, T/T₋₁₃₉₁₀ ir G/A₋₂₂₀₁₈, A/A₋₂₂₀₁₈, siejami su pakankamu laktazės aktyvumu, buvo nustatomi ir asmenims, kuriems LTM būdu diagnozuota hipolaktazija (atitinkamai 20,8 %, 5,7 % ir 30,2 %, 5,7 %) (9 lentelė).

Pirminio laktazės nepakankamumo molekulinės diagnostikos duomenys ne visose populiacijose sutampa su netiesioginio laktazės fermentinio aktyvumo įvertinimo rezultatais. Pavyzdžiui, Vokietijoje netiesioginiais laktazės fermentinio aktyvumo tyrimo metodais nustatytas hipolaktazijos dažnis lygus 15 %, o molekulinės genetinės diagnostikos metodu ištirtas C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo dažnis – 21,4 %, Lenkijoje – atitinkamai 37,5 % ir 51 % [173], Lietuvoje – atitinkamai 34 % ir 44 % [175–177].

Įvertinę gautus duomenis, apskaičiavome C/T₋₁₃₉₁₀ ir G/A₋₂₂₀₁₈ genotipų tyrimo jautrumą, specifiškumą, teigiamo rezultato prognozinę vertę (TRPV), neigiamo rezultato prognozinę vertę (NRPV) bei teigiamą tikėtinumo proporciją lyginant su LTM (10 lentelė).

9 lentelė. Genotipų, susijusių su skirtingu laktazės aktyvumu, detekcijos ir laktozės toleravimo mėginio (LTM) rezultatai

Genotipai	Tiriamieji (n=160)	%	LTM nustatyta hipolaktazija (n=53)		LTM nustatyta normolaktazija (n=117)	
			n	%	n	%
Genotipai, susiję su laktazės nepakankamumu						
C/C ₋₁₃₉₁₀	77	48,1	39	73,6	38	35,5
G/G ₋₂₂₀₁₈	68	42,5	34	64,2	34	31,8
Genotipai, siejami su laktazės aktyvumo persistavimu						
C/T ₋₁₃₉₁₀	68	42,5	11	20,8	57	53,3
T/T ₋₁₃₉₁₀	15	9,4	3	5,7	12	11,2
G/A ₋₂₂₀₁₈	74	46,3	16	30,2	58	54,2
A/A ₋₂₂₀₁₈	18	11,3	3	5,7	15	14

10 lentelė. Pirminės hipolaktazijos diagnostikos metodų palyginamasis įvertinimas

Palyginamasis metodas	Bazinis metodas	Jautrumas	Specifiškumas	Teigiamo rezultato prognozinė vertė	Neigiamo rezultato prognozinė vertė	Teigiama tikėtino proporcija (95 % PI*)
C/T ₋₁₃₉₁₀ varianto genotipavimas	Laktozės toleravimo mėginys LTM	74 %	64 %	51 %	83,1 %	2,07 (1,53 – 2,8)
G/A ₋₂₂₀₁₈ varianto genotipavimas	Laktozės toleravimo mėginys LTM	64 %	63 %	50 %	79,3 %	2,02 (1,43 – 2,84)
G/A ₋₂₂₀₁₈ varianto genotipavimas	C/T ₋₁₃₉₁₀ varianto genotipavimas	96 %	91 %	89 %	97 %	11,00 (6,67 – 18)

PI* – pasikliautinis lygmuo.

Nustatyta, kad genetinių metodų jautrumo reikšmės svyravo nuo 64 % (G/A₋₂₂₀₁₈ varianto genotipavimas) iki 74 % (C/T₋₁₃₉₁₀ varianto genotipavimas), o specifiškumas abiem atvejais buvo panašus (atitinkamai 63 % iki 64 %). Teigiamo rezultato prognozinės vertės buvo 50–51 %, o neigiamo rezultato prognozinės vertės svyravo nuo 79,3 % iki 83,1 %. C/T₋₁₃₉₁₀ varianto genotipavimo ryšys su hipolaktazija, nustatyta LTM būdu, buvo stipresnis nei taikant G/A₋₂₂₀₁₈ varianto genotipavimą. Po lyginamosios genotipavimo ir LTM rezultatų analizės galima teigti, kad asmenims su LTM būdu nustatyta hipolaktazija kiek dažniau nei du kartus bus nustatomas pirminės hipolaktazijos genotipas nei tiems, kuriems šiuo būdu nustatyta normolaktazija.

Pastaruosius kelerius metus atliekami tyrimai, kuriais siekiama apibrėžti diagnostinę laktazės DNR vieno nukleotido pakaitų, susijusių su pirmine suaugusiųjų hipolaktazija, vertę atskirose populiacijose. Genetinės diagnostikos rezultatai lyginami su lygia greta taikomu kitu metodu laktazės fermentiniam aktyvumui įvertinti. Dažniausiai lyginama su laktozės toleravimo mėginio arba laktazės fermentinio aktyvumo įvertinimo plonosios žarnos biopsinėje medžiagoje rezultatais [298, 299].

Literatūros duomenimis, atliekant pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genotipavimo duomenų lyginimą su laktozės toleravimo mėginiu, jautrumo reikšmės svyruoja nuo 75 % iki 91,4 %, o specifiškumo – nuo 96 % iki 99 %, teigiamo rezultato prognozinės vertės svyravimai mažesni: nuo 97 % iki 98,1 %, ir neigiamo rezultato prognozinės vertės svyravimai nuo 82,8 % iki 86 % C/T₋₁₃₉₁₀ varianto atveju [12]. Kito DNR varianto G/A₋₂₂₀₁₈, palyginus su LTM, jautrumas yra 88,8 %, specifiškumas – 96 %, TRPV – 98,1 % ir NRPV – 78,7 % [299]. Taigi, šių genetinių hipolaktazijos žymenų ryšys su hipolaktazija, nustatyta LTM būdu, nėra visiškai identiškas, tai yra C/T₋₁₃₉₁₀ varianto ryšys su minėta enzimopatija yra stipresnis nei G/G₋₂₂₀₁₈ [59, 299].

Mūsų tyrimo metu nustatytas didesnis C/T₋₁₃₉₁₀ varianto genotipavimo metodo jautrumas (74 %) atitinka pastebėtą tendenciją ankstesniuose tyrimuose, atliktuose keliose skirtingose populiacijose [13, 298]. Duomenys apie genetiškai nustatytos hipolaktazijos dažnio koreliaciją su netiesiogiai įvertinto sumažėjusio laktazės fermentinio aktyvumo dažniu yra nevienareikšmiai. Nors keliose studijose hipolaktazijos genotipo dažnis visiškai sutapo su laktazės nepersistavimo fenotipu [80, 448] arba nedaug skyrėsi [299], tačiau kitų tyrimų rezultatai parodė, kad hipolaktazijos genotipo ir fenotipo dažnis skyrėsi daugiau [300]. M. Poulter ir bendr., D. M. Swallow duomenimis [80, 105], visiška C/T₋₁₃₉₁₀ genotipų ir laktazės persistavimo / nepersistavimo fenotipų asociacija buvo nustatyta analizuojant tyrimus, atliktus Šiaurės Europos šalyse, tačiau tokio gero ryšio nepavyko aptikti analizuojant Pietų Europos gyventojų tyrimų rezultatus.

Ištyrus su hipolaktazija susijusį polimorfizmą dvidešimtyje tolimų Afrikos žemyno kultūrinių grupių, išaiškėjo itin maža T₋₁₃₉₁₀ alelio ekspresija laktazės persistavimo fenotipo asmenims [110]. Mūsų tyrime laktazės nepakankamumo genotipo dažnis didesnis nei LTM būdu nustatyta hipolaktazija. Tai gali būti susiję su didesniu genotipavimo jautrumu. Be to, negalime nepaisyti ir tos aplinkybės, kad LTM rezultatams galėjo turėti įtakos daugelis veiksnių.

C. Büning ir bendr. [12], aptikę tarpusavyje nesutampančius genotipavimo duomenis ir LTM mėginio rezultatus, atliko papildomus tyrimus siekdami nustatyti galimas antrinės hipolaktazijos priežastis. Keturiems iš dešimties asmenų, kuriems LTM rezultatai buvo teigiami, o genetinė analizė neparodė hipolaktazijos, diagnozuota trumpos

žarnos sindromas, celiakinė liga ir ūminis *Giardia lamblia* sukeltas gastorenteritas. Visos šios ligos priklauso antrinės hipolaktazijos priežasčių grupei. Likusiai daliai pacientų nepavyko nustatyti ligų, galėjusių sukelti antrinę hipolaktaziją, nepaisant atliktų pagrindinių diagnostinių procedūrų, tokių kaip išsami anamnezė, viršutinės virškinimo trakto dalies endoskopinis tyrimas, kolonoskopija, antgliadininių antikūnų paieška ir kitų.

Negalima atmesti prielaidos, kad hipolaktaziją gali sukelti ir kiti genetiniai pokyčiai, pavyzdžiui, tam tikras etninių grupių genetinis heterogeniškumas. Skirtingus tyrimo rezultatus gali veikti ir tyrimo dalyvių grupių atrankos ypatumai, pavyzdžiui, kai kuriuose tyrimuose iš pradžių nieko nebuvo žinoma apie visų tyrime dalyvavusių asmenų laktozės toleravimo laipsnį. Suomų atliktame tyrime buvo nagrinėjami pacientai, kuriems jau buvo LTM būdu diagnozuotas laktozės netoleravimas arba įrodytas laktozės toleravimas. Taigi, tęsiant pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genotipavimo studijas, reikėtų įtraukti didesnę tiriamųjų skaičių, tyrimo pradžioje visiems atlikti laktozės toleravimo mėginį, o asmenis, kuriems LTM būdu nustatomas laktazės aktyvumo sumažėjimas, nuodugniau iširti dėl antrinės hipolaktazijos.

Genotipavimą pirminei suaugusiųjų hipolaktazijai diagnozuoti siūloma vertinti kaip pirmo pasirinkimo priemonę. Genetinio tyrimo rezultatų lyginimas su netiesioginių laktazės fermentinio aktyvumo įvertinimo metodų duomenimis leidžia atskirti pirminį laktazės nepakankamumą nuo antrinio, kurį dažniausiai sukelia virškinimo sistemos ligos, pažeidžiančios žarnos gleivinės struktūrą [12, 301]. Plonosios žarnos gleivinės biopsinės medžiagos tyrimas taip pat padėtų diferencijuoti šias dvi laktozės malabsorbcijos formas, be to, tiesiogiai įvertinti laktazės fermentinį aktyvumą ar žarnų gleivinės histologinius pokyčius.

Nustatant pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetinius žymenis, turi būti atsižvelgiama į paciento amžių ir kitus ne genetinius veiksnius [13, 299]. Praktiniai genetinio hipolaktazijos tyrimo pranašumai akivaizdūs: tyrimas yra pakankamai tikslus: vyresniems kaip 12 metų amžiaus asmenims C/T₋₁₃₉₁₀ genotipavimo specifiškumas yra 96–100 %, jautrumas 91,4–93 % [302], enzimopatija gali būti nustatyta iš lašo periferinio kraujo, panaudojant pusiau automatizuotą analizę. Pacientui nebūtina būti nevalgiusiam ar kaip nors kitaip pasirengti tyrimui. Dėl šios priežasties tyrimas yra patogus ligoniui, taupo laiką ir sveikatos priežiūros sistemos išlaidas. Genetinio tyrimo rezultatų interpretacija vienareikšmiškesnė, palyginti su netiesioginiais laktazės fermentinio aktyvumo tyrimų rezultatais [93, 299, 303].

APIBENDRINIMAS. Laktazės nepakankamumas gali būti diagnozuojamas daugeliu metodų, tačiau laktazės aktyvumo įvertinimas plonosios žarnos gleivinėje laikomas auksiniu standartu ir metodu, su kuriuo reikėtų lyginti rezultatus, gautus kitais laktazės aktyvumo įvertinimo būdais. Deja, plonosios žarnos gleivinės tyrimas nebūtinai lemia teisingą laktazės nepakankamumo diagnozę, nes paėmus bioptato iš nepažeistos vietos (gleivinės pažeidimai dažniausiai būna židininiai), galima gauti klaidingai neigiamą rezultatą. Šis laktazės aktyvumo tyrimo būdas yra invazyvus ir brangus, nėra lengvai prieinamas, nes plonosios žarnos gleivinės tyrimai atliekami tik specializuotuose ligoninių skyriuose. Biopsinis tyrimas daromas tik tada, kai reikia įvertinti morfolginę plonosios žarnos gleivinės būklę diferencijuojant virškinimo sistemos ligas, o disacharidazių aktyvumas biopsinėje medžiagoje nustatomas tik papildomai šalia kitų tyrimų. Dar vienas svarbus dalykas yra tas, kad šiuo tyrimo metodu negalima įvertinti simptomų, atsirandančių po laktozės suvartojimo

Klinikinėje praktikoje dažnai naudojamas laktozės toleravimo mėginys LTM, nors jis ir nėra labai tikslus. Specialistai daugiausia rekomenduoja laktozės toleravimo mėginį LTMU, tiriant galaktozės kiekį šlapime naudojant etanolį arba be jo. Dabar labai paplito genetiniai hipolaktazijos tyrimai, kurių rezultatų interpretacija vienareikšmiškesnė, palyginti su netiesioginiais laktazės aktyvumo nustatymo metodais. Taigi, diagnozuojant laktazės nepakankamumą, reikia iširti pacientą kompleksiai: įvertinti klinikinius simptomus, pieno ir jo produktų netoleravimo anamnezę, atlikti laktozės toleravimo mėginį, įvertinti, ar nėra ligų, galinčių sukelti antrinį laktazės nepakankamumą. Įtarus antrinę hipolaktaziją, reikia atlikti plonosios žarnos gleivinės histomorfologinį ištyrimą. Jei yra galimybė, būtų gerai atlikti genetinį tyrimą.

Mūsų tyrimas atskleidė, kad lietuvių populiacijoje pirminio laktazės nepakankamumo genotipo dažnis nesutampa su laktazės aktyvumo sumažėjimo fenotipu. Netoleruojančių laktozės asmenų grupėje pirminį laktazės nepakankamumą atspindinčių C/C₋₁₃₉₁₀ ir G/G₋₂₂₀₁₈ genotipų dažnis buvo tik 73,6 % ir 64,2 %, o genotipų C/T₋₁₃₉₁₀, T/T₋₁₃₉₁₀ ir G/A₋₂₂₀₁₈, A/A₋₂₂₀₁₈ siejamų su pakankamu laktazės aktyvumu, dažnis buvo atitinkamai 20,8 %, 5,7 % ir 30,2 %, 5,7 %. Nustatėme, kad genetinių metodų jautrumo reikšmės svyravo nuo 64 % (G/A₋₂₂₀₁₈ varianto genotipavimas) iki 74 % (C/T₋₁₃₉₁₀ varianto genotipavimas), o specifiskumas abiem atvejais buvo panašus – atitinkamai 63 % iki 64 %. Teigiamo rezultato prognozinės vertės buvo 50–51 %, o neigiamo rezultato – svyravo nuo 79,3 % iki 83,1 %.

2.11. Laktazės nepakankamumo poveikis sveikatai

Esant laktazės nepakankamumui, plonojoje žarnoje sutrinka pieno cukraus hidrolizė. Nehidrolizuota laktozė veikia kaip osmosinis veiksnys, sulaikantis plonosios žarnos spindyje vandenį ir traukiantis jį iš audinių, kartu kaupiasi ir natrio chloridas. Nehidrolizuota laktozė pagreitina žarnų peristaltiką ir sukelia viduriavimą. Toliau laktozė patenka į storąją žarną, kurioje bakterijos skaido ją į trumpųjų grandinių riebalų rūgštis ir vandenilį. Žarnos gleivinė absorbuoja dalį riebalų rūgščių. Likusieji laktozės fermentacijos produktai ir osmosinis nesuvirškintos laktozės poveikis gali sukelti virškinimo sutrikimo simptomų, kurių išraiškos intensyvumas priklauso nuo keletu veiksnių, svarbiausia – nuo fermento laktazės aktyvumo ir į žarnyną patekusio laktozės kiekio. Dažniausiai iki 5–18 g laktozės toleruojama be didesnio diskomforto [304].

Laktozės absorbavimo ir virškinimo sutrikimo dydis priklauso ir nuo skrandžio turinio pasišalinimo greičio, gastrointestinio tranzito, žarninės mikrofloros gebėjimo metabolizuoti laktozę. Ši gebėjimą vienodai lemia kiekybinė ir kokybinė žarnyno bakterinės mikrofloros sudėtis [305]. Kituose literatūros šaltiniuose [6] atkreipiamas dėmesys į tokius laktozės netoleravimo veiksnius kaip visceralinį jautrumą bei funkcinius žarnyno sutrikimus. Veiksniai, susiję su juntamąja ir centrine nervų sistema, modifikuoja patį simptomo suvokimą. Įvertinus minėtų veiksnių kompleksą ir jų tarpusavio sąveikas, galima suprasti, kodėl individualūs laktozės netoleravimo požymiai tokie skirtingi.

Neabsorbuotos laktozės sukeltas viduriavimo mechanizmas gerai ištirtas ir aprašytas. Angliavandeninės kilmės osmosinė perkrova sukelia skysčių ir elektrolitų sekreciją, kuri trunka tol, kol pasiekiamą osmosinę pusiausvyrą. Tai sukelia žarnų plėtimąsi, o galiausiai pagreitina substrato slinkimą plonąja žarna, kuris didėja proporcingai malabsorbcijos laipsniui. Pagreitėjęs turinio slinkimas sumažina hidrolizuojamos laktozės tūrį dėl sutrumpėjusio kontakto tarp laktozės ir fermento. Aprašyta atvejų, kai viduriavimas truko net keletą dienų, tai yra daug ilgiau, nei pati laktozė būna žarnyne. Mokslininkai iškėlė prielaidą, kad laktozinės kilmės viduriavimas vystosi pagal signalinę mechanizmą, analogišką kaip choleros ar enterotoksino poveikis virškinimo traktui. Hipotezės autoriai tyrinėjo įvairius toksinio laktozės poveikio aspektus [306].

Individų, patiriančių lėtinį abdominalinį diskomfortą, simptomai gali būti daugiau dėl pakitusio žarnyno judrumo ir neadekvačios skausminės reakcijos į žarnų tempimo reiškinius, nei dėl padidėjusio dujų tūrio. Pastebėta, kad pacientų, patiriančių pilvo pūtimo simptomus, ir kontrolinės grupės asmenų dujų tūrio patekimo į virškinimo traktą ir akumuliacijos greičiai yra vienodi. H. F. Hammer su kolegomis atliktame tyrime dujas įvertino kaip simptomų priežastį ir pastebėjo stiprų simptomų raišką ir vandenilio koncentracijos iškvėpiamame ore pakilimų ryšį [307].

Vandenilio gamyba žarnyne priklauso nuo jo turinio rūgštingumo. Laktuliozė, neskaidomas cukrus, patekusi į storąją žarną, sukuria rūgštinę terpę ir sumažina vandenilio ekskreciją [303, 478]. Toks pat efektas, lydymas simptomų intensyvumo silpnėjimo, pastebėtas ir po nuolatinio laktozės vartojimo periodo [309].

Iš nehidrolizuotos laktozės, patekusios į storąją žarną, hipoksijos sąlygomis susidaro vandenilio, anglies dioksido ir metano dujos bei kiti metabolitai. Iš jų, kaip potencialiai toksiškos, gali būti vertinamos šios medžiagos: acetaldehidai, acetoinai, butano 2,3-diolai, dimetilglioksalis (diacetalas), etanolis, formiatas, metanas, propano 1,3-diolai, indolai, skatolai ir trumpagrandinės riebalų rūgštys, lygiai kaip ir peptidų toksinai [310]. Susidariusios medžiagos pasižymi toksiniu poveikiu nervų sistemos žymėtųjų jonų kanalams. Laktozė pati savaime, kaip ir galaktozė, tampa toksinu, kai patenka į kraują [311].

Išgėrus pieno ar suvalgius pieno produktų asmenims, turintiems laktazės nepakankamumą, dažniausiai atsiranda virškinimo sutrikimo simptomų: pilvo skausmai, vidurių pūtimas ir gurguliavimas, viduriavimas [6, 312]. Vaikams ir paaugliams labiau būdinga pykinimas ir vėmimas. Jiems gali atsirasti dehidratacija, metabolinė acidozė, išsekimas, pablogėti apetitas [313]. Pykinimas, abdominalinio pilnumo, nevirškinimo jausmas dažniausiai kyla per 30 minučių išgėrus pieno, o pilvo skausmai, vidurių pūtimas ir gurguliavimas, daug rečiau viduriavimas kyla praėjus 1–2 val. po valgio. E. Gudmand-Hoyer [314] teigia, kad laktozės malabsorbcijos klinikai būdingos įvairūs dispepsinių sutrikimų deriniai.

Kai kurių autorių duomenimis [267, 315, 316], laktozė, be virškinimo trakto simptomų, sukelia daug sisteminių skundų: galvos skausmą, lengvą svaigimą, dėmesio koncentracijos stoką, trumpalaikės atminties sutrikimus, ryškų nuovargį, raumenų ir sąnarių skausmus, įvairias alergijos apraiškas, širdies ritmo sutrikimus, burnos gleivinės opėjimą. Simptomų raiška dažniai svyruoja nuo 20 % iki 100 % (11 lentelė). Į išvardytus simptomus dažnai neatsižvelgiama dėl jų atsitiktinio, epizodinio pobūdžio.

Apie sisteminius laktozės netoleravimo požymius prabilę mokslininkai mano, kad laktozės eliminavimas iš kasdienės mitybos sisteminio netoleravimo atveju gali visiškai pakeisti laktozės netoleruojančio paciento gyvenimo kokybę po dažnai metais trukusio diskomforto, klaidingos diagnozės ir galiausiai įtarimų dėl psichosomatinės ligos [267].

Svarbu pažymėti, kad laktozės netoleravimo klinikinių požymių pasireiškimo intensyvumas labai skiriasi. Šalyse, kur vyrauja didelis hipolaktazijos paplitimas, daug rečiau susiduriama su šios enzymopatijos klinikinių simptomų pasireiškimo problema, matyt, dėl tradiciškai labai mažo pieno produktų vartojimo. Šalyse, kur pieno produktai populiarūs, žmonės, turintys laktazės nepakankamumą, kenčia nuo pieno netoleravimo požymių [2].

11 lentelė. Laktozės netoleravimo simptomai [267]

Laktozės netoleravimo virškinimo sutrikimo simptomai		Laktozės netoleravimo sisteminiai simptomai	
Simptomai	Dažnis (%)	Simptomai	Dažnis (%)
Pilvo skausmas	100	Galvos skausmas ir lengvas svaigimas	86
Vidurių pūtimas	100	Pablogėjusi trumpalaikė atmintis ir dėmesio koncentracija	82
Gurguliavimas	100	Ilgalaikis stiprus nuovargis	63
Pagausėjęs dujų išsiskyrimas	100	Raumenų skausmai	71
Viduriavimas	70	Sąnarių skausmas ir (ar) sustingimas, patinimas	71
Vidurių užkietėjimas	30	Alergija (egzema, niežulys, rinitas, sinusitas, astma)	40
Pykinimas	78	Širdies ritmo sutrikimas	24
Vėmimas	78	Burnos gleivinės opelės	30
		Padažnėjęs šlapinimasis	< 20
		Gerklės skausmas	< 20

Laktozės netoleravimo simptomų intensyvumas priklauso nuo laktazės fermentinio aktyvumo sumažėjimo laipsnio [317], patenkančio į organizmą laktozės kiekio [318], išgerto pieno kaloringumo ir viskozinių savybių [319], kartu valgomo maisto [61, 160], fermentuotų maisto produktų, tokių kaip jogurtas, kurio sudėtyje yra egzogeninės laktazės (β galaktozidazės), vartojimo [6, 320], laktazės fermento farmakologinių pakaitalų ir maisto produktų su specialiai sumažintu laktozės kiekiu [6, 321], virškinimo trakto motorikos [317] kiekybinės ir kokybinės žarnyno mikrofloros sudėties [309, 322, 323], psichologinių veiksnių [324].

Svarbus hipolaktazijos klinikinių požymių pasireiškimo veiksnys – suvalgyto pieno cukraus kiekis. Kaip jau minėta, suaugusiems gana retai laktazės aktyvumas išnyksta visiškai, o dažniausiai jis sudaro 10 % naujagimių lygio. Taigi, suvalgius nedidelį pieno cukraus kiekį, pavyzdžiui, esantį svieste ar kai kuriuose fermentiniuose sūriuose, laktozės netoleravimo požymių gali ir nebūti. Antra vertus, kuo didesnis pieno cukraus kiekis bus suvalgytas, tuo sunkesnė bus hipolaktazijos klinika [314]. E. Gudmand-Hoyer [325] duomenimis, dispepsinius sutrikimus jautė 3 % ligonių, suvalgiusių 5 g laktozės, 75 % ligonių, suvalgiusių 10 g laktozės, ir 100 % asmenų, suvalgiusių 25 g pieno cukraus. Kai kurių asmenų, jautusių labai sunkius hipolaktazijos klinikinius požymius, laktazės aktyvumas nebuvo labai mažas, ir priešingai. Šis reiškinys kol kas nėra aiškus. Reikalingi tolesni tyrimai.

Hipolaktazijos klinika priklauso ir nuo to, ar pieno cukrus suvalgytas vienas ar patiekaluose. A. D. Newcomer [325, 326], tirdamas indėnus, turinčius hipolaktaziją, išsiaiškino, kad stiklinė pieno (12 g laktozės) sukelia laktozės netoleravimo požymius, o tas pats pieno kiekis, suvalgytas su kitu maistu, nesukelia.

Kai kurie autoriai [325, 327] teigia, kad dalis laktazės nepakankamumą turinčių žmonių ilginiui gali adaptuotis prie pieno cukraus. Manoma, kad vienas iš adaptacijos mechanizmų gali būti storosios žarnos mikrofloros sudėties, žarnos motorikos bei absorbcinių galimybių pokyčiai, nors tai dar ir neįrodyta. Taigi, pieno ir pieno cukraus netoleravimo klinikos pasireiškimo skirtumus lemia nevienodai individualiai sumažėjęs plomosios žarnos laktazės aktyvumas, suvalgyto pieno cukraus kiekis ir pavidalas, individualus jautrumas laktozei ir adaptacijos prie pieno cukraus dydis.

Laktozės netoleravimas atsiranda ir pacientams po dalinės gastrektomijos ir vagotomijos su piloroplastika [328]. Spartesnis skrandžio turinio pasišalinimas gali didinti laktozės kiekį, pasiekiantį žarnyną, ir netoleravimo simptomų intensyvumą.

Nustatyta, kad nėštumo metu laktozės toleravimas gerėja. Beveik pusei moterų, kurioms prieš gimdymą buvo diagnozuotas laktozės malbosrbavimas, 15-ą nėštumo savaitę laktazės fermentinis aktyvumas buvo pakankamas [329]. Kitame tyrime nustatytas pagerėjęs laktozės toleravimas iš karto po gimdymo. Manoma, kad tai nulemia sulėtėjęs žarnų turinio slinkimas ir žarnyno bakterijų pokyčiai dėl didesnio suvartojamo laktozės kiekio [330].

Virškinimo sutrikimų simptomų, atsiradusių dėl nepakankamo laktozės toleravimo, ryšys su stresogeniškais veiksniais nėra labai aiškus. Pastebėta, kad sergantiesiems dirgliosios žarnos sindromu ir patyrusiems ūmų stresą dažniausiai registruojami simptomai – pilvo skausmas ir viduriavimas, yra siejami su maisto pasažo pokyčiais virškinimo trakte [324].

Deja, nėra bendro sutarimo, ar dėl pieno virškinimo problemų atsiradę simptomai yra tokie pat laktozę toleruojantiems ir jos netoleruojantiems individams [331]. Laktazės fermentinis aktyvumas ir klinikinė laktozės netoleravimo išraiška nepasižymi aiškia tarpusavio koreliacija, o laktozės netoleravimo simptomų vertė hipolaktazijos diagnostikoje yra nevienareikšmė [332, 333]. Viena iš priežasčių yra ta, kad laktozės netoleravimo simptomus dažnai patiria asmenys, objektyviai turintys pakankamą laktazės fermentinį aktyvumą, arba priešingai – jų nepatiria mažą laktazės fermentinį aktyvumą turintys asmenys, vartodami maisto produktus, kuriuose laktozės kiekis nedidelis [418, 281].

Kita priežastis yra ta, kad laktozės netoleravimo simptomai yra labai nespecifiniai. Jie būdingi ir funkcinėms virškinimo trakto ligoms, pavyzdžiui, dirgliosios žarnos sindromui, funkciniam viduriavimui [334, 335]. Antai baltaodžių britų populiacijoje

laktazės fermentinio aktyvumo stokos dažnis yra mažiau nei 5 %, o dirgliosios žarnos sindromo varginamiems pacientams minėtas dažnis svyruoja nuo 8 % iki 74 % [336]. Vis dėlto kitų tyrimų duomenimis, laktozės malabsorbavimo dažnis sergančiųjų dirgliosios žarnos sindromu ir kontrolinėje populiacijos grupėse nesiskiria [337].

Atliekant laktozės absorbcijos mėginį su vandenilio dujų koncentracijos matavimu, pastebėta, kad laktozę absorbuojantys individai taip pat jaučia laktozės netoleravimo simptomus: pilvo pūtimą ir pagausėjusį dujų išsiskyrimą, kaip ir asmenys, kuriems laktazės aktyvumas yra sumažėjęs [12]. Tokius tyrimo rezultatus apibendrinami autoriai teigia, kad hipolaktazijos diagnozė negali būti grindžiama vien apklausos rezultatais ir kad dažnai pasitaiko klaidingo laktozės netoleravimo savidiagnozės atvejų.

Laktazės nepakankamumas ne visiems sukelia laktozės netoleravimo simptomus [338]. Literatūros duomenimis, laktozės netoleravimo simptomus patiria nuo 50 % iki 80 % laktozės malabsorbuotojų. Šį dažnį reikėtų vertinti įprastinės mitybos kontekste, nes remiantis mokslinių tyrimų duomenimis daugelis laktozės malabsorbuotojų toleruoja daugiau laktozės eksperimentiniuose tyrimuose nei kasdieniame gyvenime, kai varginantį virškinimo diskomfortą gali sukelti ar stiprinti ir kiti maiste esantys angliavandeniai [339, 254].

C. Barillas-Mury ir N. W. Solomons teigia, kad nuo 11 % iki 32 % pacientų, kuriems yra įvairios etiologijos laktazės nepakankamumas, gali nepatirti laktozės netoleravimo simptomų. Įdomu yra ir tai, kad pusei pacientų, kuriems atsiranda virškinimo sutrikimo simptomų išgėrus pieno, laktazės aktyvumas, nustatytas laktozės toleravimo mėginiu, yra normalus [340]. Atlikta keletas mokslinių tyrimų, vertinančių laktozės netoleravimo simptomus asmenims, kurie mano, kad netoleruoja laktozės. Paskyrus jiems pieno be laktozės ir įprasto pieno, nepastebėta laktozės netoleravimo simptomų (vidurių pūtimas, pagausėjęs dujų susidarymas, pilvo skausmas) atsiradimo skirtumo [281].

Kai kurie asmenys, turintys sumažėjusį laktazės aktyvumą, gali nejausti negalavimo požymių išgėrę pieno ar suvalgę pieno produktų. Laktozės toleravimas tokiems asmenims gali būti dėl pieno rūgšties padaugėjimo žarnyne ir dėl to pasikeitusios virškinimo trakto mikrofloros sudėties. Fermentuotų pieno produktų, pavyzdžiui, jogurto ar sūrio, sudėtyje yra mažiau laktozės, todėl žmonės, turinys laktazės nepakankamumą, gali juos vartoti ir išvengti nemalonių simptomų [153].

Labai įdomus, kol kas sunkiai paaiškinamas reiškinys – tai asmenų, kurių plonosios žarnos laktazės aktyvumas normalus, pieno cukraus netoleravimas: suvalgę po 50 g pieno cukraus blogai jautėsi 10 % ištirtų italų [120], 15 % austrų [116], 25 % lenkų [209], 7 % vokiečių [115] ir 24 % kinų [341].

Laktozės netoleravimo dažnis tarp asmenų, turinčių normalų laktazės aktyvumą, įvairiose etninėse grupėse svyruoja nuo 7 % iki 25 %. Manoma, kad taip atsitinka dėl

to, kad suvalgyto pieno cukraus kiekis viršija individo laktazės aktyvumo galimybes [326]. Deja, tai nepaaiškina laktozės netoleravimo dažnio skirtumų atskirose etninėse populiacijose. Laktozės toleravimo dažnis tarp laktazės nepakankamumą turinčių asmenų taip pat labai įvairus: italų populiacijoje – 30 % [120], austrų – 25 % [116], lenkų – 31 % [209], vengrų – 17 % [117], vokiečių – 30 % [115], kinų – 50 % [341].

E. Gudmand-Hoyer [325] teigia, kad atskirų etninių populiacijų atstovai, kuriems yra laktazės nepakankamumas, skirtingai prisitaiko prie pieno cukraus. Adaptacinės galimybės yra didelės gyventojų tų šalių, kuriose hipolaktazijos paplitimas yra didelis. Tai iliustruoja tyrimai, atlikti Pakistane ir Kinijoje.

Suaugusių žmonių pieno ir laktozės toleravimas priklauso nuo amžiaus. A. O. Johnson ir bendr. [282] duomenimis, tarp ištirtų 36–40 metų amžiaus gyventojų buvo dvigubai daugiau asmenų, netoleruojančių pieno, negu tarp 12–15 metų paauglių. Kai kurie autoriai [2, 342] tvirtina, kad kliniškai yra labai svarbūs laktozės netoleravimo padariniai – suaugusiųjų dirglios storosios žarnos sindromas ir vaikų pasikartojančių pilvo skausmų sindromas (angl. *recurrent abdominal pain* – RAP).

Dirglios storosios žarnos (DSŽ) sindromui, kaip ir hipolaktazijai, būdingi panašūs dispepsiniai skundai ir žarnyno motorikos sutrikimai. Peršasi išvada, kad laktazės nepakankamumas galėtų būti susijęs su DSŽ sindromu. Šią problemą tyrė daug mokslininkų [343–345]. Newcomer ir bendr. [346] nenustatė aiškios DSŽ sindromo priklausomybės nuo hipolaktazijos: tiek ligonių, sergančių DSŽ sindromu, tiek praktiškai sveikų kontrolinių asmenų grupėse laktazės nepakankamumo dažnis nesiskyrė. Vaikų pasikartojančių pilvo skausmų (PPS) sindromas labai panašus į suaugusiųjų DSŽ sindromą. Šios ligos etiologija neaiški. Manoma, kad vyrauja psichologinės ir psichosocialinės priežastys. T. Bayless ir bendr., R. Ceriani ir bendr. [347], Y. Bujanover ir bendr. [348] tyrimais įrodė, kad laktazės nepakankamumas yra vienas iš svarbiausių PPS sindromo priežasčių. Antra vertus, A. Wald ir bendr. [349] teigia, kad hipolaktazija neturi įtakos šiam sindromui.

F. Lifshitz ir bendr. [350] duomenimis, hipolaktazija kūdikiams ir vaikams gali sukelti sunkių komplikacijų: organizmo dehidraciją ir elektrolitų deficitą, metabolinę acidozę, svorio mažėjimą, nespecifinių bakterijų paplitimą plonojoje žarnoje. Tai gali sukelti kitų disacharidų ir monosacharidų netoleravimą, sepsį, padidėjusį jautrumą maisto baltymams.

Populiaciniais tyrimais D. Kalibatienė [166, 175] analizavo laktazės nepakankamumo kliniką. Gyventojams išdalintose anketose buvo pateikti klausimai apie virškinimo sutrikimus. Tiriamųjų klausta, kaip seniai buvo atsiradę dispepsiniai simptomai, su kuo siejo jų atsiradimo pradžią. Paaiškėjo, kad 1111 ištirtų gyventojų grupėje 778 asmenys (70 %) skundėsi virškinimo sutrikimais.

Svarbi buvo pieno ir jo produktų vartojimo ir toleravimo anamnezė. Analizuota, ar tiriamieji apskritai valgė pieno produktus, kokius ir kiek. Jei nevalgė, tai kodėl: nemėgo ar jautė nemalonius požymius pavalgę, kokius, kaip seniai. Pieną gerai toleravo 73 % ištirtų gyventojų. Tarp jų buvo 31 % asmenų, turinčių hipolaktaziją, ir 69 % – normalų laktazės aktyvumą. Taigi, vienas trečdalis gyventojų, turinčių laktazės nepakankamumą, gerai toleravo laktozę, esančią pieno produktuose.

Pieno netoleravo 57 % žmonių, turinčių normalų laktazės aktyvumą, ir 43 % – sumažėjusį. Tai, kad tarp suaugusių gyventojų, netoleruojančių pieno, gerokai daugiau yra žmonių, kurie turi laktazės nepakankamumą, rodytų, kad hipolaktazija yra viena iš pieno netoleravimo priežasčių, bet ne vienintelė. 57 % asmenų, turinčių normalų laktazės aktyvumą, taip pat negali vartoti pieno. Taigi, anamnezės duomenys apie pieno netoleravimą nedaug gali padėti diagnozuojant hipolaktaziją. Išanalizavus hipolaktazijos dažnio pasiskirstymą amžiaus grupėse (12 lentelė), nustatyta, kad netoleruojančių pieno jaunų gyventojų skaičius yra gana nedidelis (13 %), bet vyresniame amžiuje statistiškai reikšmingai padidėja, pasiekdamas 33 % 50–59 gyvenimo metais.

12 lentelė. Pieno toleravimas ir gyventojų amžius

Amžiaus grupės metais	Tiriamoji populiacija (n=1111)								P
	Gerai toleruojantys pieną				Blogai toleruojantys pieną				
	Iš viso		Laktazės malabsorbuotojai		Iš viso		Laktazės malabsorbuotojai		
16–24	181	87 %	57	31±3 %	26	13 %	8	31±9 %*	>0,05
25–39	171	74 %	54	32±4 %	59	26 %	25	42±6 %	>0,05
40–49	181	72 %	56	31±3 %	72	28 %	31	43±6 %	>0,05
50–59	159	67 %	49	31±4 %	79	33 %	36	46±6 %	<0,05
60–74	124	68 %	38	31±4 %	59	32 %	28	47±6 %	<0,05

Įdomu, kad tarp suaugusių gyventojų, gerai toleruojančių pieną, laktazės nepakankamumą turinčių asmenų dažnis yra gana pastovus visose amžiaus grupėse (31–32 %). Tarp gyventojų, blogai toleruojančių pieną, hipolaktazijos dažnis vyresniame amžiuje didėja nuo 31 % iki 47 %, nors skirtumas statistiškai nereikšmingas, matyt, dėl nepakankamai didelio žmonių skaičiaus kiekvienoje amžiaus grupėje. Tarp vyresnių kaip 50 metų žmonių, turinčių laktazės nepakankamumą, statistiškai reikšmingai daugiau yra blogai toleruojančiųjų pieną.

Atlikus LTM, 540 asmenims (67 %) buvo nustatytas normalus laktazės aktyvumas, 270 asmenims (33 %) – sumažėjęs. Laktazės nepakankamumo klinika išryškėja po laktozės absorbcijos mėginio. Kitą dieną po LTM išanalizuota 810 asmenų savijauta:

429 asmenys (53 %) jautėsi gerai, o 381 (47 %) – turėjo vienokių ar kitokių skundų. Blogai toleravusiųjų LTM mėginį grupėje 31 asmuo (8 %) pasijuto blogai iškart, tik išgėrę pieno cukraus vandens tirpalą (pykinimas, galvos skausmas, dažni atsirūgimai), 302 asmenys (79 %) – po 1–3 valandų ir 48 asmenys (13 %) – po 4–6 valandų. Dispepsiniai sutrikimai nuo jų atsiradimo pradžios truko iki 1 valandos 130-iai asmenų (34 %), iki 3 valandų – 187-iems asmenims (49 %), iki 6 valandų – 50-iai asmenų (13 %), iki 8 valandų – 14-ai asmenų (4 %).

Po laktozės toleravimo mėginio gerai besijautusių gyventojų grupėje buvo 34 asmenys, turintys laktazės nepakankamumą (8 %), ir 395 asmenys – normalų laktazės aktyvumą (92 %). 270-ies gyventojų su hipolaktazija grupėje 34 asmenys (13 %) neįautė laktozės netoleravimo požymių, o 540-ies asmenų su pakankamu laktazės aktyvumu grupėje tokių buvo 395 (73 %). Tyrimo rezultatai rodo, kad dalis žmonių, kurių pilnosios žarnos laktazės aktyvumas sumažėjęs, yra vienokiu ar kitokiu būdu prisitaikę prie šios būklės, antra vertus, toli gražu ne visi asmenys, kurių laktazės aktyvumas normalus, gerai toleruoja laktozę. Tiriant žmonių su laktazės nepakankamumu pieno cukraus toleravimo reiškinį toliau ir ieškant jo priežasčių, gal būtų galima rasti būdų padėti tiems hipolaktaziją turintiems žmonėms, kurie kenčia nuo šios enzimopatijos.

Blogai toleravusiųjų mėginį ištyrtyjų grupėje buvo 145 asmenys, kurių laktazės aktyvumas normalus (38 %), ir 236 (62 %) – sumažėjęs. Po mėginio iš 540-ies gyventojų, turinčių normalų laktazės aktyvumą, 145 asmenys (27 %) jautė pieno cukraus netoleravimo požymius, o iš 270-ies asmenų, turinčių laktazės nepakankamumą, tokių buvo 236 (87 %). Tai įdomus faktas, kurio paaiškinimo literatūroje kol kas nėra. Įvairių autorių pateikiami tokių asmenų skaičiai yra skirtingi. Aišku viena: kiekvienoje etninėje populiacijoje yra tam tikras jai būdingas dažnis laktozės netoleruojančių gyventojų, kurių laktazės aktyvumas normalus. Anamnezės duomenys apie pieno netoleravimą ir rezultatai apie tirtų gyventojų savijautą po laktozės absorbcijos mėginio pateikiami 13 lentelėje.

13 lentelė. Asmenų, turinčių normalų ir sumažėjusį laktazės aktyvumą, pieno ir laktozės toleravimas

Pieno toleravimas	Laktazės toleravimas	Tiriamoji populiacija (n=810)					
		Iš viso		Asmenys, turintys normalų laktazės aktyvumą		Asmenys, turintys laktazės nepakankamumą	
Blogas	Blogas	143	18 %	49	9 %	94	35 %
Blogas	Geras	50	6 %	50	9 %	0	0
Geras	Blogas	238	29 %	96	18 %	142	53 %
Geras	Geras	379	47 %	345	64 %	34	13 %

Įdomu pažymėti, kad 13 % asmenų, turinčių laktazės nepakankamumą, gerai toleravo ir pieną ir laktozę. Galima spėti, kad jų organizmas labai gerai adaptavosi prie šios enzimopatijos. Manoma, kad taip atsitinka dėl žarnyno peristaltikos sumažėjimo, dėl sulėtėjusio maisto pasišalinimo iš skrandžio, dėl storosios žarnos mikrofloros sudėties pakitimų, kai padaugėja bakterijų, sugebančių skaldyti laktozę. Sunku paaiškinti, kodėl 9 % asmenų, turinčių normalų laktazės aktyvumą, blogai toleravo laktozės absorbcijos mėginį ir pieną.

Po LTM išryškėję laktozės netoleravimo klinikiniai požymiai pateikiami 14 lentelėje. Nustatyta septyniolika laktozės netoleravimo požymių: vienuolika virškinimo sistemos sutrikimų ir šeši sisteminio pobūdžio simptomai. Dažniausiai po LTM vargino vidurių pūtimas (60 %), viduriavimas (51 %), vidurių gurguliavimas (38 %) ir skausmai žarnyne bei pilnumo, sunkumo jausmas (po 27 %). Lyginant laktozės netoleravimo klinikinį požymių dažnį tiriamųjų su normaliu ir sumažėjusiu laktazės aktyvumu grupėse, paaiškėjo, kad asmenims, turintiems laktazės nepakankamumą, statistiškai reikšmingai dažniau būdavo viduriavimas, vidurių gurguliavimas, skausmai žarnyne, silpnumas, gausus prakaitavimas. Taigi, šie simptomai yra būdingi hipolaktazijai.

14 lentelė. Laktozės netoleravimo klinikiniai požymiai

Laktozės netoleravimo požymiai	Tiriamoji populiacija (n-381)	
	n	%
Viduriavimas	196	51
Vidurių pūtimas	230	60
Vidurių gurguliavimas	146	38
Rėmuo	32	8
Pykinimas, vėmimas	57	15
Atsirūgimai, atpylimai	74	19
Pilnumo jausmas	102	27
Skausmai žarnyne	104	27
Skausmai epigastriume	32	8
Blogas skonis burnoje	49	13
Vidurių užkietėjimas	32	8
Galvos skausmai	25	7
Silpnumas	21	6
Gausus prakaitavimas	6	2
Odos paraudimas	4	1
Seilėtekis	3	1
Odos alergija	2	0,5

D. Kalibatienės duomenis [166, 175], laktazės nepakankamumo klinika daug platesnė ir įvairesnė, negu aprašoma literatūroje. Jos būdingiausi požymiai yra viduriavimas, vidurių gurguliavimas, skausmai žarnyne, silpnumas bei prakaitavimas, nors šie simptomai gali atsirasti po LTM mėginio ir asmenims, turintiems normalų laktazės aktyvumą, tik daug rečiau. Įdomu pabrėžti, kad literatūroje dažnai minimas meteorizmas kaip labai būdingas hipolaktazijai simptomas, mūsų duomenimis, vienodai dažnai būna ir laktozės absorbuotojams, ir malabsorbuotojams.

Literatūroje neaprašyti tokie laktazės nepakankamumo klinikiniai požymiai kaip silpnumas, gausus prakaitavimas, odos paraudimas, seilėtekis, galvos skausmai, kartumas, neskanumas burnoje, burnos džiūvimas. Tai rodo autonominės nervų sistemos reakciją į laktozę. Neaprašyta odos alerginių reakcijų bei kai kurių virškinimo sistemos sutrikimų (pilnumo, sunkumo jausmas, rėmuo, pykinimas, vėmimas, skausmai epigastriume ir vidurių užkietėjimas).

Analizuojant laktazės nepakankamumo klinikinių požymių tyrimų lietuvių populiacijoje rezultatus, reikia pabrėžti, kad palyginti didelė Lietuvos gyventojų dalis (apie 70 %) skundžiasi virškinimo sutrikimais, iš kurių 52 % asmenų dėl šių simptomų niekuomet nesikreipė į gydytojus. Pieną ir jo produktus reguliariai vartoja tik 51 % ištirtų Lietuvos suaugusių gyventojų. Suvalgius pieno ir jo produktų kyla įvairių nemalonių pojūčių ir dispepsinių sutrikimų 27 % suaugusių gyventojų. Pieno netoleravimas ne visuomet sutampa su plonosios žarnos laktazės aktyvumo sumažėjimu. Pieno toleravimas priklauso nuo gyventojų amžiaus. Diagnozuojant laktazės nepakankamumą negalima remtis anamnezės duomenimis apie pieno netoleravimą, ši informacija gali būti tik pagalbinė. Hipolaktazijos klinika yra labai įvairi ir plati, priklauso nuo tiriamojo asmens amžiaus bei suvartoto pieno cukraus kiekio ir pavidalo. Šiai enzimopatijai būdingi virškinimo sutrikimai ir sisteminio pobūdžio negalavimai.

Mokslinėje literatūroje randami pieno ir laktozės toleravimo rodikliai kiekvienoje etninėje populiacijoje yra skirtingi. Įdomu, kad lenkų ir lietuvių populiacijose yra panašus skaičius asmenų, turinčių pakankamą laktazės aktyvumą, bet netoleruojančių ir pieno, ir laktozės (atitinkamai 7 % ir 9 %), tarp italų tokių asmenų daug mažiau (3,8 %). Lenkų populiacijoje daugiau kaip pusė asmenų gerai toleruoja ir pieną, ir laktozę (56,3 %), lietuvių – 47 %, italų – 46,4 %.

Po laktozės toleravimo mėginio (LTM) blogai jautėsi lietuvių populiacijoje 47 % ištirtųjų (27 % LA ir 88 % LM); kinų – 44,8 % (14,6 % LA ir 49,6 % LM); pakistaniečių – 37,6 % (11 % LA ir 56,5 % LM); austrų – 27,3 % (15,3 % LA ir 75,0 % LM); vokiečių – 16,2 % (6,8 % LA ir 70,1 % LM). Lietuvių populiacijoje yra gerokai daugiau žmonių, netoleruojančių laktozės, palyginti su vokiečiais ir austrais, bet šis rodiklis panašus į pakistaniečių ir kinų. Netikėtai didelis, lyginant su kitomis etninėmis grupėmis, yra

skaičius lietuvių, turinčių pakankamą laktazės aktyvumą, bet netoleruojančių laktozės. Įdomu, kad po LTT mėginio gerai jautėsi tik 8 % lietuvių, 25 % austrų, 29,9 % vokiečių, 43,5 % pakistaniečių ir net 50,4 % kinų, kuriems yra laktazės nepakankamumas. Pagal pateiktus duomenis prie laktazės aktyvumo sumažėjimo mažiausiai prisitaike lietuviai, daugiausiai – kinai.

Po LTM dispepsiniai sutrikimai dėl padidėjusios dujų gamybos žarnyne atsiranda 8,6 % kinų (92 % LA ir 82 % LM), 33,8 % pakistaniečių (64,7 % LA ir 29,5 % LM), 71,5 % austrų (84,4 % LA ir 61,1 % LM), 52,2 % vokiečių (77,1 % LA ir 38,3 % LM) ir 60 % lietuvių (57 % LA ir 62 % LM). Šio simptomo dažnumas įvairiose etninėse populiacijose skirtingas ir visose, išskyrus lietuvius, jis dažniau pasitaiko žmonėms, turintiems laktazės nepakankamumą.

Po LTM viduriuoja 17 % kinų (7,7 % LA ir 17,9 % LM), 67,6 % pakistaniečių (35 % LA ir 70,1 % LM), 28,5 % austrų (15,5 % LA ir 38,9 % LM), 47,8 % vokiečių (2,9 % LA ir 61,7 % LM) ir 51 % lietuvių (37 % LA ir 61 % LM). Šis rodiklis didžiausias pakistaniečių, mažiausias kinų, o lietuvių ir vokiečių panašus. Visose etninėse grupėse viduriavimas po laktozės absorbcijos mėginio dažnesnis sumažėjusio laktazės aktyvumo žmonėms. Taigi būtent viduriavimas yra būdingas hipolaktazijai.

Ištyrėme laktozės netoleravimo simptomus 120 medicinos studentams. Po LTM užpildytą klausimyną grąžino 95 studentai (79 %). Laktazės nepakankamumo grupėje laktozės netoleravimo simptomus užregistravo 30 tiriamųjų (96,8 %). Laktazės persistavimo grupėje laktozės netoleravimo simptomus registravo 19 asmenų (82,6 %). Taigi, laktozės netoleravimo simptomų registravimo dažnis buvo atvirkščiai proporcingas laktazės aktyvumui. Simptomų raiška statistiškai patikimai dažnesnė mažą laktazės fermentinį aktyvumą turinčių asmenų pogrupyje ($\chi^2=8,154$; $df=2$; $p=0,017$) [177].

Apie laktozės netoleravimo simptomų intensyvumą buvo sprendžiama pagal balus, kuriais juos įvertino tyrimo dalyviai. Apskaičiuotas laktozės netoleravimo simptomų intensyvumas laktazės nepakankamumo ir laktazės persistavimo pogrupiuose. Laktazės nepakankamumo pogrupyje vidutinis rangas buvo lygus 63,69, laktazės persistavimo pogrupyje – 51,89. Laktozės netoleravimo simptomų vidutiniai rangai buvo atvirkščiai proporcingi laktazės aktyvumui. Simptomų raiškos intensyvumo skirtumai nevienodo laktazės aktyvumo pogrupiuose buvo statistiškai reikšmingi ($\chi^2=21,398$; $df=2$; $p=0,000$). Asmenų, turinčių laktazės nepakankamumą, laktozės netoleravimo simptomų įvertinimas balais buvo didesnis. Taigi, laktozės netoleravimo simptomai buvo dažnesni ir stipriau jaučiami tų tiriamųjų, kurių plonosios žarnos fermento aktyvumas yra mažas. Įvertinome laktozės netoleravimo atskirų simptomų intensyvumo raiškos skirtumus tam tikros laiko trukmės intervalais. Pastebėjome, kad stipriausiai laktozės netoleravimo simptomai buvo jaučiami 3, 4 ir 5–6 val. nuo tyrimo pradžios.

Į klausimus apie pieno vartojimą atsakė visi studentų tyrimo grupės dalyviai. Pieną teigė geriantys 98 (81,7 %) tiriamieji, iš jų kasdien nuolat pieną vartojo 20 (20,4 %) asmenų. Mažo laktazės aktyvumo pogrupyje pieną vartojo 30 (78,9 %) tiriamųjų, o laktazės persistavimo pogrupyje – 68 (82,9 %) asmenų. Pieno vartojimas ir laktazės aktyvumas nebuvo susiję požymiai ($\chi^2=0,275$; $df=1$; $p=0,6$). Dažnai ir retai vartojančių pieną ir jo produktus proporcijos buvo panašios laktazės nepakankamumo ir laktazės persistavimo pogrupiuose ($\chi^2=1,332$; $df=1$; $p=0,248$). Taigi, fenotipinis laktazės fermentinis aktyvumas nebuvo susijęs su pieno vartojimu.

D. Kalibatienė [166] ištyrė lietuvių vaikų virškinimo sutrikimus: iš 1252 Vilniaus miesto mokinių 733 vaikai (59 %) jautė dispepsinius sutrikimus, 112 vaikų (9 %) netoleravo pieno; gerai toleruojančiųjų pieną grupėje 63 vaikai (5 %) jo nevartoja, nes nemėgsta. Apibendrinus paaiškėjo, kad 175 vaikai (14 %) dėl vienokių ar kitokių priežasčių beveik negeria pieno.

LTMU būdu 540 vaikų (74 %) diagnozuotas normalus laktazės aktyvumas ir 193 (26 %) – sumažėjęs. Tik 36 % vaikų netoleravo pieno dėl laktazės nepakankamumo, likusieji jo netoleravo dėl kitų priežasčių. Iš vaikų, gerai toleruojančių pieną, 22 % turėjo laktazės nepakankamumą, iš suaugusiųjų tokių asmenų buvo 66,5 %. Skirtumas statistiškai reikšmingas. Atrodo, kad suaugusiųjų, turinčių laktazės nepakankamumą, organizmo adaptacinės savybės reaguojant į pieną daug mažesnės negu vaikų.

Iš blogai toleruojančių pieną vaikų grupės 64 % turėjo normalų laktazės aktyvumą, iš suaugusiųjų – 23 %, skirtumas statistiškai reikšmingas. Taigi, suaugusieji su laktazės persistavimu gerokai dažniau netoleruoja pieno negu vaikams.

Įvairiame amžiuje skirtingas skaičius vaikų netoleruoja pieno. 6–8 metų 5 % vaikų netoleruoja pieno ir vengia jo gerti. Šis skaičius auga iki 12 % 14–17 metų amžiuje. Tas didėjimas aiškiai susijęs su hipolaktazijos dažnėjimu. Vaikų, blogai toleruojančių pieną, grupėje hipolaktazijos dažnis, lyginant su populiacija, labai didelis: 25 % tarp 6–7 metų vaikų ir panašus išlieka visose amžiaus grupėse, skirtumas tarp grupių statistiškai nereikšmingas. Taigi pieno netoleravimo lietuvių vaikų populiacijoje dažnis yra apie 9 % ir pagal amžių svyruoja nuo 5 % 6–8 metų vaikų grupėje iki 12 % 14–17 metų paauglių grupėje.

Palyginome ištirtų suaugusiųjų ir vaikų laktazės nepakankamumo klinikinius simptomus. Išnagrinėjome 398 mokinių savijautą po LTMU. Tarp jų buvo 295 vaikai (74 %), turinčių normalų laktazės aktyvumą, ir 103 vaikai (26 %) – sumažėjusį. Po mėginio 302 vaikai (76 %) jautėsi gerai, o 96 vaikai (24 %) – blogai. Gerai besijautusiųjų grupėje buvo 268 vaikai su laktazės persistavimu (85 %) ir 44 vaikai su laktazės nepakankamumu (15 %). Blogai besijautusiųjų grupėje buvo 44 vaikai (39 %) su laktazės aktyvumo persistavimu ir 59 (61 %) – su sumažėjusiu.

Po laktozės toleravimo mėginio maždaug pusė ištirtų suaugusiųjų jautėsi gerai, o gerai besijautusių vaikų buvo statistiškai reikšmingai daugiau (76 %). Be to, po LTM jautėsi gerai kur kas daugiau vaikų nei suaugusiųjų, turinčių sumažėjusį laktazės aktyvumą. Matyt, vaikų organizmas daugiau prisitaikęs prie nehidrolizuotos laktozės poveikio.

Po LTT mėginio vaikams dažniausiai buvo pykinimas ir vėmimas (53 %), vidurių pūtimas (23 %), žarnyno skausmai (17 %). Suaugusiuosius dažniausiai vargino vidurių pūtimas (60 %), viduriavimas (51 %), vidurių gurguliavimas (38 %) (15 lentelė).

15 lentelė. Vaikų laktozės netoleravimo klinikiniai požymiai

Laktozės netoleravimo požymiai	Netoleruojantys laktozės vaikai						P
	Iš viso		Laktozės absorbuotojai		Laktozės malabsorbuotojai		
	n	%	n	%	n	%	
Pykinimas, vėmimas	55	53	23	52±8	33	56±6	>0,05
Vidurių pūtimas	24	23	7	16±5	17	29±6	>0,05
Žarnyno skausmai	17	17	5	11±5	12	21±5	>0,05
Viduriavimas	16	16	2	5±3	14	24±6	<0,01
Epigastriumo skausmai	9	9	4	9±4	5	8±4	>0,05

Po LTM vaikai jautė daug mažiau virškinimo sutrikimų nei suaugusieji, skirtingai nuo suaugusiųjų juos dažniausiai vargino pykinimas ir vėmimas. Tokių duomenų apie vaikų savijautą po laktozės absorbcijos mėginio literatūroje neradome. Lyginant su suaugusiaisiais, vaikams nepasireiškė sisteminio pobūdžio negalavimų – silpnumo, galvos skausmo, prakaitavimo, seilėtekio.

Apibendrinant reikia pabrėžti, kad 59 % 6–17 metų amžiaus Vilniaus miesto vaikų vargina virškinimo sutrikimai, kurie dažnėja nuo 33 % 6–7 metų vaikų grupėje iki 64 % 17 metų paauglių grupėje. Skirtingai nuo suaugusiųjų, vaikų dispepsinių sutrikimų paplitimas nepriklauso nuo plonosios žarnos laktazės aktyvumo.

Literatūroje yra duomenų, kad vaikų, kaip ir suaugusiųjų, pieno ir laktozės netoleravimas priklauso nuo daugelio veiksnių – amžiaus, genetikos, aplinkybių, infekcijos, praryto maisto su laktoze gabalo dydžio, pasišalinimo iš skrandžio laiko, intestinalinio tranzito trukmės, individualaus jautrumo, valgymo įpročių, mitybos ir kultūros tradicijų. Dažniausiai pieno netoleravimą vaikams sukelia pieno alergija ir laktazės nepakankamumas [187].

Mažai yra publikacijų apie vaikų savijautą po laktozės toleravimo mėginio. D. M. Paige ir bendr. [187] nustatė, kad mėginio laktozės netoleravimo požymiai

vienodai dažnai atsiradavo 1–7 metų vaikams, turintiems normalų ir sumažėjusį laktazės aktyvumą. Tarp vyresniųjų daug dažniau jautėsi blogai vaikai, turintys hipolaktaziją. Deja, šioje studijoje nepateikiami hipolaktazijos klinikiniai simptomai. Literatūroje daugiausia yra aprašyti įgimtos naujagimių alaktazijos klinikiniai simptomai, o vyresnių vaikų hipolaktazijos klinikinėms apraiškoms dėmesio skirta daug mažiau.

Nėra literatūroje tyrimų ir apie pieno toleravimo bei hipolaktazijos paplitimą pagal vaikų amžių. Mūsų duomenimis, vaikų ir jaunuolių iki 24 metų pieno toleravimas nepriklausė nuo hipolaktazijos dažnio, tarp vyresnių gyventojų nustatytas statistiškai patikimas šios enzimopatijos paplitimo ir pieno toleravimo ryšys.

Įvertinę suaugusiųjų ir vaikų hipolaktazijos klinikinius simptomus, priėjome prie išvados, kad dėl labai plataus jų spektro labai sunku klinikiniais tyrimo metodais diagnozuoti šią enzimopatiją. Diagnostikai padeda hipolaktazijos paplitimo atitinkamoje gyventojų etninėje ir amžiaus grupėje žinojimas, o tiksliausiai patvirtinama tik taikant šiuolaikinius laboratorinius ir instrumentinius jos nustatymo būdus. Tik pagalbinę reikšmę turi anamnezės duomenys apie pieno ir kitų maisto produktų, kuriuose yra pieno miltelių, toleravimą, tačiau tuo atveju reikia labai gerai žinoti maisto pramonėje gaminamų produktų technologiją ir receptūrą.

2.12. Antrinis laktazės nepakankamumas

Antrinis arba įgytas laktazės nepakankamumas atsiranda dėl uždegiminės kilmės ar kitos priežasties plonosios žarnos gleivinės epitelio pažeidimo. Tada sumažėja ne tik laktazės, bet ir kitų fermentų aktyvumas, pakinta gleivinės morfologija, nusilpsta šepetinio krašto funkcijos. Pasveikus fermentų aktyvumas paprastai atsikuria, laktazės taip pat, jei individui buvo genetiškai nulemtas laktazės persistavimas [6, 24, 516].

Laktazės nepakankamumas, atsiradęs dėl žarnyno gleivinės destruktinio pažeidimo, sukkelto ūminės virškinimo trakto ligos, bakterinės ar virusinės kilmės plonosios žarnos uždegimo, yra laikina būklė. Gebėjimas skaidyti laktozę atsinaujina išsisprensdus problemai, sukėlusiai sutrikimą, ar kai nutraukiamas medikamentinis gydymas [351]. Laktazės fermentinio aktyvumo visiško atsinaujinimo sąlyga yra nepažeistas pačių plonosios žarnos gleivinės ląstelių gebėjimas regeneruoti. Fermento sintezė vyksta vėl tik tuomet, kai visiškai atsinaujina gaurelio struktūra [59].

Laktazė, palyginti su kitomis disacharidazėmis, yra arčiausiai gleivinės epitelio gaurėlių viršūnės išsidėstęs fermentas. Todėl jo sintezė plonosios žarnos pažeidimo atveju nukenčia pirmaisiai ir stipriausiai. Kuo sunkesnis plonosios žarnos gleivinės pažeidimas, tuo didesnis laktazės fermentinio aktyvumo sumažėjimas [24, 352].

Prieš įsitvirtinant laktazės nepakankamumo paplitimo kultūrinei-istorinei teorijai ir daugelyje pasaulio regionų aptinkant labai didelį jo paplitimą, buvo manoma, kad šią enzymopatiją sukelia daug įvairių ligų ir kitų veiksnių. Manyta, kad gyventojų populiacijose vyrauja antrinis laktazės nepakankamumas, o pirminis yra retas, būdingas tik naujagimiams. Tokios nuomonės susiformavimą lėmė ir tai, kad tyrimai buvo atliekami neatsižvelgiant į gyventojų etninę priklausomybę ir kilmę. Pastarąjį dešimtmetį požiūris į šią problemą iš esmės pasikeitė. Paaiškėjo, kad ligos, negrįžtamai pažeidžiančios plonosios žarnos gleivinę, suaugusiems žmonėms yra gana retos, gerokai dažnesnė – pirminė hipolaktazija.

Antrinio laktazės nepakankamumo priežastys (16 lentelė) gali būti ūminės ir lėtinės virškinimo trakto ligos, įvairios kilmės daugiasisteminės ligos ar jatrogeninio poveikio nulemti plonosios žarnos pažeidimai [6, 95].

16 lentelė. Antrinio laktazės nepakankamumo priežastys [353]

Plonosios žarnos ligos	Sisteminės ligos	Jatrogeninės kilmės pažeidimai
ŽIV enteropatija	Karcinoido sindromas	Chemoterapija
Krono liga	Cistinė fibrozė	Gydymas kolchicinu, nesteroidiniais vaistais nuo uždegimo
Regioninis enteritas	Diabetinė gastropatija	Radiacinis enteritas
Celiakinė liga	Kvašiorkoro sindromas	Peroralinių antibiotikų sukeltas <i>Clostridium difficile</i> išvešėjimas
Viplio liga	Colingerio–Elisono sindromas	Chirurginiai virškinimo trakto vientisumo pažeidimai: plonosios žarnos rezekcija, gastroenterostomija
Karvės pieno proteininė enteropatija	Alkoholizmas	
Virusinis ar bakterinis, gastroenteritas		
Liambliozė, giardiazė ir kandidozė		

Antrinis laktazės nepakankamumas dėl plonosios žarnos gleivinės pažeidimo gali atsirasti bet kuriame amžiuje, tačiau ši būklė dažnesnė jaunesniems nei dvejų metų amžiaus vaikams. Tai susiję su daugeliu veiksnių, tarp kurių galima išskirti keletą: vaikų ypač didelį jautrumą žarnyno infekcijų sukėlėjams, mažesnę žarnyno rezervą, kuris priklauso nuo mažesnio žarnyno paviršiaus ploto, priklausomybę nuo pieno produktų kasdienėje mityboje [353].

Sergant celiakine liga, vaikų ir suaugusiųjų plonosios žarnos laktazės aktyvumas labai sumažėja. Celiakija sergantiems žmonėms begliuteninės dietos fone laktazės fermentinio aktyvumo atsinaujinimas vyksta lėtai. Esant ligos remisijai, visų disacharidų, tarp jų ir laktazės, aktyvumas padidėja tik iki 33–35 % normalaus dydžio [21].

Įdomu pažymėti, jog kartais laktazės nepakankamumas esti vienintelis celiakijos požymis [354]. S. C. Arya teigia, kad antrinę laktazės nepakankamumą gali sukelti rotavirusinė infekcija [355], tačiau A. Gardiner ir bendr. [356], ištyrę vaikus, sergančius gastroenteritu, sukeltu *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, patogeninių *Escherichia coli* bakterijų, rotavirusų, adenovirusų, nenustatė didesnio laktazės nepakankamumo dažnio sergančių vaikų grupėje. Pažymėtina, kad daugelyje darbų, nagrinėjančių antrinę laktazės nepakankamumą, nekreipiamas dėmesys į tiriamųjų etniškumą. Tokiu atveju nepriklausomai nuo ligos atsitiktinai gali susidaryti skirtingas pirminės hipolaktazijos dažnis ligonių ir kontrolinių asmenų grupėse.

Antrinis laktazės nepakankamumas yra santykinai mažai ištirtas, todėl duomenys apie šią patologinę būklę yra priešaringi. Vieni autoriai teigia, kad antrinė hipolaktazija yra dažna virškinimo trakto simptomų priežastis, kiti, priešingai, mano, kad ji reta [161]. Antrinis laktazės nepakankamumas įtariamas tuomet, kai prieš tai neturėjęs virškinimo sutrikimų asmuo, susirgęs uždegimine ar kitos etiologijos virškinimo trakto liga, pradeda jausti pieno netoleravimo požymius, o atlikus laktazės absorbavimo mėginį, konstatuojamas sumažėjęs laktazės fermentinis aktyvumas. Antrinio laktazės nepakankamumo diagnozei patvirtinti reikėtų atlikti tuščiosios žarnos gleivinės histomorfologinį ir disacharidazių aktyvumo tyrimą.

J. Hessels ir bendr. [357], siekdami įvertinti laktazės įsisavinimą, ištyrė dvylikapirštės žarnos distalinę dalį. Pacientams, kurių bioptatuose, gautoose fibrogastroduodenoskopinio tyrimo metu iš nusileidžiančios dvylikapirštės žarnos dalies, nustatyti plonosios žarnos gleivinės pokyčiai atitiko III^o arba trečio tipo destruktinį pažeidimą: sumažėjęs gaurelių ilgio ir kriptų gylio santykis (normos atveju 3:1 ir 5:1), hiperplazija ir intraepitelinė limfocitų pagausėjimas, LTM nustatytas laktazės aktyvumas buvo sumažėjęs 80 % atvejų. Autorių nuomone, laktazės fermentinio aktyvumo sumažėjimas dvylikapirštės žarnos distaliniuose segmentuose koreliuoja su mikrogaurelių atrofijos laipsniu. Taigi, panaudojant laktazės toreravimo mėginį ir tiesioginį laktazės fermentinio aktyvumo įvertinimą biopsinėje medžiagoje, gautoje iš viršutinės virškinimo trakto dalies, galima patvirtinti antrinės hipolaktazijos diagnozę.

Atsiradus naujesnėms laktazės nepakankamumo diagnostikos galimybėms, pastebėta, kad dalis teigiamų netiesioginio laktazės aktyvumo tyrimo mėginių (vandenilio dujų koncentracijos matavimas iškvepiamame ore) nesutampa su pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos genetinių žymenų tyrimo rezultatais. Išsamesnė tokių atvejų analizė atskleidė kitas virškinimo trakto ligas ir leido įtarti antrinę hipolaktazijos kilmę [12, 358].

Siekdami nustatyti antrinio laktazės nepakankamumo dažnį virškinimo sistemos ligomis sergančių ligonių grupėje, ištyrėme 473 asmenis, gydytus dviejų Vilniaus

miesto ligoninių gastroenterologijos skyriuose [166]. Pacientų amžius svyravo nuo 16 iki 73 metų, amžiaus vidurkis – $44,98 \pm 0,88$. Tarp jų buvo 264 moterys (56 %) ir 209 vyrai (44 %). Anketavimo būdu buvo nustatyta ligonių etninė priklausomybė iki antros kartos ir gimimo vieta. Tarp ištirtų ligonių vyravo lietuviai (71 %), antra pagal dydį etninė populiacija – lenkai (14 %), rusų buvo 5 %, kitų tautybių – 4 %. Laktazės nepakankamumasi diagnozuotas atliekant laktozės toleravimo mėginį.

Bendroje ištirtųjų populiacijoje 303 asmenims (64 %) diagnozuotas plonosios žarnos fermento laktazės persistavimas ir 170 (36 %) – laktazės fermentinio aktyvumo sumažėjimas. Abiejų grupių ligonių amžiaus vidurkiai buvo panašūs (atitinkamai $44,6 \pm 0,7$ ir $45,4 \pm 1,02$ metų). Nenustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo tarp hipolaktazijos paplitimo Lietuvos gyventojų populiacinėje grupėje (34 %) ir gastroenterologinių ligonių grupėje (36 %). Etninėse ligonių grupėse laktazės nepakankamumo dažnis pasiskirstė taip: 34 % lietuvių, 38 % lenkų ir 40 % kitų tautybių. Ligoninių etninėse grupėse laktazės nepakankamumo dažnis buvo toks pat kaip ir atitinkamose gyventojų populiacinio tyrimo etninėse grupėse, statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta.

Ištyrę laktazės aktyvumą, gavome šios enzimopatijos paplitimo sergant įvairiomis virškinimo sistemos ligomis vaizdą (17 lentelė).

17 lentelė. Virškinimo sistemos ligos ir laktazės nepakankamumas

Ligos	Ligoniai, sergantys lėtinėmis virškinimo sistemos ligomis			P
	n	Laktozės malabsorbuotojai	%	
Lėtinės skrandžio ligos (gastritas, gastroduodenitas, opaligė)	177	49	29*	> 0,05
Lėtinis pankreatitas	25	7	29	> 0,05
Tulžies akmenligė, cholecistitas	17	7	31	> 0,05
Lėtinis hepatitas, kepenų cirozė	34	6	19	> 0,05
Būklė po operacijų:				
skrandžio rezekcijos	16	4	25	> 0,05
cholecistektomijos	27	8	30	> 0,05

Laktazės nepakankamumo dažnis buvo panašus visose ligų grupėse ir statistiškai reikšmingai nesiskyrė nuo vidurkio (36 %), nustatyto visoje ištirtų gastroenterologinių ligonių populiacijoje. Skrandžio rezekcija taip pat neturėjo įtakos hipolaktazijos dažniui.

APIBENDRINIMAS. Literatūros duomenys apie laktazės nepakankamumo ryšį su virškinimo sistemos ligomis yra labai painūs ir priešaringi. Kol kas nėra pakankamai didelių, metodiškai tinkamai atliktų tyrimų šioje srityje. Mūsų nuomone, svarbiausias visų šių studijų metodinis trūkumas – nepaisymas tiriamų ligonių etniškumo. Literatūroje nepasisekė aptikti tyrimų, kur būtų pateikta ligonių etninė sudėtis ir virškinimo sistemos ligų paplitimas pagal etnines grupes.

Lietuvos gyventojų populiacinio tyrimo metu išanalizavę sergamumą virškinimo sistemos ligomis etninėse grupėse, nustatėme, kad daugiausia tokių ligonių buvo tarp lenkų (64 %) ir tarp kitų tautybių (totoriai, žydai ir kt.) gyventojų (58 %), mažiausiai – tarp lietuvių (42 %). Šiam sergamumo dažniui gali turėti įtakos hipolaktazijos paplitimo dydis atitinkamoje populiacijoje. Skirtingą virškinimo sistemos ligų paplitimą atskirose etninėse grupėse galbūt lemia ir kiti, kol kas neištirti veiksniai.

2.13. Laktazės nepakankamumo sąsajos su lėtinėmis ligomis

Pastarąjį dešimtmetį atliekama daug tyrimų, analizuojančių laktazės persistavimo / nepersistavimo genotipų sąsajas su įvairiomis lėtinėmis ligomis. Suomijos mokslininkų darbai suteikė galimybę naujai pažvelgti į paveldėto laktazės fermentinio aktyvumo tyrimus, įvertinti jo sąsajas su kitomis organizmo būsenomis, lėtinėmis ligomis, kurių patogenezėje svarbus vaidmuo atitenka kalciumui.

Didelėje studijoje, apėmusioje skirtingų etninių grupių tiriamuosius, pastebėtas su hipolaktazija siejamo C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo ryšys su padidėjusia tiesiosios žarnos vėžio rizika suomių populiacijoje, tačiau britų ir ispanų populiacijose šis ryšys neaptiktas [359]. Įvertintas laktazės fermentinio aktyvumo ryšys su kiaušidžių vėžiu. Buvo nustatyta, kad suomių moterų populiacijoje genetiškai nulemtas laktazės persistavimas gali būti siejamas su mažesne kiaušidžių karcinomos rizika. Kitose moterų populiacijose (švedų, lenkų) ryšio tarp C/T₋₁₃₉₁₀ genotipavimo rezultatų ir kiaušidžių karcinomos rizikos nepastebėta [360]. S. Tornainen ir bendr. [361] tyrė prostatos vėžio sąsajas su hipolaktazija. Pacientų grupės buvo sudarytos pagal laktazės persistavimą / nepersistavimą, remiantis C/T₋₁₃₉₁₀ genotipavimo duomenimis. Tiriamųjų grupėse reikšmingai skyrėsi suvartojamas laktazės kiekis, tačiau prostatos vėžio išsivystymo rizika jose buvo vienoda.

Suomių populiacijoje rizika sirgti I ar II tipo cukriniu diabetu taip pat nepriklausė nuo paveldėto C/C₋₁₃₉₁₀ ar C/T₋₁₃₉₁₀ ir T/T₋₁₃₉₁₀ genotipo [362]. Toje pačioje suomių populiacijoje nustatyta, kad C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo paveldėjimas didina šlaunies ir riešo osteoporozinių lūžių riziką vyresniame amžiuje [363].

Šiuo metu plačiai nagrinėjama pieno ir jo produktų vartojimo įtaka lėtinėms širdies kraujagyslių ligoms. Pasiūlyta keletas hipotezių, tiesiogiai siejančių padidėjusio sergamumo širdies kraujagyslių ligomis riziką su pieno vartojimu [364, 365]. Tačiau yra kitokių tyrimų rezultatų. Pavyzdžiui, Škotijoje atliktas prospektyvusis tyrimas nenustatė, kad pieno vartojimas turi sąsąją su padidėjusia mirtingumo nuo išeminės širdies ligos rizika [366].

Keleto pagrindinių tyrimų, vertinusių pieno vartojimo ir širdies kraujagyslių ligų riziką, apibendrinime teigiama, kad asmenų, negeriančių pieno ar vartojančių jo mažai, palyginti su tais, kurie geria daug pieno, rizika sirgti buvo tokia: išeminiu insultu – šansų santykis 0,83 (0,77–0,90), išemine širdies liga – 0,87 (0,74–1,03), abiem ligomis – 0,84 (0,78–0,90). Taigi, nepaisant pieno vartojimo įtakos cholesterolio kiekiui kraujyje, yra ir apsauginis pieno poveikis, pasireiškiantis sergant lėtinėmis kraujagyslių ligomis [367, 368].

Antihipertenzinis pieno poveikis stiprėja po jo fermentacijos naudojant įvairias bakterijų kultūras, o antihipertenzinis šio maisto produkto poveikis viršija terapinį mažų angiotenziną konvertuojančio fermento inhibitorių dozių poveikį [369, 370]. Šiuos rezultatus patvirtino ir kitas suomių mokslininkų atliktas tyrimas [371], kuriame registruotas rūgusio pieno, fermentuoto *Lactobacillus helveticus*, sukeltas ir sistolinio, ir diastolinio arterinio kraujospūdžio sumažėjimas, tačiau ne toks žymus, kaip įprastinio rūgpienio spaudimą mažinantis poveikis. Tačiau duomenų apie tai, ar organizmo individualus laktazės fermentinis aktyvumas yra susijęs su padidėjusiu arteriniu kraujospūdžiu, literatūroje nėra.

Ištyrėme sąsąjas tarp laktazės nepakankamumo ir arterinės hipertenzijos [176]. Paaiškėjo, kad 37–79 metų amžiaus Vilniaus miesto gyventojams, sergantiems lengvo ar vidutinio laipsnio arterine hipertenzija, hipolaktazijos dažnis buvo 37,1 %, o praktiškai sveikiems atsitiktinai atrinktiems to paties amžiaus įvairių šalies rajonų gyventojams – 35,3 %. Skirtumas statistiškai nereikšmingas. Taigi, darome prielaidą, kad nesunkios eigos arterinė hipertenzija nesusijusi su plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumu, tačiau šiam teiginiui visiškai įrodyti reikia gerokai didesnio tiriamųjų skaičiaus bei nuodugnesnio ne tik klinikinio, bet ir laboratorinio bei instrumentinio ištyrimo.

Moksliniai duomenys apie laktazės fermentinio aktyvumo įtaką kalcio absorbcijai yra prieštaringi. Viena, nesutariama, ar laktazės aktyvumo sumažėjimas trikdo kalcio absorbciją žarnyne ir dėl to mažiau šio mikroelemento patenka į organizmą, ar priešingai – laktazės fermentinis aktyvumas neturi įtakos kalcio absorbcijai [372]. Yra tyrimų, įrodančių, kad mažas laktazės fermentinis aktyvumas yra tiesiogiai susijęs su mažesnio kalcio kiekiu patekimu į organizmą [373]. Manoma, kad laktazės netoleravimas gali būti mažesnio pieno ir jo produktų suvartojimo priežastis [374], tačiau literatūroje

yra ir visiškai priešingų duomenų [375]. Griessen ir bendr. [372], F. H. Wirth ir bendr. [44] mano, kad kalcio pasisavinimas nepriklauso nuo laktazės aktyvumo. Taigi kol kas ši problema lieka neaiški ir neištirta.

Apskritai pripažįstama, kad laktozės netoleruojantys asmenys labai sumažina kalcio vartojimą, dėl to pablogėja kaulinio skeleto būklė [376, 377]. Tai patvirtino ir M. Di Stefano aptiktas kaulų mineralinio tankio sumažėjimas tik tiems asmenims, kurie ne tik netoleravo laktozės, bet ir buvo smarkiai sumažinę suvartojamo kalcio kiekį [378].

C/T₋₁₃₉₁₀ pakaitos, susijusios su laktazės nepakankamumu, genotipavimas suteikė galimybę naujai įvertinti hipolaktazijos ir kalcio absorbavimo ryšį. Suomų mokslininkai, atlikę kalcio absorbavimo žymenų tyrimą jauniems C/C₋₁₃₉₁₀ genotipo vyrams, nustatė, kad paratiroidinio hormono koncentracija tyrimo dalyvių kraujo serume buvo normali, taip pat kaulinio audinio rezorbcijos ir atsinaujinimo procesų pusiausvyrą nesutrikusi, o tai gali būti siejama tik su normaliu kalcio absorbavimu žarnyne [379]. Tiriant moteris genotipavimo būdu nustatyta hipolaktazija pomenopauziniu laikotarpiu, stroncio absorbavimo mėginio rezultatai taip pat atspindėjo įprastinį, nesutrikdytą kalcio absorbavimą [203].

Dažniausiai asmenys, turintys sumažėjusį laktazės aktyvumą, vengia vartoti pieną ir jo produktus. Mokslininkų nuomone, tokio pobūdžio maisto ribojimas gali sumažinti tam tikrų medžiagų, pavyzdžiui, kalcio ir fosforo, bei kai kurių vitaminų patekimą į organizmą, o tai gali turėti įtakos kaulų mineralinio tankio mažėjimui [378]. A. Carroccio ir bendr. tyrimas atskleidė, kad bendras dienos kalorijų kiekis nevienodu toleravimu laktozei pasižymintiems individams labiau nesiskyrė, tačiau suvartojamo kalcio kiekio skirtumai buvo dideli [203]. Antra vertus, atlikus lyginamąjį kalcio suvartojimo tyrimą asmenims, nevienodai toleruojantiems laktozę, nustatyta, kad daug mažesnę kalcio kiekį iš pieno gauna asmenys, turintys hipolaktaziją [380]. Taigi kol kas ši problema lieka neaiški ir kontroversiška.

Virškinimo trakto funkciniai sutrikimai ir laktazės nepakankamumas

Laktozė pagreitina laktozės malabsorbuotojų orocekalinį tranzitą, tačiau tokio laktozės poveikio nepavyko nustatyti asmenims su laktazės persistavimu. Manoma, kad šis reiškinys negali būti pagrįstas vien nesuskaidytos laktozės osmosinės perkrovos sukeltu žarnyno pertempimu. Spėjama, kad laktozė gali tiesiogiai paveikti vidinius žarnyno judrumo veiksnius [35].

Virškinimo trakto motorinė funkcija (VTMF) yra labai svarbi virškinimo proceso grandis. Dėl jos maistas skrandyje sumaišomas, susmulkinamas iki 0,1 mm skersmens

dalelių, paverčiamas koloidine mase, stumiamas tolyn link virškinimo liaukų, kurių išskyras jį hidrolizuoja. Motorikos greitis įvairiose vietose skirtingas: didžiausias stemplėje ir mažiausias storžarnėje. VTMF turi įtakos neurogeniniai veiksniai, gastrointestininiai hormonai, virškinimo trakto sienelių mechaninis ištempimas. Dažniausiai pasitaikantys VTMF sutrikimai – tai stemplės apatinio sfinkterio (SAS) nepakankamumas, gastroezofaginis (GE) ir duodenogastrinis (DG) refliuksai, skrandžio evakuacinės funkcijos pagreitėjimas ar sulėtėjimas, tulžies pūslės ir takų hiper- ir hipomotorinės diskinezijos, dirglios storosios žarnos sindromas [381]. Stemplės, skrandžio ir kitų organų disfunkcija gali atsirasti sergant gastritu, opalige, cholecistitu, pankreatitu. Neradome duomenų apie plonosios žarnos fermento laktazės nepakankamumo poveikį virškinimo trakto funkcijai [382].

D. Kalibatienė [166] ištyrė virškinimo trakto motorinės funkcijos sutrikimus 401 gastroenterologinio skyriaus ligoniui. Iš jų 226 ligoniams (56 %) buvo diagnozuoti tokie VTMF sutrikimai: skrandžio motorinės-evakuacinės funkcijos sutrikimai (6 %), gastroezofaginis (23 %) ir duodenogastrinis (47 %) refliuksai, stemplės apatinio sfinkterio nepakankamumas (29 %). Hipolaktazijos dažnis pasiskirstė taip: 44 % duodenogastrinis refliuksas, 39 % stemplės apatinio sfinkterio nepakankamumas, 42 % gastroezofaginis refliuksas, 31 % skrandžio funkcijos sutrikimo grupėse (dažnių skirtumai statistiškai nereikšmingi). Taigi, mūsų duomenimis, VTMF sutrikimų dažnis nepriklausė nuo suaugusių gastroenterologinių ligonių plonosios žarnos laktazės aktyvumo.

Kompleksiškai buvo ištirtos laktazės nepakankamumo ir virškinimo trakto motorinės funkcijos sutrikimų sąsajos vaikų populiacijoje [166]. 7–17 metų amžiaus ištirtų 160 vaikų grupėje iš 55 asmenų, nesirgusių virškinimo sistemos ligomis, 20-iai (37 %) diagnozuotas VTMF sutrikimas, o iš 105 gastroenterologinių ligonių tokių buvo 53 (51 %), skirtumas statistiškai nereikšmingas. Grupėje vaikų, turinčių tik VTMF sutrikimą, hipolaktazijos dažnis buvo 27 %, sergančiųjų virškinimo sistemos ligomis ir VTMF sutrikimais grupėje – 30 %. Hipolaktazijos paplitimas tarp sveikų (28 %) ir sergančių vaikų (30 %) buvo panašus, kaip ir tarp vaikų, sergančių (30 %) ir nesergančių (27 %) VTMF sutrikimais (statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta). Taigi, D. Kalibatienės tyrimo duomenimis, 7–17 metų amžiaus vaikams laktazės nepakankamumas nesusijęs su VTMF sutrikimais.

2.14. Laktazės nepakankamumo gydymas

Pirminio laktazės nepakankamumo apskritai nereikėtų gydyti, nes tai ne liga, o natūrali būseną. Žmonėms, turintiems laktazės nepakankamumą ir jaučiantiems laktazės netoleravimo požymius, reikia padėti prisitaikyti prie šios enzimopatijos. Pirma jiems

reikia paaiškinti, kad paprastai plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumas visai neišnyksta, o tik gerokai sumažėja – maždaug iki 10 % buvusio vaikystėje aktyvumo. Todėl, vartojant nedidelį pieno cukraus kiekį, pavyzdžiui, kai kurių rūšių fermentinius sūrius, sviestą, raugintus pieno produktus, galima išvengti laktozės netoleravimo simptomų. Laktazės nepakankamumo požymiai priklauso nuo pieno cukraus kiekio maiste. Jei pieno cukraus kiekis viršija plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumą, atsiranda laktozės netoleravimo klinikinių požymių. Kiekvienam individualiai reikėtų nusistatyti savo pieno ir jo produktų toleravimo ribą. Asmenims, turintiems laktazės nepakankamumą, reikėtų pasiūlyti įsidėmėti pieno cukraus kiekius dažniausiai perkaamuose maisto produktuose (18 lentelė).

18 lentelė. Laktozės kiekis maisto produktuose

[NUTTAB 2010 Online Searchable Database;

http://www.stevecarper.com/li/list_of_lactose_percentages.htm. Extensive lay lactose website]

Maisto produktai	Laktozės kiekis (%)
Išrūgos	39–78
Pieno milteliai	36–52
Kavos grietinėlė	35–55
Pienas, kondensuotas	10–16
Natūralus pienas (karvės, ožkos)	4–5
Pienas, kuriame sumažintas riebalų kiekis	4–5
Šokoladinis pienas	4
Grietinė	4
Grietinė su sumažintu riebalų kiekiu	4
Grietinė	4
Kefyras	2–4
Jogurtas	4
Jogurtas, kuriame sumažintas riebalų kiekis	2–7
Grietininiai ledai	3–8
Pasukos	3–5
Varškės sūris	1–3
Rikotos sūris	1–5
Mocarelos sūris	1–3
Fetos sūris	0,5
Ementalio sūris	0–3
Kiti fermentiniai sūriai	0,1–1
Sviestas	0,5–1

Įsidėmėtina, kad ne tik pienas, bet ir pieno milteliai labai plačiai vartojami maisto pramonėje virtų dešrų, dešrelių, sriubų, pudingų, košių koncentratų, makaronų, pyragų, tortų, saldainių ir kitų produktų gamybai. Žinotina, kad pienas geriau toleruojamas maisto produktuose negu grynas. Ilgiau virškinami produktai (riebalai, šokoladas, maisto skaidulos), vartojami kartu su pienu, sulėtina maisto pasišalinimą iš skrandžio ir sumažina laktozės netoleravimo požymius. Sunkiai virškinami komponentai maiste, pavyzdžiui, augalinės skaidulos, sumažina laktozės netoleravimo požymius, nes sulėtina maisto pasišalinimą iš skrandžio ir slinkimą plonąja žarna [383]. C. M. Lee ir C. Hardy [384] duomenimis, šokoladinis pienas labai pagerina laktozės virškinimą. Manoma, kad šokoladas lėtina maisto pasišalinimą iš skrandžio ir aktyvina plonosios žarnos laktazę.

Rekomenduojamas kulinarinis pieno ir jo produktų paruošimas: virimas, pavyzdžiui, virtinukų iš varškės gaminimas, kai dalis laktozės ištirpsta vandenyje. Laktazės nepakankamumo klinikiniai požymiai priklauso ir nuo maisto suvalgymo greičio. Pieno produktus patartina valgyti dažnai po truputį ir lėtai. Gerai toleruojami vis labiau plintantys adaptuoti maisto mišiniai, kuriuose esantys priedai sumažina neigiamą laktozės poveikį. Tai ryžių miltelių elektrolitinis tirpalas, kviečių ekstrakto ir pieno mišinys, sacharozės ir pieno mišinys ir pan.

Dauguma hipolaktaziją turinčių suaugusiųjų gerai pakelia tam tikrą pieno cukraus kiekį, suvartotą per aštuonias valandas, nors prieš tai, suvalgius tą patį kiekį iš karto, atsirasdavo laktozės netoleravimo požymių. Parenkant dietinį maitinimą, rekomenduojama pieno produktus išskirstyti visai dienai nedidelėmis porcijomis, nevalgyti grynų, o tik kartu su kitu maistu, vengti kondensuotų pieno produktų ir pieno miltelių. Be to, reikia prisiminti, kad kai kuriuose pieno produktuose (fermentuoti sūriai, sviestas ir kt.) laktozės yra labai mažai, todėl jų nereikėtų drausti valgyti [374]. Pirminės hipolaktazijos gydymo principai: laktozės kiekio maiste mažinimas ir alternatyvių maisto medžiagų, suteikiančių energijos ir baltymų, vartojimas; fermento pakaitinė terapija; kalcio ir D vitamino preparatų vartojimas.

Belaktoziai pieno produktai

Vienas iš dažniausių gydymo būdų – pieno cukraus kiekio mažinimas maiste, kartais iki belaktozių maisto produktų skyrimo. Pieno cukraus maiste mažinama individualiai, atsižvelgiant į laktozės netoleravimo laipsnį. Rekomenduojama keletas hipolaktazijos dietų: be gryno pieno, be pieno produktų ir griežta belaktozė dieta. Daugelis hipolaktaziją turinčių suaugusių žmonių gali išgerti be padarinių iki 100 ml pieno (apie 5 g laktozės), 1–7 metų vaikai – iki 0,5 g laktozės/kg svorio [374].

Dabar labai paplitę pieno produktai su mažu laktozės kiekiu. 1950 metais pirmą kartą buvo pasiūlyta panaudoti sintetinės laktazės preparatus pieno pramonėje, tačiau tik po plačių hipolaktazijos paplitimo tyrimų pasaulyje 7-ame ir 8-ame dešimtmetyje pradėjo vystytis belaktozių pieno produktų gamyba. Pieni komerciniu pavadinimu *Lactaid-milk* yra 70 % mažiau laktozės negu įprastame piene, o tą likusią galima dar papildomai hidrolizuoti įlašinus pagal instrukciją sintetinės laktazės preparato laktaido (*Lactaid*). *Lactaid* firmos pieno produktams priklauso kaimiški ir fermentiniai sūriai, kuriuose taip pat 70 % sumažinta laktozės, palyginti su tokios pat rūšies natūraliais produktais. Sintetinė laktazė *Lactaid* gaminama iš grybelio *Kluyveromyces lactis*. Įlašinus 5 lašus laktaido į litrą pieno, po 24 val. laikant šaldytuve hidrolizuojama 70 % laktozės, įlašinus 10 lašų – 100 %. Laktaidas gali būti dedamas į neriebių arba nugriebtą pieną, sausą pieną, kondensuotą pieną, kūdikių pieno mišinius, grietinę ir grietinėlę [385].

Gaminamos ir laktaido tabletės, kuriose yra 3 000 FCC (*Food Chemical Codex*) vienetų sintetinės laktazės. Vartojama nuo 1/2 iki 3 tablečių prieš kiekvieną pienišką maistą. Laktaido tabletes galima vartoti su kitais vaistais, kurių sudėtyje yra laktozės. Kitas sintetinės laktazės preparatas *Lactrase* gaminamas iš *Aspergillus oryzae* grybelių. Jis patvaresnis už *Lactaid*, veikia esant pH nuo 4,0 iki 8,0, termostabilus, efektyviau hidrolizuoja laktozę. Klinikiniai tyrimai [386, 387] parodė, kad 375–500 mg įdėtos į pieną laktrazės visiškai panaikina laktozės netoleravimo požymius. Vaikai, turintys laktazės nepakankamumą, labai gerai toleruoja pieną su hidrolizuota laktoze. Kai kurių autorių [372] duomenimis, vartojant hidrolizuotą pieną daug geresnis kalcio pasisavinimas negu vartojant belaktoziją pieną ir kalcio preparatus.

1970 metais pasirodė pirmieji komerciniai laktazės preparatai iš mielių. Tais pačiais metais Nyderlanduose ir Suomijoje buvo pagamintas pirmas belaktozis pieno produktas – nugriebto belaktozio pieno milteliai, Italijoje – ultrapasterizuotas belaktozis pienas. Šiandien belaktoziais pieno produktais prekiaujama beveik visose Vakarų Europos šalyse, JAV, Kanadoje, Argentinoje, Australijoje, Japonijoje, Malazijoje, Naujojoje Zelandijoje, tačiau rinka dar nepakankamai didelė, palyginti su hipolaktazijos paplitimu.

Kad ir kaip keista, bet belaktoziai pieno produktai mažai populiarūs tose šalyse, kur hipolaktazija yra dažna. Tačiau Suomijoje, kur tik 17 % gyventojų laktazės aktyvumas yra sumažėjęs, belaktozių produktų asortimentas rinkoje labai platus. Jis įvardytas HYLEA (*hydrolysed lactose*) produktais. HYLEA produktuose laktozės kiekis sumažinamas 80 %. Paprastai tai patenkina laktazės nepakankamumą turinčių gyventojų poreikius. Suomijos *Valio* bendrovė neseniai išvystė naują chromatografinį laktozės separacijos nuo pieno metodą. Vietoje laktozės įdedamas kitas cukrus, suteikiantis pieno produktui specifinį skonį. Tokie pieno produktai gali būti rekomenduojami cukriniu diabetu sergantiems ligoniams. *Valio* bendrovė dabar siūlo tokius belaktozius pieno

produktus: pieną, plaktą grietinėlę, sviestą, jogurtą, ledus, šokoladinį pieną, kaimišką ir fermentuotus sūrius, nugriebto pieno miltelius, margariną.

Kitose šalyse mažiausiai pagal tris metodikas pramoniniu būdu gaminami belaktoziai pieno produktai. Viena jų – Mailardo (*Maillard's*) metodas, pagal kurį vykdoma reakcija tarp laktozės ir pieno baltymų aminorūgščių. Sumažėja pieno baltymų biologinė vertė, pasikeičia pieno spalva, iš tokio pieno blogiau pasisavinamas kalcis ir magnis. Nyderlanduose ir Japonijoje taikoma Mailardo metodo modifikacija – laktozės piene imobilizacija. Šis metodas gana paprastas ir pigus, tačiau specialistų nerekomenduojamas dėl pieno kokybės pablogėjimo [374].

Populiariausias belaktozių pieno produktų gamybo būdas – sintetinės laktazės inkubacija pieno produktuose 20–24 val. esant 4 °C temperatūrai. Tokiu būdu hidrolizuojama apie 80–90 % pieno cukraus. Šiuo metu yra keturios sintetinės laktazės atmainos, pagaminamos iš dviejų rūšių mielių – *Kluyveromyces (Saccharomyces) lactis* ir *Kluyveromyces fragilis*, bei iš dviejų rūšių grybelių – *Aspergillus niger* ir *Aspergillus oryzae*. Preparatai iš grybelių veiklūs silpnai rūgštinėje terpėje ir pakilus temperatūrai iki 37 °C praranda apie 30 % savo aktyvumo. Preparatams iš mielių reikalinga neutrali terpė ir panaši temperatūra. Dar per mažai yra sintetinės laktazės rūšių lyginamųjų tyrimų, kad būtų galima pasakyti, kuris preparatas labiau tinkamas vienam ar kitam ligoniui. Žinoma tik tai, kad norint hidrolizuoti 90 % pieno cukraus, esančio 1 ltr pieno, reikia apie 0,25 g *Maxilact* LX 5000 arba 2 ml *Lactozyme* 3000 L, arba 2,6 g *Lactaid*, arba 0,64 g *Lactase* A, arba 0,4 g *Lactase* N.

1980 metais Danijoje išvystytas trečiasis metodas – gaminami belaktoziai pieno produktai pieno cukraus ultrafiltracijos būdu, pakeičiant jį maltodekstrinu. Šių pieno produktų biologinė vertė daug didesnė negu pagamintųjų pagal kitas technologijas. Maltodekstrinas apsaugo pieno baltymus nuo Mailardo reakcijos. Atrodo, kad šis belaktozių pieno produktų gaminimo būdas yra pažangiausias ir perspektyviausias [374].

Pakaitinė laktazės nepakankamumo terapija

Pastaraisiais metais išryškėjo dar viena laktozės netoleravimo gydymo taktika – vartoti geriamuosius sintetinės laktazės preparatus valgant pienišką maistą arba dėdant jų į patiekalus (substitucinė terapija). Toks būdas yra patogesnis, leidžia vartotojui nusistatyti individualią preparato dozę. Sintetinės laktazės preparatai gaminami iš bakterijų ar mielių β -galaktozidazių. Dažniausiai iš tokių preparatų vartojami *Lactaid* (tabletės arba tirpalas), *Lactrase*, *LactAce*, *DairyEase* ir *Lactrol*. *Lactaid* tirpalas įlašinamas (14 lašų į 250 ml pieno) prieš 12 valandų, kai numatyta gerti pieną. Tokiu būdu hidrolizuojama visa laktozė, o pieno skonis būna saldus dėl gliukozės. Laktozės kapsulės praryjamos valgant pienišką maistą [388].

F. C. Ramirez ir bendr. [389] palygino laktazės preparatų *Lactaid*, *Lactrase* ir *DairyEasy* efektyvumą. Tyrimas atskleidė, kad po laktozės toleravimo mėginio tik *Lactaid* gerokai sumažino išskvepiamo vandenilio kiekį, tačiau pieno cukraus netoleravimo požymių nesumažino. Antra vertus, *Lactrase* nors ir nesumažino vandenilio kiekio, tačiau sumažino skausmą ir vidurių pūtimą.

Probiotikų vartojimas

Probiotikai – gyvi mikroorganizmai, kurie, vartojami tinkamais kiekiais, naudingi vartotojo sveikatai (PSO, 2002). Dažniausiai naudojami probiotikai – įvairios *Lactobacillus* ir *Bifidobacterium* rūšys, tačiau gali būti naudojamos *Saccharomyces cerevisiae* mielės bei *E. coli* ir *Bacillus* kai kurios rūšys. Laktazės turintys probiotikai yra skirti laktozės virškinimui pagerinti asmenims, turintiems laktazės nepakankamumą. Žmonėms, sergantiems įvairiomis virškinimo trakto ligomis, tarp jų ir laktozės netoleravimu, kartais rekomenduojama valgyti pieno produktus su *Lactobacillus acidophilus* kultūromis (acidofilinis pienas ir kt.). Manoma, kad bakterijų gaminama laktazė žarnyne suskaldo maiste esantį pieno cukrų. Deja, daugelis medikų kol kas plačiau nepropaguoja tokių maisto produktų, nes jų gydymasis poveikis dar nepakankamai ištirtas, o efektyvumas neįrodytas. Nustatyta, kad jie nesumažina laktozės netoleravimo, dirglios storosios žarnos simptomų [346].

Jau seniai žinoma, kad šalyse, kuriose hipolaktazija labai paplitusi, itin populiarus fermentuotas pieno produktas jogurtas, nors jame laktozės yra beveik tiek pat kaip šviežiame piene. Jogurtas gaminamas inkubuojant piene *Lactobacillus bulgaricus* ir *Streptococcus thermophiles* bakterijas. Pastebėta, kad ligoniai, turintys laktazės nepakankamumą, geriau jį toleruoja negu paprastus pieno produktus. 1980 metais nustatyta, kad jogurte esančios bakterijos išskiria aktyvų fermentą laktazę, kuris žarnyne hidrolizuoja pieno cukrų. Jogurto buferinė terpė apsaugo bakterijas nuo pražūtingo skrandžio sulčių poveikio [390]. Nustatyta, kad vartojant jogurtą pagerėja sergančių viduriavimu vaikų sveikata, sumažėja laktozės netoleravimo požymiai [270]. Jogurto kaitinimas ar šaldymas sunaikina bakterijas, gaminančias laktazę. Laktazės kiekis sumažėja pridėjus į jogurtą gerinančių skonį medžiagų.

Kalcio preparatai

Nevartojant pieno produktų, Šiaurės Europos gyventojams gali sumažėti organizme kalcio, dėl to atsirasti osteoporozė, kartotis kaulų lūžiai. M. Di Stefano ir bendr. įrodė koreliaciją tarp kaulų tankio ir kalcio vartojimo sumažėjimo asmenims, turintiems hipolaktaziją [391]. R. Honkanen ir bendr. nustatė, kad suomių moterų su

laktazės nepakankamumu daug mažiau suvartodavo kalcio (570 mg/d.) negu moterys su laktazės persistavimu (850 mg/d.) ir joms kaulų, išskyrus kulkšnies, lūžiai pasitaikė 2,15 karto dažniau [392].

D. Infante ir bendr. tyrė 30 vaikų, 2–14 metų amžiaus, kuriems buvo sumažintas pieno ir jo produktų vartojimas dėl hipolaktazijos, pieno alergijos ar hipercholesterolemijos. Vidutiniškai su maistu jie gaudavo 270 mg kalcio per dieną. Po dvejų metų devyniems vaikams atsirado osteoporozė, o šešiams – osteopenija [393]. Taigi, gydant ilgesnį laiką griežta belaktoze dieta, rekomenduojama papildomai vartoti kalcio, nes europiečiams pienas yra pagrindinis šio elemento šaltinis. Papildomai šio elemento galima gauti vartojant daugiau maisto produktų, kuriuose yra daug kalcio – kopūstų, morkų, sojos pupelių, kiaušinių, žuvų ir kt. (19 lentelė).

Kalcio pasisavinimas organizme yra prastas ir nuo daug ko priklauso. Įtakos turi asmens amžius, virškinimo sistemos ypatumai, vienu kartu suvartojamo kalcio kiekis, maisto produktai, paros laikas ir kartu vartojami medikamentai. Suaugusiam žmogui per parą vidutiniškai reikia apie 1000 mg kalcio.

Įvairios kalcio druskos pasisavinamos skirtingai, pavyzdžiui, iš kalcio citrato organizmas gauna 21 %, o iš kalcio gliukonato – 9 % elementinio kalcio. Kalcio karbonatą blogiau pasisavina asmenys, kuriems yra sumažėjęs skrandžio sulčių rūgštingumas. Renkantis kalcio preparatus, svarbu atkreipti dėmesį, iš kokios druskos jis pagamintas, nes norint gauti tą pati kalcio kiekį, vieno preparato gali prireikti išgerti net 5–8 tabletes, o kito pakaktų daug mažiau. Rekomenduojami kalcio citrato preparatai dėl didelio jų biologinio aktyvumo. Kalcio citrato įsisavinimas nepriklauso nuo išskiriamo skrandžio rūgšties kiekio; gali būti vartojamas nevalgius, nes nesukelia skrandžio sutrikimų, neblokuoja geležies pasisavinimo. Kalcio preparatai vartojami valgio metu. Reikia prisiminti, kad kalcis 50 % sumažina geležies pasisavinimą iš maisto, todėl rekomenduojama vartoti kalcio preparatus kartu su maistu, kuriame mažai geležies, pavyzdžiui, pusryčių metu tam, kad išvengtume geležies stokos.

Rekomenduojamas kalcio kiekis turi būti apskaičiuojamas, įvertinus ir vartojančiojo kalcio preparatus mitybos įpročius. Pavyzdžiui, asmuo, visai nevalgantis pieno produktų, su kitais maisto produktais gauna apie 300 mg elementinio kalcio, o tai jau nepakanka organizmo kalcio poreikiams patenkinti. Kasdien saikingai pieno produktus vartojantis asmuo gauna apie 500 mg elementinio kalcio. Tai reiškia, kad kalcio poreikiai vos tenkinami ir padidėjus jo poreikiams (prakaituojant, viduriuojant, kraujuojant), bus naudojamos kalcio atsargos kauluose. Pieno produktus vartojantis asmuo su maistu gauna apie 800 mg elementinio kalcio. Kalcis ypač reikalingas moters organizmui, ypač nėštumo ir žindymo metu, taip pat klimakso ir poklimakteriniu periodu, kada organizme atsiranda kalcio apykaitos sutrikimų [374, 395].

19 lentelė. Maisto produktai, kuriuose yra daug kalcio [394]

Maisto produktai	Talpos matas	Kalcio kiekis (mg)
Pienas		
Pusiau nugriebtas pienas	stiklinė, 200 ml	240
Nugriebtas pienas	stiklinė, 200 ml	244
Nenugriebtas pienas	stiklinė, 200 ml	236
Sojos gėrimas, praturtintas kalciumu	stiklinė, 200 ml	178
Vaniliniai pieno ledai	75 g	75
Jogurtai ir grietinė		
Vaisinis jogurtas su sumažintu riebalų kiekiu	Indelis, 150 ml	210
Paprastas jogurtas su sumažintu riebalų kiekiu	Indelis, 150 ml	243
Grietinė	15 g	13
Sūriai		
Varškės sūris	112 g	142
Daniškas mėlynasis	40 g	195
Edamas	40 g	318
Čederis	40 g	296
Mocarela (šviežias)	56 g	203
Parmezanas (šviežias)	30 g	308
Daržovės		
Brokoliai (virti)	85 g	34
Garbanotasis kopūstas	95 g	143
Konservuotos pupelės	105 g	75
Žirneliai (virti)	90 g	41
Riešutai		
Migdolai	26 g	62
Lazdynų riešutai	20 g	28
Graikiniai riešutai	40 g	38
Sezamų sėklos	12 g	80
Žuvis		
Konservuotos aliejuje sardinės	100 g	500
Konservuota lašiša	100 g	91
Grūdinės kultūros		
Makaronai, virti	230 g	85
Ryžiai, virti	180 g	32
Balta duona	30 g	53
Rupių miltų duona	30 g	32
Vaisiai		
Abrikosai	160 g	117
Figos	220 g	506
Besėklės razinos	50 g	47
Apelsinai, nulupti	160 g	75

Kai kuriems asmenims: vaikams, paaugliams, maitinančioms motinoms, ligoniams, sergantiems osteoporoze, negalima uždrausti valgyti pieno produktų ilgesnį laiką. Vaikams, maitinamiems belaktoziais pieno produktais, sumažėja kalcio absorbcija plonojoje žarnoje, nes laktozė reikalinga šiam procesui. Pomenopauziniu laikotarpiu netoleruojančioms pieno moterims vystosi osteoporozė. Tai priežastys, kodėl belaktozės dietos nėra plačiai taikomos. Vietoje jų rekomenduojama skirti egzogeninės laktazės preparatų, sufermentuotų pieno produktų arba belaktozių maisto produktų, kuriuose laktozė pramoniniu būdu pakeičiama gliukoze.

D vitamino vartojimas

Asmenys, kurie valgo mažai pieno produktų, turėtų vartoti D vitaminą. C.M. Gordon ir bendr., ištyrę praktiškai sveikus Bostono suaugusius gyventojus, nustatė, kad 24 % asmenų trūksta D vitamino [396]. Grupėje asmenų, kurie vartojo daugiau pieno produktų ir multivitaminų, D vitamino lygis buvo didesnis. Su mažu D vitamino kiekiu siejosi tokie veiksniai kaip sulčių ir saldžiųjų gėrimų vartojimas, taip pat etniškumas (afroamerikiečiai). Taigi, asmenims, kurie mažai vartoja pieno produktų, ir sergantiems antriniu laktazės nepakankamumu, turi būti nustatomas D vitamino kiekis kraujyje. Jam sumažėjus, turi būti skiriami D vitamino preparatų.

Antrinio laktazės nepakankamumo gydymas

Sudėtingesnis yra antrinės hipolaktazijos gydymas [397]. Pirma, reikia pašalinti priežastį, sukėlusią plonosios žarnos gleivinės pažeidimą. Paprastai tai būna infekcija, apsinuodijimas maistu, baltymų deficitas ar radiacinis žarnyno pažeidimas. Papildomai taikoma kompleksinė korekcija dieta. Ligonio maiste gerokai sumažinama pieno cukraus, nes plonosios žarnos fermentas laktazė yra labai jautrus ir vienas pirmųjų reaguoja į žalingą poveikį. Po 3–4 savaičių plonosios žarnos gleivinė pamažu regeneruoja ir laktozės netoleravimo požymiai pradeda silpnėti.

Naujagimių ir kūdikių laktozės netoleravimas paprastai būna antrinis ir tik labai retai jį sukelia genetiniai sutrikimai – įgimta naujagimių alaktazija ir šeiminės laktozės netoleravimas. Sergant šiomis ligomis būtina visiškai pašalinti laktozę iš maisto, kitaip kūdikis gali žūti nuo išsekimo ir dehidracijos dėl gausaus viduriavimo. Sergant šeiminiu laktozės netoleravimu, pieno cukrus, pro skrandžio gleivinę patekęs į kraują, toksiškai veikia organizmą. Tokiais atvejais naujagimiai maitinami per zondą supilant pieną tiesiai į dvylikapirštę žarną, nes plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumas būna normalus.

Vaikams, turintiems antrinių laktazės nepakankamumą, paprastai kartu diagnozuojama ir proteininė enteropatija arba steatorėja. Antrinių laktazės nepakankamumą dažniausiai sukelia ūminis gastroenteritas, padidėjęs jautrumas maisto baltymams arba lėtinės žarnų ligos, kurios pažeidžia plonosios žarnos gleivinę. Vaikams, sergantiems antriniu laktazės nepakankamumu ir mitybos sutrikimu, iš pradžių siūloma taikyti mažai baltyminę (<1 g/kg svorio) ir mažai laktozinę (<0,5 g/kg svorio) dietą. Per savaitę po truputį didinami baltymo iki 4 g/kg svorio ir laktozės iki 1,2 g/kg svorio kiekiai maiste. Pieną siūloma skiesti ne vandeniu, o kviečių ekstraktu ar kruopų nuovirais, skirti fermentuotą pieną [398].

Laktozės netoleravimo, atsiradusio po skrandžio operacijų, gydymas turi savo ypatumų. Po skrandžio operacijų kartais labai pagreitėja maisto pasišalinimas iš skrandžio į plonąją žarną ir vystosi dempingo sindromas, ypač ligoniams, turintiems laktazės nepakankamumą. Dispepsiniai simptomai atsiranda, kai evakuacijos greitis viršija 10 ml pieno per min. Tokių ligonių savijauta pagerėja valgant maistą, turintį daug augalinių skaidulų ir mažai riebalų, vartojant vaistus, mažinančius žarnyno peristaltiką.

APIBENDRINIMAS. Pirminė hipolaktazija paprastai negydoma, jei nesukelia klinikinių laktozės netoleravimo požymių, arba gydoma mažai laktozės turinčia dieta, hidrolizuotais pieno produktais ar sintetinės laktazės preparatais. Sergant antriniu laktazės nepakankamumu, dietoterapija sudaro tik dalį kompleksinio pirminės ligos, sukėlusios šį sutrikimą, gydymo. Todėl labai svarbu tiksliai diagnozuoti ir atskirti pirminę hipolaktaziją nuo antrinės. Kai griežta belaktozė dieta neduoda norimo poveikio, reikėtų pagalvoti apie dvi galimybes – arba ligonis nesilaiko rekomenduotos dietos, arba jis serga antriniu laktazės nepakankamumu.

3.1. Celiakinės ligos apibrėžtis

Celiakinė liga (dar vadinama celiakine spru, celiakija, gliutenine enteropatija) – tai lėtinė autoimuninė liga, pasireiškianti gliuteno netoleravimu. Celiakinei ligai būdingas plonosios žarnos gleivinės pažeidimas, kurį sukelia maisto produktuose esantis baltymas gliutenas ir kuris praeina, nustojus valgyti tokius produktus [1].

Celiakinė liga (CL) apibūdinama virškinimo trakto simptomais (viduriavimu, svorio netekimu, steatorėja), kurie siejami su gliuteno turinčių javų (kviečių, miežių, rugių) produktų vartojimu. Bet kartais ši liga gali pasireikšti ir ne žarnyno kilmės požymiais (50 %), tokiais kaip anemija, osteoporozė, herpetiforminis dermatitas, neurologiniai sutrikimai ir kiti. Kartais CL nustatoma tik vykdant atrankinius pacientų, kurių šeimoje sirgta šia liga, tyrimus. Celiakinė liga diagnozuojama įvertinus specifinius pakitimus, randamus plonosios žarnos biopsinėje medžiagoje ir teigiamą reakciją į begliutenę dietą [2].

Celiakinė liga yra viena iš dažniausių ligų, sukeliančių antrinę plonosios žarnos fermentų disacharidazių, tarp jų ir laktazės, aktyvumo sumažėjimą, dėl to sutrinka maisto medžiagų absorbcija. Pagal Europos pediatriškos gastroenterologijos, hepatologijos ir mitybos sąjungos (angl. *European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* – ESPGHAN) kriterijus galima skirti tris gliuteninės enteropatijos formas [3].

Tai latentinė arba potenciali CL, kuriai būdingi CL antikūnai; tylioji (besimptomė) forma, kuriai būdingi CL antikūnai ir plonosios žarnos gleivinės gaurelių atrofija; simptominė forma, kuriai būdingi CL antikūnai, gaurelių atrofija ir klinikiniai simptomai. Jautrumo gliutenui simptomus sukelia gliuteno turinčių maisto produktų vartojimas. Virškinimo sutrikimo simptomai į begliutenę dietą dažniausiai reaguoja gana greitai, tačiau pakitimai plonosios žarnos gleivinėje gydantis dieta išnyksta tik per metus ar dar ilgesnį laiką. Į šią dietą geriau reaguoja jaunesni, prasčiau – senesni pacientai.

3.2. Celiakinės ligos paplitimas

Celiakinės ligos paplitimas siekia 0,5–1 % įvairiose pasaulio dalyse, išskyrus tas gyventojų populiacijas, kuriose labai daug arba labai mažai vartojama gliuteno turinčių maisto produktų. CL paplitimas pasaulio šalyse yra nevienodas. Jis priklauso nuo

genetinių ir aplinkos veiksnių, tokių kaip maitinimas motinos pienu, amžius, nuo kada pradėtas valgyti gliuteno turintis maistas, gliuteno kiekis maiste, įvairios infekcijos [4].

Ilgą laiką buvo manoma, kad CL daugiausia yra paplitusi baltodžių europiečių populiacijoje, tačiau dabar aiškėja, kad šios ligos dažnis panašus įvairiuose pasaulio regionuose. CL paplitimas atspindi senovės žemdirbių migracijos kelius. Manoma, kad CL atsiradimą paskatino žemdirbystės įsigalėjimas, kai pradėta auginti ir vartoti maistui javų grūdus. Iki tol žmonės valgė mėsą, vaisius ir daržoves. Tik prieš 10 000 metų Artimuosiuose Rytuose buvo pradėti kultivuoti laukiniai kviečiai ir miežiai. Gyvulių augintojų (piemenų) gyvenimo būdas keitėsi iš klajokliško į sėslų. Prieš 9000–4000 metų šie žmonės, ieškodami naujų žemdirbystės plotų, pradėjo plisti į Šiaurės Afriką ir Europą, ten tuokdamiesi su vietiniais gyventojais ir dalindamiesi genetinė informacija.

Dabar Europoje CL dažnis yra apie 1 %, jis yra šiek tiek didesnis Šiaurės Europos kraštuose. Skandinavijos šalyse, Airijoje ir Jungtinėje Karalystėje CL paplitimas siekia 1,5 %. Šiaurės Afrikos populiacijose CL paplitimas palyginti didelis, svyruoja nuo 0,28 % iki 5,6 % Saharawi populiacijoje, kurią sudaro arabai ir berberai, tai didžiausias žinomas CL dažnis. Alžyre cukriniu diabetu sergančių ligonių grupėje CL dažnis buvo 16,4 %. Šioje populiacijoje yra labai paplitęs DR3-DQ2 haplotipas.

Artimųjų ir Vidurinių Rytų regionuose CL paplitimas panašus kaip Europoje. Ištyrus CL žymenis kraujo donorų serume nustatyta, kad šios enzimopatijos dažnis yra Irane – 1 iš 166, Izraelyje – 1 iš 157, Sirijoje – 1 iš 62, Turkijoje – 1 iš 87 ištirtų asmenų. Šių šalių gyventojai yra vieni iš daugiausiai pasaulyje vartojančių maistui kviečių produktus (> 150 kg asmeniui per metus). Atrodo, kad CL paplitimas yra mažas Indonezijoje, Korėjoje, Filipinuose. Pietryčių Azijos kraštuose HLA-DQB1*02 haplotipo, susijusio su CL, paplitimas yra daugiau kaip 5 %, tačiau CL yra reta, nes gyventojų maiste vyrauja ryžiai [2].

Celiakinė liga dvigubai dažniau diagnozuojama moterims greičiausiai todėl, kad su CL susiję HLA haplotipai, DQ2/DQ8, dažnesni moterims nei vyrams (94 % ir 85 %). Be to, CL moterims dažniau nustatoma dar ir todėl, kad jos dažniau ir jaunesnio amžiaus kreipiasi į medikus. Vyresnio amžiaus pacientų populiacijoje naujų diagnozių tarp vyrų ir moterų skaičius susilygina. Negausioje pacientų populiacijoje, kurioje DQ2/DQ8 neigiamas, vyrų pasitaiko dažniau, o tik haplotipo DQ2 paveldėjimas lemia dažnesnį paveldėjimą dukterims. Rizika susirgti CL yra didesnė ligonių pirmos eilės giminaičiams (17 %), monozigotiniams dvyniams (75 %) ir broliams ar seserims, turintiems identišką HLA haplotipą (40 %). Svarbiausias susirgimo CL rizikos veiksnys yra pirmos eilės giminytė, ypač brolio ar sesers, su asmeniu, kuriam jau diagnozuota ši liga [5].

JAV Mineapolyje ištyrus CL dažnį tarp pirmos eilės giminaičių, tyrimo populiacijoje nustatyta 11 % šeimos narių, kurių genotipai buvo rizikingi: HLA-DQ2 daugiau

kaip 90 % atvejų, likusieji – HLA-DQ8. Maždaug pusei šių žmonių liga pasireiškė be pastebimų klinikinių simptomų, nors jų plonosios žarnos biopsijos mėginiuose buvo aptinkama didelių morfologinių pakitimų [6].

Celiakinės ligos dažnis didėja vyresniame amžiuje ir ypač tai pastebima senstančiose visuomenėse. Pagyvenusių žmonių celiakijos gausėjimas greičiausiai priklauso nuo to, kad anksčiau ji nebuvo diagnozuota. Jungtinėje Karalystėje sergamumas CL 45–76 metų amžiaus žmonių populiacijoje yra 1,2 %. Apie 20 % naujai diagnozuotų atvejų yra vyresniems nei 60 metų pacientams. Klinikinė šių pacientų ligos išraiška labai įvairi: nuo atipinės eigos iki nedidelių virškinimo sutrikimų ir anemijos. Tokie neryškūs simptomai galėjo nulemti vėlyvą ligos diagnozę [7].

Aštuoni procentai vyresnio amžiaus žmonių slaugos namuose ir ilgalaikės globos centruose serga su CL susijusiu plonosios žarnos bakteriniu kolonizavimu, kuris pasireiškia malabsorbcija ir viduriavimu. Tokie asmenys dažniausiai prastai pasisavina maistines medžiagas ir dažniau serga osteopenija. Be to, vyresnio amžiaus žmonėms, sergantiems CL, vis dažniau diagnozuojami neurologiniai sutrikimai, pavyzdžiui, demencija [8].

Ligos pradžia, kai ji diagnozuojama, yra dvimodulė: pirmasis pikas pastebimas 8–12 mėnesių amžiuje, antrasis registruojamas trečiajame arba ketvirtajame gyvenimo dešimtmetyje. Vis dėlto naujausių tyrimų rezultatai leidžia manyti, kad liga gali prasidėti ir vėliau, netgi senyvo amžiaus žmonėms [9].

3.3. Etiologija ir patogenezė

Celiakinė liga yra autoimuninio pobūdžio liga, kuria suserga genetiškai į ją linkę asmenys. Ląstelinį ir humoralinį imuninį atsaką aktyvuoja baltymo gliuteno, esančio kviečių, rugių, miežių ir ryžių grūduose, alkoholyje tirpstančios frakcijos – prolaminai, kviečiuose jie vadinami gliadinais, miežiuose ir ryžiuose jie vadinami hordeinu ir sekalinu. Ankstyvas imuninis atsakas sergant CL yra nukreiptas prieš keletą iš šių baltymų frakcijų.

Plonosios žarnos gleivinės pažeidimo mechanizmas

Po kontakto su gliutenu atsiranda imuniniai pokyčiai virškinimo trakte ir cirkuliuojančiuose organizmo skysčiuose. Suaktyvėję CD4H⁺ limfocitai skatina citokino γ interferono (IFN γ) išsiskyrimą. Prolaminai sukelia γ interferono mRNR kitimus CL pažeistoje gleivinėje. α -2 gliadino 33 aminorūgščių fragmentas (*33mer*) prasiskverbia pro tuščiosios žarnos enterocito šepetinio krašto membraną (angl. *BBM*). Neskaidytos ir suskaidytos *33mero* formos patenka į enterocitų vidų. Šį procesą skatina γ interferonas

(IFN γ). Perėję *BBM*, gliadinai sukelia Th-1 tipo uždegiminę reakciją. Gliadino peptido ir A gliadino peptido (P31-43) poveikis ląstelių linijų kultūroms ir plonosios žarnos biopsijos mėginių ląstelių pasėliams realizuojamas aktyvinant epidermio augimo veiksnio receptorių (EGFR), kai sulėtinama EGFR endocitozė. Gliadinas pasižymi imunogeniniu poveikiu, jis tiesiogiai veikia ląstelių linijų ir biopsijos mėginių kultūras per atskirus peptidus, pavyzdžiui A gliadiną (P31-43). Gliadino sukeltas EGFR endocitozės sulėtėjimas biopsijos mėginių kultūrose rodo, kad EGFR yra svarbus celiakinės ligos patogenezėje [10].

α -2 gliadino 33 aminorūgščių fragmentas yra svarbus uždegiminio proceso sukėlėjas. Pacientams, kurie serga aktyvia CL forma, atakuojantis *33meras* pereina į epitelio ląsteles, o kartu pasireiškia ir *33mero* nepakankamas suskaidymas pernešant. Organizme susikaupia kur kas daugiau poliarizuotų Th-1 ląstelių, gaminančių didelius γ interferono (IFN γ) kiekius. Žarnyno gleivinėje aptinkama T-bet, kuris yra T-box transkripcijos veiksnių grupės elementas. Jo randama CD4⁺T ir CD8⁺T ląstelėse. IL-21 interleukino randama aktyvintose CD4⁺T ląstelėse ir T ląstelėse natūraliose žudikėse (NKT ląstelės). IL-21 interleukinas reguliuoja citokinų gamybą T ląstelių pogrupiuose. Be to, IL-21 didina Stat4 ir T-bet raišką ir stimuliuoja IFN γ gamybą T ląstelėse. CL pacientų dvylikapirštės gleivinės biopsijos mėginiuose randami padidėję IL-21 RNR kiekiai, o IL-21 neutralizavimas gerokai sumažina peptinę tripsininę ir virškinimo sukeltą IL-21 raišką [11].

Asmenų, kurie turi genetiškai nulemtą polinkį sirgti CL, organizme gliadinas sąveikauja su žarnyno gleivinės ląstelėmis ir gleivinėje padaugėja intraepitelininių limfocitų (CD8+), eozinofilų, plazminių ląstelių, gaminančių IgA, IgG ir IgM, atsiranda aktyvintų makrofagų. Intraepiteliniai limfocitai ir eozinofilai infiltruoja savąją plokštelę (lot. *lamina propria*), sukelia kriptų hiperplaziją ir gaurelių atrofiją. Savojoje plokštelėje aptinkami gliadinui specifiniai T limfocitai (CD4+), ant kurių nustatoma padidėjusi adhezijos molekulių (ICAM-I, LFA-I) raiška [12].

Gliadinas sukelia tarpenterocitinių glaudžiųjų rūgščių (TJs) irimą. Gliadino peptidai, 2a gliadino 20 aminorūgščių fragmentas (*20meras*), jungiasi prie chemokino receptoriaus CXCR3. Šis susijungimas sukelia nuo MyD88 priklausomo zonulino išsiskyrimą. Zonulino atsipalaidavimas padidina žarnyno sienelės pralaidumą. Žarnyno sienelės pralaidumo padidėjimas pastebimas dar iki kliniškai pasireiškiant CL. Net laikantis begliutenės dietos, padidėjęs žarnyno sienelių pralaidumas ne visada normalizuojasi [13].

Kitas svarbus CL patogenezės aspektas priklauso nuo žarnyno mikrofloros, kuri gali vaidinti ir lemiamą vaidmenį vystantis ligos klinikiniam vaizdai. Viename tyrime įrodyta, kad CL pacientų žarnyne ant gleivinės gyvenančių mikrobu, ypač lazdelinių

bakterijų, pagausėjimas galėjo būti vienas iš veiksnių, sukėlusių vadinamąją celiakinės ligos epidemiją tarp jaunesnių nei dveji metai Švedijos vaikų.

Kitoje studijoje buvo ištirti CL pacientų ir šia enzymopatija nesergančių asmenų plonosios žarnos gleivinės biopsijos mėginiai. Nustatyta, kad IL-15 interleukino receptoriaus α mRNR raiška CL pacientų dvylikapirštės žarnos biopsijos mėginiuose buvo didesnė nei sveikų asmenų, nepriklausomai nuo to, ar sergantieji laikėsi begliutenės dietos, ar ne. Sergant CL, IL-15 interleukinas sukelia intensyvią imuninį atsaką, nitritų ir IFN γ produkciją [14].

Celiakinės ligos genetiniai veiksniai

Celiakinė liga yra glaudžiai susijusi su pagrindinio audinių suderinamumo komplekso (MHC) genais, ypač su šeštojoje chromosomoje esančiais žmogaus leukocitų HLA sistemos antigenus koduojančiais genais. CL siejama su HLA-DQ2 ir HLA-DQ8 haplotipais. Sveikų žmonių populiacijoje šių HLA haplotipų pasiskirstymas yra nevienodas, tuo paaiškinamas ir CL skirtingas paplitimas etninėse grupėse. Naujausi tyrimai įrodo, kad CL patogenezėje dalyvauja ir ne HLA genai, formuojantys T ląstelių atsaką. Tai T ląstelių receptorių genai, kontroliuojantys citokinų ar jų receptorių sintezę genai, dalyvaujantys peptidų gamyboje ir jų pernašos ląstelės viduje genai. Gliutene yra specifinių peptidinių sekų, susidedančių tik iš prie HLA-DQ2 arba HLA-DQ8 besijungiančių elementų. Apie 40 % CL paveldimumo nulemia leukocitų antigenų HLA-DQ2 ir HLA-DQ8 heterodimerai. HLA-DQ2 ir HLA-DQ8 molekulės yra būtinos CL vystymuisi, tačiau vien jų nepakanka, kad liga pasireikštų fenotipiškai. HLA žymenys paaiškina tik apie 40 % CL paveldimumo rizikos. Tai reiškia, kad paveldimumui svarbūs ir kiti genai. Tarp jų gali būti ir genetinės 19 chromosomos bei miozino IXB geno (MYO9B) variacijos [15].

Su celiakine liga siejamos HLA-DQ molekulės prisijungia ir supažindina specifinio antigeno T ląsteles žarnyno gleivinėje su gliuteno peptidinėmis sekomis, sukeldamos T ląstelių proliferaciją ir citokinų sekreciją. Vertinant 2 klasės antigenus nustatyta, kad nedidelis CL pacientų procentas DQ-2 neturi, bet turi DR4 ir DQ8 haplotipus. Jei turimos dvi DQB1*02 kopijos, tai siejama su dar didesne celiakijos rizika, tačiau jos nulemia ankstyvesnės ligos pradžios ar sunkesnės eigos. Tai rodo, kad DQB1*02 alelio kopijų skaičiaus ištyrimas gali padėti suskirstyti pacientus į rizikos grupes [16].

Dvynių tyrimuose, kuriuose celiakinė liga buvo diagnozuota pagal vieno iš dvynių plonosios žarnos gleivinės biopsinės medžiagos ir serologinių žymenų tyrimo duomenis, buvo nustatyta, kad kumuliacinė tikimybė per penkerius metus susirgti simptomine arba latentine CL buvo didelė: monozigotinėse ir dizigotinėse porose atitinkamai 70 % ir 9 %. Genetinių veiksnių svarbą celiakinės ligos patogenezėje įrodo tai, kad CL serga 10 % ligo pirmos eilės giminaičių, 30 % HLA požūriui identiškų brolių ir

seserų ir 70 % antrųjų monozygotinių dvynių. Broliai ar seserys, turintys tą patį HLA haplotipą, labiau rizikuoja susirgti GE nei broliai ar seserys apskritai [17].

Italijoje atlikto tyrimo [18] metu nustatyta, jog vaikų, jau sergančių CL, 10 % brolių ir seserų buvo bendra rizika susirgti CL, tačiau skaičiavimai svyravo 0,1–29 % intervale, priklausomai nuo tiriamųjų, tėvų ir brolių ar seserų HLA-DQ haplotipo. 40 % brolių ir seserų CL rizika buvo mažesnė nei 1 %, 30 % brolių ar seserų rizika buvo nuo 1 iki 10 %, o likusių 30 % brolių ir seserų rizika buvo didesnė nei 25 %. Taigi, tėvams galima suteikti informacijos, kokia rizika susirgti CL kyla antram vaikui, jei pirmasis jau serga. Toks CL rizikos įvertinimas gali praversti anksti nustatant diagnozę ir skiriant gydymą, taip pat organizuojant stebėjimą priklausomai nuo rizikos grupės.

Dvigubas DR3 kiekis (dažnai su DQ2) siejamas su dar didesne celiakinės ligos išsivystymo tikimybe. HLA genotipavimas pripažįstamas naudingu, kai reikia patikrinti CL riziką ligonių šeimos nariams arba žmonėms, kuriems dėl kitų ligų, pavyzdžiui, Ternerio ar Dauno sindromo, CL rizika yra padidėjusi [19].

Naudojant genetinių asociacijų analizę ir VNP tyrimus britų ir olandų populiacijose, nustatyti su celiakinės ligos diagnoze siejami glaudžiujų jungčių pralaidumą lemiančių genų KRD 3 (2SNP) ir MAGI 2 (2SNP) pakitimai [20].

Negydytų CL pacientų žarnyno gleivinėje aptinkamas padidėjęs aktyvintų CD8+T ląstelių, kuriuose yra padidėjęs B granzimo (GrB) granulių kiekis, taip pat kaip ir padidėjusi Fas ligando (FasL) raiška. CD8+T ląstelių citotoksiškumas pasireiškia CL pacientų žarnyno gleivinėje, enterocitų žuvimas medijuojamas per Fas ir FasL. Sąveika su gliadinu per šį CD8+T ląstelių medijuotą atsaką, pasireiškiantį per TCR/HLA I klasės molekules, sukelia enterocitų apoptozę [21].

Nuo HLA nepriklausomai genetinei celiakinės ligos rizikai priskiriamos keturių ar timai susijusių chromosomos 4q27 genų variacijos. Jos aptinkamos srityje, susijusioje su IL2, IL21, TENR ir K1AA1109 genais. Be to, celiakinei ligai įtakos turinčių imuninių genų raiškos bendrieji variantai nustatyti ir antros kartos viso genomo asociacijų tyrimuose [22].

Genetiniais tyrimais neseniai nustatyti ir devyni ne HLA lokusai, kurie irgi svarbūs celiakinės ligos patogenezėje. Kartu egzistuojantys HLA ir ne HLA rizikos genotipai padidina CL diagnozavimo jautrumą 6,2 %, palyginti su atvejais, kai identifikacijai tiriamas tik HLA genotipas [23].

Celiakinės ligos serologiniai žymenys

CL pacientų plonosios žarnos gleivinės histologiniai pokyčiai nėra patognomoniniai šiai ligai, todėl svarbų vaidmenį nustatant ir detalizuojant celiakinės ligos diagnozę atlieka serologiniai tyrimai. Sergančiųjų CL kraujo serume aptinkami audinių

transglutaminazės tTG ir emdomiziumo (EMA) antikūnai. Antikūnų kiekiai sumažėja arba išnyksta laikantis begliutenės dietos. tTG antikūnų tyrimai dažniausiai atliekami pagal dominuojantį antigeną, nustatytą atliekant EMA tyrimą. Vis dėlto tTG tyrimai yra patikimesni ir labiau atkartojami, tai priklauso nuo to, kad EMA nustatomi atliekant kokybinį tyrimą, o tTG – kiekybinį. Nustatomi ir deamininto gliadino peptido (DGP) antikūnai. Asmenims, kuriems įtariama celiakinė liga, tTG ir deamininto gliadino peptido (DGP) antikūnai kompleksiskai nustatomi multiplexiniu tyrimu – taip įmanoma įvertinti visą antikūnų fenotipą. tTG antikūnų tyrimo jautrumas yra 98 %, specifiškumas – 96 %. EMA antikūnų specifiškumas net 100 %, o jautrumas viršija 90 % [24].

Šiuo metu serologinių tyrimų galimybės gerėja. Jau galima įsigyti paprastą, gydytojo kabinetui skirtą komercinį tTG antikūnų tyrimo rinkinį. Kraujo lašo IgA klasės tTG antikūnų tyrimas pasižymi 90 % jautrumu ir 95 % specifiškumu [25].

N. R. Lewis ir B. B. Scott metaanalizės duomenimis, tTG antikūnų tyrimo rezultatai geresni nei DGP antikūnų: jo jautrumas didesnis 5,2 % (93,0 %, palyginti su 87,8 %), specifiškumas – 2,4 % (96,5 %, palyginti su 94,1 %) [26].

Manoma, kad DGP antikūnų nustatymas yra tinkamesnis tyrimas celiakinės ligos diagnostikai iki pradedant begliutenę dietą negu įprastas gliadino antikūnų tyrimas: jautrumas, specifiškumas ir tikslumas tiriant deamininto gliadino IgA (74 %, 95 % ir 86 %), deamininto gliadino IgG (65 %, 98 % ir 84 %) ir deamininto gliadino IgA ir IgG (75 %, 94 % ir 86 %) yra statistikai reikšmingai didesni nei tiriant gliadino IgA (63 %, 90 % ir 79 %) ir gliadino IgG (42 %, 90 % ir 60 %) ir prilygsta tTG IgA tyrimo charakteristikoms: 78 %, 98 % ir 90 % [24].

Audinių transglutaminazė (tTG) katalizuoja nuo Ca^{2+} priklausomą jungčių formavimąsi tarp su baltymais susijungusio glutamino ir glicino liekana. Glutamino liekana, veikiant tTG, taip pat specifiniai glutaminai gliuteno baltymuose deamininami į glutamino rūgštį. Deamininti gliuteno baltymai pasižymi geresniu afiniškumu HLA-DQ heterodimerui su antigenu supažindinančiose ląstelėse. Taip CL pacientų žarnyno gleivinėje aktyvinami T limfocitai ir formuojasi pagalbinių T ląstelių 1 tipo atsakas. Susidaręs tTG ir gliuteno kompleksas yra B ląstelių apdorojamas ir su juo supažindinamos gliutenui specifinės T ląstelės, taip sukeliamas tTG antikūnų pagalbinių T ląstelių 2 tipo atsakas. Asmenų, turinčių polinkį sirgti celiakine liga, organizme tTG autoantikūnai sąveikauja su transglutaminaze ant ekstraląstelinės membranos ir taip dalyvauja epitelio proliferacijoje. tTG vykdo ir potransliacines baltymų modifikacijas (sujungia lizinus), ir deamininimą [27].

Klinikinė celiakinės ligos išraiška yra susijusi su serumo tTG antikūnų tyrimo rezultatais – jie skiriasi esant klasikinei simptominei ir besimptominei ligos eigai. Pacientų,

kurių žarnyno gaurelių atrofija siekia Maršo III A, B arba C stadiją, tTG tyrimo jautrumas, specifiškumas ir neigiamos prognozės rodiklis buvo tokie: 71 %, 65 %, 91 % ir 30 %. Pacientų, kuriems nustatyta visiška gaurelių atrofija, grupėje buvo registruojamas 90 % jautrumas, o asmenų, kurių atrofija buvo dalinė, grupėje šis rodiklis siekė tik 42 %. Tiriant asmenis, kuriems iki tyrimų CL tikimybė atrodė labai didelė (pasireiškę svorio kritimas, anemija arba viduriavimas), tTG antikūnų 9,1 % atvejų nerasta. Tai rodo, kad atliekant serologinius tyrimus galima praleisti nemažai celiakinės ligos atvejų, kai antikūnų nerandama. Aprašyta ir teigiamų tTG tyrimo rezultatų be plonosios žarnos gleivinės biopsinės medžiagos pakitimų [28].

EMA antikūnų nustatymas laikomas jautriu ir specifiniu žymeniu celiakijos serologinėje diagnostikoje. Tačiau tai brangus, kokybinis ir todėl subjektyvus tyrimas. EMA tyrimams reikalinga medžiaga gaunama iš beždžionių stemplės ir virkštelės. Daugelis šių tyrimų atliekami lokaliai ir nėra lengvai atkartojami kitose laboratorijose. Vis dažniau EMA tyrimas keičiamas serologiniais tTG antikūnų tyrimais, ypač atsiradus galimybei tiksliai kiekybiškai išmatuoti tTG antikūnus. Su tTG-2 reaguojančio ekstraląstelinio IgA sankauptų CL pacientų žarnyno gleivinėje imunofluorescencijos metodu aptinkama net tais atvejais, kai serume jų nerandama. Šiems asmenims, kurie, spėjama, serga celiakine liga, nors EMA ir tTG antikūnų nerandama, reikėtų atlikti plonosios žarnos gleivinės tyrimą prieš tTG-2 nukreiptu antikūnu ir taip nustatyti ligą [29].

EMA antikūnų aptikimas serume tais atvejais, kai plonosios žarnos gleivinės morfologinė struktūra nepakitusi, gali reikšti besivystančią ankstyvosios stadijos celiakinę ligą. Serume ir žarnų gleivinėje aptinkami CL antikūnai ir intraepiteliniai limfocitai vertinami kaip galimi besivystančios celiakinės ligos žymenys. Abiejų antikūnų tyrimų jautrumas ir specifiškumas siekia 93 %. Tai reikėtų palyginti su CD3+T ląstelių tyrimų rodikliais (atitinkamai 59 % ir 57 %), su gama-delta+ tyrimų rodikliais (76 % ir 60 %) ir su gaurelių viršūnių intraepitelinių limfocitų jautrumo ir specifiškumo rodikliais (88 % ir 71 %) [30].

Nedidelės dalies pacientų, turinčių EMA antikūnų, plonosios žarnos gleivinės morfologinė struktūra būna normali. Ištyrus 409 vaikus, kurie turėjo su CL siejamų antikūnų, nustatyta, kad 5,9 % jų plonosios žarnos gleivinės struktūra buvo normali. Išsiaiškinta, jog 46 % pacientų buvo didesnis CD3⁺ IEL kiekis, o 71 % – didesnis gama-delta+ ląstelių kiekis. 70 % asmenų buvo nustatytas CD25+ ląstelių *lamina propria* pagausėjimas ir (arba) ICAM-1 ir kriptinio HLA-DR raiškos padidėjimas [31].

Paprastai CL ligoniams, kurių plonosios žarnos gleivinės morfologinė struktūra yra normali, begliutenė dieta nerekomenduojama. Dėl sudėtingesnių imunohistologinių radinių, tokių kaip pirmiau minėtieji, kyla klausimas, ar gleivinės apibūdinimas „normali“ turi būti išplėstas ir ar asmenys, kurių žarnyno biopsijos mėginiuose aptinkama

antikūnų, turi būti toliau stebimi ir sprendžiama, ar jiems reikia begliutenės dietos. Reikia pažymėti, kad celiakinės ligos diagnozės nustatymas asmenims, turintiems labai menkų histologinių pakitimų (I Maršo klasifikacijos stadija), tampa lengvesnis, nustačius tTG dvylikapirštės žarnos gleivinėje. Taip CL apibrėžimas gali būti praplėstas ir apimti asmenis, kurių biopsijos mėginių gleivinės morfologinė struktūra normali, tačiau nustatomi imunohistocheminiai pakitimai [32].

Norint nustatyti CL diagnozę, būtina kliniškai arba serologiškai aptikti atsaką į begliutenę dietą. Kartais po begliutenės dietos prireikia pakartotinės biopsijos, o kartais gali prireikti ir išbandymo gliutenu, ir dar kartą biopsijos. Po begliutenės dietos režimo rastas normalus tTG kiekis nereiškia, kad gaurelių atrofija išnyko. Pavyzdžiui, 33 % CL pacientų, besigydančių begliutene dieta, gaurelių atrofija išliko, tačiau 44 % asmenų buvo rastas normalus tTG kiekis [33].

Daugiacentriame prospektyviajame tyrime pirminės sveikatos priežiūros įstaigas lankantys suaugę asmenys, neturėję CL primenančių nusiskundimų ar sutrikimų, sie-tinų su CL, buvo ištirti dėl tTG antikūnų. Tie asmenys, kuriems tTG antikūnų kiekis buvo padidėjęs, toliau buvo tiriami dėl EMA (IgA) ir, radus EMA antikūnų, jiems buvo atlikta biopsija ir HLA tipavimas. tTG antikūnų buvo rasta 3,1 % tirtųjų, o celiakinės ligos dažnis, padarius atrankinius serologinius tyrimus, buvo 2,3 % [34].

Panašius tyrimus atlikę M. Hadithi ir bendr. nustatė, kad celiakinės ligos dažnis sie-kė 3,5 %, o neigiami HLA-DQ tipavimo rezultatai reiškė diagnozės atmetimą. Tyrimo autoriai teigė, kad HLA-DQ tipavimo naudojimas kartu su serologinių žymenų tTG ir EMA nustatymu nepagerino CL diagnozavimo kokybės, ji liko tokia pati, kaip ir atlie-kant vien tik pradinius tyrimus [35].

Kadangi EMA ir tTG antikūnų tyrimų rezultatai gali išlikti teigiami ir besilaikantiems begliutenės dietos režimo, CL pacientams pravartu išmatuoti laisvą CD163. Tai nuo au-dinių makrofagų membranos atsiskiriantis receptorius surinkiklis (angl. *scavenger*), ku-rio koncentracija siejama su celiakinės ligos sukeltu uždegiminiu pažeidimu. Asmenys, kurių liga buvo sunkesnė (III Maršo klasifikacijos stadija), turėjo daugiau CD163 nei asmenys, kurių liga buvo lengvesnė (II, I arba 0 Maršo klasifikacijos stadija) [36].

Svarbu įgyvendinti ilgalaikį CL ligonių stebėjimą, reguliariai registruojant klini-kinius simptomus ir vertinat gyvenimo kokybę. Begliutenės dietos režimo laikymosi patikrinimui tinka tikrinti serologinius CL žymenis. Tai svarbu, nes žinoma, kad be-gliutenės dietos griežtai laikosi tik 45–80 % CL pacientų. Dietos režimo nesilaikymas gali kelti pavojų, kad išsivystys metabolinė kaulų liga, anemija, virškinimo sutrikimai, sutriks psichologinė savijauta ir pablogės gyvenimo kokybė. Manoma, kad tTG lygio stebėjimas padeda sumažinti komplikacijų riziką ir nuspėti histologinius pakitimus viršutinėje plonosios žarnos dalyje [37].

Plonosios žarnos gleivinės histomorfologiniai pakitimai

Vienas iš celiakinės ligos diagnostikos kriterijų yra plonosios žarnos sienelės histomorfologinės struktūros pakitimai: gleivinės gaurelių atrofija, kriptų hiperplazija, intraepitelinų limfocitų padaugėjimas. Šie procesai gali vystytis lėtai ir nėra specifiški celiakinei ligai. Be to, kai kuriems asmenims CL simptomai gali pasireikšti anksčiau, nei atsiranda pastebimi histologiniai pakitimai. Kai kurie autoriai mano, kad tik tTG antikūnų kiekio padidėjimas gali tiksliai nurodyti celiakinės ligos diagnozę, tačiau standartinė praktika tebelieka plonosios žarnos gleivinės biopsija ir histologinių pakitimų paieška dar prieš skiriant begliutenę dietą [38].

Yra autorių, manančių, kad analizuojant plonosios žarnos gleivinės biopsinę medžiagą gali atsirasti reikšmingų skirtumų, kylančių dėl individualių patologų interpretacijų. Dauguma patologų tebe naudoja seną Maršo klasifikacijos sistemą. Kai kuriems ši sistema atrodo per daug sudėtinga, nes joje yra daug diagnostinių kategorijų. Pasiūlyta paprastesnė plonosios žarnos gleivinės pažeidimo sunkumo laipsnių sistema, grindžiama trijų tipų gaurelių morfologiniais pakitimais (A – neatrofinė; B1 – atrofinė, gaurelių santykis < 3:1; B2 – atrofinė, gaurelių nebeaptinkama) ir intraepitelinų limfocitų skaičiumi (> 25/100 enterocitų). Kai kurie tyrėjai šią paprastesnę klasifikacijos sistemą laiko pranašesne nei senoji [39].

Dalies autorių teigimu, trūksta įrodymų asociacijai tarp histologinių plonosios žarnos gleivinės pakitimų ir klinikinių simptomų sunkumo įrodyti. K. Kaukinen ir bendr. nustatė, kad nėra glaudžios sąsajos tarp gaurelių atrofijos ir klinikinių CL simptomų, tai yra gaurelių atrofijos sunkumas, nustatytas atliekant proksimalios dvylikapirštės žarnos biopsijos mėginių histologinius tyrimus, nebūtinai susiję CL simptomų sunkumu. Pavyzdžiui, tiriant pacientų, kuriems histologiniai pakitimai išnyko, ir lyginant su pacientais, kuriems pakitimai išliko laikantis begliutenės dietos, pastebėta, kad klinikiniai simptomai gali ir išnykti, nors morfologiniai pakitimai išlieka [40].

Nors CL diagnostikos auksiniu standartu laikoma dvylikapirštės žarnos biopsija, kapsulinė endoskopija rodo, kad CL pacientų gleivinės makroskopiniai pakitimai paplitę toliau nei dvylikapirštė žarna, o maždaug 7 % pacientų gleivinės pakitimai apima visą plonąją žarną. Kapsulinės enteroskopijos tyrimo CL diagnostikoje jautrumas yra 88 %, specifiskumas – 91 %, teigiamas numatymo rodiklis – 97 %, neigiamas numatymo rodiklis – 71 % [41].

Atliekant dvylikapirštės žarnos biopsiją, svarbu žinoti, kad paėmus du biopsijos mėginius iš dvylikapirštės žarnos CL diagnozė pasitvirtina 90 % atvejų, tačiau didinant biopsijos mėginių skaičių iki trijų CL diagnostikos rezultatas pasiekė 95 %, o iki keturių – 100 %. Neretai sergant celiakine liga plonosios žarnos gleivinės pažeidimai gali būti nevientisi. Taip atsiranda biopsijos mėginio netikslaus paėmimo ir klaidingai

neigiamo rezultato rizika. Nauju metodu, konfokaline endomikroskopija (KEM), galima *in vivo* iki 1000 kartų padidinti virškinimo trakto gleivinės vaizdą. KEM tyrimo jautrumas – 94 %, specifiškumas – 92 % [42].

3.4. Celiakinės ligos diagnostikos kriterijai

Pagal Europos pediatriinės gastroenterologijos, hepatologijos ir mitybos sąjungos (angl. *European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* – ESPGHAN) kriterijus galima skirti tris gliuteninės enteropatijos formas [3]. Tai latentinė arba potenciali CL, kuriai būdingi CL antikūnai; tylioji (besimptomė) forma, kuriai būdingi CL antikūnai ir plonosios žarnos gleivinės gaurelių atrofija; simptominė forma, kuriai būdingi CL antikūnai, gaurelių atrofija ir klinikiniai simptomai. Jautrumo gliuteniui simptomus sukelia maisto produktų su gliutenu vartojimas. Virškinimo sutrikimo simptomai į begliutenę dietą dažniausiai reaguoja gana greitai, tačiau plonosios žarnos gleivinės pakitimai gydantis dieta išnyksta tik per metus ar dar ilgesnį laiką. Į šią dietą geriau reaguoja jaunesni, prasčiau – senesni pacientai.

ESPGHAN siūlo tokį celiakinės ligos diagnostikos protokolą suaugusiems asmenims. Įvertinus būdingus CL klinikinius simptomus, šeiminių anamnezę ir teigiamus serologinius CL žymenis, reikia atlikti plonosios žarnos gleivinės biopsinės medžiagos ištyrimą, ieškant šiai enzimopatijai būdingų morfologinių pokyčių. Diagnozė galutinai patvirtinama stebint klinikinę, serologinę bei morfologinę remisiją po begliutenės dietos paskyrimo.

Audinių IgA transglutaminazės (TGA) ir IgA emdomiziumo (EMA), antikūnų CL ligonių kraujo serume tyrimo specifiškumas ir jautrumas yra labai dideli, todėl šie tyrimai yra rekomenduomi CL diagnozuoti. Tobulėjant serologinių tyrimų metodikoms ir gerėjant rezultatų specifiškumui bei jautrumui, specifinių antikūnų kraujo serume nustatymas artimiausioje ateityje galės visiškai pakeisti plonosios žarnos gleivinės morfologinį tyrimą diagnozuojant šią ligą. Deja, pasitaiko klaidingai teigiamų serologinio tyrimo rezultatų ligoniams, sergantiems kepenų ir plonosios žarnos uždegiminėmis ligomis. Serologinio ir morfologinio tyrimų derinimas sumažina klaidingai teigiamų rezultatų galimybę. Pakankamai tikslus yra genetinis tyrimas nustatant su CL susijusius HLA DQ2 ar DQ8 haplotipus, tačiau šis tyrimas yra brangus ir todėl retai atliekamas. Kita vertus, praktiškai visi CL ligoniai turi HLA-DQ2 or HLA-DQ8 haplotipus, todėl jų nebuvimas paneigia celiakinės ligos diagnozę [2].

3.5. Celiakinės ligos klinikiniai fenotipai

Klinikinis celiakinės ligos spektras apima pacientus, turinčius klasikinių virškinimo sutrikimų (pavyzdžiui, viduriavimas ir svorio netekimas), tuos, kuriems liga buvo aptikta per atrankinius tyrimus dėl šeiminių CL istorijos arba nustatčius su CL susijusią

autoimuninę būklę, ir tuos, kurių genetiniai pakitimai sudaro pagrindą diagnozuoti CL, nors tyrimo metu jie niekuo nesiskundžia ir nerandama nei serologinių pakitimų, nei histologinių pakitimų plonosios žarnos biopsiniuose mėginiuose. Šiuo metu jau yra sukurta ir psichometriškai patvirtinta celiakinei ligai pritaikyta gyvenimo kokybės vertinimo anketa, kuri gali būti naudinga klinikinėje praktikoje [43].

CL gali pasireikšti keliomis formomis. Klasikinei formai būdingas klinikinis malabsorbcijos sindromas ir plonosios žarnos gleivinės specifiniai pokyčiai: uždegimas, gau-relių atrofija, kriptų hipertrofija, padidėjęs intraepitelinų limfocitų kiekis. Klasikinė CL gali pasireikšti bet kuriame amžiuje. Esant atipinei formai, dažnai klinikiniai simptomai yra minimalūs, pasitaiko ekstraintestinių apraiškų: anemija, periferinės neuropatijos, osteoporozė; plonosios žarnos pažeidimas nedidelis, tačiau kraujo serume randami CL žymenys. Latentinė CL forma diagnozuojama tuomet, kai nustatomi ligą predisponuojantys žmogaus leukocitų antigeno HLA-DQ2 ir/ar HLA-DQ8 haplotipai, kartais teigiami serologiniai radiniai, tačiau plonosios žarnos gleivinė būna nepakitusi. Celiakinė liga gali būti diagnozuota bet kokio amžiaus asmenims, tačiau dažniausiai nustatoma kūdikiams ir mažiems vaikams, kai į jų maisto racioną įtraukiami grūdų produktai [44].

Simptominės celiakinės ligos klinikinis vaizdas labai įvairus. Klasikiniam simptomams priskiriami virškinimo sutrikimo požymiai – pasikartojantis viduriavimas ir svorio mažėjimas. Tačiau tyrimai atskleidė, kad tik vienas trečadalis CL pacientų skundžiasi diarėja ir tik pusė iš jų yra sumažėjęs svoris. Priešingai, 20 % CL ligonių skundžiasi obstipacijomis, o 10 % yra nutukę. 75 % vaikų, sergančių CL, yra nutukę arba turi antsvorio. Virškinimo sutrikimais skundžiasi nuo 20 % iki 30 % vaikų. Celiakinė liga neretai yra susijusi su dirglios žarnos sindromu ir laktazės nepakankamumu, tokiais atvejais prisideda ir šių ligų požymiai [45].

Vaikų ir suaugusiųjų celiakinės ligos klinikinis vaizdas skiriasi. Suaugusiems, be virškinimo sutrikimų, gali pasireikšti geležies stokos anemija, kaulų tankio sumažėjimas (osteoporozė ir osteomaliacija), artralgijos ir artritai, herpetiforminis dermatitas (niežtinis pūslelinis bėrimas), dažniausiai kelių ir alkūnių srityse, dantų emalio ir burnos gleivinės pažeidimas, gastroezofaginis refluksas, galvos skausmai ir nuovargis, hiposplenizmo reiškiniai, nervų sistemos pažeidimo požymiai: galūnių tirpimas ir dilgčiojimas, koordinacijos sutrikimai. Lytinėje sferoje gali pasireikšti menstruacijų ciklo sutrikimai, savaiminiai persileidimai ir nevaisingumas. Kai kuriuos ligonius vargina psichologinės problemos: nerimas ir depresija. Daugiau nei pusė pacientų nesiskundžia virškinamojo trakto sutrikimais, o kreipiasi į gydytoją dėl nuolatinio nuovargio, kuris paprastai yra anemijos požymis, sąnarių ir kaulų skausmo.

Kūdikiams ir mažiems vaikams tipiški klinikiniai CL požymiai yra lėtinis viduriavimas, kartais su krauju, pykinimas ir vėmimas, pilvo skausmai, vidurių pūtimas, blogas

apetitas ir liesėjimas, sulėtėjęs augimas. Kūdikis vemia ir viduriuoja, todėl dažnai nustatoma kita patologija (gastroenteritas), atsiranda šviesios ir dvokiančios išmatos, vėliau pradeda nykti rankų ir kojų raumenys. Tokie vaikai dažnai būna irzlūs, jaučia silpnumą. Vyresni vaikai ir paaugliai patiria viduriavimą arba vidurių užkietėjimą, pilvo skausmus ir pūtimą. Paauglystėje pastebimas augimo sulėtėjimas ir žemaūgiškumas, sulysimas, vėlyvas lytinis brendimas, silpnumas, dirglumas, polinkis į depresiją. Pasireiškia neurologiniai simptomai: dėmesio koncentracijos sutrikimas, hiperaktyvumas, negebėjimas mokytis, galvos skausmai, raumenų koordinacijos sutrikimai. Kartais paauglius vargina burnos gleivinės ir odos pažeidimas (herpetiforminis dermatitas), plaukų pažeidimas ir slinkimas. Šiuos simptomus gali provokuoti ar sustiprinti patiriamas stresas: gyvenamosios vietos ir mokymo įstaigos keitimasis, traumos ir kitos ligos, nėštumas.

Celiakinės ligos klinikinių simptomų pasireiškimui turi įtakos tokie veiksniai kaip žindymo trukmė, maisto su gliutenu valgymo pradžia, suvalgomo gliuteno kiekis, plonosios žarnos gleivinės pažeidimo sunkumas. Kai kurie ligoniai nejaučia klinikinių CL požymių, nes jų gleivinė nedaug pažeista ir pakankamas maisto medžiagų kiekis yra pasisavinamas. Labai svarbu, diagnozavus celiakinę ligą, laikytis begliutenės dietos. Tuomet ligos simptomai gali nepasireikšti ir nesivystyti CL komplikacijos [45].

B. Weiss ir bendr. duomenimis, CL sergančių vaikų pasiektas brandos ūgis priklauso nuo to, kaip jie laikosi begliutenės dietos. Vaikai, kuriems CL diagnozuota jau sulaukus 4 metų, auga lėčiau. Vėlyvas celiakinės ligos diagnozavimas gali būti siejamas su mažesniu suaugusių vyrų (bet ne moterų) ūgiu [46].

Ištyrėme klinikinius simptomus ir jų dažnį, serologinius CL žymenis suaugusiems ligoniams, sergantiems celiakine liga. Iš CL simptomų dažniausi buvo pilvo pūtimas (88,5 %), nuovargis (88%), difuzinis pilvo skausmas (73,3 %), viduriavimas (61,5 %), svorio mažėjimas (42 %), mėšlungis, kaulų skausmai (46,1 %), parestezijos (30,7 %) ir obstipacija (26,9 %) [47].

Sergant celiakine liga labai svarbu yra ankstyva diagnozė ir gydymas, nes gali atsirasti CL komplikacijų, kurios kartais būna negrįžtamos. Nediagnozuotos ir negydytos celiakinės ligos komplikacijos gali būti malabsorbcijos sindromas, vitaminų ir mineralinių medžiagų nepakankamumas, sulysimas, augimo sulėtėjimas, nenormalus dantų augimas vaikams, nevaisingumas, anemija, osteoporozė, plonosios žarnos ne Hodžkino limfoma, kepenų ligos. Tokiais atvejais 3,9 karto padidėja mirtingumas nuo įvairių priežasčių [48].

CL pacientai turi didesnę rizikos laipsnį susirgti žarnyno, kepenų ir stemplės vėžiu, intetine limfoma. CL pacientams būdinga 5 kartus didesnė limfoproliferacinių navikų rizika, palyginti su bendra populiacija. CL pacientams gresia 5,4 karto didesnė rizika susirgti ne Hodžkino limfoma, tačiau Hodžkino arba lėtinės limfinės leukemijos rizika išlieka nepakitusi. Broliai ar seserys pasižymi panašiu jautrumu šioms ligoms [49].

3.6. Celiakinės ligos klinikinės asociacijos

Ilgalaikis sergančių nediagnozuota CL pacientų gliuteno turinčių produktų vartojimas nulemia kai kurių autoimuninių ligų (diabeto ar autoimuninio tiroidito) padažnėjimą. Manoma, kad sergančių CL ligonių plonosios žarnos gleivinėje susidarę imuniniai kompleksai kaupiasi kituose organuose ir skatina autoimuninių ligų atsiradimą ir progresavimą [50].

Autoimuninių ligų dažnis tarp CL pacientų yra didesnis nei bendroje populiacijoje. Ir atvirkščiai, tarp autoimuninių ligų pacientų CL yra dažnesnė. CL pacientams bendra rizika susirgti autoimunine liga siekia 8 % 15 metų amžiaus grupėje ir 16 % 30 metų amžiaus grupėje. Nustačius CL, pacientams, kurie laikosi begliutenės dietos, autoimuninių ligų rizika per artimiausius 10 metų yra 6 %, o tiems, kurie nesilaiko dietos, – 16 % [51].

Besimptomė celiakinė liga nustatoma vaikams ir suaugusiems, sergantiems autoimuniniu hepatitu ir autoimunine tulžies latakų liga. Ji gali būti susijusi su besimptomiu transaminazių koncentracijos padidėjimu. Asmenys, sergantys autoimuninėmis kepenų ligomis, turėtų būti tiriami dėl celiakinės ligos. Jei asmuo, kuriam jau diagnozuota CL, susirgo ūminiu hepatitu, reikėtų įtarti autoimuninę hepatito kilmę [52]. A. R. Di Biase ir bendr. duomenimis, sergančių CL vaikų grupėje 40-iai procentų nustatyta padidėjusi transaminazių koncentracija. Iš jų 95 % sirgo kriptogenine liga, kuri pranyko laikantis begliutenės dietos, o 5 % sirgo autoimuniniu hepatitu, kuriam išgydyti (biocheminiams ir klinikiniais simptomams normalizuoti) prireikė imunosupresinių vaistų ir begliutenės dietos [53].

Celiakinei ligai priskiriama vis daugiau klinikinių asociacijų. Pavyzdžiui, 42 % CL pacientų skundžiasi burnos ertmės minkštųjų audinių opėjimu, o bendroje populiacijoje šis rodiklis yra tik 2 %. Laikantis begliutenės dietos, šis recidyvinis opinis stomatitas 89 % pacientų pranyko per metus [54].

Celiakinės ligos ryšys su reumatinėmis ligomis yra dar mažai ištirtas. CL paplitimas tarp ligonių, sergančių reumatinėmis ligomis, įvairių autorių duomenimis, svyruoja nuo 0,4 % iki 2 % [55]. Manoma, kad Sjogreno sindromas yra dažniausiai susijęs su celiakine liga. 56 % ligonių, sergančių šiuo sindromu, nustatomas su CL susijęs HLA-DQ2 haplotipas. L. M. Luft ir bendr. duomenimis, celiakinė liga nustatoma 2 % ligonių, sergančių reumatoidiniu artritu [56]. Pastebėta, kad artralgija ir artritas gali būti pirmas ir vienintelis celiakinės ligos požymis. Ištyrus 5600 asmenų, sergančių reumatinėmis ligomis, vienam iš 243 ligonių diagnozuota celiakinė liga [57].

Ištyrėme IgA klasės antigliadino antikūnus kraujo donorų ir sergančių reumatoidiniu artritu ligonių kraujo serume, palyginome abiejų tiriamųjų grupių rezultatus, išanalizavome CL serologinių žymenų priklausomybę nuo reumatoidinio artrito

aktyvumo ir trukmės, nuo ligonių lyties ir amžiaus [58, 59, 60]. Tyrimo populiaciją sudarė 88 reumatoidiniu artritu sergantys ligoniai nuo 18 iki 76 metų, amžiaus vidurkis – 54 ± 13 metų. Iš jų 73 (83 %) moterys ir 15 (17 %) vyrų. Kontrolinę grupę sudarė 88 kraujo donorai, jų amžius svyravo nuo 21 metų iki 59 metų, amžiaus vidurkis – 48 ± 12 metų. Tarp jų buvo 22 (25 %) moterys ir 66 (75 %) vyrai. Vilniaus miesto kraujo centre visiems donorams buvo atlikti klinikinis, biocheminis ir serologinis kraujo tyrimai. Į tyrimą įtraukti asmenys nebuvo sirgę ūmiais ar lėtinėmis virškinimo trakto ligomis, infekcinėmis ar kitomis lėtinėmis ligomis.

Visi reumatoidiniu artritu sergantys ligoniai ištirti kliniškai įvertinus anamnezę, fizinius duomenis, bendro kraujo tyrimo ir biocheminius uždegimo rodiklius. Reumatoidinio artrito diagnozė nustatyta remiantis kriterijais: rytinis sąnarių sustingimas, trunkantis ne mažiau kaip vieną valandą, ne mažiau kaip trijų sąnarių artritas, plaštakų sąnarių artritas, pažeidimo simetriškumas, reumatoidiniai mazgeliai, teigiamas reumatoidinis faktorius serume, būdingi plaštakų pokyčiai rentgeno nuotraukoje: sąnariinių kaulų dalių osteoporozė ir (ar) erozijos. Ligoniams diagnozuotas reumatoidinis artritas, jei nustatyti 4 iš 7 kriterijų [61].

Ligonus suskirstėme į grupes pagal reumatoidinio artrito aktyvumo laipsnius. Reumatoidinio artrito aktyvumas: 0^0 – remisija; I^0 – sąnariai mažai skausmingi, truputį patinę, ENG (eritrocitų nusėdimo greitis) – iki 20 mm/h; II^0 – ryškūs artrito simptomai, rytinis sustingimas trunka kelias valandas, subfebrilitetas, ENG – iki 40 mm/h, ryškūs kiti laboratoriniai uždegimo požymiai; III^0 – nuolatinis stiprus sąnarių skausmas, jie sutinę, karšti, būna sustingę beveik visą dieną, pažeisti vidaus organai, febrili kūno temperatūra, anemija, ENG – daugiau kaip 40 mm/h. Antigliadino IgA klasės antikūnų koncentracija kraujo serume nustatyta imunofermenčiu (ELISA) metodu naudojant *IBL-Hamburg* reagentus (Vokietija).

Įvertinus laboratorinius tyrimus nustatyta, kad 88 ligonių grupėje seropozityviu reumatoidiniu artritu sirgo 55 asmenys (62,5 %) ir seronegatyviu – 33 asmenys (37,5 %). Ligoniams nustatyti tokie reumatoidinio artrito aktyvumo laipsniai: I laipsnio – 19-ai (22 %), II laipsnio – 62-iems (70 %), III laipsnio – 7-iems (8 %) asmenims. Teigiamas antiigliadino IgA klasės antikūnų kraujo serume mėginys nustatytas 5 ligoniams (5,7 %), iš jų 4 asmenims, kuriems ligos aktyvumas II laipsnio, ir vienam, kurio ligos aktyvumas III laipsnio. Didėjant reumatoidinio artrito aktyvumo laipsniui, daugėjo nuo 6,5 % iki 14,3 % ligonių, kuriems buvo nustatyti antiigliadino IgA klasės antikūnai kraujo serume, nors skirtumas statistiškai ir nebuvo reikšmingas, matyt, dėl mažo tiriamųjų skaičiaus.

Kraujo donorų grupėje iš 88 dviem asmenims (2,2 %) antiigliadino IgA klasės antikūnų kraujo serume mėginys buvo teigiamas. Ligonių ir kraujo donorų, kuriems

nustatyti anti gliadino IgA klasės antikūnai kraujo serume, skaičiai statistiškai patikimai nesiskyrė. Teigiamas anti gliadino IgA klasės antikūnų kraujo serume mėginys nustatytas trimis ligoniams, sergantiems seropozityviu reumatoidiniu artritu (5,4 %; PI=0–11,37), ir dviem ligoniams, sergantiems seronegatyviu (6,0 %; PI=0–14,1). Skirtumas statistiškai nereikšmingas. Remiantis tyrimo rezultatais galima teigti, kad bendroje populiacijoje celiakinės ligos dažnis yra 2,2 %, o reumatoidiniu artritu sergančių ligonių grupėje – 5,7 %. Didėjant reumatoidinio artrito aktyvumo laipsniui, nuo 6,5 % iki 14,3 % daugėjo CL atvejų. Taigi, celiakinės ligos ir reumatoidinio artrito patogenezės grandys yra susijusios.

Beveik 10 % CL pacientų serga neurologinėmis ligomis: polineuropatija, epilepsija, mioklonine epilepsija, demencija, chorėja, daugiažidinė leukoencefalopatija, migrena, atminties ir dėmesio sutrikimais, periferinėmis aksonų ir demielinančiomis neuropatijomis ir acetilcholino antikūnų lydimu sunkiąja miastenija [62]. Autoimuniniai procesai veikia kaip paleidimo mechanizmas, sužadinantis neurologinę disfunkciją, o neuronų, gliadino ir tTG antikūnai dalyvauja neurologinio pažeidimo procese, nes aktyvina Apaf-1 per Bax ir citochromo C translokaciją, taip sukeliama nuo mitochondrijų priklausoma apoptozė [63]. Statistiškai patikimo ryšio tarp celiakinės ligos ir Parkinsono ligos, Alzheimerio ligos, įgimtos ataksijos, ataksijos sindromų, Hantingtono ligos ir spinalinės raumenų atrofijos nerandama [64].

Tiriant iš visuomenės sudarytas kohortas ir naudojant medicininių dokumentų jungtinę duomenų bazę, nustatyta, kad širdies ir kraujagyslių ligų rizika CL pacientams, kuriems naujai aptikta EMA, yra 2,5 kartų didesnė, palyginti su asmenimis, kurių organizme EMA nėra. Tai rodo, kad celiakinė liga gali būti susijusi su didesne širdies ir kraujagyslių ligų rizika [65].

CL pacientus lyginant su kitais dispepsija besiskundžiančiais ar sveikais asmenimis, nustatyta didesnė serumo grelino koncentracija, tačiau ji nebuvo susijusi su dvylikapirštės žarnos histologinių pakitimų sunkumu. Paskyrus begliutenę dietą, grelino koncentracija normalizavosi, bet dvylikapirštės žarnos gleivinės limfocitų infiltracija išliko. Neaišku, ar grelino koncentracijos kitimai sergant celiakine liga turi biologinę reikšmę [66]. N. S. Coleman ir bendr. mano, kad serotonino perteklius organizme, esant negydytai celiakinei ligai, skatina dispepsijos simptomų atsiradimą. Ištyrę 18 CL pacientų, jie nustatė padidėjusį žarnyno 5-HT-enterochromafino ląstelių skaičių, didesnę pikinę 5-HT koncentraciją plazmoje ir gausnes 5-HT atsargas trombocituose [67].

Atlikę asmenų, sergančių dispepsija, serologinio ir (ar) histologinio celiakinės ligos diagnostavimo metaanalizę, A.C. Ford ir bendr. padarė išvadą, kad nustatytas didesnis CL dažnis asmenų, sergančių dispepsija, grupėje lyginant su kontroline buvo statistiškai nepatikimas. Biopsija patvirtinta celiakinė liga yra keturis kartus dažnesnė

asmenims, sergantiems dirgliosios žarnos sindromu. Sisteminiėje apžvalgoje ir metaanalizėje peržvelgta 14 studijų, kuriose ištirti 2278 dirgliosios žarnos sindromu sergantys asmenys, 4 % atvejų nustatyta celiakinė liga. Biopsija patvirtintas CL galimybių santykis dirgliosios žarnos sindromu sergantiems asmenims, palyginti su kontroline grupe, buvo 4,34 [68].

Kai kurių autorių duomenimis, celiakinė liga yra susijusi su oksidacinio streso rodiklių pokyčiais [69]. P. Odetti ir bendr., tirdami oksidacinio streso vaidmenį celiakinės ligos patogenezėje, nustatė, kad oksidacinio streso baltyminių ir lipidinių žymenų koncentracija buvo daug didesnė CL ligonių kraujo serume negu kontrolinės grupės, o antioksidantų (lipoproteinų ir alfa-tokoferolių) buvo gerokai mažiau. Autoriai padarė išvadą, kad CL ligonių organizme redukcijos-oksidacijos (redox) reakcijų pusiausvyra yra sutrikusi net ir tiems ligoniams, kurie nejaučia CL simptomų [70].

Mūsų tyrimo tikslas buvo įvertinti organizmo peroksidacinės-antioksidacinės būklės rodiklių pakitimus asmenims, sergantiems CL ir laktazės nepakankamumu (LN), CL ir reumatoidiniu artritu (RA) ir palyginti juos su kontroline (kraujo donorų) grupe. Nustatyta, kad, sergant CL ir LN, lipidų peroksidacijos produkto malondialdehido koncentracija buvo padidėjusi 1,5 karto ($5,93 \pm 0,31$ %), lyginant su kontroline grupe ($3,34 \pm 0,12$ %), dieninių konjugatų koncentracija buvo padidėjusi 1,7 karto ($9,24 \pm 0,74$ %), lyginant su kontroline grupe ($5,6 \pm 1,9$ %). Abiem atvejais skirtumai statistiškai reikšmingi ($p < 0,001$). Antioksidanto katalazės aktyvumas buvo 1,3 karto daugiau sumažėjęs sergantiems CL ir LN ($42,34 \pm 2,2$ %), lyginant su kontroline grupe ($28,71 \pm 2,1$ %). CL ir RA ligonių lipidų peroksidacijos tyrimo rezultatai buvo tokie: malondialdehido koncentracija išaugo 1,4 karto ($5,67 \pm 0,23$ %), lyginant su kontroline grupe ($3,48 \pm 0,11$ %), dieninių konjugatų koncentracija padidėjo 1,6 karto ($9,90 \pm 0,66$ %), lyginant su kontroline grupe ($5,8 \pm 1,9$ %). Abiem atvejais skirtumai statistiškai reikšmingi ($p < 0,001$). Antioksidanto katalazės aktyvumas buvo 1,3 karto daugiau sumažėjęs sergantiesiems CL ir RA ($29,25 \pm 1,8$ %), lyginant su kontroline grupe ($42,96 \pm 2,1$ %). Mūsų tyrimas patvirtina celiakinės ligos ir reumatoidinio artrito sąsajas su oksidacinio streso rodiklių kitimais [71, 72].

3.7. Celiakinės ligos gydymas

Begliutenė dieta

Pagrindinis celiakine liga sergančių pacientų gydymo būdas yra begliutenė dieta (BGD), kurios turi būti laikomasi visą gyvenimą. Pirminis tikslas yra pagerinti CL pacientų gyvenimo kokybę, bendradarbiaujant visoms suinteresuotoms šalims. Įrodyta, kad besilaukiančių BGD pacientų su sveikata susijusi gyvenimo kokybė labai pagerėja [73].

Būtina iš maisto raciono pašalinti kviečius, miežius, rugius ir jų produktus. Nevar- tojant šių maisto produktų, liga neprogresuos ir neturėtų atsirasti komplikacijų. Bet pradėjus vėl valgyti grūdinius produktus, CL simptomai atsinaujina, todėl dietos būti- na laikytis visą gyvenimą. Dėl maisto produktų pasirinkimo rekomenduojama kreiptis konsultacijos į dietologą, kuris padės sudaryti dienos maisto davinio sudėtį.

CL pacientams yra sunku parinkti BGD, nes net produktai, žymimi kaip neturintys gliuteno, nebūna visiškai be jo. Pasaulio sveikatos organizacija ir Maisto bei žemdirbys- tės organizacijų komisija dar 1998 metais pasiūlė, kad produktuose, kurie nurodomi kaip esantys be gliuteno, galėtų būti iki 200 ppm šio baltymo. Kiekvienas CL pacientas turi individualų jautrumo ar gliuteno maiste toleravimo slenkstį. Kasdien suvartojant ne daugiau nei 10 mg gliuteno, neturėtų atsirasti didelių histologinių pakitimų CL pa- cientų žarnyne [74].

D. A. Leffler ir bendr. pasiūlė 16-os klausimų specifinių ligos simptomų vertinimo indeksą, skirtą suaugusiems CL pacientams. Toks indeksas tiktų naudoti CL pacientų reakcijos į begliutenę dietą stebėsenai [75]. A. Lanzini ir kolegės tyrė 465 CL pacientų, vartojančių BGD, serologinius rodiklius ir dvylikapirštės žarnos gleivinės histologinius pokyčius tam tikrą laiko tarpą, kurio mediana buvo 16 mėnesių. Serologiniai rodikliai laikantis BGD tapo neigiami 83 % pacientų, kurių Maršo stadija buvo III, gleivinės biopsijos histologiniai pakitimai normalizavosi tik 8 %, pagerėjo (išskyrus intraepite- linių limfocitų skaičių) 65 %, išliko tokie pat 26 %, o pablogėjo 1 %. Autoriai padarė išvadą, kad suaugusiems CL pacientams, besilaikantiems BGD, dvylikapirštės žarnos gleivinės pažeidimai normalizuojasi labai retai, nors simptomai išnyksta ir serologiniai rodikliai tampa normalūs [76].

Manoma, kad CL pacientai turi laikytis BGD visą gyvenimą. Tačiau 10 % pacientų, kuriems celiakinė liga buvo diagnozuota vaikystėje, ji vėliau įgijo ilgalaikę latentinę formą, nors pacientai ir ėmė vartoti maisto produktus su gliutenu. Beveik pusė CL pacientų kliniškai toleruoja maistą su gliutenu, tačiau gleivinės pažeidimai išlieka. Kai kuriems pacientams, besilaikiusiems BGD ir neturintiems nusiskundimų net išlikus ankstesniems plonosios žarnos gleivinės pakitimams, vėliau sugrįžus prie normalios mitybos su gliutenu pavyko išgyventi be klinikinių simptomų daugiau nei dvejus me- tus [77].

Priklausomai nuo mitybos nepakankamumo svarbu papildyti maisto medžiagas. Viename dvigubai koduotame placebo kontroliuojamame tyrime buvo įrodyta, kad CL pacientų gyvenimo kokybė statistiškai patikimai pagerėja šešis mėnesius vartojant B vitamino papildų [78].

Begliutenės dietos alternatyvos

BGD dietos gali būti laikomasi prastai, nes tai yra sudėtinga, o begliuteniai produktai brangūs. Todėl ieškoma kitų celiakinės ligos gydymo metodų. Rekomenduojami endopeptidazė, S100B baltymo antagonistai, IL-15 slopikliai, elementinės dietos ir kviečių miltų transamidacija. Jei į duoną rauginant pridedama laktobakterijų, jos suskaido daug prolino ir glutamino turinčius gliuteno peptidus. Tai svarbu ieškant būdų celiakinei ligai gydyti ateityje [79].

Gliuteną gali skaidyti prolilendopeptidazės. Jų, kaip egzogeninių proteazių, vartojimas *per os* yra naujas CL gydymo metodas. Bakterinės prolilendopeptidazės, gaunamos iš *Flavobacterium meningosepticum*, panaikina gliuteno toksiškumą, skaidydamos jį į mažus fragmentus, kurie jau nebestimuliuoja T ląstelių. Endopeptidazė AN-PEP greitina gliuteno skaidymą virškinimo modelyje, kuris veikia panašiai, kaip *in vivo* vyksta virškinimas. Šiam fermentui tinkamas pH yra suderinamas su skrandžio rūgštingumu. Be to, fermentas yra atsparus pepsino poveikiui. Gliuteno baltymus galima pakeisti taip, kad būtų panaikintas jų stimuliacinis poveikis CD4⁺ T ląstelėms ir γ interferono išskyrimui.

Dar vienas naujas celiakinės ligos gydymo būdas – netoksiškų kviečių, ryžių ar miežių sukūrimas pagal jų baltymų homologiją. Kiti gydymo būdai gali būti tokie: gliuteno sujungimas su HLA-DQ2 ar HLA-DQ8 arba į gliuteną reaguojančių T ląstelių blokavimas imunoterapijos metodu (vakcinuojant). Kviečių miltų transamidinimas, naudojant maistinės kokybės fermentą ir tinkamą amino donorą (mikrobinę transglutaminazę ir lizino metilo esterį), gali padėti blokuoti T ląstelių sukeltą gliadino poveikį [79].

Tiriant ląstelių kultūrų modelius ir transgenines peles nustatyta, kad polimeriniai rišikliai mažina žalojančią gliadino poveikį žarnyno epiteliui. Tokie rišikliai pasižymi geru afiniškumu gliadinui, jie stabdo citoskeleto dezorganizaciją ir žarnyno epitelio ląstelių ultrastruktūrinius pakitimus. Jų teigiamas poveikis žmogaus organizmui dar turės būti tyrinėjamas. Su antigenų supažindinančios ląstelės – tai dendritinės ląstelės, makrofagai ir B ląstelės. Tam tikras unikalus dendritinių ląstelių pogrupis dalyvauja vietiskai aktyvinant gliutenui jautrias T ląsteles celiakijos pažeidimo vietoje.

Enterinės glijos ląstelės (EGL) išskiria neurotropinius veiksnius ir yra aktyvinamos uždegiminių signalų. CL pacientų dvylikapirštėje žarnoje padidėja EGL kilmės S100B baltymo, išskiriamo astroglijos ląstelių, koncentracija: daugėja ir S100B mRNR, ir baltymo, stiprėja iNOS baltymo raiška ir gausėja nitritų gamyba. Tai nevyksta laikantis BGD ir kontrolinių asmenų, nesergančių CL, organizme. Molekulės, galinčios blokuoti EGL kilmės S100B baltymą, galėtų turėti gydomųjų galimybių [80].

IL-15 skatina ir palaiko uždegimą ir slopina apoptozę. IL-15 gausiau randama negydytų CL pacientų enterocituose ir plonosios žarnos gleivinės *lamina propria*

mononukleuose. Jo kiekis susijęs su gleivinės pažeidimo laipsniu. Be to, IL-15 gerina IEL išlikimą. IL-15 blokavimas, nekontroliuojamo IEL aktyvinimo ir išlikimo slopinimas gali apsaugoti nuo audinių pažeidimo ir tapti nauju celiakinės ligos gydymo metodu. CL pacientų plonosios žarnos gleivinėje IL-15 sutrikdo nuo Smad3 priklausomą TGF beta signalo perdavimą T limfocituose, pradedant nuo Smad3 translokacijos į branduolį [81].

CL pacientams padidėja žarnyno sienelės pralaidumas, tai siejama su glaudžiųjų jungčių baltymų, pavyzdžiui, zonulino, pažeidimu. Papildžius zonulino, gali būti įmanoma užkirsti kelią T ląstelių stimuliacijai. Dvigubai koduotame placebo kontroliuojamame atsitiktinių imčių tyrime miligramų dydžio AT-1001 (paraląstelinio pralaidumo slopiklis, gaunamas iš *Vibrio cholera*) dozės apsaugojo nuo žarnyno pralaidumo didėjimo, kai CL pacientams buvo duodama gliuteno [82].

Kartais asmenims, kuriems histologiškai įrodyta celiakinė liga, taikant BGD, simptomai vis tiek kartojasi. Dažniausiai tokios gydymui atsparios ligos, kuri pasitaiko maždaug 30 % pacientų, priežastis yra netinkamas BGD laikymasis. Atliekant CL dietos laikymosi mėginį (angl. CDAT) laikymosi tęstinumas vertinamas pagal septynių klausimų anketą. Mėginys sukurtas naudojant logistinę regresiją, patikrintas pagal transglutaminazės serologinius rodiklius. Juo vertinamas BGD laikymasis [83]. Tyčinis dietos pažeidinėjimas dažnai nustatomas lengvai, tačiau kartais pacientas tiesiog nežino, kuriuose produktuose gali būti gliuteno, kurio yra labai daug kur – kapsulių apvalkale ir net tokiuose produktuose kaip bažnytinės komunijos paplotėliai. Aprašoma ir daugiau gydymui atsparios celiakinės ligos priežasčių, kurios simptomų pasikartojimą sukelia net BGD besilaikantiems pacientams. Tai gali būti pirminis arba antrinis kasos nepakankamumas, plonosios žarnos bakterijų išvešėjimas, kolageninė spru arba limfocitinis ar kolageninis kolitas. Kartais ligos pasikartojimas būna nulemtas komplikacijų, pavyzdžiui, limfomos, karcinomos [84].

Gydymui atspari celiakinė liga apibrėžiama kaip persistuojanti arba recidyvinė plonosios žarnos gleivinės gaurelių atrofija su kriptų hiperplazija ir pagausėjusiu intraepiteliniu limfocitų kiekiu net ir griežtai laikantis BGD daugiau nei 12 mėnesių arba jei nepriklausomai nuo BGD laikymosi trukmės dėl persistuojančių simptomų sunkumo prireikia intervencijos. Vertinant atsaką į BGD, labai svarbu žinoti, kad nepasidūdancios gydymui celiakinės ligos diagnozę lemia pakartotinės biopsijos vieta ir griežto BGD laikymosi trukmė [85]. Gydymui atsparios CL atvejais atsiranda monokloninių arba polikloninių intraepitelinių limfocitų (RCD 2 tipas). Šie pakitimai ir EATL išsivystymas CL prognozę pakreipia neigiama kryptimi, ypač pirmaisiais dvejais metais po CL pripažinimo atsparia gydymui [86].

Kai kuriems pacientams, sergantiems gydymui atsparia celiakine liga, gali padėti kortikosteroidai. Deja, ne visada yra histologinis atsakas į gydymą steroidais. Pacientams,

sergantiems pirmo tipo atsparia gydymui CL, gali padėti imunosupresija, o pacientams, sergantiems antro tipo atsparia gydymui CL, – kladribinas (*Cladribine*) arba kamieninių ląstelių transplantacija. Kladribino ir CD-52 antikūnų skyrimas sukelia histologinį pagerėjimą. Gydant azatioprinu ir TNF- α antikūnais pasiekiamas tik dalinis pagerėjimas. Siūlomi alternatyvūs metodai apima kamieninių ląstelių persodinimą, kad pakistų ne-normali intraepitelinų limfocitų populiacija ir IL-15 blokavimas [87].

APIBENDRINIMAS. Celiakinė liga diagnozuojama vis dažniau, nes pripažįstama, kad ji gali pasireikšti ir be žarnyno pažeidimo simptomų, CL gali būti įtariama pagal at-rankinius serologinius tyrimus. CL gali būti susijusi su kitomis autoimuninėmis ligomis. Ligai nustatyti reikalingi plonosios žarnos gleivinės žarnyno biopsijos tyrimo rezultatai prieš skiriant begliutenę dietą ir užfiksuotas aiškus atsakas į šią dietą. Po tam tikro laiko, laikantis BGD, kai kuriems pacientams prireikia dar vienos žarnyno biopsijos. Naudingų papildomų duomenų apie celiakinę ligą gali suteikti serologiniai tyrimai. Kai kuriais atvejais jie padeda nustatyti, ar gerai laikomasi BGD. Naujausiais tyrimais vis daugiau gilinamasi į celiakinės ligos patogenezę, siekiama pagerinti supratimą apie sudėtingus molekulinis pakitimus, vykstančius sergant šia liga.

Celiakinė liga yra viena iš dažniausių ligų, sukeliančių antrinį plonosios žarnos fermentų, tarp jų ir laktazės, aktyvumo sumažėjimą, dėl to sutrinka maisto medžiagų absor-bavimas. Disacharidazių aktyvumo sumažėjimas ir celiakinė liga priklauso patologi-nių būklių ir ligų, sutrikdančių maisto medžiagų pasisavinimą plonojoje žarnoje, grupei. Pastarąjį dešimtmetį daug dėmesio skiriama celiakinės ligos klinikinių asociacijų tyri-mui. Monografijoje pateikėme sveikų (kraujo donorų) ir reumatoidiniu artritu sergančių asmenų gliuteninės enteropatijos serologinių žymenų tyrimo rezultatus, pagal kuriuos galima spėti, kad gliuteninės enteropatijos dažnis šalies gyventojų populiacijoje yra apie 2 %. Reumatoidiniu artritu sergančių ligonių grupėje celiakijos dažnis buvo 5,7 %. Didėjant reumatoidinio artrito aktyvumo laipsniui, nuo 6,5 % iki 14,3 % daugėjo CL atvejų. Mūsų tyrimai patvirtino celiakinės ligos ir reumatoidinio artrito sąsajas su oksidacinio streso rodiklių kitimais.

LITERATŪRA

1. Virškinimo trakto fermentai ir intestinalinės enzimopatijos

1. Goodman BE. Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *Adv. Physiol. Educ.* 2010; 34: 44–53.
2. Gropper SAS, Smith JL, Groff JL. *Advanced nutrition and human metabolism.* Australia, United States: Wadsworth/Cengage Learning. 2009.
3. Drozdowski LA, Thomason AB. Intestinal sugar transport. *World J. of Gastroenterology.* 2006; 12: 1657–1670.
4. Sahoo S, Thiele I. Predicting the impact of diet and enzymopathies on human small intestinal epithelial cells. *Hum. Mol. Genet.* 2013; 22(13): 2705–2722.
5. Semenza G, Auricchio S, Mantei N. Small Intestinal Disaccharidases. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
6. Wong JMW, Jenkins DJA. Carbohydrate Digestibility and Metabolic Effects. *The Journal of Nutrition.* 2007; 137: 2539S–2546S.
7. Gudmand-Høyer E, Skovbjerg, H. Disaccharide digestion and maldigestion. *Scand. J. Gastroenterol.* 1996; 31 (Suppl. 216): 111–121.
8. Sibley E. Carbohydrate intolerance. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2004; 20(2): 162–7.
9. Nichols BL, Auricchio, S. 50 years of progress since congenital sucrase-isomaltase deficiency recognition. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55(Suppl 2): S2–S7.
10. Treem WR. Congenital sucrase-isomaltase deficiency. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1995; 21: 1–14.
11. Gudmand-Hoyer E. Sucrose malabsorption in children: a report of thirty-one Greenlanders. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1985; 4: 873–877.
12. Davis MB, et al. Mapping of the gene encoding human sucrase-isomaltase (SI) to chromosome 3q25-26. *Cytogenet. Cell Genet.* 1987; 46: 604.
13. Naim HY, Roth J, Sterchi EE, Lentze M, Milla P, Schmitz J, Hauri H.P. Sucrase-isomaltase deficiency in humans: different mutations disrupt intracellular transport, processing, and function of an intestinal brush border enzyme. *J. Clin. Invest.* 1988; 82: 667–679.
14. Fransén JAM, Hauri HP, Ginsel LA, Naim HY. Naturally occurring mutations in intestinal sucrase-isomaltase provide evidence for the existence of an intracellular sorting signal in the isomaltase subunit. *J. Cell Biol.* 1991; 115: 45–57.
15. Sander P, Alfalah M, Naim HY. Novel mutations in the human sucrase-isomaltase gene (SI) that cause congenital carbohydrate malabsorption. *Hum. Mutat.* 2006; 27: 119.
16. Ritz V, Alfalah M, Zimmer KP, et al. Congenital sucrase-isomaltase deficiency because of an accumulation of the mutant enzyme in the endoplasmic reticulum. *Gastroenterol.* 2003; 125: 1678–1685.
17. Uhrich S, Wu Z, Huang J, et al. Four mutations in the SI gene are responsible for the majority of clinical symptoms of CSID. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55(Suppl 2): S34–S35.
18. Naim H.Y, Heine M, Zimmer IP, et al. Congenital sucrase-isomaltase deficiency: heterogeneity of inheritance, trafficking, and function of an intestinal enzyme complex. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55(Suppl 2): S13–S20.

19. Ouwendij J, Moolenaar CE, Pters WJ, et al. Congenital sucrase-isomaltase deficiency. Identification of a glutamine to proline substitution that leads to a transport block of sucrase-isomaltase in a pre-Golgi compartment. *J. Clin. Invest.* 1996; 97: 633–641.
20. Jacob R, Zimmer KP, Schmitz J, Naim HY. Congenital sucrase-isomaltase deficiency arising from cleavage and secretion of a mutant form of the enzyme. *J. Clin. Invest.* 2000; 106: 281–287.
21. Spodsberg N, Jacob R, Alfalah M, Zimmer KP, Naim HY. Molecular basis of aberrant apical protein transport in an intestinal enzyme disorder. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 23506–23510.
22. Hauri HP, Roth J, Sterchi EE, Lentze MJ. Transport to cell surface of intestinal sucrase-isomaltase is blocked in the Golgi apparatus in a patient with congenital sucrase-isomaltase deficiency. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1985; 82: 4423–4427.
23. Lloyd ML, Olsen WA. A study of the molecular pathology of sucrase-isomaltase deficiency: a defect in the intracellular processing of the enzyme. *New Eng. J. Med.* 1987; 316: 438–442.
24. Newton T, Murphy S, Booth IW. Glucose polymer as a cause of protracted diarrhea in infants with unsuspected congenital sucrase-isomaltase deficiency. *J. Pediatr.* 1996; 128: 753–756.
25. Keiser M, Alfalah M, Pröpsting MJ, Castelletti D, Naim HY. Altered folding, turnover, and polarized sorting act in concert to define a novel pathomechanism of congenital sucrase-isomaltase deficiency. *J. Biol. Chem.* 2006; 281(20): 14393–14399.
26. Quezada-Calvillo R, Robayo-Torres CC, Ao Z, et al. Luminal substrate ‘brake’ on mucosal maltase-glucoamylase activity regulates total rate of starch digestion to glucose. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2007; 45: 32–43.
27. Treem WR. Clinical aspects and treatment of congenital sucrase-isomaltase deficiency. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55(Suppl 2): S7–S13.
28. Treem WR. Clinical heterogeneity in congenital sucrase-isomaltase deficiency. *J. Pediatr.* 1996; 128: 727–729.
29. Skovberg H, Krasilnikoff PA. Maltase-glucoamylase and residual isomaltase in sucrose intolerant patients. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1986; 5: 365–371.
30. Lin AH, Hamaker BR, Nichols BL. Direct starch digestion by sucrase-isomaltase and maltase-glucoamylase. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55(Suppl 2): S43–S45.
31. Hamaker BR, Lee BH, Quezada-Calvillo R. Starch digestion and patients with congenital sucrase-isomaltase deficiency. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55 (Suppl 2): S24–28.
32. Robayo-Torres CC, Opekun AR, Quezada-Calvillo R, et al. 13C-breath tests for sucrose digestion in congenital sucrase isomaltase-deficient and sacrosidase-supplemented patients. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2009; 48: 412–418.
33. McMeans AR. Congenital sucrase-isomaltase deficiency: diet assessment and education guidelines. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55(Suppl 2): S37–S39.
34. Harms HK, Bertele-Harms RM, Bruer-Kleis D. Enzyme-substitution therapy with the yeast *saccharomyces cerevisiae* in congenital sucrase-isomaltase deficiency. *New Eng. J. Med.* 1987; 316: 1306–1309.
35. Arola H, Koivula T, Karvonen AL, Jokela H, Ahola T, Isokoski M. Low trehalase activity is associated with abdominal symptoms caused by edible mushrooms. *Scand. J. Gastroenterol.* 1999; 34: 898–903.

36. Murray IA, Coupland K, Smith J, Ansell D, Long RG. Intestinal trehalase in a UK population: Establishing a normal range and the effect of disease. *Br. J. Nutr.* 2000; 83: 241–245.
37. Garland G. Brush border membrane sucrase–isomaltase, maltase–glucoamylase and trehalase in mammals. *Comp. Biochem. Physiol.* 1989; 94B: 1–11.
38. Bergoz R, Vallotton, MC, Loizeau, E. Trehalase deficiency. *Ann. Nutr. Metab.* 1982; 26: 191–195.
39. Gudmand-Høyer E, Fenger HJ, Skovbjerg H, Kern-Hansen P, Rørbæk Madsen P. Trehalase Deficiency in Greenland. *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* 1988; 23(7): 775–778.
40. van Elburg RM, Uil JJ, Kokke FTM, Mulder AM, van de Broek WGM, Mulder CJJ, Heymans HSA. Repeatability of the sugar-absorption test, using lactulose and mannitol, for measuring intestinal permeability for sugars. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1995; 20: 184–188.
41. Riby J, Sunshine S, Kretchmer N. Renal trehalase: Function and development. *Comp. Biochem. Physiol.* 1990; 95A: 95–99.
42. Nakada T, Maruta K, Mitsuzumi H, Kubota M, Chaen H, Sugimoto T, Kurimoto M, Tsujisaka Y. Purification and characterization of a novel enzyme, maltooligosyl trehalose trehalohydrolase, from *Arthrobacter* sp. Q36. *Biosci. Biotech. Biochem.* 1995; 59: 2210–2218.
43. Yoshida, K. Serum trehalase activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Chim. Acta.* 1993; 215: 123–124.
44. Ushijima K, Fujisawa T, Kretchmer N. Study on digestion and absorption of trehalose in human intestine. *Dig. Absorp.* 1995; 18: 56–57.
45. Bergoz R, Bolte, JP, Meyer zum Bueschenfelde KH. Trehalose tolerance test. *Scand. J. Gastroenterol.* 1973; 8: 657–663.
46. Heine W, Mohr C, Münch C. Sugars as substrates for hydrogen breath tests: Correlations with dosage, orocecal transit time, microflora and side-effects. *Pädiatr. Grenzgeb.* 1996; 34, 481–490.
47. Oku T, Okazaki M. Transitory laxative threshold of trehalose and lactulose in healthy women. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 1998; 44, 787–798.
48. US Department of Agriculture. Continuing Survey of Food Intakes by Individuals and 1994–96 Diet and Health Knowledge Survey, Washington DC: National Technical Information Service. 1998.
49. Murphy MM, Kruger CL. Estimated intake of trehalose in the US based upon proposed use levels in 11 categories of foods. Unpublished report from Environ Corp. Submitted to WHO by Bioresco Inc. Switzerland, 2000.

2. Laktazės nepakankamumas

1. Lember M. Hypolactasia: a common enzyme deficiency, leading to lactose malabsorption and intolerance. *Pol. Arch. Med. Wewer.* 2012; 122(Suppl.1): 60–64.
2. Buller HA, Rings ENNM, Mantgomery RK, Grand RJ. Clinical aspects of lactose intolerance in children and adults. *Scand. J. Gastroenterol.* 1991; 26(Suppl.188): 73–81.
3. Campbell AK, Matthews SB, Vassel N, Cox CD, Naseem R, Chaichi J, Holland IB, Green J, Wann KT. Bacterial metabolic ‘toxins’: A new mechanism for lactose and food intolerance, and irritable bowel syndrome. *Toxicology.* 2010; 278(3): 268–276.

4. Bahna SL. Cow's milk allergy versus cow milk intolerance. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*. 2002; 89 (Suppl.6): 56–60.
5. Troelsen JT. Adult-type hypolactasia and regulation of lactose expression. *Biochemica and Biophysica Acta*. 2005; 1723(1–3): 15–32.
6. Vesa TH, Marteau P, Korpela R. Lactose Intolerance. *J. Am. Coll. Nutr.* 2000; 19: 165S–175S.
7. Heyman MB. Lactose Intolerance in Infants, Children, and Adolescents. *Pediatrics*. 2006; 118(3): 1279–1286.
8. Arthur PG, Kent JC, Pother JM, Hartmann PE. Lactose in blood in nonpregnant, pregnant and lactating women. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1991; 13(3): 254–260.
9. Arola H, Tamm A. Metabolism of lactose in the human body. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1994; 202(Suppl): 21–25.
10. Naim HY. Molecular and cellular aspects and regulation of intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *Histol. Histopathol.* 2001; 16(2): 553–561.
11. Martín MG, Turk E, Lostao MP, et al. Defects in Na⁺/glucose cotransporter (SGLT1) trafficking and function cause glucose-galactose malabsorption. *Nat. Genet.* 1996; 12: 216.
12. Buning C, Genschel J, Jurga J, Fiedler T, Voderholzer W, Fiedler EA et al. Introducing genetic testing for adult-type hypolactasia. *Digestion*. 2005; 71: 245–250.
13. Arola H. Diagnosis of lactose malabsorption. Abstracts of the symposium: Hypolactasia, clinical and diagnostical aspects. Tartu, 1991; p. 36–39.
14. Tengstrom B. Renal excretion of galactose in man, with determination of the maximal tubular reabsorption for galactose. *Scand. J. Clin. Invest.* 1968; 21: 321–326.
15. Arribas JCD, Herrero AG, Martin-Lomas M, Canada FJ, He S, Withers SG. Differential mechanism-based labeling and unequivocal activity assignment of the two active sites of intestinal lactase/phlorizin hydrolase. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 6996–7005.
16. Jacob R, Peters K, Naim HY. The prosequence of human lactase phlorizin hydrolase modulates the folding of the mature enzyme. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(10): 8217–8225.
17. Mackey AD, Henderson GN, Gregory JF. Enzymatic hydrolysis of pyridoxine-5'-beta-D-glucoside is catalysed by intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 26858–26864.
18. Nemeth K, Plumb GW, Berrin JG, Juge N, et al. Deglycosylation by small intestinal epithelial cell β -glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *European Journal of Nutrition*. 2003; 42: 29–42.
19. Rasinperä H, Saarinen K, Pelkonen A, Järvelä I, Savilahti E, Kolho KL. Molecularly defined adult-type hypolactasia in school-aged children with a previous history of cow's milk allergy. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12(14): 2264–8.
20. Marin LM. Carbohydrates and lipids – metabolically related. *Medicina Clinica*. 1991; 97(17): 655–657.
21. Nieminen U, Kahri A, Savilahti E, Farkkila MA. Duodenal disaccharidase activities in the follow-up of villus atrophy in coeliac disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 2001; 36: 507–510.
22. Neele AM, Einerhand AW, Dekker J, Buller HA, Freund JN, Verhave M, Grand RJ, Montgomery RK. Verification of the lactase site of rat lactase-phlorizin hydrolase by site-directed mutagenesis. *Gastroenterology*. 1995; 109: 1234–1240.

23. Maiuri L, Rossi M, Raia V, Garipoli V, Hughes LA, Swallow DM, Norén O, Sjöström H, Auricchio S. Mosaic regulation of lactase in human adult-type hypolactasia. *Gastroenterology*. 1994; 107: 54–60.
24. Blomme B, Gerlo E, Hauser B, Vandenplas Y. Disaccharidase activities in Belgian children: reference intervals and comparison with non-Belgian Caucasian children. *Acta Paediatr*. 2003; 92: 806–810.
25. Von Tirpitz C, Kohn C, Steinkamp M, Geerling I, Maier V, Moller P, et al. Lactose intolerance in active Crohn's disease: Clinical value of duodenal lactase analysis. *J. Clin. Gastroenterol*. 2002; 34: 49–53.
26. Lewinsky RH, Jensen TG, Moller J, Stensballe A, Olsen J, Troelsen JT. T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Hum. Mol. Gene*. 2005; 14(24): 3945–3953.
27. van Wering HM, Huibregtse IL, van der Zwan SM, de Bie MS, Dowling LN, Boudreau F, Rings EH, Grand RJ, Krasinski SD. Physical interaction between GATA-5 and hepatocyte nuclear factor-1 results in synergistic activation of the human lactase-phlorizin hydrolase promoter. *J. Biol. Chem*. 2002; 277: 27659–27667.
28. Wang Z, Fang R, Olds LC, Sibley E. Transcriptional regulation of the lactase-phlorizin hydrolase promoter by PDX-1. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2004; 287(4): 555–561.
29. Harvey CB, Wang Y, Hughes LA, Swallow DM, Thurrell WP, Sams VR, Barton R, Lanzon-Miller S, Sarnar M. Studies on the expression of intestinal lactase in different individuals. *Gut*. 1995; 36: 28–33.
30. Escher JC, de Koning ND, van Engen CGJ, et al. Molecular basis of lactase levels in adult humans. *J. Clin. Invest*. 1992; 89: 480–483.
31. Orget P, Lombet J, Grandfils C, et al. Lactase insufficiency revisited. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*. 1985; 4(6): 868–873.
32. Keshavarsian A, Dutta SK. Carbohydrate malabsorption in alcoholic pancreatic insufficiency: the effect of enzymotherapy on intestinal transit time. *J. Clin. Gastroenterol*. 1988; 10(5): 528–533.
33. Matthews SB, Campbell AK. Neuromuscular symptoms associated with lactose intolerance. *Lancet*. 2000; 356: 511.
34. Lee MF, Krasinski SD. Human adult-onset lactase decline: An update. *Nutrition Reviews*. 1998; 56: 1–8.
35. He T, Priebe MG, Welling GW, Vonk RJ. Effect of lactose on oro-cecal transit in lactose digesters and maldigesters. *Eur. J. Clin. Invest*. 2006; 36(10): 737–742.
36. Haderstorfer B, Psychoglin D, Whitehead WE, Schuster MM. Intestinal gas production from bacterial fermentation of undigested carbohydrate in irritable bowel syndrome. *Amer. J. Gastroenterol*. 1989; 84(4): 375–379.
37. Kien CL, Heitlinger LA, Ulysses BR, Murray RD. Digestion, absorption and fermentation of carbohydrates. *Seminars in Perinatology*. 1989; 13(2): 78–87.
38. Ladas S, Papanikos J, Arapakis G. Lactose malabsorption in Greek adults, correlation of small bowel transit time with the severity of lactose intolerance. *Gut*. 1982; 23(11): 968.
39. Phillips SF. Lactose malabsorption and gastrointestinal function. In: *Lactose digestion*. Eds. D.M. Paige, T.M. Bayless. Baltimore: The Johns Hopkins Univ. Press. 1981; p. 51–57.

40. Pietschmann P, Knaflach P, Woloszczek W. Increased serum osteocalcin levels in patients with lactase deficiency. *Amer. J. Gastroenterol.* 1991; 88(1): 72–75.
41. Wheadon M, Goulding A, Barbezat G.O, Campbell A.J. Lactose malabsorption and calcium intake as risk factors for osteoporosis in elderly New Zealand women. *New Zealand Medical Journal.* 1991; 104(921): 417–420.
42. Finkenstedy G, Skrabal F, Gasser R.W, Braunsteiner H. Lactose absorption, milk consumption and fasting blood glucose concentrations in women with idiopathic osteoporosis. *Br. Med. J.* 1986; 292(6514): 161–163.
43. Griessen M, Cochet B, Infante F. et al. Calcium absorption from milk in lactase-deficient subjects. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1989; 49(2): 377–385.
44. Wirth FH, Numerof B, Pleban P, Neylan MJ. Effect of lactose on mineral absorption in pre-term infants. *Pediatrics.* 1990; 117(2): 283–287.
45. Haug A, Høstmark AT, Harstad OM. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease.* 2007, 6: 25.
46. Miller GD, Jarvis JK, McBean LD. The importance of meeting calcium needs with foods. *J. Am. Coll. Nutr.* 2001; 20(Suppl.2): 168S–185S.
47. Weaver CM. Role of dairy beverages in the diet. *Physiol. Behav.* 2010; 100(1): 63–66.
48. Wilson J. Milk intolerance: lactose intolerance and cow's milk protein allergy. *Newborn and Infant Nursing Review.* 2005; 5(4): 203–207.
49. Huang H.T. Hypolactasia and the Chinese diet. *Current Anthropology.* 2002; 43(5): 809–19.
50. Sahi T. Hypolactasia and lactase persistence. Historical review and the terminology. *Scand. J. Gastroenterol.* 1994; 202(Suppl): 1–6.
51. Jarvis KK, Miller GD. Overcoming the barrier of lactose intolerance to reduce health disparities. *J. Natl Med Assoc.* 2002; 94(2): 55–66.
52. Stear GJ, Horsburgh K, Steinman HA. Lactose intolerance – a review. *Current Allergy and Clinical Immunology.* 2005; 18(3): 114–9.
53. Johnson JD, Kretchmer N, Simoons FJ. Lactase malabsorption: its biology and history. *Adv. Pediatr.* 1974; 21: 197–237.
54. McCracken RD. Lactase deficiency: an example of dietary evolution. *Curr. Anthropol.* 1971; 12: 479–500.
55. Jarvela I.E. Molecular genetics of adult-type hypolactasia. *Annals of Medicine.* 2005. 37(3): 179–185.
56. Sahi T. Genetics and epidemiology of adult type hypolactasia. *Scand. J. Gastroenterol.* 1994; 202(Suppl): 7–20.
57. McBean LD, Miller GD. Allaying fears and fallacies about lactose intolerance. *J. Am. Diet Asso.* 1998; 98(6): 671–676.
58. Arola H. Hypolactasia (Lactase restriction) – a normal condition for the adult. *Digestive Diseases.* 1989; 7(6): 301–309.
59. Villako K, Maaros H. Clinical picture of hypolactasia and lactose intolerance. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1994; 202: 36–54.
60. Jakobsson I. Food antigens in human milk. Food allergy in infancy and childhood. Eds. H. K. Harms, U. Wahn. Germany, 1989.

61. Sibley E. Carbohydrate intolerance. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2004; 20(2): 162–167.
62. Järvelä I, Enattah NS, Kokkonen J, et al. Assignment of the locus for congenital lactase deficiency to 2q21, in the vicinity of but separate from the lactase-phlorizin hydrolase gene. *Am. J. Hum. Genet.* 1998; 63: 1078.
63. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nature Genet.* 2002; 30: 233–237.
64. Kuokkanen M, Kokkonen J, Enattah NS, Ylisaukko-oja T, Komu H, Varilo T et al. Mutations in the translated region of the lactase gene (LCT) underlie congenital lactase deficiency. *Am. J. of Hum. Genet.* 2006; 78: 339–44.
65. Hoskova A, Sabacky J, Mrskos A, Pospisil R. Severe lactose intolerance with lactosuria and vomiting. *Arch. Dis. Child.* 1980; 55: 304–316.
66. Shulman R.J, Feste A, Ou C. Absorption of lactose, glucose polymers, or combination in premature infants. *J. Pediatr.* 1995; 127: 626–631.
67. Mobassaleh M, Montgomery RK, Biller JA, Grand RJ. Development of carbohydrate absorption in the fetus and neonate. *Pediatrics.* 1985; 75: 160–166.
68. Flatz G. Genetics of lactose digestion in humans. *Advances in human genetics.* Eds. H. Harris, K. Hirschorn. New York: Plenum Press. 1987; 16: 1–77.
69. Sahi T, Isokoski M, Jussila J, Launiala K, Pyorala K. Recessive inheritance of adult-type lactose malabsorption. *Lancet.* 1973; i: 823–6.
70. Pironi L, Callegari C, Cornia G.L, Lami F, Miglioli M, Barbara L. Lactose malabsorption in adult patients with Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.* 1988; 83:1267–71.
71. Srinivasan R, Minocha A. When to suspect lactose intolerance. Symptomatic, ethnic and laboratory clues. *Postgrad. Med.* 1998; 104: 109–23.
72. Sahi T, Launiala K. More evidence for the recessive inheritance of selective adult type lactose malabsorption. *Gastroenterology.* 1977; 73(22): 231–232.
73. Kruse TA, Bolund L, Grzeschik KH, Ropers HH, Sjostrom H, Noren O, Mantei N, Semenza G. The human lactase-phlorizin hydrolase gene is located on chromosome 2. *FEBS Lett.* 1988; 240: 123–126.
74. Harvey CB, Fox MF, Jeggo PA, Mantei N, Povey S, Swallow DM. Regional localization of the lactase-phlorizin hydrolase gene, LCT, to chromosome 2q21. *Annals of Human Genetics.* 1993; 57(Pt3): 179–185.
75. Boll W, Wagner P, Mantei N. Structure of the chromosomal gene and cDNAs coding for lactase-phlorizin hydrolase in humans with adult-type hypolactasia or persistence of lactase. *Am. J. Hum. Genet.* 1991; 48: 889–902.
76. Harvey CB, Pratt WS, Islam I, Whitehouse DB, Swallow DM. DNA polymorphisms in the lactase gene: linkage disequilibrium across the 70-kb region. *Europ. J. Hum. Genet.* 1995; 3: 27–41.
77. Mantei N, Villa M, Enzler T, Wacker H, Boll W, James P, et al. Complete primary structure of human and rabbit lactase-phlorizin hydrolase: implications for biosynthesis, membrane anchoring and evolution of the enzyme. *Embo J.* 1988; 7: 2705–2713.
78. Grand RJ, Montgomery RK, Chitkara DK, Hirschborn JN. Changing genes; losing lactase. *Gut.* 2003; 52: 617–619.

79. Jarvela IE. Molecular diagnosis of adult-type hypolactasia (lactase non persistence). *Scand J Clin Lab Invest.* 2005; 65: 535–539.
80. Swallow DM. Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Annu. Rev Genet.* 2003; 37: 197–219.
81. Olds LC, Sibley E. Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role a cis regulatory element. *Hum. Mol. Genet.* 2003; 12: 2333–2340.
82. Bersaglieri T, Sabuti PC, Patterson N, Vanderploeg T, Schaffner SF, Drake JA, et al. Genetic signatures of strong recent positive selection at lactase gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2004; 74: 1111–200.
83. Kuokkanen M, Enattah N, Oksanen A, Savilahti E, Orpana A, Jarvela I. Transcriptional regulation of the lactase-phlorizin hydrolase gene by polymorphisms associated with adult-type hypolactasia. *Gut.* 2003; 52: 647–652.
84. Rasinpera H, Savilahti E, Enattah N, Kuokkanen M, Totterman N, Lindahl H et al. Genetic test, which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children. *Gut.* 2004; 53: 1571–1576.
85. Kokkonen J, Haapalahti M, Tikkanen S, Karttunen R, Savilahti E. Gastrointestinal complaints and diagnosis in children: a population-based study. *Acta Paediatr.* 2004; 93: 880–886.
86. Troelsen JT, Olsen J, Møller J, Sjostrom H. An upstream polymorphism associated with lactase persistence has increased enhancer activity. *Gastroenterology.* 2003; 125: 1686–1694.
87. Harvey CB, Wang Y, Darmoul D, Phillips A, Mantei N, Swallow DM. Characterisation of a human homologue of a yeast cell division cycle gene, MCM6, located adjacent to the 5' end of the lactase gene on chromosome 2q21. *FEBS Lett* 1996; 398: 135–140.
88. Wang Y, Harvey C.B, Pratt WS, Sams VR, Sarner M, Rossi M, et al. The lactase persistence/non-persistence polymorphism is controlled by a cis-acting element. *Hum. Mol. Genet.* 1995; 4: 657–662.
89. Enattah NS, Trudeau A, Pimenoff V, Maiuri L, Auricchio S, Greco L, Rossi M, Lentze M, Seo JK, Rahgozar S, Khalil I, Alifrangis M, Natah S, Groop L, Shaat N, Kozlov A, Verschubskaya G, Comas D, Bulayeva K, Qasim Mehdi S, Terwilliger JD, Sahi T, Savilahti E, Perola M, Sajantila A, Järvelä I, Peltonen L. Evidence of Still-Ongoing Convergence Evolution of the Lactase Persistence T-13910 Alleles in Humans. *Am J Hum Genet.* 2007; 81(3): 615–625.
90. Poulter M, Hollox E, Harvey CB, Mulcare C, Peuhkuri K, Kajander K, Sarner M, Korpela R, Swallow D.M. The causal element for the lactase persistence/non-persistence polymorphism is located in a 1 Mb region of linkage disequilibrium in Europeans. *Ann. Hum. Genet.* 2003; 67: 298–311.
91. Bersaglieri T, Sabeti PC, Patterson N, Vanderploeg T, Schaffner SF, Drake JA, Rhodes M, Reich DE, Hirschhorn JN. Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2004; 74: 1111–1120.
92. Troelsen JT, Olsen J, Moller J, Sjostrom H. An upstream polymorphism associated with lactase persistence has increased enhancer activity. *Gastroenterology.* 2003; 125:1686–1694.
93. Troelsen JT, Mehlum A, Olsen J, et al. 1 kb of the lactase-phlorizin hydrolase promoter directs post-weaning decline and small intestinal-specific expression in transgenic mice. *FEBS Lett.* 1994; 342: 291.

94. Fang R, Santiago NA, Olds LC, Sibley E. The homeodomain protein Cdx2 regulates lactase gene promoter activity during enterocyte differentiation. *Gastroenterology*. 2000; 118: 115.
95. Krasinski SD, Van Wering HM, Tannemaat MR, Grand RJ. Differential activation of intestinal gene promoters: functional interactions between GATA-5 and HNF-1 alpha. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 2001; 281: G69.
96. Troelsen JT. Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. *Biochim. Biophys. Acta*. 2005; 1723: 19.
97. Rossi M, Maiuri L, Fusco MI, et al. Lactase persistence versus decline in human adults: multifactorial events are involved in down-regulation after weaning. *Gastroenterology*. 1997; 112: 1506.
98. Hollox EJ, Poulter M, Zvarik M, Ferak V, Krause A, Jenkins T, Saha N, Kozlov AI, Swallow D.M. Lactase haplotype diversity in the Old World. *Am. J. Hum. Genet.* 2001; 68: 160–172.
99. Holden C, Mace R. Phylogenetic analysis of the evolution of lactose digestion in adults. *Hum. Biol.* 1997; 69: 605–628.
100. Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin version 2.000: a software for population genetic data analysis. Genetics and Biometry Laboratory. University of Geneva. Geneva. 2000.
101. Coelho M, Luiselli D, Bertorelle G, Lopes AI, Seixas S, Destro-Bisoli G, Rocha J. Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. *Hum. Genet.* 2005; 117: 329–339.
102. Altshuler D, Brooks LD, Chakravarti A, Collins FS, Daly MJ, Donnelly P. A haplotype map of the human genome. *Nature*. 2005; 437: 1299–1320.
103. Nielsen R, Williamson S, Kim Y, Hubisz MJ, Clark A.J, Bustamante C. Genomic scans for selective sweeps using SNP data. *Genome Res.* 2005; 15: 1566–1575.
104. Bandelt HJ, Forster P, Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 1999; 16: 37–48.
105. Hartl DL, Clark AG. Principles of population genetics, 3rd ed. Sinauer, Sunderland. United Kingdom. 1997.
106. Modiano D, Luoni G, Petrarca V, Sodiomon-Sirima B, De Luca M, Simporé J, Coluzzi M, Bodmer J.G, Modiano G. HLA class I in three West African ethnic groups: genetic distances from sub-Saharan and Caucasoid populations. *Tissue Antigens*. 2001; 57: 128–137.
107. Burger M, Kirchner M, Bramanti B, Haak W, Thomas MG. Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104: 3736–3741.
108. Harvey CB, Hollox EJ, Poulter M, Wang Y, Rossi M, Auricchio S, Iqbal TH, Cooper BT, Barton R, Sarner M, et al. Lactase haplotype frequencies in Caucasians: association with the lactase persistence/non-persistence polymorphism. *Ann. Hum. Genet.* 1998; 62: 215–223.
109. Myles S, Bouzekri N, Haverfield E, Cherkaoui M, Dugoujon JM, Ward R. Genetic evidence in support of a shared Eurasian-North African dairying origin. *Hum. Genet.* 2005; 117: 34–42.
110. Mulcare CA, Weale ME, Jones AL, Connell B, Zeitlyn D, Tarekegn A, Swallow D, Bradman M, Thomas M.G. The T allele of a single-nucleotide polymorphism 13.9 kb upstream of the lactase gene (LCT) (C-13.9kbT) does not predict or cause the lactase-persistence phenotype in Africans. *Am. J. Hum. Genet.* 2004; 74: 1102–1110.

111. Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman JS, Powell K, Mortensen HM, Hirbo JB, Osman M, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat. Genet.* 2007; 39: 31–40.
112. Ingram CJ, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekegn A, Raga TO, Bekele E, Elamin F.M, Thomas MG, Bradman N, et al. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum. Genet.* 2007; 120: 779–788.
113. Gudmand-Hoyer E, Skovbjerg H. Disaccharide digestion and maldigestion. *Scand. J. Gastroenterol.* 1996; 31 (Suppl. 216): 111–121.
114. Ferguson A. et al. Prevalence of lactose deficiency in British adults. *Gut.* 1984; 25(2): 163–167.
115. Flatz G, Howell IN, Doench J, Flatz S.D. Distribution of physiological adult lactase phenotypes, lactose absorber and malabsorber, in Germany. *Hum. Genet.* 1982; 62: 152–157.
116. Rosenkranz W, Hadorn B, Müln W. et al. Distribution of human adult lactase phenotypes in the population of Austria. *Hum.. Genet.* 1982; 62: 158–161.
117. Czeizel A, Flatz G, Flatz SD. Prevalence of primary adult lactose malabsorption in Hungary. *Hum. Genet.* 1983; 64 (4): 398–401.
118. Madzarova-Nohejlova J. Small bowel disaccharidase activity in Czech population and in Gipsy population living in west Bohemia. *Scand. J. Gastroenterol.* 1982; 17(Suppl. 78): 279.
119. Cuddenec Y, Delbruck H, Flatz G. Distribution of the adult lactose phenotypes - lactose absorber and malabsorber - in a group of 131 army recruits. *Gastroenterologie Clinique et Biologique.* 1982; 6(10): 776–779.
120. Burgio GR, Flatz G, Barbera C, et al. Prevalence of primary adult lactose malabsorption and awareness of milk intolerance in Italy. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1984; 39(1): 100–105.
121. Valenkevich LN, Iakhontova OI. Prevalence of the lactase deficiency among the population of the northwestern region of Russia. *Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2005. (1)(1): 97–100, 108.
122. Kozlov AI. Hypolactasia in the indigenous populations of northern Russia. *Int. J. Circumpolar Health.* 1998; 57: 18–21.
123. Borinskaia SA, Rebrikova DV, Nefedova VV, Kofiadi IA, Sokolova MV, Kolchina EV, Kulikova EA, Chernyshov VN, Kutsev SI, Polonikov AV, et al. Molecular diagnosis and frequencies of primary hypolactasia in populations of RUSSIA and neighboring countries. *Mol. Biol.* 2006; 40: 1031–1036.
124. Labotkin K. Prevalence of selective lactose malabsorption in young Estonians and Russians. *Acta Comment. Univ. Tartu.* 1987; 790: 65–67.
125. Lember M, Tamm A, Villako K. Lactose malabsorption in Estonians and Russians. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1991; 3(6): 479–483.
126. Lember M, Tamm A, Piirsoo A, Suurmaa K, Kermes K, Kermes R, Sagi T, Isokoski M. Lactose malabsorption in Khants in western Siberia. *Scand. J. Gastroenterol.* 1995; 30(3): 225–227.
127. Flatz G, Henze HJ, Palabiyikoglu E, Dagalp K, Türkkan T. Distribution of the adult lactase phenotypes in Turkey. *Trop. Geogr. Med.* 1986; 38: 255–258.
128. Gilat T, Gelman Malachi E, Shochet S. R. Lactose tolerance in Arab population. *Am. J. Dig. Dis.* 1971; 16: 203–206.
129. Kassir Z, Kellow AH. Lactose intolerance in Iraq. *J. Fac. Med. Baghdad.* 1978; 20: 245–249.

130. Senewiratne B, Thambipillai S, Perera H. Intestinal lactase deficiency in Ceylon (Sri Lanka). *Gastroenterology*. 1977; 72: 1257–1259.
131. Rahimi AG, Delbrück H, Haeckel R, Goedde HW, Flatz G. Persistence of high intestinal lactase activity (lactase tolerance) in Afghanistan. *Hum. Genet.* 1976; 34: 57–62.
132. Flatz G, Saengudom C. Lactose tolerance in Asians: a family study. *Nature*. 1969; 224: 915–916.
133. Anh NT, Thuc TK, Welsh JD. Lactose malabsorption in adult Vietnamese. *Am. J. Clin. Nutr.* 1977; 30: 468–469.
134. Surjono A, Sebodo T, Soenarto J, Moenginah P. A. Lactose intolerance among healthy adults. *Paediatr. Indones.* 1973; 13: 49–54.
135. Zheng JJ, Gong ZL, Xue LS. et al. *Chinese Medical Journal*. 1988; 101(4): 284–287.
136. Wang Y, Yan Y, Xu J, et al. Prevalence of primary lactose malabsorption in three populations in northern China. *Hum. Genet.* 1984; 67: 103–106.
137. Bahk YW, Ahn GS. Lactose intolerance in the Koreans. *Mod. Med. Asia*. 1977; 13(3): 7–8.
138. Hussein L, Flatz SD, Kuhnau W, Flatz G. Distribution of human adult lactase phenotypes in Egypt. *Human Heredity*. 1982; 32: 94–99.
139. Bayoumi RAL, Saha N, Salih AS, et al. Distribution of the lactase phenotypes in the population of the democratic republic of the Sudan. *Human Genetics*. 1981; 57: 279–281.
140. Bayoumi RAL, Flatz SD, Kühnau W, Flatz G, et al. Beja and Nilotes: Nomadic pastoralist groups in the Sudan with opposite distributions of the adult lactase phenotypes. *Amer. J. Phys. Anthropol.* 1982; 58: 173–178.
141. Jackson RT, Latham MC. Lactose and milk intolerance in Tanzania. *E. Afr. Med. J.* 1978; 55: 298–302.
142. Flatz G, Schildge C, Sekou H. Distribution of adult lactase phenotypes in the Tuareg of Niger. *Am. J. Hum. Genet.* 1986; 38: 515–520.
143. Kretchmer N, Ransome-Kuti O, Hurwitz R, Dungey C, Alakija W. Intestinal absorption of lactose in Nigerian ethnic groups. *Lancet*. 1971; 2: 392–395.
144. Buller HA, Grand RJ. Lactose Intolerance. *Annu. Rev. Med.* 1990; 41: 141–8.
145. Newcomer AD, Gordon H, Thomas PJ, McGill DB. Family studies of lactase deficiency in the American Indian. *Gastroenterology*. 1977; 73: 985–988.
146. Newcomer A. D, Thomas P. H, McGill D. B, Hofmann A. F. Lactase deficiency: a common genetic trait of the American Indian. *Gastroenterology*. 1977; 72: 234–237.
147. Ellestad-Sayed JJ, Haworth JC, Hildes JA. Disaccharide malabsorption and dietary patterns in two Canadian Eskimo communities. *Am. J. Clin. Nutr.* 1978; 31: 1473–1478.
148. Lisker R, Aguilar L, Zavala C. Intestinal lactase deficiency and milk drinking capacity in the adult. *Am. J. Clin. Nutr.* 1978; 31: 1499–1503.
149. Lacassie Y, Winberg R, Monckeberg F. Poor predictability of lactose malabsorption from clinical symptoms for Chilean population. *Am. J. Clin. Nutr.* 1978; 31: 799–804.
150. Maggy R, Sayagues B, Fernandez A, et al. Lactose malabsorption and intolerance in Uruguayan population by breath hydrogen test (H₂). *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1987; 6: 373–376.
151. Ingram CJ, Mulcare CA, Itan Y, Thomas MG, Swallow DM. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Hum. Genet.* 2009; 124: 579–591.

152. Itan Y, Jones BL, Ingram CJ, Swallow DM, Thomas MG. A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. *BMC Evol. Biol.* 2010; 10: 36.
153. Ingram CJ, et al. Multiple rare variants as a cause of a common phenotype: several different lactase persistence associated alleles in a single ethnic group. *J. Mol. Evol.* 2009; 6: 579–588.
154. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Swallow DM, Hollox EJ. The genetic polymorphism of intestinal lactase activity in adult humans. In *The metabolic and molecular basis of inherited disease* (eds Scriver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S., Valle D.). New York, NY: McGraw-Hill. 2000; p. 1651–1662.
155. Gerbault P, Moret C, Currat M, Sanchez-Mazas A. Impact of selection and demography on the diffusion of lactase persistence. *PLoS ONE.* 2009; 4: e6369.
156. Tishkoff S. A, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat. Genet.* 2007; 39: 31–40.
157. Wang Y, Harvey CB, Hollox EJ, et al. The genetically programmed down-regulation of lactase in children. *Gastroenterology.* 1998; 114: 1230–1236.
158. Keuch GT, Troncale FJ, Miller LH et al. Acquired lactose malabsorption in Thai children. *Pediatrics.* 1969; 43: 540–545.
159. Chang MI, Hsu HY, Chen CJ, Lee CH, Hsu JY. Lactose malabsorption and small-intestinal lactase in normal Chinese children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1987; 6: 369–372.
160. Swagerty DL, Walling AD, Klein RM. Lactose intolerance. *Am. Fam. Physician.* 2002; 65(9): 1845–50.
161. Arrighoni E, Marteau P, Briet F, Pochart P, Rambaud JC, Messing B. Tolerance and absorption of lactose from milk and yogurt during short-bowel syndrome in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1994; 60: 926–929.
162. Parnes HL, Fung E, Schiffer CA. Chemotherapy-induced lactose intolerance in adults. *Cancer.* 1994; 74: 1629–1633.
163. Sahi T, Launiala K, Laitinen H. Hypolactasia in a fixed cohort of young Finnish adults. A follow-up study. *Scand. J. Gastroenterol.* 1983; 18: 865–870.
164. Buller HA, Rings EH, Montgomery RK, Grand RJ. Clinical aspects of lactose intolerance in children and adults. *Scand. J. Gastroenterol.* 1991; 188(Suppl): 73–80.
165. Kolho KL, Savilahti E. Ethnic Differences in intestinal disaccharidase values in children in Finland. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000; 30: 283–287.
166. Kalibatiėnė D. Geografinė-istorinė hipolaktazijos paplitimo koncepcija pagal multiparametrinius Lietuvos gyventojų tyrimus. Habilituoto daktaro disertacija (biomedicinos mokslai, medicina). Vilniaus universitetas. 1994.
167. Carina M Schlebusch, Per Sjödin, Pontus Skoglund, Mattias Jakobsson. Stronger signal of recent selection for lactase persistence in Maasai than in Europeans. *European Journal of Human Genetics.* 2013; 21: 550–553.
168. Raz M, Sharon Y, Yerushalmi B, Birk R. Frequency of LCT-13910C/T and LCT-22018G/A single nucleotide polymorphisms associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Israelis of different ethnic groups. *Gene.* 2013 Apr 25; 519(1): 67–70.
169. Al-Abri AR, Al-Rawas O, Al-Yahyaee S, Al-Habori M, Al-Zubairi AS, Bayoumi R. Distribution of the Lactase Persistence-Associated Variant Alleles -13910*T and -13915*G among the People of Oman and Yemen. *Human Biology.* 2012; 84(3): 271–286.

170. Heyer E, Brazier L, Ségurel L, Hegay T, Austerlitz F, Quintana-Murci L, Georges M, Pasquet P, Veuille M. Lactase Persistence in Central Asia: Phenotype, Genotype, and Evolution. *Human Biology*. 2011; 83(3): 379–392.
171. Nagy D, Tömöry G, Csányi B, Bogácsi-Szabó E, Czibula A, Priskin K, Bede O, Bartosiewicz L, Downes CS, Raskó I. Comparison of lactase persistence polymorphism in ancient and present-day Hungarian populations. *American Journal of Physical Anthropology*. 2011; 145(2): 262–269.
172. Manco L, Pires S, Lopes AI, Figueiredo I, Albuquerque D, Alvarez M, Rocha J, Abade A. Distribution of the –13910C>T polymorphism in the general population of Portugal and in subjects with gastrointestinal complaints associated with milk consumption. *Annals of Human Biology*. 2013; 40 (2): 205–208.
173. Płoszaj T, Jędrychowska-Dańska K, Witas HW. Frequency of lactase persistence genotype in a healthy Polish population. *Central European Journal of Biology*. 2011; 6(2): 176–179.
174. Khabarova Y, Torniaainen S, Nurmi H, Järvelä I, Isokoski M, Mattila K. Prevalence of lactase persistent/non-persistent genotypes and milk consumption in a young population in north-west Russia. *World J Gastroenterol*. 2009 April 21; 15(15): 1849–1853.
175. Kalibatiėnė D. Recent advances in the study of lactose malabsorption in Lithuania. *Acta medica Lituanica*. 1994, 1: 8–10.
176. Kalibatiėnė D, Varvuolytė S. Detection of the C/C-13910 genotype, associated with primary adult-type hypolactasia. *Biology*. 2007; 53(3): 25–29.
177. Kalibatiėnė D, Varvuolytė S. Nauji pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos diagnostikos metodai. *Medicinos teorija ir praktika*. 2006, 12(4): 319–329.
178. Paige DM, Bayless TM, Mellits ED, Davis L. Lactose malabsorption in preschool black children. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1977; 30: 1018–1022.
179. Johnson JD, Simoons FJ, Hurwitz R, et al. Lactose malabsorption among adult Indians of the great Basin and American Southwest. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1978; 31: 381–387.
180. Tadesse K, Leung DTY, Yuen RCF. The status of lactose absorption in Hong Kong Chinese children. *Acta Paediat.* 1992; 81(8): 598–601.
181. Woteki CE, Weser E, Young EA. Lactose malabsorption in Mexican-American children. *Am J Clin Nutr.* 1976; 29 : 19–24.
182. Wang Y, Harvey CB, Hollox EJ, et al. The genetically programmed down-regulation of lactase in children. *Gastroenterology*. 1998; 114:1230– 1236.
183. Flatz G, Bernsau I, Behrens A. Lactose absorption and malabsorption in healthy children: improved phenotypic resolution by simultaneous determination of breath hydrogen and carbon dioxide. *Eur. J. Pediat.* 1982; 138(4): 304–306.
184. Afanasyeva TV, Terechtchenko S, Prachine EI, Polivanova T, Semyonova N, Lapteva L, Kascheeva M. Lactase Deficiency in Siberian Native and Alien Children: the Analysis of Genetic and Food Factors. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 2004; 39: S274.
185. Brasseur D, et al. Malabsorption of intact lactose. *The Lancet*. 1985; 1(8420): 100–101.
186. Villiers F.P.R. Relationship between milk lactose tolerance and body mass in teenage Tswana schoolchildren. *South African Medical Journal*. 1988; 74(10): 499–502.

187. Paige DM. Lactose malabsorption in children: prevalence, symptoms and nutritional considerations. In: Lactose digestion. Eds Paige D.M., Bayless T.M. The Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, London. 1981; p. 151–162.
188. Merck Manual of Geriatrics. USA. 2005.
189. Russel RM. Changes in gastrointestinal function attributed to aging. *Am. J. Clin. Nutr.* 1992; 55: 1203S–7S
190. Visokinskas A. Virškinimo sistema. Kn.: Geriatrija. Sudaryt. V. Lesauskaitė. Vilnius, 1998; p. 108–126.
191. Corazza GR, Ginaldi L, Quaglione G, Ponzielli F, Vecchio L, Biagi F, Quaglino D. Proliferating cell nuclear antigen expression is increased in small bowel epithelium in the elderly *Mechanisms of Ageing and Development.* 1998; 104(1): 1–9.
192. Holt PR. Gastrointestinal diseases in elderly. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2003; 6: 41–48.
193. Di Stefano M, Veneto G, Malservisi S, Strocchi A, Corazza GR. Lactose malabsorption and intolerance in the elderly. *Scand. J. Gastroenterol.* 2001; 36: 1274–1278.
194. Rao DR, Bello H, Warren AP, Brown GE. Prevalence of lactose maldigestion. Influence and interaction of age, race, and sex. *Dig. Dis. Sci.* 1994; 39(7): 1519–24.
195. Friedel D, Krevsky B. Irritable bowel syndrome in the elderly. *Clinical geriatrics.* 2000; 8(9): 36–47.
196. Balcombe NR, Sinclair A. Ageing: definitions, mechanisms and the magnitude of the problem. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2001; 15: 835–49.
197. Goulding A, Taylor RW, Keil D, Gold E, Lewis-Barned NJ, Williams SH. Lactose malabsorption and rate of bone loss in older women. *Age and Ageing.* 1999; 28: 175–180.
198. Wheadon M, Goulding A, Barbezat G, Campbell A. Lactose malabsorption and calcium intake as risk factors for osteoporosis in elderly New Zealand women. *N. Z. Med. J.* 1991; 104: 417–419.
199. Jussila J, Isokoski M, Launiala K. Prevalence of lactose malabsorption in a Finnish rural population. *Scand. J. Gastroenterol.* 1970; 5: 49–56.
200. Suarez FL, Savaiano DA. Lactose digestion and tolerance in adult and elderly Asian-Americans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1994; 59: 1021–1024.
201. Rana SV, Bhasin DK, Naik N, Subhiah M, Ravinder P. Lactose maldigestion in different age groups of north Indians. *Trop. Gastroenterol.* 2004; 25(1): 18–20.
202. Russo F, De Carne M, Buonsante A, Cisternino A.M, Centonze S, Giannandrea B, Di Leo A. Hypolactasia and metabolic changes in post-menopausal women. *Maturitas.* 1997; 26: 193–202.
203. Obermayer-Pietsch BM, Bonelli CM, Walter DE, Kuhn RJ, Fahrleitner-Pammer A, Berghold A, Goessler W, Stepan V, Dohnig H, Leeb G, Renner WJ. Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. *Bone Miner. Res.* 2004; 19(1): 42–7.
204. Enattah NG, Sulkava R, Halonen P, Kontula K, Jarvela I. Genetic variant of lactase-persistent C/T-13910 is associated with bone fractures in very old age. *J. Am. Geriatr Soc.* 2005; 53 (1): 79–82.

205. Buchowski MS, Semenya J, Johnson AO. Dietary calcium intake in lactose maldigesting intolerant and tolerant African-american women. *J. Am. Coll. Nutr.* 2002; 21(1): 47–54.
206. Wheadon M, Goulding A, Barbezat G.O, Campbell A.J. Lactose malabsorption and calcium intake as risk factors for osteoporosis in elderly New Zealand women. *New Zealand Medical Journal.* 1991; 104(921): 417–420.
207. Halpern GM, Van de Water J, Delabroise AM. Comparative uptake of calcium from milk and a calcium rich mineral water in lactose intolerant adults: implications of treatment of osteoporosis. *Amer. J. Pree. Med.* 1991; 7(6): 379–383.
208. Kalibatiené D, Varvuolyté S, Alekna V. Investigation of hypolactaisa in the elderly. *Geriatrja.* 2006; 7(3): 136–42.
209. Socha J, Książyk J, Flats G, Flatz SD. Prevalence of primary adult lactose malabsorption in Poland. *Annals of Human Biology.* 1984; 11(4): 311–6.
210. Lomer MC, Parkes GC, Sanderson JD. Review article: lactose intolerance in clinical practice—myths and realities. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27: 93–103.
211. Simoons FJ. Primary adult lactose intolerance and the milking habit. A problem in biologic and cultural interrelations. II. A culture historical hypothesis. *Amer. J. Dig. Dis.* 1970; 15: 695–710.
212. Simoons FJ. Age of onset of lactose malabsorption. *Pediatrics* 1980; 66: 646–8.
213. Nei M, Saitou N. Genetic relationship of human populations and ethnic differences in reaction to drugs and food. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1986; 214: 21–37.
214. Herring DA, Saunders SR, Katzenberg MA. Investigating the weaning process in past populations. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1998; 105: 425–439.
215. Craig OE, Chapman J, Heron C, Willis LH, Bartosiewicz L, Taylor G, Whittle A, Collins MJ. Did the first farmers of central and eastern Europe produce dairy foods? *Antiquity.* 2005; 79: 882–894.
216. Cook GC, Al-Torki MT. High intestinal lactase concentrations in adult Arabs in Saudi Arabia. *Br. Med. J.* 1975; 3: 135–136.
217. Flatz G, Rotthauwe HW. Lactose nutrition and natural selection. *Lancet.* 1973; 2: 76–77.
218. Richards MP, Schulting RJ, Hedges RE. Archaeology: sharp shift in diet at onset of Neolithic. *Nature.* 2003; 425: 366.
219. Bloom G, Sherman PW. Dairying barriers affect the distribution of lactose malabsorption. *Evol. Hum. Behav.* 2005; 26: 301–312.
220. Meloni T, Colombo C, Ruggiu G, Dessena M, Meloni GF. Primary lactase deficiency and past malarial endemicity in Sardinia. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1998; 30: 490–493.
221. Simoons FJ. The geographical hypothesis of lactose malabsorption. A weighing of the evidence. *Digestive Diseases.* 1978; 23: 963–980.
222. Simoons FJ. Geographic patterns of primary adult lactose malabsorption. *Lactose digestion.* Eds. D.M. Paige, TM. Bayless. Baltimore: The Johns Hopkins Univ. Pres. 1981; p. 3–7.
223. McCracken RD. Lactase deficiency: an example of dietary evolution. *Curr. Anthropol.* 1971; 12: 497–517.
224. Flatz G, Rotthauwe HW. The human lactase polymorphism: physiology and genetics of lactose absorption and malabsorption. *Prog. Med. Genet.* 1977; 2: 205– 249.

225. Sahi T. The inheritance of selective adult type lactose malabsorption. *Scand. J. Gastroenterol.* 1974; 9(Suppl. 30): 1–73
226. Gerbault P, Liebert A, Itan Y, Powell A, Currat M, Burger J, Swallow D. M, Thomas M. G. Evolution of lactase persistence: an example of human niche construction. *Philosophical Transactions B Phil. Trans. R. Soc. B.* 2011; 366(1566): 863–877.
227. Shennan S. Property and wealth inequality as cultural niche construction. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2011; 366: 918–926.
228. Gintis H. Gene–culture coevolution and the nature of human sociality. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2011; 366: 878–888.
229. Laland KN, Odling-Smee J, Feldman MW. Niche construction, biological evolution, and cultural change. *Behav. Brain Sci.* 2000; 23: 131–146.
230. Laland KN, Sterelny K. Perspective: seven reasons (not) to neglect niche construction. *Evolution.* 2006; 6: 1751–1762.
231. Rendell L, Fogarty L, Laland KN. Runaway cultural niche construction. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2011; 366, 823–835.
232. Torniaainen S, Parker MI, Holmberg V, Lahtela E, Dandara C, Jarvela I. Screening of variants for lactase persistence/non-persistence in populations from South Africa and Ghana. *BMC Genet.* 2009; 10: 31.
233. Post DM, Palkovacs E. P. Eco-evolutionary feedbacks in community and ecosystem ecology: interactions between the ecological theatre and the evolutionary play. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2009; 364: 1629–1640.
234. Dudd SN, Evershed RP. Direct demonstration of milk as an element of archaeological economies. *Science.* 1998; 282: 1478–1481.
235. Whittle A, Cummings V. *Going over: the Mesolithic–Neolithic transition in North-West Europe.* New York, NY: Oxford University Press. 2007.
236. Currat M, Excoffier L. The effect of the Neolithic expansion on European molecular diversity. *Proc. R. Soc. B.* 2005; 272: 679–688.
237. Vigne JD, Helmer D, Peters J, Helmer D, Gourichon L, Monchot H, Peters J, Sana Segui M. Identifying early domestic cattle from pre-pottery Neolithic sites on the Middle Euphrates using sexual dimorphism. In: *First steps of animal domestication new archaeozoological approach.* Eds. Vigne J. D, Helmer D., Peters J. Oxford, UK: Oxbow. 2005; p. 86–95.
238. Rowley-Conwy P, Layton R. Foraging and farming as niche construction: stable and unstable adaptations. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2011; 366: 849–862.
239. Bramanti B, et al. Genetic discontinuity between local hunter–gatherers and central Europe’s first farmers. *Science.* 2009; 326: 137–140.
240. Özdoğan M, Basgelen N. *Neolithic in Turkey. The cradle of civilization.* Istanbul: Ancient Anatolians Civilizations Series 3. 1999.
241. Edwards C. J, et al. Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs. *Proc. R. Soc. B.* 2007; 274: 1377–1385.
242. Pinhasi R, Fort, Ammerman AJ. Tracing the origin and spread of agriculture in Europe. *PLoS Biol.* 2005; 3: e410.

243. Sabeti PC, et al. Positive natural selection in the human lineage. *Science*. 2006; 312: 1614–1620.
244. Copley MS, Berstan R, Dudd SN, Docherty G, Mukherjee AJ, Straker V, Payne S, Evershed RP. Direct chemical evidence for widespread dairying in prehistoric Britain. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2003; 100: 1524–1529.
245. Copley MS, Berstan R, Mukherjee AJ, Dudd SN, Straker V, Payne S, Evershed RP. Dairying in antiquity III. Evidence from absorbed lipid residues dating to the British Neolithic. *J. Archaeol. Sci.* 2005; 32: 523–546.
246. Craig O. E, Taylor G, Mulville J, Collins M, Parker Pearson M. The identification of prehistoric dairying activities in the western Isles of Scotland: an integrated biomolecular approach. *J. Archaeol. Sci.* 2005; 32: 91–103.
247. Hofer T, Ray N, Wegmann D, Excoffier L. Large allele frequency differences between human continental groups are more likely to have occurred by drift during range expansions than by selection. *Ann. Hum. Genet.* 2009; 73: 95–108.
248. Itan Y, Powell A, Beaumont M. A, Burger J, Thomas M. G. The origins of lactase persistence in Europe. *PLoS Comput. Biol.* 2009; 5: e1000491.
249. Durham WH. The relationship of genes and culture. *Coevolution: genes, culture and human diversity*. Stanford, CA: Stanford University Press, 1991; p. 154–225.
250. Enattah NS, et al. Evidence of still-ongoing convergence evolution of the lactase persistence T-13910 alleles in humans. *Am. J. Hum. Genet.* 2007; 81: 615–625.
251. Vonk RJ, Stellaard F, Priebe MG, Koetse HA, Hagedoorn RE, De Bruijn S, et al. The ¹³C/²H-glucose test for determination of small intestinal lactase activity. *Eur. J. Clin. Invest.* 2001; 31(3): 226–233.
252. Banai J, Szanto I, Nagy I, et al. Measurement and demonstration of lactase and sucrase activities in jejunal mucosa. *Amer. J. Gastroenterol.* 1990; 85(2): 157–161.
253. Kuokkanen M, Myllyniemi M, Vauhkonen M, Helske T, Kaariainen I, Karesvuori S, et al. A biopsy-based quick test in the diagnosis of duodenal hypolactasia in upper gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy*. 2006; 38(7): 708–12.
254. Jonsson KA, Bodemar G, Tagesson C, Walan A. Variation of disaccharidase activities in duodenal biopsy specimens. *Scand. J. Gastroenterol.* 1986; 21(1): 51–55.
255. Dahlqvist A., Semenza G. Disaccharidases of small-intestinal mucosa. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1985; 4(6): 857–865.
256. Van Beers EH, Einerhand WC, et al. Pediatric duodenal biopsies: mucosal morphology and glycohydrolase expression do not change along the duodenum. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1998; 26:186–93.
257. Maiuri L, Rossi M, Raia V, Paparo F, Coletta S, Mazzeo F, Breglia A and Auricchio S. Morphological method for the diagnosis of human adult type hypolactasia. *Gut*. 1994; 35:1042–1046.
258. Lember M, Tamm A, Maarros H, Suurmaa K. Diagnosis of primary hypolactasia by duodenal lactase activity. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1993; 5: 511–513.
259. Srinivasan U, Jones E, Weir DG, Feighery C. Lactase enzyme, detected immunohistochemically, is lost in active celiac disease, but unaffected by oats challenge. *Am. J. Gastroenterol.* 1999; 94(10): 2936–41.
260. Van Beers EH, Buller HA, Grand RJ, et al. Intestinal brush border glycohydrolases: structure, function, and development. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1995; 30:197–262.

261. Maiuri L, Ciacci C, Raia V, Vacca L, Ricciardelli I, Raimondi F, Auricchio S, Quaratio S, Londei M. FAS engagement drives apoptosis of enterocytes of coeliac patients. *Gut*. 2001; 48:418–24
262. Koetse HA, Stellaard F, Bijleveld CM, Elzinga H, Boverhof R, van der Meer R, et al. Non-invasive detection of low-intestinal lactase activity in children by use of a combined $^{13}\text{CO}_2/\text{H}_2$ breath test. *Scand. J. Gastroenterol.* 1999; 34(1):35–40.
263. Arola H. Diagnosis of hypolactasia and lactose malabsorption. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* 1994; 202: 26–35.
264. Solomons NW. Diagnosis and screening techniques for lactose maldigestion. *Lactose Digestion*. Eds. D.M. Paige T.M. Bayless. Baltimore: The Johns Hopkins Univ. Press; 1981, p. 91–109.
265. Bjarnason I, Batt R, Catt S, Macpherson A, Maxton D, Menzies IS. Evaluation of differential disaccharide excretion in urine for non-invasive investigation of altered intestinal disaccharidase activity caused by alpha-glucosidase inhibition, primary hypolactasia, and coeliac disease. *Gut*. 1996; 39(3): 374–81.
266. Peuhkuri K, Teuri U, Vapaatlo H, Korpela R. Lactose intolerance – a confusing clinical diagnosis. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 600–602.
267. Matthews S.B, Waud J.P, Roberts A.G, Campbell A.K. Systemic lactose intolerance: a new perspective on an old problem. *Post. Med. J.* 2005; 81: 167–73.
268. Peuhkuri K, Vapaatlo H, Korpela R. Wide variations in the testing of lactose tolerance : results of a questionnaire in Finnish health care centers. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2000; 60:291–298.
269. Isokoski M, Sahi T, Villako K, Tamm A. Epidemiology and genetics of lactose malabsorption. *Annals of Clinical Research.* 1981; 13(3): 164–168.
270. Arola H, Koivula T, Jokela H, et al. Strip test is reliable in common prevalences of hypolactasia. *Scand. J. Gastroenterol.* 1987; 22: 509–512.
271. Maxton DD, Catt SD, Menzies IS. Combined assessment of intestinal disaccharidases in congenital asucrasia by differential urinary disaccharide excretion. *J. Clin. Pathol.* 1990; 43(5): 406–410.
272. Arola H, Koivula T, Jokela H, et al. Comparison of indirect diagnostic methods for hypolactasia. *Scand. J. Gastroenterol.* 1988; 23: 351–357.
273. Grant JD, Bezerra JA, Thompson SH, et al. Assessment of lactose absorption by measurement of urinary galactose. *Gastroenterology.* 1989; 97: 895–899.
274. Koetse HA, Vonk RJ, Pasterkamp S, Pal J, de Bruijn S, Stellaard F. Variations in colonic H_2 and CO_2 production as a cause of inadequate diagnosis of carbohydrate maldigestion in breath tests. *Scand. J. Gastroenterol.* 2000; 35(6):607–11.
275. Romagnuolo J, Shiller D, Bailey RJ. Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. *Am. J. Gastroenterol.* 2002; 97(5):1113–26.
276. Simrén M, Stotzer PO. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut.* 2006; 55: 297–303.
277. Sanders SW, Tolman KG, Reitberg DP. Effect of a single dose of lactose on symptoms and expired hydrogen after lactose challenge in lactose intolerant subjects *Clinical Pharmacy.* 1992; 11(6): 533–539.
278. Sategna-Guidetti C, Cruto E, Capobianco P. Breath hydrogen excretion after lactase and whole milk ingestion. *J. Clin. Gastroenterol.* 1989; 11(3): 287–290.

279. Simrén M, Stotzer PO. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut*. 2006; 55: 297–303.
280. Hammer HF, Petritsch W, Pristautz H, Krejs GJ. Assessment of the influence of hydrogen breath test and lactose tolerance test. *Wien. Klin. Wochenschr*. 1996; 108: 137–41.
281. Suarez FL, Savaiano DA, Levitt MD. A comparison of symptoms after the consumption of milk or lactose-hydrolyzed milk by people with self-reported severe lactose intolerance. *N. Eng. J. Med*. 1995; 333: 1.
282. Johnson AO, Semanya JG, Buchowski MS, et al. Correlation of lactose maldigestion, lactose intolerance, and milk intolerance. *Am. J. Clin. Nutr*. 1993; 57: 399–401.
283. Suarez FL, Savaiano D, Arbisi P, Levitt MD. Tolerance to the daily ingestion of two cups of milk by individuals claiming lactose intolerance. *Am. J. Clin. Nutr*. 1997; 65: 1502.
284. Simrén M, Stotzer PO. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut*. 2006; 55: 297–303.
285. Simrén M, Stotzer PO. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut*. 2006; 55: 297–303.
286. Bjorneklett A, Jenssen E. Relationships between hydrogen (H₂) and methane (CH₄) production in man. *Scand. J. Gastroenterol*. 1982; 17: 985–992.
287. Rumessen JJ. Hydrogen and methane breath tests for evaluation of resistant carbohydrates. *Eur. J. Clin. Nutr*. 1992; 46(Suppl. 2): S77–S91.
288. Nucera G, Gabrielli M, Lupascu A, Lauritano E.C, Santoliquido A, Cremonini F, et al. Abnormal breath tests to lactose, fructose and sorbitol in irritable bowel syndrome may be explained by small intestinal bacterial overgrowth. *Aliment. Pharmacol. Ther*. 2005; 21(11):1391–5.
289. Vesa T.H, Seppo L.M, Marteu P.R. Role of irritable bowel syndrome in subjective lactose intolerance. *Am. J. Clin. Nutr*. 1998; 67: 710–5.
290. Simrén M, Stotzer P-O. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut*. 2006; 55: 297–303.
291. Taylor RH. Clinical tests for hypolactasia, lactose malabsorption and lactose intolerance. *The Lancet*. 1982; Vol (8301): 766.
292. Hyams JS, Stafford RJ, Grand RJ, Watkins JB. Correlation of lactose breath hydrogen test, intestinal morphology and lactase activity in young children. *Pediatrics*. 1980; 97(4): 609–612.
293. Newcomer AD, McGill DB, Thomas PJ, Hofmann AF. Prospective comparison of indirect methods for detecting lactase deficiency. *N. Engl. J. Med*. 1975; 293: 1232–1235.
294. Chao CK, Sibley E. PCR-RFLP genotyping assay for a lactase persistence polymorphism upstream of the lactase-phlorizin hydrolase gene. *Genet. Test*. 2004; 8: 190–193.
295. Nilsson TK, Johansson CA. A novel method for diagnosis of adult-type hypolactasia by genotyping of the –13910C/T polymorphism with pyrosequencing technology. *Scand. J. Gastroenterol*. 2004; 3: 287–90.
296. Curran S, Hill L, O’Grady G, Turic D, Asherson P, Taylor E, Sham P, Craig I, Vaughan P. Validation of single nucleotide polymorphism quantification in pooled DNA samples with SNaPIT. A glycosylase-mediated methods for polymorphism detection method. *Mol. Biotechnol*. 2002; 22(3): 253–62.
297. Tishkoff S.A, Reed F.A, Ranciaro A, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat. Genet*. 2007; 39: 31.
298. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nature Genetics*. 2002; 30: 233–237.

299. Ridefelt P, Hakansson LD. Lactose intolerance: Lactose tolerance test versus genotyping. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2005; 40: 822–826.
300. Büning C, Ockenga J, Krüger S, Jurga J, Baier P, Dignas A, Vogel A, Strassburg R, Weltrich R, Genschel J, Lochs H, Schmidt H. The C/C-22018 genotypes for adult type hypolactasia are not associated with inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2003; 38: 538–542.
301. Gugatschka M, Dobing H, Fahrleitner-Pammer A, Pietschmann P, Kudlacek S, Strele A, Obermayer-Pietsch B. Molecularly-defined lactose malabsorption, milk consumption and anthropometric differences in adult males. *Q. J. Med.* 2005; 98:857–63.
302. Teuri U, Vapaatalo H, Korpela R. Fructooligosaccharides and lactulose cause more symptoms in lactose maldigesters and subjects with pseudohypolactasia than in control lactose digesters. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 69:973–9
303. Perman JA, Modler S, Olson AC. Role of pH in production of hydrogen from carbohydrates by colonic bacterial flora. *J. Clin. Invest.* 1981; 67: 643–650.
304. Shaw AD, Davies GJ. Lactose intolerance: problems in diagnosis and treatment. *J. Clin. Gastroenterol.* 1999; 28: 208.
305. Matthews SB, Waud JP, Roberts AG, Campbell AK. Systemic lactose intolerance: a new perspective on an old problem. *Postgraduate Medical Journal*. 2005; 81: 167–173.
306. Campbell AK, Wann KT, Matthews SB. Lactose causes heart arrhythmia in the water flea *Daphnia pulex*. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 2004; 139: 225–34.
307. Hammer HF, Petritsch W, Pristautz H, Krejs GJ. Evaluation of the pathogenesis of flatulence and abdominal cramps in patients with lactose malabsorption. *Wien. Klin. Wochenschr.* 1996; 108: 175–179.
308. Flourié B, Briet F, Florent C, Pellier P, Maurel M, Rambaud J.C. Can diarrhea induced by lactulose be reduced by prolonged ingestion of lactulose? *Am. J. Clin. Nut.* 1993; 58: 369–375.
309. Briet F, Pochart P, Marteau P, Flourié B, Arrigoni E, Rambaud J.C. Improved clinical tolerance to chronic lactose ingestion in subjects with lactose intolerance: A placebo effect? *Gut*. 1997; 41: 632–635.
310. Johnson RC, Schwitters SY, Cole RE, et al. A family study of lactose intolerance. *Behav.Genet.* 1981; 11: 639–372.
311. Callegari C, et al. Study of lactose intolerance with H₂ breath test. *Medicina-Rivista Della Enciclopedia Medica Italiana*. 1985; 5(1): 84–85.
312. Tolstoi LG. Nutrition and the life cycle. Adult-type lactase deficiency. *Nutrition Today*. 2000; 35(4): 135–41.
313. Gremse DA, Scott Greer A, Vacik J, DiPalma JA. Abdominal pain associated with lactose ingestion in children with lactose intolerance. *Clin. Pediatr.* 2003; 42(4): 341–5.
314. Gudmand-Hoyer E. Disaccharide malabsorption diagnosis and clinical significance. Abstracts of the symposium: Hypolactasia, clinical and diagnostic aspects. Tartu. 1991: 40–43.
315. Grimbacher B, Peters T, Peter HH. Lactose-intolerance may induce severe chronic eczema. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 1997; 113: 516–518.
316. Treuder R, Tebbe B, Steinhoff M, et al. Familial aquagenic urticaria associated with familial lactose intolerance. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2003; 47: 611–613.

317. Tursi A. Factors influencing lactose intolerance. *Eur. J. Clin. Invest.* 2004; 34(4): 314–5.
318. Savaiano D, Boushey C, McCabe G. Lactose intolerance symptoms assessed by meta-analysis: agrain of truth that leads to exaggeration. *J. Nutr.* 2006; 136(4): 1107–12.
319. Vesa TH, Marteau P, Brief F, Boutron-Ruault MC, Rambaud JC. Raising milk energy content retards gastric emptying of lactose in lactose-intolerant humans with little effect on lactose digestion. *J. Nutr.* 1997; 127: 2316–20.
320. Pelletier X, Laure-Boussuge S, Donazzolo Y. Hydrogen excretion upon ingestion of dairy products in lactose-intolerant male subjects: importance of the live flora. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2001; 55: 509–12.
321. Smith GD, Ebrahim S. Mendelian randomization: prospects, potentials, and limitations. *Int. J. Epidemiology.* 2004; 33(1): 30–42.
322. Pribila BA, Hertzler SR, Martin BR, Weaver CM, Savaiano DA. Improved lactose digestion and intolerance among African-American adolescent girls fed a dairy-rich diet. *J. Am. Diet. Assoc.* 2000; 100: 524–528.
323. Zhong Y, Priebe M.G, Vonk R.J et al. The role of colonic microbiota in lactose intolerance. *Dig. Dis. Sci.* 2004; 49: 78–83.
324. Kamm MA. The role of psychosocial factors in functional gut disease. *Eur. J. Surg.* 1998; 154(Suppl): 37–40.
325. Gudman-Hoyer E, Simony K. Individual sensitivity to lactose in lactose malabsorption. *Amer. J. Dig. Dis.* 1977; 22: 177–181.
326. Newcomer AD. Immediate symptomatic and long-term nutritional consequences of hypolactasia. Lactose digestion. Eds. D.M. Paige, T.M. Bayless. Baltimore: The Johns Hopkins Univ. Press. 1981: 124–133.
327. Bayless TM. Lactose malabsorption, milk intolerance and symptom awareness in adults. Lactose digestion. Eds D.M. Paige, T.M. Bayless. Baltimore: The Johns Hopkins Univ. Press. 1981: 117–123.
328. Welsh JD, Griffiths WJ. Breath hydrogen test after oral lactose in postgastrectomy patients. *Am. J. Clin. Nutr.* 1980; 33: 2324–7.
329. Villar J, Kestler E, Castillo P, Juarez A, Menendez R, Solomons NW. Improved lactose digestion during pregnancy: a case of physiologic adaptation? *Obstet. Gynecol.* 1988; 71: 697–700.
330. Szilagyi A, Salomon R, Martin M, Fokeef K, Seidman E. Lactose handling by women with lactose malabsorption is improved during pregnancy. *Clin. Invest. Med.* 1996; 19: 416–26.
331. Montalto M, Curigliano V, Santoro L, Vastola M, Cammarota G, Manna R, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Management and treatment of lactose malabsorption. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12(2): 187–91.
332. Escoboza PM, Fernandes MIM, Peres L, Einerhand AW, Galvao LC. Adult-type hypolactasia: clinical, morphologic and functional characteristics in Brazilian Patients at a University Hospital. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2004; 39(4): 361–5.
333. Lovelace HY, Barr SI. Diagnosis, symptoms and calcium intakes of individuals with self-reported lactose intolerance. *J. Am. Coll. Nutr.* 2005; 24(1): 51–7.
334. Bohmer CJM, Tuynman HAR. The effect of a lactose-restricted diet in patients with a positive lactose tolerance test, earlier diagnosed as irritable bowel syndrome: a 5-year follow-up study. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2001; 13: 941–4.

335. Parker TJ, Woolner JT, Prevost AT, Tuffnell Q, Shorthouse M, Hunter JO. Irritable bowel syndrome: is the search for lactose intolerance justified? *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2001; 13: 219–25.
336. Parry SD, Barton J, Welfare MR. Is lactose intolerance implicated in the development of post-infectious irritable bowel syndrome or functional diarrhoea in previously asymptomatic people? *Eur. J. Gastroenterol.* 2002; 14: 1225–30.
337. Farup PG, Monsbakken KW, Vandvik PO. Lactose malabsorption in a population with irritable bowel syndrome: prevalence and symptoms. A case-control study. *J. Gastroenterol.* 2004; 39: 645–9.
338. Rosado JL, Morales M, Pasquetti A. Lactose digestion and clinical tolerance to milk, lactose-prehydrolyzed milk and enzyme-added milk. A study in undernourished continuously enterol-fed patients. *J. Parent. Enter. Nutr.* 1989; 13(2): 157–162.
339. Miller JJ, Brand JC. Enzymic hydrolysis. *Food Technology in Australia.* 1980. 32(3): 144–147.
340. Barillas-Mury C, Solomons NW. Test-retest reproducibility of hydrogen breath test for lactose maldigestion in preschool children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1987; 6(2): 281–286.
341. Yongfa Wang, Yongshan Yan, Jiujin Xu, et al. Prevalence of primary adult lactose malabsorption in three populations of northeast China. *Hum. Genet.* 1984; 67(1): 103–106.
342. Porro BG, Parente F, Sangaletti O. Lactose intolerance in adults with chronic nonspecific abdominal complaints. *Hepato-Gastroenterol.* 1983; 30(6): 254–257.
343. Enck P, Kremer A, Kuhlbusch R, et al. Prevalence of lactose malabsorption among patients with functional bowel disorders. *Zeitschrift für Gastroenterologie.* 1990; 28(3): 239–242.
344. Lisker R, Solomons NW, Bricena RP, Mata MR. Lactase and placebo in the management of the irritable bowel syndrome. *Amer. J. Gastroenterol.* 1989; 84(7): 756–763.
345. Winter B, Nathjunge J, Stern H. Hydrogen /H-2/ breath test after lactose load in children with chronic abdominal pain. *Klinische Padiatric.* 1990; 202(6): 413–417.
346. Newcomer AD, Park HS, O'Brien PC, McGill DB. Response of patients with irritable bowel syndrome and lactase deficiency using unfermented acidophilus milk. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1983; 38(2): 257–263.
347. Ceriani R, Zuccato E, Fontana M, et al. Lactose malabsorption and recurrent abdominal pain in Italian children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1988; 7: 852–857.
348. Bujanover Y, Peleo Y, Heyman I, Gilat T. Recurrent abdominal pain and lactose malabsorption in children. *Gastroenterology.* 1982; 82: 1027.
349. Wald A, Chandra R, Stanley MD, et al. Lactose malabsorption in recurrent abdominal pain of childhood. *J. Pediatr.* 1982; 100(1): 65–69.
350. Lifschitz CH, Bautista A, Gopalakrishna GS, et al. Absorption and tolerance of lactose in infants recovering from severe diarrhea. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1985; 4(6): 942–949.
351. Patel YT, Minocha A. Lactose intolerance: Diagnosis and management. *Compr. Ther.* 2000; 26: 246–9.
352. Gupta SK, Chong SK, Fitzgerald JF. Disaccharidase activities in children: normal values and comparison based on symptoms and histologic changes. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1999; 28: 246–51.

353. Osterlund P, Ruotsalainen T, Peuhkuri K, Korpela R, Ollus A, Ikonen M, et al. Lactose intolerance associated with adjuvant 5-fluorouracil-based chemotherapy for colorectal cancer. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2004; 2(8): 696–703.
354. Ojetti V, Nucera G, Migneco A, Gabrielli M, Lauritano C, Danese S et al. High prevalence of celiac disease in patients with lactose intolerance. *Digestion.* 2005; 71: 106–10.
355. Arya S.C. Rotaviral infection and intestinal lactase level. *J. Infect. Diseases.* 1984; 150(5): 791.
356. Gardiner AJ, Tarlow MJ, Sutherland IT, et al. Lactose malabsorption during gastroenteritis, assessed by the hydrogen breath test. *Archives of disease in childhood.* 1981; 56(5): 364–386.
357. Hessels J, Eidhof HHM, Stegink J, Roeloffzen WWH, Wu K, Tan G, van de Stadt J, van Bergeijk L. Assessment of Hypolactasia and Site-Specific Intestinal Permeability by Differential Sugar Absorption of Raffinose, Lactose, Sucrose and Mannitol. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2005; 41(8): 1056–1063.
358. Hogenauer C, Hammer HF, Mellitzer K, Renner W, Krejs GJ, Toplak H. Evaluation of a new DNA test compared with the lactose hydrogen breath test for the diagnosis of lactose non-persistence. *Europ. J. Gastroenterol. Hepat.* 2005; 17(3): 371–376.
359. Rasinpera H, Frosblom C, Enattah NS, Halonen P, Salo K, Victorzon M, et al. The C/C-13910 genotype of adult-type hypolactasia is associated with increased risk of colorectal cancer in the Finnish population. *Gut.* 2005; 54: 643–7.
360. Kuokkanen M, Butzow R, Rasinpera H, Medrek K, Nilbert M, Malander S, et al. Lactase persistence and ovarian carcinoma risk in Finland, Poland and Sweden. *Int. J. Cancer.* 2005; 117: 90–4.
361. Torniaainen S, Hedelin M, Autio V, Rasinpera H, Balter KA, Klint A, et al. Lactase persistence, dietary intake of milk, and the risk for prostate cancer in Sweden and Finland. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007; 16(5): 956–61.
362. Enattah NS, Forsblom C, Rasinpera H, Tuomi T, Groop PH, Jarvela I. The genetic variant of lactase persistence C(-13910)T as risk factor for type I and II diabetes in the Finnish population. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2004; 58: 1319–22.
363. Enattah NS, Sulkava R, Halonen P, Kontula K, Jarvela I. Genetic variant of lactase-persistent C/T-13910 is associated with bone fractures in very old age. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2005; 53:79–82.
364. Elwood P.C. Milk, coronary disease and mortality. *J. Epidemiol. Comm. Health.* 2001; 55: 375.
365. Jauhiainen T, Korpela R. Milk peptides and blood pressure. *J. Nutr.* 2007; 137(3): 825S–9S
366. Ness A.R, Davey Smith G, Hart C. Milk, coronary heart disease and mortality. *J. Epidemiol. Comm. Health.* 2001; 55: 379–82.
367. Elwood PC, Pickering JE, Hughes J, Fehily AM, Ness AR. Milk drinking, ischaemic heart disease and ischaemic stroke II. Evidence from cohort studies. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2004; 58: 718–24.
368. Elwood P.C. Time to value milk. *Int. J. Epidemiol.* 2005; 34(5): 1160–2.
369. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, et al. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 145–53.
370. Seppo L, Jauhiainen T, Poussa T et al. A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 77: 326–30.
371. Tuomilehto J, Lindstrom J, Hyryrynen J, et al. Effect of ingesting sour milk fermented using *Lactobacillus helveticus* bacteria producing tripeptides on blood pressure in subjects with mild hypertension. *J. Hum. Hypertens.* 2004; 18: 795–802.

372. Griessen M, Cochet B, Infante F, Jung A, Bartholdi P, Donath A, Loizeau E, Courvoisier B. Calcium absorption from milk in lactase-deficient subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 1989; 49: 377–384.
373. Cochet B, Jung A, Griessen M, Bartholdi P, Schaller P, Donath A. Effects of lactose on intestinal calcium absorption in normal and lactase-deficient subjects. *Gastroenterology.* 1983; 84: 935–940.
374. Tamm A. Management of lactose intolerance. *Scand. J. Gastroenterol.* 1994; 202(Suppl.1): 55–63.
375. Jackson KA, Savaiano DA. Lactose maldigestion, calcium intake and osteoporosis in African-, Asian-, and Hispanic-Americans. *J. Am. Coll. Nutr.* 2001; 20(2): 198S–207S.
376. Black RE, Williams SM, Jones IE, Goulding A. Children who avoid drinking cow milk have low dietary calcium intakes and poor bone health. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002; 76: 675–80.
377. Greer F.R, Krebs N.F. Optimizing bone health and calcium intake of infants, children, and adolescents. *Pediatrics.* 2006; 117(2): 578 –85.
378. Di Stefano M, Veneto G, Malservisi S, Cecchetti L, Minguzzi L, Strocchi A, Corazza G.R. Lactose malabsorption and intolerance and peak bone mass. *Gastroenterology.* 2002; 122: 1793–9.
379. Enattah N, Valimaki VV, Valimaki MJ, Loyttyniemi E, Sahi T, Jarvela I. Molecularly defined lactose malabsorption, peak bone mass and bone turnover rate in young Finnish men. *Calcif. Tiss. Int.* 2004; 75: 488–93.
380. Carroccio A, Montalto G, Cavera G, Notarbatolo A. Lactose intolerance and self-reported milk intolerance: relationship with lactose maldigestion and nutrient intake. *J. Am. Coll. Nutr.* 1998; 17(6): 631–6.
381. Barnett JL, Snape WJ. Motor disorders of the gastrointestinal tract. *Textbook of Internal Medicine.* Ed. W.N. Kelley. USA, 1989.
382. Owyang Ch. Motility of the gastrointestinal tract. *Textbook of Internal Medicine.* Ed. W.N. Kelley. USA. 1989; 434–437.
383. Solomons NW, Guerrero A, Torun B. Dietary manipulation of postprandial colonic lactose fermentation: 1. effect of solid foods in a meal. *Am. J. Clin. Nutr.* 1985; 41: 199–208.
384. Lee CM, Hardy C. Cocoa feeding and human lactose intolerance. *Am. J. Clin. Nutr.* 1989; 49: 840–844.
385. American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition. Soy-protein formulas: recommendations for use in infant feeding. *Pediatrics.* 1983; 72: 359–363.
386. Biller JA, King S, Rosenthal A, Grand RJ. Efficacy of lactase-treated milk for lactose-intolerant pediatric patients. *J. Pediatr.* 1987; 111: 91–94.
387. Moskovitz M, Curtis C, Cavalier J. Does oral enzyme therapy reverse intestinal lactose malabsorption? *Am. J. Gastroenterol.* 1987; 82: 632–635.
388. Rosado JL, Solomons NW, Lisker R, Bourges H. Enzyme replacement therapy for primary adult lactase deficiency. Effective reduction of lactose malabsorption and milk intolerance by direct addition of beta-galactosidase to milk at mealtime. *Gastroenterology.* 1984; 87: 1072.
389. Ramirez FC, Lee K, Graham DY. All lactase preparations are not the same: results of a prospective, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:566.

390. DeWitt O, Boudraa G, Touhami M, Desjeux JF. Breath hydrogen test and stool characteristics after ingestion of milk and yogurt in malnourished children with chronic diarrhoea and lactase deficiency. *J. Trop. Pediatr.* 1987; 33: 177–180.
391. Di Stefano M, Veneto G, Malservisi S, et al. Lactose malabsorption and intolerance and peak bone mass. *Gastroenterology* 2002; 122: 1793.
392. Honkanen R, Kröger H, Alhava E, et al. Lactose intolerance associated with fractures of weight-bearing bones in Finnish women aged 38–57 years. *Bone* 1997; 21: 473.
393. Infante D, Tormo R. Risk of inadequate bone mineralization in diseases involving long-term suppression of dairy products. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 310.
394. Food Standards Agency. McCance and Widdowson's *The Composition of Foods*. Sixth Summary Edition. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2002.
395. Sheikh MS, Santa Ana CA, Nicar MJ, et al. Gastrointestinal absorption of calcium from milk and calcium salts. *N Engl J Med* 1987; 317:532.
396. Gordon CM, DePeter KC, Feldman HA, et al. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2004; 158: 531.
397. Fisher SE, Markovitz J, Lifshitz F. Food intolerance in childhood. *Compr. Ther.* 1984; 10(5): 5–11.
398. Brown KH, Castanaduy AS, Saavedra JM, et al. Effect of continued oral feeding on clinical and nutritional outcomes of acute diarrhea in children. *J. Pediatr.* 1988; 112: 191–200.

3. Celiakiné liga

1. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 2013; 62: 43.
2. Gujral N, Freeman HF, Thomson A.B.R. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J. Gastroenterol.* 2012; 18(42): 6036–6059.
3. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch. Dis. Child.* 1990; 65: 909–911.
4. Freeman HJ. Pearls and pitfalls in the diagnosis of adult celiac disease. *Can. J. Gastroenterol.* 2008; 22: 273–280.
5. Freeman HJ. Risk factors in familial forms of celiac disease. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16: 1828–1831.
6. Rubio-Tapia A, Van Dyke CT, Lahr BD, Zinsmeister AR, El-Youssef M, Moore SB, Bowman M, Burgart LJ, Melton LJ 3rd, Murray JA. Predictors of family risk for celiac disease: a population-based study. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 6: 983–987.
7. Rashtak S, Murray JA. Celiac disease in the elderly. *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 2009; 38: 433–446.
8. Freeman HJ. Neurological disorders in adult celiac disease. *Can. J. Gastroenterol.* 2008; 22: 909–911.
9. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology.* 2009; 137: 1912–1933.
10. Barone MV, Gimigliano A, Castoria G, Paoletta G, Maurano F, Paparo F, Maglio M, Mineo A, Miele E, Nanayakkara M, et al. Growth factor-like activity of gliadin, an alimentary protein: implications for coeliac disease. *Gut.* 2007; 56: 480–488.

11. Fina D, Sarra M, Caruso R, Del Vecchio Blanco G, Pallone F, MacDonald T.T, Monteleone G. Interleukin 21 contributes to the mucosal T helper cell type 1 response in coeliac disease. *Gut*. 2008; 57: 887–892.
12. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiological approach to the spectrum of gluten sensitivity (“coeliac sprue”). *Gastroenterology*. 1992; 102: 330 – 354.
13. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K, Rallabhandi P, Shea-Donohue T, Tamiz A, Alkan S, et al. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology*. 2008; 135: 194–204. e3.
14. Bernardo D, Garrote JA, Allegretti Y, León A, Gómez E, Bermejo-Martin JF, Calvo C, Riestra S, Fernández-Salazar L, Blanco-Quirós A, et al. Higher constitutive IL15R alpha expression and lower IL-15 response threshold in coeliac disease patients. *Clin. Exp. Immunol.* 2008; 154: 64–73.
15. Wolters VM, Verbeek WH, Zhernakova A, Onland-Moret C, Schreurs MW, Monsuur AJ, Verduijn W, Wijmenga C, Mulder CJ. The MYO9B gene is a strong risk factor for developing refractory celiac disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2007; 5: 1399–1405, 1405.e1–e2.
16. Murray JA, Moore SB, Van Dyke CT, Lahr BD, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, Melton LJ 3rd, Kroning C.M, El-Youssef M, Czaja A.J. HLA DQ gene dosage and risk and severity of celiac disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2007; 5: 1406–1412.
17. Nisticò L, Fagnani C, Coto I, Percopo S, Cotichini R, Limongelli M.G, Paparo F, D’Alfonso S, Giordano M, Sferlazzas C, et al. Concordance, disease progression, and heritability of coeliac disease in Italian twins. *Gut*. 2006; 55: 803–808.
18. Bourgey M, Calcagno G, Tinto N, Gennarelli D, Margaritte-Jeannin P, Greco L, Limongelli MG, Esposito O, Marano C, Troncone R, et al. HLA related genetic risk for coeliac disease. *Gut*. 2007; 56: 1054–1059.
19. Sollid LM, Lie BA. Celiac disease genetics: current concepts and practical applications. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2005; 3: 843–851.
20. Wapenaar MC, Monsuur AJ, van Bodegraven AA, Weersma RK, Bevova MR, Linskens RK, Howdle P, Holmes G, Mulder CJ, Dijkstra G, et al. Associations with tight junction genes PARD3 and MAGI2 in Dutch patients point to a common barrier defect for coeliac disease and ulcerative colitis. *Gut*. 2008; 57: 463–467.
21. Mazzarella G, Stefanile R, Camarca A, Giliberti P, Cosentini E, Marano C, Iaquinto G, Giardullo N, Auricchio S, Sette A, et al. Gliadin activates HLA class I-restricted CD8+ T cells in celiac disease intestinal mucosa and induces the enterocyte apoptosis. *Gastroenterology*. 2008; 134: 1017–1027.
22. Dubois PC, Trynka G, Franke L, Hunt K.A, Romanos J, Curtotti A, Zhernakova A, Heap GA, Adány R, Aromaa A, et al. Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. *Nat. Genet.* 2010; 42: 295–302.
23. Romanos J, van Diemen CC, Nolte IM, Trynka G, Zhernakova A, Fu J, Bardella MT, Barisani D, McManus R, van Heel DA, et al. Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. *Gastroenterology*. 2009; 137: 834–840, 840.e1–e3.

24. Rashtak S, Ettore MW, Homburger HA, Murray JA. Comparative usefulness of deamidated gliadin antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 6: 426–432.
25. Nemeč G, Ventura A, Stefano M, Di Leo G, Baldas V, Tommasini A, Ferrara F, Taddio A, Città A, Sblattero D, et al. Looking for celiac disease: diagnostic accuracy of two rapid commercial assays. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101: 1597–1600.
26. Lewis N.R, Scott B.B. Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2010; 31: 73–81.
27. Barone MV, Caputo I, Ribecco MT, Maglio M, Marzari R, Sblattero D, Troncone R, Auricchio S, Esposito C. Humoral immune response to tissue transglutaminase is related to epithelial cell proliferation in celiac disease. *Gastroenterology.* 2007; 132: 1245–1253.
28. Abrams JA, Brar P, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. Utility in clinical practice of immunoglobulin a anti-tissue transglutaminase antibody for the diagnosis of celiac disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2006; 4: 726–730.
29. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabó IR, Laurila K, Partanen J, Huhtala H, Király R, Lorand L, Reunala T, Mäki M, et al. Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut.* 2006; 55: 1746–1753.
30. Salmi TT, Collin P, Järvinen O, Haimila K, Partanen J, Laurila K, Korponay-Szabo IR, Huhtala H, Reunala T, Mäki M, et al. Immunoglobulin A autoantibodies against transglutaminase 2 in the small intestinal mucosa predict forthcoming coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2006; 24: 541–552.
31. Paparo F, Petrone E, Tosco A, Maglio M, Borrelli M, Salvati VM, Miele E, Greco L, Auricchio S, Troncone R. Clinical, HLA, and small bowel immunohistochemical features of children with positive serum antiendomysium antibodies and architecturally normal small intestinal mucosa. *Am. J. Gastroenterol.* 2005; 100: 2294–2298.
32. Santaolalla R, Fernández-Bañares F, Rodríguez R, Alsina M, Rosinach M, Mariné M, Farré C, Salas A, Forné M, Loras C, et al. Diagnostic value of duodenal antitissue transglutaminase antibodies in gluten-sensitive enteropathy. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27: 820–829.
33. Hopper AD, Hadjivassiliou M, Hurlstone DP, Lobo AJ, McAlindon ME, Egner W, Wild G, Sanders DS. What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy-confirmed study with economic analysis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 6: 314–320.
34. Catassi C, Kryszak D, Louis-Jacques O, Duerksen DR, Hill I, Crowe SE, Brown AR, Procaccini NJ, Wonderly BA, Hartley P, et al. Detection of Celiac disease in primary care: a multicenter case-finding study in North America. *Am. J. Gastroenterol.* 2007; 102: 1454–1460.
35. Hadithi M, von Blomberg B.M, Crusius J.B, Bloemena E, Kostense P.J, Meijer J.W, Mulder C.J, Stehouwer C.D, Peña A.S. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. *Ann. Intern. Med.* 2007; 147: 294–302.
36. Daly A, Walsh C, Feighery C, O’Shea U, Jackson J, Whelan A. Serum levels of soluble CD163 correlate with the inflammatory process in coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2006; 24: 553–559.

37. Leffler DA, Edwards George JB, Dennis M, Cook EF, Schuppan D, Kelly CP. A prospective comparative study of five measures of gluten-free diet adherence in adults with coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007; 26: 1227–1235.
38. Hill PG, Holmes GK. Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27: 572–577.
39. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, Milione M, Luinetti O, Vindigni C, Chioda C, Albarello L, Bartolini D, Donato F. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2007; 5: 838–843.
40. Kaukinen K, Peräaho M, Lindfors K, Partanen J, Woolley N, Pikkarainen P, Karvonen AL, Laasanen T, Sievänen H, Mäki M, et al. Persistent small bowel mucosal villous atrophy without symptoms in coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007; 25: 1237–1245.
41. Ludvigsson JF, Montgomery SM, Ekbom A, Brandt L, Granath F. Small-intestinal histopathology and mortality risk in celiac disease. *JAMA.* 2009; 302: 1171–1178.
42. Pais WP, Duerksen DR, Pettigrew NM, Bernstein CN. How many duodenal biopsy specimens are required to make a diagnosis of celiac disease? *Gastrointest. Endosc.* 2008; 67: 1082–1087.
43. Dorn SD, Hernandez L, Minaya MT, Morris CB, Hu Y, Leserman J, Lewis S, Lee A, Bangdiwala SI, Green PH, et al. The development and validation of a new coeliac disease quality of life survey (CD-QOL) *Aliment Pharmacol Ther.* 2010; 31: 666–675.
44. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease – active, silent, latent, potential. *Gut.* 1993; 34: 150–151.
45. Scanlon SA, et al. Update on celiac disease – etiology, differential diagnosis, drug targets, and management advances. *Clinical and Experimental Gastroenterology.* 2011; 4: 297.
46. Weiss B, Skourikhin Y, Modan-Moses D, Broide E, Fradkin A, Bujanover Y. Is adult height of patients with celiac disease influenced by delayed diagnosis? *Am. J. Gastroenterol.* 2008; 103: 1770–1774.
47. Kazėnaitė E, Kalibatienė D, Glemžienė I, Vanagaitienė R, Navikienė A. celiakinė liga. *Epidemiologiniai ir klinikiniai ypatumai. Medicina,* 2001, 10(37): 1093 – 1097.
48. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, Brantner TL, Kim WR, Phelps TK, Lahr BD, et al. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology.* 2009; 137: 88–93.
49. Lewis NR, Logan RF, Hubbard RB, West J. No increase in risk of fracture, malignancy or mortality in dermatitis herpetiformis: a cohort study. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27: 1140–1147.
50. Freeman HJ. Collagenous mucosal inflammatory diseases of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology.* 2005; 129: 338–350.
51. Cosnes J, Cellier C, Viola S, Colombel JF, Michaud L, Sarles J, Hugot JP, Ginies JL, Dabadie A, Mouterde O, et al. Incidence of autoimmune diseases in celiac disease: protective effect of the gluten-free diet. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 6: 753–758.
52. Caprai S, Vajro P, Ventura A, Sciveres M, Maggiore G. Autoimmune liver disease associated with celiac disease in childhood: a multicenter study. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 6: 803–806.

53. Di Biase AR, Colecchia A, Scaioli E, Berri R, Viola L, Vestito A, Balli F, Festi D. Autoimmune liver diseases in a paediatric population with coeliac disease – a 10-year single-centre experience. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2010; 31: 253–260.
54. Campisi G, Di Liberto C, Iacono G, Compilato D, Di Prima L, Calvino F, Di Marco V, Lo Muzio L, Sferrazza C, Scalici C, et al. Oral pathology in untreated coeliac [corrected] disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007; 26: 1529–1536.
55. George EK, Hertzberger-ten Cate R, Van Suulekom-Smit LWA, Von Blomberg BME, Stapel SO, Van Elburg RM, Mearin ML. Juvenile chronic arthritis and coeliac disease in the Netherlands. *Clinical and Experimental Rheumatology.* 1996; 14: 571–575.
56. Luft LM, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase in Sjogren's syndrome and related rheumatic diseases. *J. Rheumatol.* 2003; 30(12): 2613–9.
57. Collin P, Korpela M, Hallstrom O, et al. Rheumatic complaints as a presenting symptom in patients with coeliac disease. *Scand. J. Rheumatol.* 1992; 21: 20–3.
58. Kazėnaitė E, Kalibatienė D, Kalpokaitė Z, Glemžienė I. Sergančiųjų reumatoidiniu artritu IgA klasės antgliadino antikūnai kraujo serume. *Laboratorinė medicina.* 2001; 1(9): 26–30.
59. Kazėnaitė E, Kalibatienė D, Glemžienė I. Serological and histological markers of glutenic enteropathy in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. *Acta medica Lituanica.* 2004; 11(2): 57–64.
60. Kazėnaitė E, Kalibatienė D, Glemžienė I. Clinical Signs of Adult Coeliac Disease (Case Report). *Acta medica Lituanica,* 2002; 9(3): 200–202.
61. Lehnert H, Schuster H. P. *Innere Medizin.* Stuttgart. 1998; p. 1100–1113.
62. Freeman HJ, Gillett HR, Gillett PM, Oger J. Adult celiac disease with acetylcholine receptor antibody positive myasthenia gravis. *World J. Gastroenterol.* 2009; 15: 4741–4744.
63. Cervio E, Volta U, Verri M, Boschi F, Pastoris O, Granito A, Barbara G, Parisi C, Felicani C, Tonini M, et al. Sera of patients with celiac disease and neurologic disorders evoke a mitochondrial-dependent apoptosis in vitro. *Gastroenterology.* 2007; 133: 195–206.
64. Ludvigsson JF, Olsson T, Ekblom A, Montgomery SM. A population-based study of coeliac disease, neurodegenerative and neuroinflammatory diseases. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007; 25: 1317–1327.
65. Wei L, Spiers E, Reynolds N, Walsh S, Fahey T, MacDonald TM. The association between coeliac disease and cardiovascular disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27: 514–519.
66. Lanzini A, Magni P, Petroni M.L, Motta M, Lanzarotto F, Villanacci V, Amato M, Mora A, Bertolazzi S, Benini F, et al. Circulating ghrelin level is increased in coeliac disease as in functional dyspepsia and reverts to normal during gluten-free diet. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2006; 23: 907–913.
67. Coleman NS, Foley S, Dunlop SP, Wheatcroft J, Blackshaw E, Perkins AC, Singh G, Marsden CA, Holmes GK, Spiller RC. Abnormalities of serotonin metabolism and their relation to symptoms in untreated celiac disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2006; 4: 874–881.
68. Ford AC, Ching E, Moayyedi P. Meta-analysis: yield of diagnostic tests for coeliac disease in dyspepsia. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2009; 30: 28–36.
69. Cimen NY, Cimen OB, Kacmaz M, et al. Oxidant-antioxidant status of the erythrocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 2000; 19(4): 275–277.

70. Odetti P, Valentini SI, Garibaldi S, Pronzato MA, Rolandi E, Barreca T. Oxidative stress in subjects affected by celiac disease. *Free Radical Research*. 1998; 29(1): 17–24.
71. Glemžinè I, Kalibaitienè D, Kalpokaitè Z, Kazènaityè E. The role of oxidative stress in digestive morbidity. *Acta medica Lithuanica*. 2001; 8(1); 8–15.
72. Glemžinè I, Kazènaityè E, Kalibaitienè D. Changes of oxidative stress and haematological indices in case of glutenic enteropathy associated with rheumatoid arthritis. *Acta medica Lithuanica*. 2002; 9(2): 76–80.
73. Tronccone R, Ivarsson A, Szajewska H, Mearin ML. Review article: future research on coeliac disease – a position report from the European multistakeholder platform on coeliac disease (CDEUSSA) *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27: 1030–1043.
74. Akobeng AK, Thomas AG. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27: 1044–1052.
75. Leffler DA, Dennis M, Edwards George J, Jamma S, Cook EF, Schuppan D, Kelly CP. A validated disease-specific symptom index for adults with celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009; 7: 1328–1334, 1334.e1–e3.
76. Lanzini A, Lanzarotto F, Villanacci V, Mora A, Bertolazzi S, Turini D, Carella G, Malagoli A, Ferrante G, Cesana BM, et al. Complete recovery of intestinal mucosa occurs very rarely in adult coeliac patients despite adherence to gluten-free diet. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2009; 29: 1299–1308.
77. Matysiak-Budnik T, Malamut G, de Serre NP, Grosdidier E, Segulier S, Brousse N, Caillat-Zucman S, Cerf-Bensussan N, Schmitz J, Cellier C. Long-term follow-up of 61 coeliac patients diagnosed in childhood: evolution toward latency is possible on a normal diet. *Gut*. 2007; 56: 1379–1386.
78. Hallert C, Svensson M, Tholstrup J, Hultberg B. Clinical trial: B vitamins improve health in patients with coeliac disease living on a gluten-free diet. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2009; 29: 811–816.
79. Freeman HJ, Chopra A, Clandinin MT, Thomson ABR. Recent advances in celiac disease. *World. J. Gastroenterol.* 2011; 17(18): 2259–2272.
80. Esposito G, Cirillo C, Sarnelli G, De Filippis D, D’Armiento FP, Rocco A, Nardone G, Petruzzelli R, Grosso M, Izzo P, et al. Enteric glial-derived S100B protein stimulates nitric oxide production in celiac disease. *Gastroenterology*. 2007; 133: 918–925.
81. Benahmed M, Meresse B, Arnulf B, Barbe U, Mention JJ, Verkarre V, Allez M, Cellier C, Hermine O, Cerf-Bensussan N. Inhibition of TGF-beta signaling by IL-15: a new role for IL-15 in the loss of immune homeostasis in celiac disease. *Gastroenterology*. 2007; 132: 994–1008.
82. Paterson BM, Lammers KM, Arrieta MC, Fasano A, Meddings JB. The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coeliac disease subjects: a proof of concept study. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007; 26: 757–766.
83. Leffler DA, Dennis M, Edwards George JB, Jamma S, Magge S, Cook EF, Schuppan D, Kelly CP. A simple validated gluten-free diet adherence survey for adults with celiac disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2009; 7: 530–536, 536.e1–e2.
84. Freeman HJ. Adult celiac disease followed by onset of systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Gastroenterol.* 2008; 42: 252–255.

85. Al-Toma A, Verbeek WH, Mulder CJ. Update on the management of refractory coeliac disease. *J. Gastrointest. Liver Dis.* 2007; 16: 57–63.
86. Rubio-Tapia A, Kelly DG, Lahr BD, Dogan A, Wu TT, Murray JA. Clinical staging and survival in refractory celiac disease: a single center experience. *Gastroenterology.* 2009; 136: 99–107.
87. Freeman HJ, Chopra A, Clandinin MT, Thomson ABR. Recent advances in celiac disease. *World. J. Gastroenterol.* 2011; 17(18): 2259–2272.

AUTORĖS DARBAI IR PUBLIKACIJOS MONOGRAFIJOS TEMA

- Kalibatiėnė D. Geografinė-istorinė hipolaktazijos paplitimo koncepcija pagal multiparametrinius Lietuvos gyventojų tyrimus. Habilituoto daktaro disertacija (biomedicinos mokslai, medicina). Vilniaus universitetas. 1994.
- Kalibatiėnė D. Recent advances in the study of lactose malabsorption in Lithuania. *Acta medica Lituanica*. 1994; 1: 8–10.
- Kalibatiėnė D, Dubakienė R. Food allergy and immune response in the cases of lactase deficiency. *Acta medica Lituanica*. 2000; Suppl. 5: 20–23.
- Kalibatiėnė D, Varvuolytė S. Nauji pirminės suaugusiųjų hipolaktazijos diagnostikos metodai. *Medicinos teorija ir praktika*. 2006; 12(4): 319–329.
- Kalibatiėnė D, Varvuolytė S, Alekna V. Investigation of hypolactasia in the elderly. *Geriatrista*. 2006; 7(3): 136–142.
- Kalibatiėnė D., Varvuolytė S. Detection of the C/C-13910 genotype, associated with primary adult-type hypolactasia. *Biology*. 2007; 53(3): 25–29.
- Varvuolytė S, Kalibatiėnė D, Glemžienė I., Kazėnaitė E. Oksidacinė organizmo sistema ir laktazės aktyvumas. *Medicinos teorija ir praktika*. 2007; 13 (2): 170–175.
- Kazėnaitė E, Kalibatiėnė D, Kalpokaitė Z, Glemžienė I. Sergančiųjų reumatoidiniu artritu IgA klasės anti gliadino antikūnai kraujo serume. *Laboratorinė medicina*. 2001; 1(9): 26–30.
- Kazėnaitė E, Kalibatiėnė D, Glemžienė I, Vanagaitienė R, Navikienė A. celiakinė liga. Epidemiologiniai ir klinikiniai ypatumai. *Medicina*. 2001; 10(37): 1093–1097.
- Glemžienė I, Kazėnaitė E, Kalibatiėnė D. Changes of Oxidative Stress and Haematological Indices in Case of Glutenic Enteropathy Associated with Rheumatoid Arthritis. *Acta medica Lituanica*. 2002; 9(2): 76–80.
- Kazėnaitė E, Kalibatiėnė D, Glemžienė I. Clinical Signs of Adult Coeliac Disease (Case Report). *Acta medica Lituanica*. 2002; 9(3): 200–202.
- Kazėnaitė E, Kalibatiėnė D, I. Glemžienė. Serological and histological markers of glutenic enteropathy in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. *Acta medica Lituanica*. 2004; 11(2): 57–64.
- Glemžienė I, Kazėnaitė E, Kalibatiėnė D, Lukšienė A. Enteropathies and oxidative stress. *Acta Medica Lituanica*. 2006; 4: 232–235.

SANTRUMPOS

- CL – celiakinė liga
- DNR – deoksiribonukleorūgštis
- DPG – deamininto gliadino peptido antikūnai
- EMA – emdomiziumo antikūnai
- HLA – žmogaus leukocitų antigenų sistema
- IFN γ – gama interferonas
- IL – interleukinas
- iRNR – informacinė ribonukleorūgštis
- kb – kilobazės
- LCT – laktazės florizinhidrolazės genas
- LN – laktazės nepakankamumas
- LP – laktazės persistavimas
- LPH – laktazė florizinhidrolazė
- PAH – pirminė arterinė hipertenzija
- PGR – polimerazės grandininė reakcija
- PSH – pirminė suaugusiųjų hipolaktazija
- tTG – audinių transglutaminazės antikūnai
- VNP – vieno nukleotido pakaita (variantas)

INTESTININĖS ENZIMOPATIJOS

Mokslinė monografija

DANUTĖ KALIBATIENĖ

Reikšminiai žodžiai: intestinalinės enzimopatijos, laktazės nepakankamumas (hipolaktazija), laktozės netoleravimas, celiakinė liga

Monografijoje apžvelgta pasaulinė mokslinė literatūra apie plonosios žarnos enzimopatijas, daugiausia dėmesio skiriant dažniausioms iš jų – laktazės nepakankamumui ir celiakinei ligai, kuriai būdingas antrinis disacharidazių nepakankamumas. Monografijoje apžvelgtos ne tik kitų autorių publikacijos, bet ir savo mokslinių tyrimų šiais klausimais medžiaga. Pateikta šiuolaikinė intestinalinių enzimopatijų apibrėžtis, terminija, klasifikacija, paplitimas, išanalizuoti etiologijos ir patogenezės aspektai, amžiaus ir lyties ypatumai, klinikiniai simptomai, komplikacijos, sąsajos su kitomis ligomis, diagnostikos metodai ir gydymas. Monografijos medžiaga publikuota dvylikoje mokslinių straipsnių.

Knygoje pateikti autorės vienos ir kartu su doktorantais atliktų originalių laktazės nepakankamumo ir celiakinės ligos paplitimo lietuvių populiacijoje patogenezės ir klinikinės raiškos tyrimų rezultatai. Autorė atliko epidemiologinius ir klinikinius laktazės nepakankamumo tyrimus suaugusių Lietuvos gyventojų populiacijoje, kurią sudaro lietuvių, lenkų, rusų, baltarusių ir kitos etninės grupės. Nustatė, kad šios intestinalinės enzimopatijos dažnis visoje populiacijoje yra 34 %. Pirminio laktazės nepakankamumo fenotipo paplitimas Lietuvos suaugusių gyventojų populiacijoje statistiškai reikšmingai priklausė nuo tautybės: lietuvių grupėje – 32 %, lenkų – 42 %, rusų – 21 %, baltarusių – 22 %.

Lietuvių populiacijoje laktazės nepakankamumo dažnis buvo 32 %, tačiau jis buvo skirtingas lietuvių subpopuliacijose. Daugiausia hipolaktazija buvo paplitusi Vakarų Lietuvoje žemaičių grupėje (40 %), kiek mažiau Pietvakarių ir Vidurio Lietuvos vakarų aukštaičių grupėje (34 %), tačiau skirtumas buvo statistiškai nereikšmingas. Gerokai mažesnis laktazės nepakankamumo dažnis buvo rytų aukštaičių, gyvenančių šiauriniuose ir rytiniuose Lietuvos rajonuose, grupėje (31 %). Rečiausiai hipolaktazija nustatyta pietų aukštaičiams (24 %), skirtumas statistiškai reikšmingas. Lietuvoje hipolaktazijos paplitimo gradientas kilo iš šalies pietryčių į vakarus.

Laktazės nepakankamumo dažnis buvo skirtingas amžiaus grupėse: > 39 metų – 32 %, 40–59 metų – 35 %, < 60 metų – 36 %. Vyresnių asmenų grupėse hipolaktazijos dažnis buvo didesnis, tačiau skirtumas statistiškai nereikšmingas. Hipolaktazija buvo vienodai dažna vyrų (31 %) ir moterų (33 %) grupėse.

Autorė atliko epidemiologinius 6–17 metų amžiaus vaikų hipolaktazijos tyrimus, kurie atskleidė, kad šios enzimopatijos dažnis visoje ištirtų vaikų grupėje buvo 24 %. Laktazės nepakankamumo paplitimas nepriklausė nuo vaikų lyties. Vaikų amžiaus grupėse laktazės nepakankamumo dažnis buvo skirtingas: pradeda atsirasti 6–7 metų amžiuje (0–8 %), o jo dažnis 17 metų amžiaus grupėje (32 %) statistiškai patikimai nesisiskiria nuo šio rodiklio suaugusių Lietuvos gyventojų populiacijoje (34 %). Laktazės nepakankamumas diagnozuotas 21 % vaikų lietuvių grupėje, 31 % vaikų lenkų grupėje ir 17 % vaikų rusų grupėje. Lenkų vaikams hipolaktazija diagnozuota statistiškai patikimai dažniau negu lietuvių ir rusų vaikams. Pirminė hipolaktazija nustatyta 0–5 % 6–7 metų lietuvių bei rusų vaikų ir 9 % to paties amžiaus lenkų vaikų, šios enzimopatijos dažnio skirtumai dar daugiau išryškėjo etninėse 9–10 metų amžiuje vaikų grupėse. Pirminis laktazės nepakankamumas pradeda atsirasti Lietuvos vaikams kiek vėliau negu kituose pasaulio regionuose, suaugusiųjų laktazės aktyvumo dydis susiformuoja paauglystėje, o daugelyje kitų tautų tai atsitinka ikimokykliniame ir jaunesniame mokykliniame amžiuje.

D. Kalibatiėnė ir S. Varvuolytė ištyrė pirminio laktazės nepakankamumo ir laktazės aktyvumo persistavimo genitinių žymenų dažnį Lietuvos gyventojų grupėje. Tyrimas atskleidė, kad genotipų, siejamų su laktazės aktyvumo sumažėjimu, dažniai buvo tokie: C/C_{-13910} – 48,1 %, G/G_{-22018} – 42,5 %; genotipų, siejamų su laktazės aktyvumo persistavimu, dažniai buvo: C/T_{-13910} – 42,5 %, T/T_{-13910} – 9,4 %, G/A_{-22018} – 46,3 %, A/A_{-22018} – 11,3 %. Nustatėsiu genotipų dažnių skirtumai etninėse grupėse: lietuvių grupėje C/C_{-13910} – 42,5 % ir G/G_{-22018} – 37,5 %, rusų grupėje C/C_{-13910} – 44,7 % ir G/G_{-22018} – 39,5 %, lenkų grupėje C/C_{-13910} – 68,0 % ir G/G_{-22018} – 60,0 %. Su pirminiu laktazės nepakankamumu siejamo C/C_{-13910} genotipo dažnis buvo didesnis negu G/G_{-22018} genotipo.

Tyrimo duomenimis, pirminio laktazės nepakankamumo genotipo dažnis nesutampa su laktazės aktyvumo sumažėjimo fenotipu. Palyginus genotipavimo ir laktazės toleravimo mėginio (LTM) rezultatus, konstatuota, kad asmenų, kuriems LTM būdu nustatyta hipolaktazija, grupėje pirminį laktazės nepakankamumą atspindinčių C/C_{-13910} ir G/G_{-22018} genotipų dažnis buvo tik 73,6 % ir 64,2 %, o genotipų, siejamų su laktazės aktyvumo persistavimu, dažnis buvo C/T_{-13910} – 20,8 % ir G/A_{-22018} – 30,2 %. Asmenų, kuriems LTM būdu nustatyta normolaktazija, grupėje pirminį laktazės nepakankamumą atspindinčių C/C_{-13910} ir G/G_{-22018} genotipų dažnis buvo net 35,5 % ir 31,8 %, o genotipų, siejamų su laktazės aktyvumo persistavimu, dažnis buvo C/T_{-13910} – 53,3 % ir G/A_{-22018} – 54,2 %.

Genitinių metodų jautrumo reikšmės svyravo nuo 64 % (G/A_{-22018} varianto genotipavimas) iki 74 % (C/T_{-13910} varianto genotipavimas), o specifiškumas abiem atvejais buvo panašus (atitinkamai 63 % iki 64 %). Teigiamo rezultato prognozės vertės buvo

50–51 %, o neigiamo rezultato prognozinės vertės svyravo nuo 79,3 % iki 83,1 %. C/T₋₁₃₉₁₀ varianto genotipavimo ryšys su hipolaktazija, nustatyta LTM būdu, buvo stipresnis nei taikant G/A₋₂₂₀₁₈ varianto genotipavimą. Po lyginamosios genotipavimo ir LTM rezultatų analizės buvo galima teigti, kad asmenims, kuriems LTM būdu nustatyta hipolaktazija, kiek dažnesnis nei du kartus bus pirminės hipolaktazijos genotipas nei tiems, kuriems šiuo būdu nustatyta normolaktazija.

Siekdama nustatyti antrinio laktazės nepakankamumo dažnį virškinimo sistemos ligomis sergančių ligonių grupėje, autorė ištyrė 473 asmenis, gydytus dviejų ligoninių gastroenterologijos skyriuose. Bendroje ištirtųjų populiacijoje 36 % asmenims nustatė laktazės fermentinio aktyvumo sumažėjimą. Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp hipolaktazijos paplitimo Lietuvos gyventojų populiacinėje grupėje (34 %) ir gastroenterologinių ligonių grupėje (36 %) nebuvo. Etninėse ligonių grupėse laktazės nepakankamumo dažnis pasiskirstė taip: 34 % lietuvių, 38 % lenkų ir 40 % kitų tautybių. Ligoninių etninėse grupėse laktazės nepakankamumo dažnis buvo toks pat, kaip ir atitinkamose gyventojų populiacinio tyrimo etninėse grupėse. Laktazės nepakankamumo dažnis buvo panašus visose ligų grupėse ir statistiškai reikšmingai nesiskyrė nuo vidurkio (36 %), nustatyto visoje ištirtų gastroenterologinių ligonių populiacijoje.

Autorė tyrė virškinimo trakto motorinės funkcijos sutrikimų sąsajas su laktazės nepakankamumu. Hipolaktazijos dažnis pasiskirstė taip: 44 % duodenogastrinio reflukso, 39 % stemplės apatinio sfinkterio nepakankamumo, 42 % gastroezofaginio reflukso, 31 % skrandžio funkcijos sutrikimo grupėse (dažnių skirtumai statistiškai nereikšmingi). Autorės duomenimis, virškinimo trakto motorinės funkcijos sutrikimų dažnis nepriklausė nuo suaugusių gastroenterologinių ligonių plonosios žarnos laktazės aktyvumo.

D. Kalibatienė ir S. Varvuolytė tyrė laktazės nepakankamumo ir arterinės hipertenzijos sąsajas. Paaikškėjo, kad 40–79 metų amžiaus Vilniaus miesto gyventojams, sergantiems lengvo ar vidutinio laipsnio arterine hipertenzija, hipolaktazijos dažnis buvo 37,1 %, o praktiškai sveikiems atsitiktinai atrinktiems to paties amžiaus įvairių šalies rajonų gyventojams – 35,3 %. Skirtumas statistiškai nereikšmingas. Autorės daro prielaidą, kad nesunkios eigos arterinė hipertenzija nesusijusi su plonosios žarnos fermento laktazės aktyvumu, tačiau šiam teiginiui visiškai įrodyti reikia gerokai didesnio tiriamųjų skaičiaus bei nuodugnesnio ne tik klinikinio, bet ir laboratorinio bei instrumentinio ištyrimo.

Celiakinė liga yra viena iš dažniausių ligų, sukeliančių antrinį plonosios žarnos fermentų, tarp jų ir laktazės, aktyvumo sumažėjimą, dėl to sutrinka maisto medžiagų absorbcija. Pastarąjį dešimtmetį daug dėmesio skiriama celiakinės ligos klinikinių sąsajų tyrimui. Monografijoje pateikti sveikų asmenų (kraujo donorų) ir reumatoidiniu artritu sergančių ligonių celiakinės ligos serologinių žymenų tyrimo rezultatai.

D. Kalibatienė ir E. Kazėnaitė ištyrė IgA klasės antigliadino antikūnus kraujo donorų ir reumatoidinio artrito ligonių kraujo serume, palygino abiejų tiriamųjų grupių rezultatus, išanalizavo CL serologinių žymenų priklausomybę nuo reumatoidinio artrito aktyvumo ir trukmės, nuo ligonių lyties ir amžiaus. Teigiamas antigliadino IgA klasės antikūnų kraujo serume mėginys nustatytas 5,7 % ligonių. Didėjant reumatoidinio artrito aktyvumo laipsniui, daugėjo nuo 6,5 % iki 14,3 % ligonių, kuriems buvo nustatyti antigliadino IgA klasės antikūnai kraujo serume, nors skirtumas statistiškai ir nebuvo reikšmingas. 88 kraujo donorų grupėje 2,2 % asmenų antigliadino IgA klasės antikūnų kraujo serume mėginys buvo teigiamas. Remiantis tyrimo rezultatais galima teigti, kad bendroje populiacijoje celiakinės ligos dažnis yra 2,2 %, o reumatoidiniu artritu sergančių ligonių grupėje – 5,7 %. Didėjant reumatoidinio artrito aktyvumo laipsniui, nuo 6,5 % iki 14,3 % daugėjo CL atvejų. Taigi, celiakinės ligos ir reumatoidinio artrito patogenezės grandys yra susijusios.

Kai kurių autorių duomenimis, celiakinė liga yra susijusi su oksidacinio streso rodiklių pokyčiais. Autorės ir kolegų tyrimo tikslas buvo įvertinti organizmo peroksidacinės-antioksidacinės būklės rodiklių pakitimus asmenims, sergantiems CL ir laktazės nepakankamumu (LN), CL ir reumatoidiniu artritu (RA), ir palyginti juos su kontroline (kraujo donorų) grupe. Nustatyta, kad sergant CL ir LN lipidų peroksidacijos produkto malondialdehido koncentracija buvo 1,5 karto didesnė ($5,93 \pm 0,31$ %) negu kontrolinės grupės ($3,34 \pm 0,12$ %), o dieninių konjugatų koncentracija 1,7 karto didesnė ($9,24 \pm 0,74$ %) negu kontrolinės grupės ($5,6 \pm 1,9$ %). Abiem atvejais skirtumai statistiškai reikšmingi ($p < 0,001$). Antioksidanto katalazės aktyvumas buvo 1,3 karto mažesnis CL ir LN ($42,34 \pm 2,2$ %) ligoniams, palyginti su kontroline grupe ($28,71 \pm 2,1$ %). CL ir RA ligonių lipidų peroksidacijos tyrimo rezultatai buvo tokie: malondialdehido koncentracija išaugo 1,4 karto ($5,67 \pm 0,23$ %), palyginti su kontroline grupe ($3,48 \pm 0,11$ %), dieninių konjugatų koncentracija padidėjo 1,6 karto ($9,90 \pm 0,66$ %), palyginti su kontroline grupe ($5,8 \pm 1,9$ %). Abiem atvejais skirtumai statistiškai reikšmingi ($p < 0,001$). Antioksidanto katalazės aktyvumas buvo 1,3 karto daugiau sumažėjęs CL ir RA ($29,25 \pm 1,8$ %) ligoniams, palyginti su kontroline grupe ($42,96 \pm 2,1$ %). Tyrimo rezultatai patvirtina celiakinės ligos ir reumatoidinio artrito sąsajas su oksidacinio streso rodiklių kitimais.

INTESTINAL ENZYMOPATHIES

Scientific monograph

DANUTE KALIBATIENE

Key words: intestinal enzymopathies, lactase deficiency (hypolactasia), lactose intolerance, celiac disease.

The monograph comprises a review of worldwide scientific literature on the small intestine enzymopathies with a specific focus on the most prevalent ones, i.e. lactase deficiency and celiac disease. The latter is characterised by a secondary deficiency of disaccharidases. In addition to the review of other authors' publications, this monograph also provides data from the author's own research experiments in the same field. Contemporary definitions of the intestinal enzymopathies, terminology, classification, prevalence, some aspects of etiology and pathogenesis, age and gender-related issues, clinical symptoms, complications, concomitant diseases, diagnostic methods and management are presented and discussed in the book. The material presented was published in twelve scientific publications.

The results from the author's own work and collaborative studies with the doctoral students on the prevalence of lactase deficiency and celiac disease in the Lithuanian population, pathogenetic mechanisms and clinical symptoms are presented in the book. The author has carried out epidemiological and clinical studies of lactase deficiency in the population of adult inhabitants of Lithuania, which is comprised of Lithuanians, Poles, Russians, Belarusians and other ethnic groups. The author found that these particular intestinal enzymopathies are diagnosed in 34% of the entire population. A statistically significant primary deficiency frequency depends on the ethnicity: it is 32% among Lithuanians, 42% among Poles, 21% among Russians and 22% among Belarusians.

Although lactase deficiency constitutes a percentage of 32% in Lithuanians, it varies among the Lithuanian subpopulations. The highest prevalence of lactase deficiency was detected in the group of Western Samogitians (40%). The disease was slightly less prevalent in the group of South West and Midland Western Highland people (34%), although this difference was statistically insignificant. Much less of the lactase deficiency was detected in the Eastern highlanders, who live in the Northern and Eastern Lithuanian regions (31%). Among Southern Highlanders the prevalence was lowest (24%) and this difference was found to be statistically significant. Thus, the gradient of hypolactasia prevalence is increasing along the South Eastern–Western axis.

The prevalence of lactase deficiency was different among different age groups as well. In the group of >39 year-old subjects it was 32%, 40–59 years old – 35%, <60 years old – 36%. Hypolactasia was more prevalent in older patients, but the difference was statistically insignificant. Among men and woman hypolactasia was distributed comparably (31% and 33% respectively).

Epidemiological studies in 6–17 year-old paediatric patients group showed that this enzymopathy is prevalent in 24% of the children studied and this was independent of gender. When compared by age, the prevalence was distributed as follows: in 6–7 year-olds enzymopathy was detected in 0–8% of the group, in 17 year-olds – 32%. The latter is significantly close to the prevalence in the adult population in Lithuania at 34%. Ethnicity also affects the distribution, i.e. 21% of Lithuanian children, 31% of Polish children and 17% of Russian children were affected. Polish children were statistically significantly more often affected by lactase deficiency than Lithuanian and Russian children. Primary deficiency was found in 0–5% of 6–7 year-old Lithuanians and Russians, while in Polish children of this age the prevalence was 9%. In the group of 9–10 year-olds the age-related distribution differs even more. If compared to data from other countries, primary lactase deficiency in Lithuanian children manifests later. The adulthood lactase activity level in Lithuanians is determined in adolescence, while in many other countries the same happens in preschool or early school age.

D. Kalibatiene and S. Varvuolyte assessed the prevalence of genetic markers related to primary lactase deficiency and persistent lactase activity in Lithuanians. It was found that the frequency of genotypes related to decreased lactase activity was: C/C₋₁₃₉₁₀ – 48.1%, G/G₋₂₂₀₁₈ – 42.5%. The frequency of genotypes related to persistent lactase activity was: C/T₋₁₃₉₁₀ – 42.5%, T/T₋₁₃₉₁₀ – 9.4%, G/A₋₂₂₀₁₈ – 46.3%, A/A₋₂₂₀₁₈ – 11.3%. These genotypes also correlated with the ethnicity: in Lithuanians C/C₋₁₃₉₁₀ was found in 42.5% and G/G₋₂₂₀₁₈ – in 37.5%; in Russians C/C₋₁₃₉₁₀ – 44.7%, G/G₋₂₂₀₁₈ – in 39.5%; in Poles C/C₋₁₃₉₁₀ was found in 68.0% and G/G₋₂₂₀₁₈ – in 60.0%. The primary lactase deficiency-related C/C₋₁₃₉₁₀ genotype was detected more frequently than the G/G₋₂₂₀₁₈ genotype.

The study revealed that primary lactase deficiency-related genotypes and lactase activity decrease-related phenotypes are not correlated. The results of genotyping and the lactose tolerance test (LTT) results were compared. Among the persons diagnosed as lactase deficient by the LTT, the primary lactase deficiency-related genotypes C/C₋₁₃₉₁₀ and G/G₋₂₂₀₁₈ were found in only 73.6% and 64.2% respectively. While the persistent lactase activity genotype C/T₋₁₃₉₁₀ was found in 20.8% and genotype G/A₋₂₂₀₁₈ – in 30.2% of the cases studied. In patients with normal lactase activity (according to the LTT) genotypes related to primary lactase deficiency C/C₋₁₃₉₁₀ and G/G₋₂₂₀₁₈ were

found in 35.5% and 31.8% respectively, while genotypes related to persistent lactase activity were distributed as follows: C/T₋₁₃₉₁₀ – in 53.3% and G/A₋₂₂₀₁₈ – in 54.2%.

The results showed that the sensitivity of the genetic methods was between 64% (G/A₋₂₂₀₁₈ variant genotyping) and 74% (C/T₋₁₃₉₁₀ variant genotyping). The specificity was comparable in both cases: 63% and 64% respectively. The prognostic value of the positive result was 50–51%, while the prognostic value of the negative result varied between 79.3% and 83.1%. In addition, the C/T₋₁₃₉₁₀ variant genotype relationship with the LTT detected hypolactasia was stronger than in the case of G/A₋₂₂₀₁₈. After a comparison analysis of the results from genotyping and the LTT, it was concluded that persons with LTT-detected hypolactasia are found to have primary lactase deficiency-related genotype more than two times more often than persons with LTT-detected normolactasia.

The author also assessed the prevalence of secondary lactase deficiency in patients with gastrointestinal diseases. The study involved 473 hospitalised patients treated in gastroenterology departments. In this group 36% of patients were diagnosed with lactase enzyme deficiency. This was not statistically significantly different from hypolactasia prevalence in the general Lithuanian population (34%) and in the gastrointestinal patients' group (36%). Ethnicity-related distribution was as follows: 34% in Lithuanians, 38% in Poles, and 40% in other ethnic groups. Lactase deficiency distribution according to ethnicity was comparable in hospitalised patients and in the general population. When compared by the disease diagnosis, the lactase deficiency frequency did not differ significantly and was similar to the average value (36%) found in the entire gastrointestinal patients' group.

The author also tested the relationship between the disorders of the motor function of gastrointestinal system and lactase deficiency. The distribution of lactase deficiency among disease groups was as follows: 44% in the duodenogastric reflux group, 39% in the lower esophageal sphincter insufficiency group, 42% in the gastroesophageal reflux group, and 31% in the gastric function disorders group (differences of frequencies are not statistically significant). The author concludes that motor function disorders of the gut do not correlate with small intestine lactase activity in adult gastrointestinal patients.

D. Kalibatiene and S. Varvuolyte conducted investigations into the possible relationship between lactase deficiency and arterial hypertension. It was found that in a group of 40–79 year-old inhabitants of Vilnius with moderate or mild arterial hypertension the frequency of the lactase deficiency was 37.1%, while in the healthy population of the same age this frequency was 35.3% (the difference is not statistically significant). The authors conclude that mild and moderate arterial hypertension is not related to small intestine lactase deficiency in their study model. However, further proof is needed from the studies with larger subject groups and more elaborated clinical, laboratory and instrumental testing.

Celiac disease is one of the most prevalent diseases associated with the secondary deficiency of the activity of small intestine enzymes, including lactase. It is related to the impaired absorption of nutrients. During the last decade the clinical association of celiac disease has been studied extensively. The results from the tests of celiac disease serologic markers in healthy volunteers (blood donors) and rheumatoid arthritis patients are also presented in this monograph

D. Kalibatiene and E. Kazenaite assessed the serum levels of antigliadin antibodies of IgA class in blood donors and rheumatoid arthritis patients and compared the results. Moreover, the relationships of celiac disease markers with rheumatoid arthritis activity and time-course, as well as with the patients' age and gender were assessed. Serum antigliadin IgA antibodies were found in 5.7% of patients. Antibody-positive patients' numbers were found to increase from 6.5% to 14.3% with the increase of rheumatoid arthritis activity. However, the difference was not statistically significant. In the group of 88 blood donors serum antigliadin IgA antibodies were found in 2.2% of subjects. Based on these results the authors conclude that the celiac disease prevalence in the general population is 2.2%, while in the rheumatoid arthritis group it is 5.7%. With the increase of rheumatoid arthritis activity the prevalence of celiac disease increases from 6.5% to 14.3%.

Some studies show that celiac disease is related to changes in levels of oxidative stress markers. The authors aimed to detect changes of body peroxidation-antioxidative balance markers in patients with celiac disease (CD) and lactase deficiency (LD), in CD and rheumatoid arthritis (RA) and to compare the results with those from a control group (blood donors). It was found that in patients with CD and LD the level of lipid peroxidation marker malondialdehyde increased 1.5 fold ($5.93 \pm 0.31\%$) when compared to the control group ($3.34 \pm 0.12\%$). The level of conjugated dienes increased 1.7 fold ($9.24 \pm 0.74\%$) in comparison to the control group ($5.6 \pm 1.9\%$). The results were statistically significant ($p < 0.001$). Activity of antioxidant catalase decreased in CD and LD patients 1.3 fold ($42.34 \pm 2.2\%$) in comparison to the control group ($28.71 \pm 2.1\%$). In CD and RA patients lipid peroxidation test results were as follows: malondialdehyde level increased 1.4 fold ($5.67 \pm 0.23\%$) when compared to the control group ($3.48 \pm 0.11\%$), and the level of conjugated dienes increased 1.6 fold ($9.90 \pm 0.66\%$) in comparison to the control group ($5.8 \pm 1.9\%$). The results in both cases were statistically significant ($p < 0.001$). In the group of CD and RA patients the level of antioxidant catalase activity decreased 1.3 fold ($29.25 \pm 1.8\%$) compared to the control group ($42.96 \pm 2.1\%$). The study results confirm the relationship of celiac disease and rheumatoid arthritis with the changes in the levels of oxidative stress markers.

ISBN 978-609-459-321-5

DANUTĖ KALIBATIENĖ

INTESTININĖS ENZIMOPATIJOS

Mokslinė monografija

Redaktorė Jolanta Storpiršienė

Maketuotoja Vida Vaidakavičienė

12,6 aut. l.

Išleido Vilniaus universiteto leidykla

Universiteto g. 3, LT-01513 Vilnius