

**T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**LAKTOZ İNTOLERANSI BULUNAN KİŞİLERDE LAKTAZ
(-13910 T/C VE - 22018 A/G) GEN POLİMORFİZİMLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Dr. Canan YİĞİT

**Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ebubekir BAKAN**

**Uzmanlık Tezi
ERZURUM 2010**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY.....	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
KISALTMALAR	ix
TABLO DİZİNİ	x
ŞEKİL DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Karbonhidratların Genel Özellikleri	2
2.1.1. Giriş	2
2.1.2. Disakkaritler	2
2.1.2.1. Maltoz.....	2
2.1.2.2. Laktoz.....	3
2.1.2.3. Sakkaroz (Sükraz)	5
2.1.2.4. İzomaltoz	5
2.1.2.5. Trehaloz.....	6
2.2. Karbonhidratların Sindirim ve Emilimi	6
2.2.1. Karbonhidrazların Sentezi	8
2.3. Karbonhidratların Sindirim Bozuklukları	9
2.3.1. Nişasta İntoleransı	10

2.3.2. Disakkarit İntoleransı	10
2.3.2.1. Primer (Konjenital) Disakkaridaz Eksiklikleri.....	12
2.3.2.1.1. Sükras- İzomaltaz Eksikliği	12
2.3.2.1.2. Maltaz- Glukoamilaz Eksikliği	14
2.3.2.1.3. Trehalaz Eksikliği	15
2.3.2.1.4. Konjenital Laktaz Eksikliği.....	16
2.3.2.2. Yenidoğanlarda Geçici Laktaz Malabsorbsiyonu	16
2.3.2.3. Geç Başlangıçlı Laktaz Eksikliği	17
2.3.2.3.1. Genel Bilgiler	17
2.3.2.3.2. Erişkin Tip Hipolaktazyanın Epidemiyolojisi.....	19
2.3.2.3.3. Erişkin Tip Hipolaktazyanın Klinik Özellikleri.....	20
2.3.2.3.4. Erişkin Tip Hipolaktazyanın Tanısı	21
2.3.2.3.5. Erişkin Tip Hipolaktazyanın Tedavisi	22
2.3.2.3.5.1. Genel Bilgiler	22
2.3.2.3.5.2. Eksojen Beta- Galaktozidaz	25
2.3.2.3.5.3. Yoğurt ve Probiyotikler	26
2.3.2.3.5.4. Gastrointestinal Geçiş Süresini Uzatma.....	27
2.3.2.3.5.5. Adaptasyon.....	27
2.3.2.3.5.6. Tedavide Temel İlkeler	28
2.3.2.3.6. Laktoz Toleransı ile İlgili Gen Polimorfizmleri.....	30
2.3.2.3.6.1. Polimorfizmlerin Dünyadaki Yaygınlığı	32
2.3.2.3.6.2. Polimorfizmlerin Laktoz İntoleransı ile İlişkisi	36
2.3.2.3.6.3. Polimorfizmlerin Diğer Hastalıklarla İlişkisi.....	38
2.3.2.3.6.3.1. Diyabet ve Metabolik Sendrom	38

2.3.2.3.6.3.2. Katarakt	39
2.3.2.3.6.3.3. Osteoporoz	39
2.3.2.3.6.3.4. Kanser	39
2.3.2.3.6.3.5. Kardiyovasküler Hastalıklar	40
2.3.2.4. Sekonder Laktaz Eksikliği	40
2.4. Çölyak Hastalığı (Glutene Sensitif Enteropati)	41
3. GEREÇ ve YÖNTEM	43
3.1. Çalışma Grubunun Seçilmesi	43
3.2. Numunelerin Toplanması ve Deneysel İşlemler	43
3.2.1. Laktoz İntoleransı Testi	43
3.2.2. Çölyak Antikorları	44
3.2.3. Polimorfizm Analizleri	44
3.2.3.1. DNA İzolasyonu	44
3.2.3.1.1. DNA Saflık Tayini ve Konsantrasyonunun Hesaplanması	45
3.2.3.2. İn Vitro Amplifikasyon (PCR)	46
3.2.3.2.1. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroza Jel Elektroforezinde Analizi	46
3.2.3.3. Hibridizasyon	47
3.2.3.3.1. Ön İşlemler	47
3.2.3.3.2. Hibridizasyon İşlemleri	47
3.2.3.3.3. Yıkama İşlemleri	48
3.2.3.3.4. Renklendirme İşlemleri	49
3.2.3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi	49
3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler	50

3.4. Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar	51
4. BULGULAR.....	53
5. TARTIŞMA.....	57
6.SONUÇ ve ÖNERİLER	62
7. KAYNAKLAR	64

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nın 20.05.2009 tarih ve 2 no'lu kürsü karar ile "Laktoz İntoleransı Bulunan Kişilerde laktaz (-13910 T/C ve 22018 A/G) Gen Polimorfizimlerinin Belirlenmesi" adlı tez konusunun Arş. Gör. Dr. Canan YİĞİT'e uzmanlık tezi olarak verilmesine ve tez yönetimin Prof. Dr. Ebubekir BAKAN tarafından yürütülmesine karar verildi. T.C. Erzurum Valiliği İl Sağlık Müdürlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 08.01.2010 tarihli ve 11 sayılı kararı ile ilgili tezin etik kurul onayı alındı ve Temel Tıp bilimleri Bölümün 21.05.2009 tarih ve 1 no'lu oturumunda 4.2. karar numarası ile tez konusu olarak kabul edilmesine karar verildi.

TEŞEKKÜR

İhtisas tezi olarak sunduğum bu çalışmada ve ihtisas hayatım süresince değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, benden her türlü desteğini, hoşgörüsünü ve karşılaştığım her türlü sorunda yardımını esirgemeyen tez hocam Prof. Dr. Ebubekir Bakan'a, ihtisas eğitimim boyunca her zaman yakın ilgi ve bilimsel desteklerini gördüğüm değerli hocalarım Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN'e, Prof. Dr. Nuri BAKAN'a, Prof. Dr. Leyla YILDIZ'a, Prof. Dr. Fatih AKÇAY'a, Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a, Prof. Dr. Zuhale UMUDUM'a, Prof. Dr. Hülya AKSOY'a, Prof. Dr. M. Sait KELEŞ'e ve Doç. Dr. Abdulkadir YILDIRIM'a,

Tez çalışmamda büyük yardımları olan *Pediyatri* Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Vildan ERTEKİN'e Yrd.Doç. Dr. Mahya Sultan TOSUN'a,

Bu tez çalışmasında büyük destekleri olan, Arş. Gör. Dr. Fatih KARA'ya, Arş. Gör. Hamit Hakan ALP'e, ve moleküler laboratuvarı teknisyenimiz Ercan DEMİR'e,

İhtisas eğitimim boyunca ilgilerini ve arkadaşlıklarını esirgemedikleri için Uzm. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e, Uzm.Dr. Çağlar BULUT'a, Arş. Gör. Dr.Vefa YANMAZ'a, Arş. Gör. Akar KARAKOÇ'a, Arş. Gör. Dr. Muhammed ÇELİK'e, Arş. Gör. Dr. Zafer BAYRAKTUTAN'a, Arş. Gör. Nezahat KURT'a, Arş. Gör. Dr. H. İbrahim YILMAZ'a, Arş. Gör. Betül KOÇAK'a, Arş. Gör. Dr. Esra LALOĞLU'na ve diğer asistan, doktora ve yüksek lisans arkadaşlarıma,

Bölümümüz sekreteri Keriman ERDEN'e ve tüm Anabilim Dalı çalışanlarımıza,

SONSUZ TEŞEKKÜRLER...

ÖZET

Yiğit C.Laktoz İntoleransı Bulunan Kişilerde Laktoz (-13910 T/C ve-22018 A/G) Gen Polimorfizimlerinin Belirlenmesi. Biyokimya Uzmanlık Tezi. Erzurum 2010.

Karbonhidratlar insan diyetinin önemli bir kısmını teşkil eder. Karbonhidratların sindirim bozukluklarından en sık rastlanana laktoz intoleransıdır. Primer erişkin tip hipolaktazyaya yani laktoz intoleransı erişkin populasyonunun %75'ten fazlasını etkilemektedir. Hastalığın insidansı ırklar arasında önemli farklılıklar gösterir. Bu farklılık laktoz intoleransının yalnızca çevresel faktörlerden değil genetik bir temele dayalı olduğunu göstermiştir. Enattah ve arkadaşları bu yüzyılın başında laktoz intoleransı ile C/T-13910 tek nükleotit polimorfizmini tanımlamışlardır. Aynı çalışmada laktoz intoleransı ile daha zayıf ilişkili bir mutasyon tespit edilmiştir (G/A-22018). Farklı populasyonlarda yapılan birçok çalışma bu iki gen polimorfizmi ile laktoz intoleransı arasında C/C-13910 genotipi ile ilişkili olduğunu ve C/T ve T/T genotiplerinin persistansı (laktoz toleransı) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. C/T-13910 polimorfizminin özellikle Kuzey Avrupa populasyonunda laktaz aktivitesi ile önemli derecede ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Literatürde Türk toplumunda laktoz intoleransı ile ilişkili polimorfizmlerin sıklığı konusunda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla sistemik bir hastalığı olmayan 20 laktoz intoleransı tanısı konmuş ve 17 gönüllü grupta genetik polimorfizim analizi yapıldı. Polimorfizimlerin analizi için EDTA'lı hemogram tüplerine alınan venöz kan örneklerinde DNA izolasyonu yapıldı, DNA örneklerine PCR işlemi uygulandı. Daha sonra hibridizasyon ve renklendirme işlemleri ile oluşturulan renkli striplerde mutasyonlar tespit edildi.

Sonuç olarak hasta grubunda 18 C/C (%90), 2 C/T (%10), 12 G/G (%60), 7 G/A (%35), Grup 2'de 13 C/C (%76), 4 C/T (%23), 7 G/G (%41), 7 G/A (%41), 3 A/A (%17) genotiplerine sahiptiler.

Bu bulguların ışığında Türk toplumunda C/C genotipinin laktoz intoleransı ile direkt ilişkili olduğunu tespit ettik.

Anahtar Kelimeler: Laktoz İntoleransı, Polimorfizm, C/T -13910, G/A -22018

ABSTRACT

Determination of lactose (-13910 T/C and -22018 A/G) gene polymorphisms in patients with lactose intolerance

Carbohydrates constitute an important part of human diet. Lactose intolerance is the most common disorder of digestion of carbohydrates. Primary adult type hypolactasia, namely lactose intolerance, affects over 75% of the adult population. The incidence of the disease varies among the races. This variation showed that lactose intolerance depends on not only environmental factors but also a genetic basis. At the beginning of this century Enattah et al described C/T-13910 single nucleotide polymorphism in lactose intolerance. In the same study a mutation (G/A-22018) which has lower relation with lactose intolerance has been determined. In many studies on different populations it has been shown that among these two gene polymorphisms C/C-13910 genotype is related with lactose intolerance and also C/T and T/T genotypes are related to persistancy (lactose intolerance). Especially in the North Europe population, C/T-13910 polymorphism has been determined to have significant relation with lactose activity.

In the literature, there is no study about the incidence of lactose intolerance related polymorphisms in Turkish population. Therefore in this study, genetic polymorphism analyses performed in 20 healthy volunteers with no systemic disorders and 17 volunteers with lactose intolerance diagnosis. To analyse polymorphisms, DNA isolation was performed in venous blood samples taken into vaccium tubes with EDTA, and PCR was applied on DNA samples. Then, mutations were determined in stained strips prepared by hybridization and staining procedures.

As a result, the patient group had the 18 C/C (90%), 2 C/T (10%), 12 G/G (60%) and 7 G/A (35%) genotypes while the healty control group had 13 C/C (76%), 4 C/T (23%), 7 G/G (41%), 7 G/A (41%) and 3 A/A (17%) genotypes.

In the light of these findings, we determined that C/C genotype is directly related to lactos intolerance in Turkish population.

Key Words : Lactose Intolerance, Polymorphism, C/A-13910, G/A-22018

KISALTMALAR

LPH	: Laktaz Florizin Hidrolaz (Lactase Phylorisin Hydrolase)
SI	: Sükraz- İzomaltaz
MGA	: Maltaz-Glukoamilaz
CT	: Stoplazmik Kuyruk (Cytoplasmic Tail)
DİG	: Detergent – İnsoluble Glucophosphatidylinositol
NAS	: Amerikan Ulusal Bilim Akademisi (National Academy of Science)
MCM6	: Minichromosome Maintenance type 6
SNP	: Tek Nükleotit polimorfizmi (Single Nükleotide Polymorfism)
BMD	: Kemik Mineral Yoğunluğu
IgA EMA	: İgA Sınıfı Antiendomisyum Antikor
IgA AGA	: İgA sınıfı Antigliadin Antikor
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimerase Chain Reaction)
½ x TBE	: Tris, Borik Asit, EDTA
HYB	: Hibridizasyon Buffer

TABLO DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Bağırsaktaki Luminal ve Mukozal Enzimler	7
Tablo 2.2. Yenidoğan ve Çocuklarda Karbonhidrat Malabsorbsiyonu.....	9
Tablo 2.3. Çeşitli Besin Türlerinin Kalsiyum İçerikleri	22
Tablo 2.4. Çeşitli Besin Türlerinin Laktoz İçerikleri	23
Tablo 2.5. Farklı Populasyonlarda C/C -13910 Genotipinin Prevalansı.....	33, 34
Tablo 2.6. Enattah ve Arkadaşlarına Göre C/T -13910 Allel Frekansları	35
Tablo 2.7. Sekonder Laktoz Eksikliği ile İlişkili Bazı Durumlar	41
Tablo 2.8. Çölyak Hastalığında Serolojik Testlerin Sensitivite ve Spesifisiteleri	42
Tablo 3.1. Striplerde oluşan Bantlara Göre Sonuçların Değerlendirilmesi	50
Tablo 4.1. Grup 1’de C/T-13910 ve G/A-22018 Gen Polimorfizm Analiz Sonuçları..	54
Tablo 4.2. Grup 2’de C/T -13910 ve G/A-22018 Gen Polimorfizm Analiz Sonuçları	55
Tablo 4.3. Grup 1 ve Grup 2’de C/T-13910 ve G/A-22018 Gen Polimorfizm Analizlerinin Sonuçları	56

ŞEKİL DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Maltozun Yapısı	3
Şekil 2.2. Laktozun Yapısı	3
Şekil 2.3. Laktoz Sentezi	4
Şekil 2.4. Sakkarozun Yapısı.....	5
Şekil 2.5. İzomaltozun Yapısı.....	5
Şekil 2.6. Trehalozun Yapısı	6
Şekil 2.7. Karbonhidratların Emilimi	8
Şekil 2.8. Pro-Sükraz- İzomaltazın Yapısı ve Biyosentezi.....	13
Şekil 2.9. Pro- LPH nin Yapısal Özellikleri	18
Şekil 2.10. Primer ve Sekonder Hipolaktazya Tedavisinde Temel İlkeler.....	30
Şekil 2.11. C/T-13910 ve T/G-13915 Gen Polimorfizmleri.....	31
Şekil 2.12. Laktoz İntoleransı ile İlişkili Gen Polimorfizmleri	32
Şekil 3.1. %3'lük Agaroze Jel Elektforezi ile Analiz Edilen Amplifikasyon Ürünleri	47
Şekil 3.2. Striplerde Oluşan Wild Tip ve Mutasyon Bantları.....	49
Şekil 4.1. Genotiplerin Toplumumuzdaki Görülme Sıklıkları	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Primer erişkin tip hipolaktazy (laktoz intoleransı), dünya nüfusunun büyük bir çoğunluğunda görülen ve erişkin populasyonun %75'inden fazlasını etkileyen yaygın bir sağlık problemidir. Hastalığın insidansı, populasyonlar arasında önemli farklılıklar göstermektedir. Zenciler, Araplar ve Latinlerin yaklaşık %80'inde, Amerikalı Kızılderililer ve Asyalıların tamamına yakın erişkin tip hipolaktazy görülmektedir. Buna karşın Kuzey-Batı Avrupa populasyonunda görülme sıklığı daha azdır (1).

Enattah ve ark. (2), 2000'li yılların başında laktoz intoleransı ile ilişkili C/T-13910 tek nükleotit polimorfizmini tanımlamışlardır. Bu tarihten itibaren, laktoz intoleransının genetik polimorfizmlerle ilişkisini araştıran pek çok çalışma yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, söz konusu polimorfizmlerin sıklığının toplumlar arasında büyük değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Kuokkanen ve ark. (3) tarafından yapılan bir çalışmada, T-13910 ve A-22018 allellere sahip kişilerde, intestinal mukozadaki laktaz-florizin hidrolaz (LPH) mRNA ekspresyonunun, C-13910 ve G-22018 allellere sahip kişilerdekinden daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Literatürde, Türk toplumunda laktoz intoleransı ile ilişkili polimorfizmlerin sıklığı konusunda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız çalışmada, erişkin tip hipolaktazy ile ilişkisi ortaya konulmuş iki tek nükleotit polimorfizminin (C/T-13910 ve G/A-22018) toplumumuzdaki yaygınlığını ve hastalık mevcudiyetinde tanısal duyarlılıklarını tespit etmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karbonhidratların Genel Özellikleri

2.1.1. Giriş

Karbon, hidrojen ve oksijen atomlarından oluşan ve genel formülleri $C_n(H_2O)_n$ olan polihidroksi aldehid, keton veya bunların kondensasyon ürünlerine, karbonhidrat adı verilmektedir.

Karbonhidratlar, taşıdıkları basit şeker (monosakkarit) sayısına göre şu şekilde sınıflandırılmaktadır:

- Monosakkaritler: Tek karbonhidrat ünitesi taşırlar.
- Disakkaritler: İki monosakkarit ünitesi taşırlar.
- Oligosakkaritler: 3-10 adet monosakkarit ünitesi taşırlar.
- Polisakkaritler: 10'dan fazla sayıda monosakkarit ünitesi taşırlar(4).

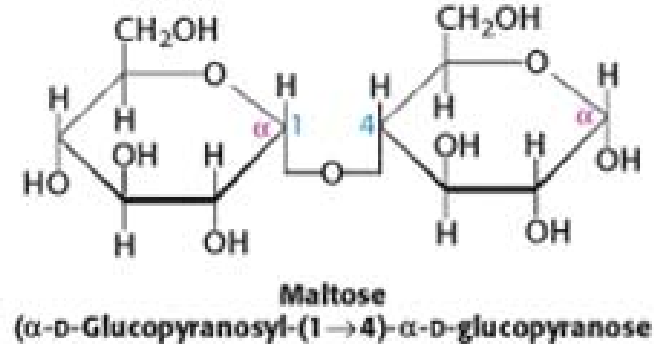
2.1.2. Disakkaritler

İki monosakkarit ünitesinden, 1 molekül su ayrılmasıyla oluşan karbonhidratlara, disakkaritler denir. Genel formülleri, $C_n(H_2O)_{n-1}$ şeklindedir. İki monosakkarit arasındaki bağ, kovalent bir bağdır ve “glikozidik bağ” olarak isimlendirilir. Glikozidik bağ, asitlere karşı dayanıksız; bazlara karşı ise dirençlidir. Bağ yapımına katılan karbonların numarası ve karbon üzerindeki OH grubunun konumuna göre, glikozidik bağlar değişik isimlerle adlandırılmaktadır (5).

2.1.2.1. Maltoz

2 adet D-glukozun α -1,4 glikozidik bağıyla bağlanması sonucu maltoz oluşur. Bağ yapımına birinci glukozun 1 numaralı karbonu ile ikinci glukozun 4 numaralı karbonu katılmaktadır (şekil 2.1). Yapısındaki glukozlardan birinin serbest karbonil grubunun bulunmasından ötürü, maltoz indirgen bir şekerdir(indirgenme neticesinde

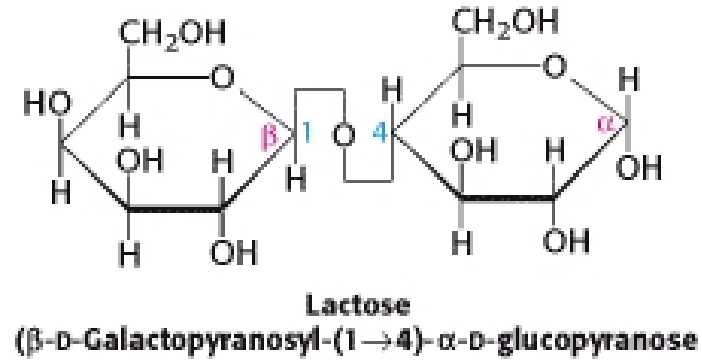
kendileri kompleks asitlere yükseltgenirler).İndirgenme ürünlerinin renkli kompleks oluşturmaları karbonhidratların varlığını saptamada yardımcı olur (5).



Şekil 2.1. Maltozun Yapısı

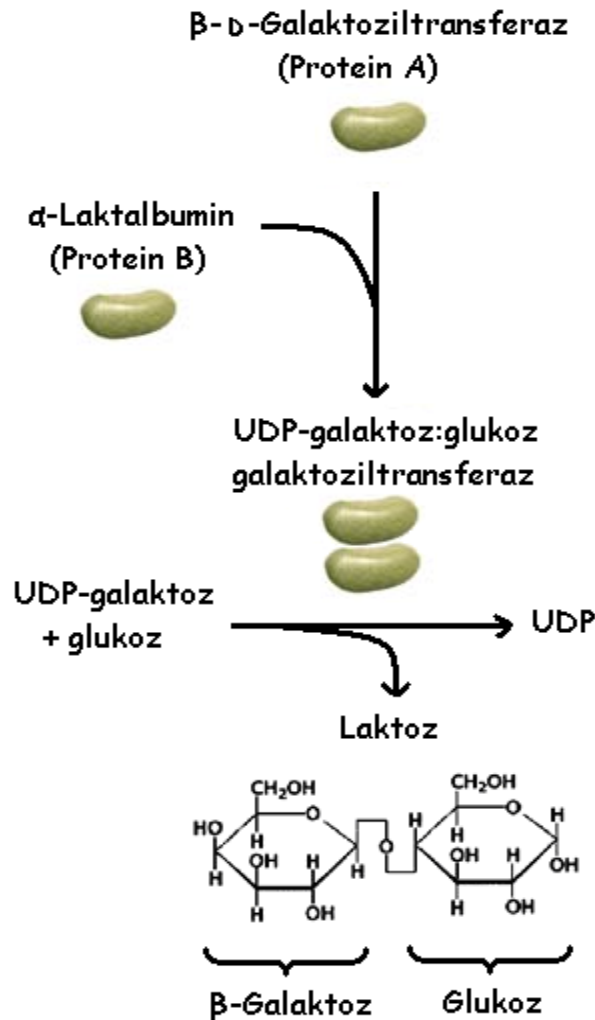
2.1.2.2. Laktoz

Süt şekeri olarak da adlandırılmaktadır. 1 molekül D-glukoz ile 1 molekül D-galaktozun β -1,4 glikozidik bağıyla bağlanması sonucu laktoz oluşur (şekil 2.2). Yapısında yer alan glukozun serbest aldehit grubundan ötürü laktoz indirgen özelliğe sahiptir.



Şekil 2.2. Laktozun Yapısı

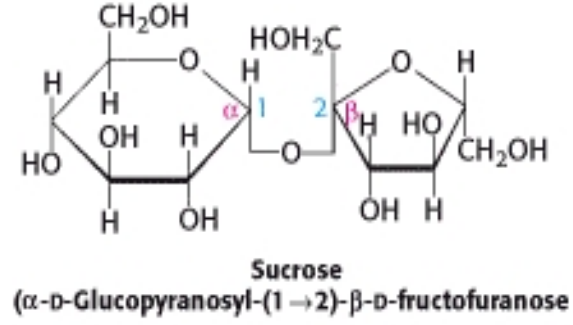
Laktoz, endoplazmik retikulumda, laktoz sentaz (UDP-galaktoz: glukoz galaktoziltransferaz) adı verilen bir enzim tarafından sentezlenir. Şekil 2.3'te görüldüğü gibi bu enzim, UDP-galaktozdan galaktozu alarak glukozu aktarır ve bu sırada UDP salınır. **Laktoz sentaz enzimi, A ve B olmak üzere 2 proteinden oluşmuştur. Protein A, süt veren meme bezi dışındaki dokularda UDP-galaktozdan galaktozu alarak, N-asetil-D-glukozamine aktarır (β -D-galaktoziltransferaz aktivitesi) ve böylece glikoproteinlerin bir bileşeni olan N-asetillaktozamin sentezlenir. Protein B ise, sadece süt veren meme bezlerinde bulunur. Bu bir α -Laktalbumindir ve sentezi prolaktin tarafından uyarılır. Protein B, Protein A ile bir kompleks oluşturur ve böylece transferaz enzim aktivitesinin özgünlüğü değişir. Sonuçta, N-asetillaktozamin yerine laktoz sentezi gerçekleştirilir (5,6).**



Şekil 2.3. Laktoz Sentezi

2.1.2.3. Sakkaroz (Sükroz)

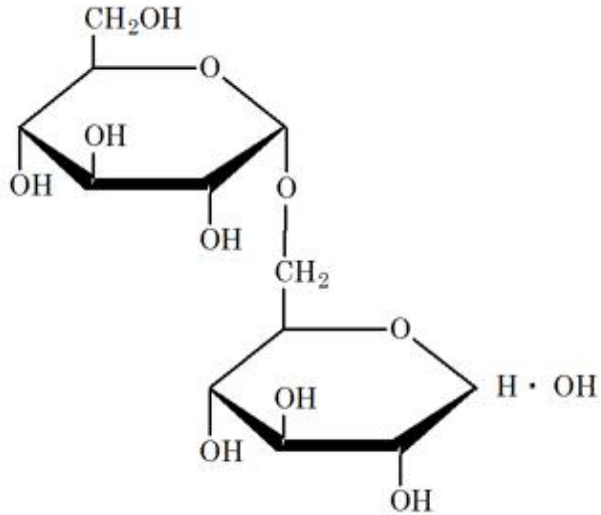
Çay şekeri olarak da bilinir. Glukozun 1 numaralı karbonu ile fruktozun 2 numaralı karbonunun α - β -1,2 glikozidik bağ ile bağlanmasıyla oluşur (Şekil 2.4). Sakkaroz indirgen bir şeker değildir (5).



Şekil 2.4. Sakkarozun Yapısı

2.1.2.4. İzomaltoz

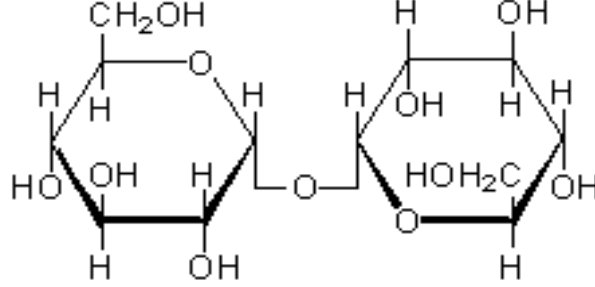
Nişasta ve glikojenin dallanma bölgelerinde bulunur. 2 molekül glukozun α -1,6 glikozidik bağla bağlanması sonucu meydana gelir(5).



Şekil 2.5. İzomaltozun Yapısı

2.1.2.5. Trehaloz

İki molekül glukozun α -1,1 glikozidik bağı ile bağlanması sonucu oluşur. Her iki glukozun da anomerik karbonunun glikozidik bağ yapımına katılmasından ötürü indirgeme özelliği bulunmaz (5).



Şekil 2.6. Trehalozun Yapısı

2.2. Karbonhidratların Sindirimi ve Emilimi

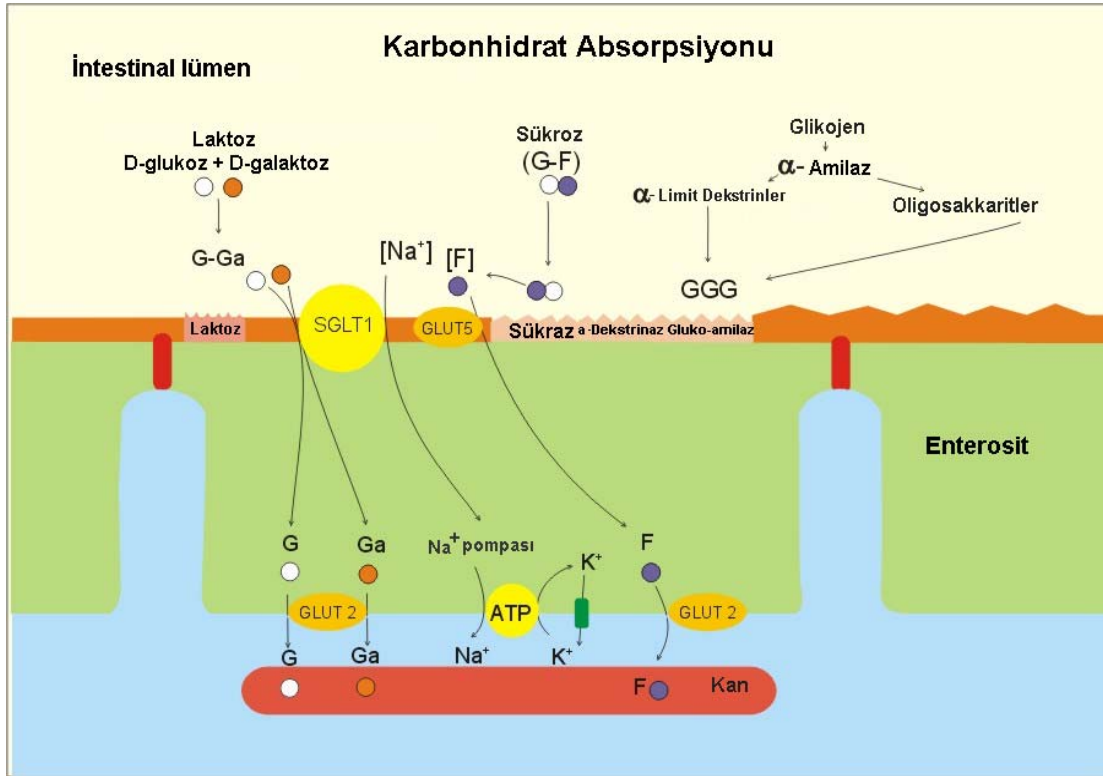
Diyetle alınan karbonhidratların %60 kadarını oluşturan nişasta, molekül ağırlığı 100 bin ile 1 milyon arasında değişen bir polisakkarittir. Amiloz ve amilopektin denen iki glukoz polimerinden oluşur. Amiloz, α - 1,4 glikozidik bağla bağlı glukoz moleküllerinin düz bir zincir şeklinde sıralanması ile oluşur. Tükürük ve pankreas α -amilazı, iç α - 1,4 bağlarını yıkar; fakat en dış bağları hidrolize edemez. Bu yüzden son ürünler, maltoz (iki glukoz ünitesi), maltotrioz (üç glukoz ünitesi) ve 4-9 glukoz molekülü içeren diğer oligosakkaritlerdir. Oluşan bu ürünler, intestinal mukozal maltazlar (glukoamilaz ve izomaltaz) tarafından glukoz moleküllerine hidroliz edilir. Amilopektin, amilozdan daha kompleks bir yapıya sahiptir; α -1,4 düz zincirine ilaveten, zincir boyunca ortalama her 25 glukoz ünitesinde bir α -1,6 dallanma noktaları içerir. Tükürük ve pankreas α -amilazı seçici olarak iç α -1,4 glukoz-glukoz bağlarına saldırır; fakat hem dış bağları hem de dallanma noktalarına bitişik olanları hidroliz edemez. Bu yüzden nişastanın intraluminal sindiriminin son ürünleri, maltoz, küçük miktarda oligosakkaritler ve α -dekstrinlerdir. α -Dekstrinler daha sonra mukozal α -dekstrinazlar (izomaltaz) tarafından glukoz moleküllerine yıkılır (4).

Tablo 2.1. Bağırsaktaki Luminal ve Mukozal Enzimler

Diyetle Alınan Karbonhidratlar		Lüminal Enzimler	Mukozaya Sunulan Oligosakkaritler ve Disakkaritler	Mukozal Enzimler	Son Ürünler
Nişasta (%60)	Amilopektin	Tükürük ve pankreas α -amilazı	Maltoz, maltotrioz, α -1,4 bağlı oligosakkaritler	Glukoamilaz (Maltaz)	Glukoz
			α -dekstrinler (α -1,6 bağlı)	α -dekstrinaz (İzomaltaz)	Glukoz
	Amiloz	Tükürük ve pankreas α -amilazı	Maltoz, maltotrioz, α -1,4 bağlı oligosakkaritler	Glukoamilaz (Maltaz)	Glukoz
Sükroz (%30)		-	Sükroz	Sükraz	Glukoz ve Fruktoz
Laktoz (%10)		-	Laktoz	Laktaz	Glukoz ve Galaktoz
Trehaloz		-	Trehaloz	Trehalaz	Glukoz

Besinlerle alınan sükröz ve laktoz disakkaritlerinin yanı sıra, tükürük ve pankreas α -amilazının ürünleri, intestinal villus hücrelerinin fırçası kenar membranında bulunan enzimler tarafından hidroliz edilir. Bu enzimler (karbonhidrazlar) glikozillenmiş protein yapısındadır ve fırçası kenar membranının lipit tabakasıyla ilişkilidir (Tablo 2.1).

Karbonhidratların sindirimi sonucu ortaya çıkan glukoz ve galaktoz aynı sodyum-bağımlı kotransporter ile taşınır (Şekil 2.7.). Fruktöz taşınması ise daha yavaştır ve sodyuma bağımlı olmayan bir transporter ile gerçekleştirilir (4,6).



Şekil 2.7. Karbonhidratların Emilimi

2.2.1. Karbonhidrazların Sentezi

Fırçası kenar hidrolazları, endoplazmik retikulumun sitoplazmik yüzeyine bağlı polizomlarda sentez edilir. Sentezlenen proteinler golgi aygıtına geçer, burada glikozilasyona uğrar ve daha sonra golgi vezikülleri içerisinde fırçası kenar membranına taşınır (7).

Sükraz-izomaltaz (SI) kompleksi 3. kromozom üzerinde bulunan bir gen tarafından yüksek molekül ağırlıklı tek bir prekürsör molekül olarak sentez edilir ve ardından sükraz ve izomaltaza ayrılır (7).

Laktaz aktivitesinden sorumlu protein ise, 2. kromozom üzerinde bulunan bir gen tarafından kodlanır. Bu enzim, florizini, floretin ve glukozu hidroliz ettiğinden dolayı, yaygın olarak LPH olarak adlandırılır (7).

2.3. Karbonhidratların Sindirim Bozuklukları

Karbonhidratlar, insan diyetinin önemli bir kısmını teşkil etmektedir. Batı ülkelerinde erişkinler için günlük karbonhidrat alımı yaklaşık 350 g kadardır. Bunun %60'ını nişasta, %30'unu sakkaroz ve geri kalanını da laktoz, trehaloz ve diğer karbonhidrat bileşikler oluşturur (4).

Karbonhidrat intoleransı, monosakkaritlerden, disakkaritlerden ya da polisakkaritlerden kaynaklanabilir. Bu durumların çoğu primer olarak görülmekle birlikte, bazıları altta yatan intestinal bir hastalığa sekonder olarak ortaya çıkar (8) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Yenidoğan ve Çocuklarda Karbonhidrat Malabsorpsiyonu

	Azalmış Enzim Aktivitesi	Bozulmuş Monosakkarit Transportu
Primer	Konjenital sükraz-izomaltaz eksikliği	Glukoz-galaktoz malabsorpsiyonu
	Konjenital laktaz eksikliği	
	Geç-başlangıçlı laktaz eksikliği	
	Yenidoğanlarda geçici laktoz malabsorpsiyonu	
Sekonder	Laktaz eksikliği	Edinilmiş monosakkarit malabsorpsiyonu
	Laktoz, sükroz ve oligosakkarit malabsorpsiyonu (eğer aşırı fırçamsı-kenar hasarı varsa)	

2.3.1. Nişasta İntoleransı

Nişastanın sindirimi ağızda başlar ve eğer pH'sı yüksekse midede devam eder. Bununla birlikte, pankreatik α -amilaz, nişastanın sindiriminden sorumlu temel enzimdir. Glukoamilaz, 5 ile 9 glukoz ünitesi içeren oligosakkaritler üzerine daha aktif olmakla birlikte, nişastanın hidrolizine de katkıda bulunabilir. Tükürük amilazı gebeliğin ikinci yarısında belirlenebilir. İntestinal glukoamilaz seviyeleri, bir aylık infantlarda 5 yaşındaki çocuklarınkine yakındır. Pankreatik α -amilazın ise hayatın ilk 4-6. aylarında aktivitesi çok düşüktür veya yoktur (9).

Pankreatik α -amilaz aktivitesindeki normal gelişimsel gecikmeden dolayı bebeklerde; şiddetli mukozal hasar olduğu zaman, herhangi bir yaş grubunda ve sükras-izomaltaz eksikliği olan infantlarda, nişasta intoleransı görülebilir (9,10).

2.3.2. Disakkarit İntoleransı

Disakkaritler, normalde ince bağırsağın proksimal parçasında tamamen yıkılır ve ortaya çıkan monosakkaritler hızla absorbe edilir (11).

Disakkaridazlar olarak sınıflandırılan, sükras-izomaltaz, maltaz-glukoamilaz ve LPH enzimleri ince bağırsaktaki enterositlerin apikal yüzeylerinde lokalize olan membrana bağlı glikoprotein yapılı enzimlerdir (11-12).

Yetersiz disakkaridaz seviyeleri, disakkarit intoleransının başlıca sebebidir ve konjenital ya da kazanılmış nedenlerle ortaya çıkabilir. Ayrıca, ince bağırsağın kısalması ya da geçiş hızının artmasına bağlı olarak disakkaritlerin enzimlere yeterince maruz kalamaması durumunda da disakkarit intoleransı görülebilir (13).

Disakkarit intoleransı ile ilişkili şikayetler şunlardır: sulu ishal, bulantı, şişkinlik, gerginlik, gurultu, gaz birikmesi ve kramplar. Sindirilememiş disakkaritler, osmotik etki ile bağırsak sıvı sekresyonunda önemli bir artış meydana getirirler ve bu durum, intestinal motiliteyi uyarak, geçiş zamanını kısaltır (14). Bu etkiler, malabsorbsiyon, irritabl bağırsak sendromu gibi durumlarla ilişkili olduğu zaman daha belirgindir (15,16).

Sindirilememiş disakkaritler, ince bağırsağın distaline ve kolona ulaştıkları zaman, enterik bakteriler tarafından hidrojen, karbondioksit ve organik asitlere fermente edilir. Bu durum osmolariteyi daha da artırır ve pH'yı düşürür. Bakteriyel fermentasyon sonucu oluşan başlıca kısa zincirli yağ asitleri asetat, propiyonat ve bütirattır. Bunlar, tüm kısa zincirli yağ asitlerinin %80'inden fazlasını oluşturur. Kolayca absorbe edilebildiklerinden dolayı hem osmotik yükü hem de kalori kaybını azaltırlar (16). Bununla birlikte, bakteriyel karbonhidrat yıkım ürünlerinin bu şekilde kurtarılmasında bir "sınır" söz konusudur. Disakkarit sindirimi ve emilimindeki bozukluğun şiddetli olduğu durumlarda, absorbe edilebilecek olandan daha fazla kısa zincirli yağ asidi oluşur ve bunlar dışkı ile kaybedileceğinden dolayı dışkı pH'sı oldukça düşer. Asidik pH bakterilerin emilmemiş karbonhidratları fermente etme yeteneğini baskılar ve böylece karbonhidratlar dışkıda belirlenebilir. Antibiyotik tedavisi sonrası mikroflorada meydana gelen değişiklikler, kısa zincirli yağ asitlerinin üretimini baskılayan bir diğer faktördür (15,16).

Disakkaridaz eksiklikleri primer ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılır.

Primer tip, genetik olarak belirlenebilir. Enzim eksikliği, genellikle izoledir. Disakkarit intoleransı, hayat boyu sürer ve intestinal dokunun yapısı normaldir.

Sekonder (kazanılmış) disakkaridaz eksikliği ise genellikle geçicidir ve tüm disakkaridaz enzimlerinde genel bir azalma vardır. Bununla birlikte, klinik olarak laktoz intoleransı öne çıkar. Histolojik incelemede, altta yatan hastalığın yol açtığı mukozal değişiklikler görülebilir (15,16).

Disakkaridaz eksikliğinde intolerans belirtileri, emilememiş şekerlerden kaynaklanır. Bu yüzden, tanıda, sorumlu olduğu düşünülen karbonhidratın alınması ile şikayetlerin ortaya çıkması ya da bu karbonhidratın diyetten çıkarılması ile şikayetlerin düzelmesi önemlidir. Emilmemiş karbonhidratın belirlenmesi, dışkı pH'sının 5.5'tan az olması, dışkıda redüktan madde bulunması ve hidrojen nefes testi (laktoz ya da sükroz alımından sonra nefeste hidrojen gazı ölçülmesi) tanıyı doğrular. Nefes testi kolondaki bakteriyel karbonhidrat metabolizmasına dayanır. Bu metabolizma sonucu üretilen hidrojen gazı, kolon mukozası tarafından absorbe edilir ve daha sonra solunum yoluyla atılır. Ayrıca proksimal ince bağırsak biyopsi homojenatlarında enzim aktivitesine

bakılması gibi daha ileri tetkikler de yapılabilir. Sonuç olarak, disakkaridaz eksikliği tanısı, tek bir tanısal test sonucuna dayanılarak değil, hastanın genel klinik ve laboratuvar değerlendirmesi ile konulmalıdır (15,16).

Karbonhidrat malabsorbsiyonu ile ilişkili diyare, çocuklarda (özellikle infantlarda) erişkinlerdekinden daha şiddetli olma eğilimindedir. Bunun sebebi besinlerin intestinal pasajının çocuklarda daha hızlı olmasıdır (16).

Bütün disakkaridaz eksikliklerinde tanı ayrıntılı beslenme anamnezinin alınması ile başlar. Bu aynı zamanda tedavi yaklaşımı için de yol gösterici olacaktır. Klinik belirtiler genellikle sükroz ve laktoz gibi spesifik disakkaritlerin diyetle girişi ile eşzamanlı olarak başlar. Zaten ebeveynler ampirik gözlemlere dayanarak diyetsetel kısıtlamaya gitme eğilimindedir (16).

2.3.2.1. Primer (Konjenital) Disakkaridaz Eksiklikleri

2.3.2.1.1. Sükraz-İzomaltaz Eksikliği

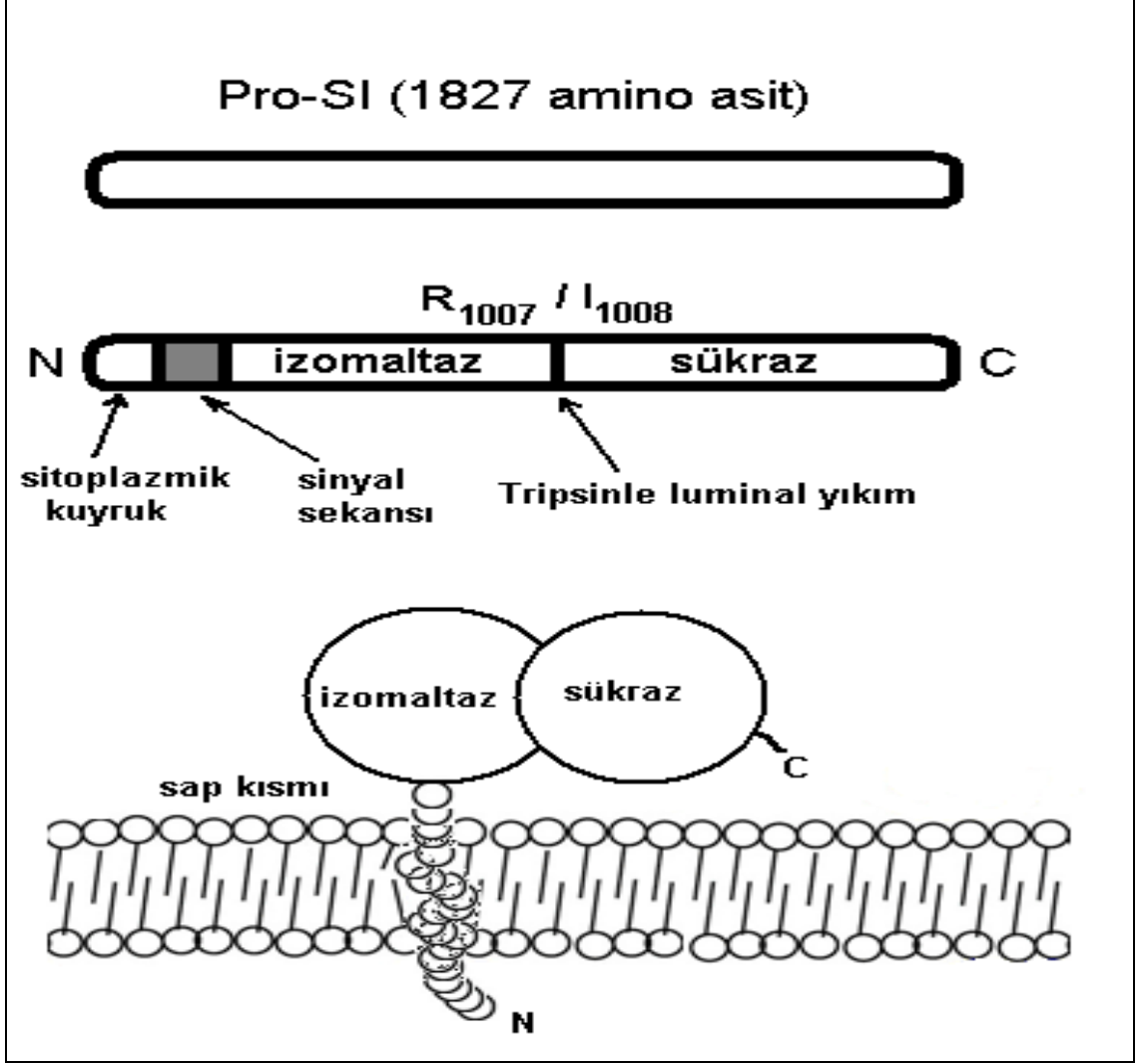
Sükraz-izomaltaz enzim kompleksi, intestinal fırçamsı kenar membranında bulunan glikoprotein yapısında bir integral membran proteinidir. Sükraz (130 kDa) ve izomaltaz (145 kDa) denilen iki alt üiteden oluşur (17). Sükraz ve izomaltaz α -glikozidik olarak bağlı karbonhidratlara karşı aktiftir. Sükraz esas olarak 1,2- α - ve 1,4- α -glukopiranozidik bağları parçalar ve sükroz ile nişastanın terminal sindiriminden sorumludur. İzomaltaz ise α -1,6 bağlarını yıkar (17).

Sükraz-izomaltaz enziminin; N-terminal ucu sitozolde bulunurken, C-terminal ucu lümene bakar. Bu durum “N_{in}/C_{out}” oryantasyonu olarak adlandırılır (17).

Pro-SI, endoplazmik retikuluma translokasyon için gerekli ayrışmamış bir sinyal dizisi ile birlikte sentez edilir. Toplam 1827 amino asitten oluşur. N terminal ucu bir sitoplazmik kuyrukla (Met1-Ser12) başlar. Ardından sinyal dizisi (Leu13-Ala32) gelir. Serin ve treonince zengin sap bölgesi, Thr33-Ser61 dizisini ihtiva eder ve burası pro-SI’nın O-glikozilasyon bölgesidir (17).

İzomaltaz Arg1007 amino asit rezidüsüyle sonlanır ve Ile1008 ile sükraz başlar. İzomaltaz ve sükraz arasındaki Arg/Ile peptit dizisi, intestinal lümende pankreatik

sekresyonlar (insanlarda tripsin, ratlarda elastaz) tarafından gerçekleştirilen ayrışma işleminin meydana geldiği bölgedir. İyonik etkileşimler nedeniyle, sükras ve izomaltaz enzimleri ayrıştıktan sonra dahi birbiriyle ilişkili kalmaya devam eder (17) (Şekil 2.9).



Şekil 2.8. Pro-Sükras-İzomaltazın (pro-SI) Yapısı ve Biyosentezi

SI'nın önemli bir yapısal özelliği, membrana yakın kısımda O-glikozillenmiş serin ve treonince zengin bir sap bölgesi içermesidir. Bu kısa bölgenin zengin O-glikozilasyonu, rijidite ve infleksibilitiyi sağlar. Bu sayede SI'nın membran yüzeyinde

pankreatik sekresyonlar tarafından sindirilmekten korunması sağlanır ve intestinal lümendeki ömrü uzar (17).

Primer enzimatik eksiklikler arasında sükras ve izomaltaz eksikliği oldukça yaygındır. Bu bozukluğun insidansı Kuzey Amerika’da %0.2 iken, Grönland eskimoları arasında %10’a ulaşır (17).

2.3.2.1.2. Maltaz-Glukoamilaz Eksikliği

Maltaz-glukoamilaz, izomaltazinkine benzer sindirim özelliklerine sahip bir fırçamsı kenar enzimidir. Karbonhidratların α -glikozidik bağlarının sindirimine katkıda bulunur. Konjenital sükras-izomaltaz eksikliği olan kişilerde sükras-izomaltaz enzim eksikliğini kompanse edebilir. Ayrıca malnutrasyon ya da immatürite nedeniyle lüminal α -amilaz aktivitesi azaldığı zaman, nişasta sindirimi için alternatif bir yol olarak işlev görebilir. Bu nedenle, diyeter oligosakkaritlerin sindiriminde MGA oldukça önemli bir role sahiptir (18).

MGA bir integral mebran glikoproteinidir. Sükras-izomaltazın aksine, matür MGA pankreatik sekresyonlar tarafından fırçamsı kenar membranında ekstrasellüler yıkıma uğramaz. Yüksek oranda N- ve O- glikoziledir ve muhtemelen sap bölgesinde bulunan O-glikan ünitelerinin aracılığı ile fırçamsı kenar membranına yönelir (18).

MGA ve SI enzimi, büyük oranda homologdur (%59 homoloji) ve membrana bağlı bölgeye bitişik sap bölgesinin O-glikozilasyonu ve iki katalitik bölge mevcudiyeti gibi benzer yapısal özelliklere sahiptir (19).

MGA geni kromozom 7q34 üzerinde lokalizedir ve 58 eksondan oluşur (18).

Konjenital MGA eksikliği çok nadirdir. Yakın yıllarda bir vaka moleküler seviyede tanımlanmıştır (20). Bu vakada MGA eksikliği ile birlikte laktaz ve sükras eksikliği de belirlenmiştir. MGA cDNA’sının izolasyonu ve sekans çalışması ile, 542. amino asit rezidüsünde serinin lösinle yer değiştirdiği belirlenmiştir (S542L). Bu değişiklik noktası katalitik bölgeye çok yakındır. Bu hastada MGA’nın promoter bölgesi de incelenmiş ancak herhangi bir nükleotit değişikliği gözlenmemiştir (19).

1994 yılında, kronik diyare şikayeti olan bir grup çocukta, glukoamilaz eksikliği rapor edilmiştir (21). Yapılan incelemede mukoza morfolojisinin normal olduğu görülmüştür.

Primer MGA eksikliği, kronik diyareli infantların ve çocukların ayırıcı tanısında düşünülmelidir. Belirtiler nişastanın diyetle girmesi ile başlar. Nişasta sindirim kapasitesi ^{13}C -nişasta oligomerlerinin substrat olarak kullanıldığı, $^{13}\text{CO}_2$ solunum testi ile değerlendirilebilir (20,22). Tanı, pankreatik amilaz aktivitesinin normal olduğu durumda duodenal biyopsi örneklerinde düşük glukoamilaz aktivitesinin tespit edilmesi ile konulabilir.

Karnsakul ve ark. (23), normal duodenal histolojiye sahip olan, bazıları düşük laktaz ve sükraz aktivitesi gösteren dispeptik çocuklar arasında, glukoamilaz eksikliği tespit etmiştir.

2.3.2.1.3. Trehalaz Eksikliği

Trehalaz ince bağırsağın α -glukozidazlarının bir üyesidir (24). İnsan serumunda da mevcut olduğu tespit edilmiştir (25). Plazma trehalaz aktivitesinin diyabetli kişilerde arttığı (26); romatoid artritli kişilerde azaldığı (27) bulunmuştur. Bu nedenle plazma trehalaz aktivitesi trehalaz eksikliğinin tanısında kullanılamaz.

İnsan trehalaz enzimini kodlayan cDNA insan böbreğinden izole edilmiştir (28).

Trehalaz eksikliğinin ilk vakası 1971 de bildirilmiştir (29). İki yıl sonra bir ailede tespit edilmiştir (30). Otozomal resesif kalıtım özelliğine sahiptir. Grönlandlıların %8'inde bulunmuştur (31,32). Beyaz Amerikalılarda nadirdir (33). Diğer popülasyonlarda ise yalnızca birkaç vaka bildirilmiştir ve trehalaz eksikliğinin sıklığı konusunda yeterince çalışma yoktur. İnsanlar için trehalozun temel kaynağı genç mantarlardır (34).

Trehaloz intoleransı olan ve olmayan kişiler arasında solunum hidrojeninde ve kan glukozundaki artışın farklı olmaması sebebiyle oral tolerans testi ve nefes testleri tanısal değerlendirme için uygun değildir (34). Trehalaz eksikliği tanısı duodenal biyopsilerde trehalaz aktivitesinin belirlenmesini gerektirir. Trehalaz aktivitesinin normal aralığı 4.79 -37.12 U/g proteindir (31).

2.3.2.1.4. Konjenital Laktaz Eksikliği (Alaktazya)

Konjenital laktaz eksikliği otozomal resesif olarak kalıtılan nadir bir bozukluktur. 1959'daki ilk bildirimlerden (35) itibaren bu hastalığa ait birçok vaka tespit edilmiştir (36, 37). Konjenital laktaz eksikliğinin tipik belirtileri, anne sütü ya da laktoz içeren mamaların verilmesi ile birlikte doğumdan birkaç gün sonra başlar. Doğumdan sonra görülen şiddetli diyare, çok düşük seviyelerde laktaz aktivitesi, diğer disakkaridazların aktivitesinin normal olması ve ince bağırsağın histolojisinde herhangi bir bozukluğa rastlanmaması ile karakterizedir. Kusma nadirdir. Diyare şiddetli, sulu ve asidik özelliktedir. Tanı hemen konulamazsa malnütrisyon gelişebilir. Steatore nadir de olsa görülebilir. Redüktan madde testi genellikle pozitifdir. Bu hastalığa sahip olduğu düşünülen ve diyetinden laktoz çıkarılan bir infantta oral laktoz absorpsiyon testini takiben, intolerans belirtileri 8 saat içinde başlar. Şiddetli diyare ve şok ihtimaline karşı hidrojen nefes testi yapıldığı zaman dikkatli olunmalıdır. İnce bağırsak biyopsisinde, hem mukozal hasarın olmadığı gösterilebilir hem de disakkaridaz seviyelerine bakılabilir. Ancak jejunal mukozada histolojik anormalliklerin olmaması ve laktaz aktivitesinde eksikliğin görülmesi, primer laktaz eksikliği tanısını kesin olarak koydurmaz; çünkü akut ince bağırsak hastalığı sonrası 6 aylık bir peryotta laktaz aktivitesindeki eksiklik devam edebilmektedir. Yeni doğanların dışkılarında redüktan madde mevcudiyeti (ister sütle beslensin ister mama ile beslensin) normalde de görülebilir ve prematürelde daha şiddetli ve uzamış olma eğilimindedir. Bununla birlikte redüktan madde yokluğu tanıyı ekarte ettirir. Bazı hastalarda hiperkalsemi ve nefrokalsinoz görülebilir ve bu durum metabolik asidoz veya laktozun kalsiyum absorpsiyonunu arttırıcı etkisi ile uyarılabilir (35-37).

2.3.2.2. Yenidoğanlarda Geçici Laktoz Malabsorpsiyonu

Hem term hem de prematüre yenidoğanlar, kısıtlı bir laktoz absorplama kapasitesine sahiptir. Bu fizyolojik malabsorpsiyon, anne sütünün nispeten yüksek laktoz içeriği nedeniyle, anne sütü ile beslenen bebeklerde daha belirgindir. Emilmemiş laktoz, bebeklerde bifidobasil florasının baskın olmasında bir rol oynamaktadır. Bu bakterilerin azlığı ile, allerjik hastalıklar arasında bir ilişkinin olduğu öne sürülmüştür (38).

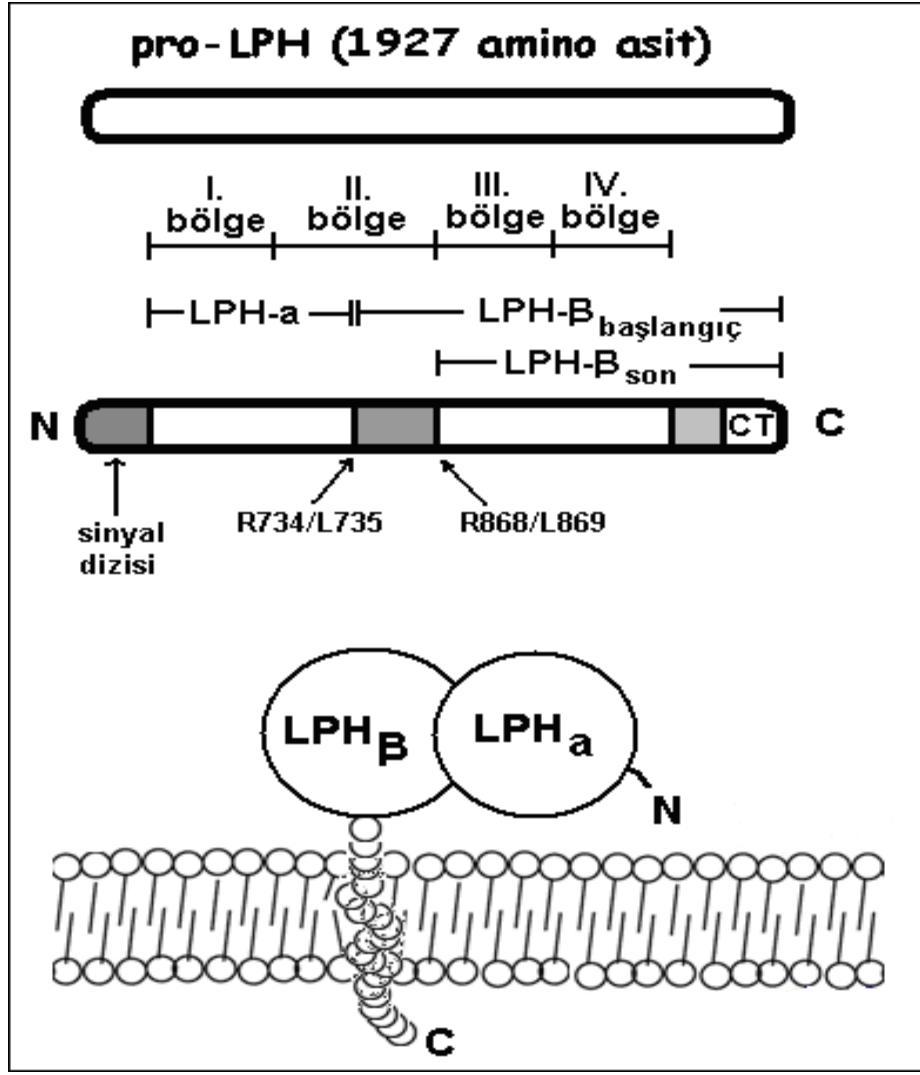
2.3.2.3. Geç Başlangıçlı Laktaz Eksikliği

2.3.2.3.1. Genel Bilgiler

LPH enzimi, laktaz ve florizin hidrolaz olmak üzere iki temel hidrolitik aktiviteye sahiptir. Laktaz aktivitesi memeli sütlerindeki başlıca karbonhidrat olan laktozun hidrolizinden sorumludur. Florizin hidrolaz aktivitesinin ise fizyolojik rolü tam olarak bilinmemektedir (39).

LPH geni, 2. kromozom üzerinde lokalizedir ve 17 kodlayıcı bölgeden (ekson) oluşur (40-42). LPH proteini 1927 amino asitten oluşur. N- terminal uçta Met1-Gly19 sinyal sekansı bulunur. Dış bölge, Ser20 ve Thr1882 aminoasit rezidülerini ihtiva eder. Pro-LPH aminoasit dizisi içinde dört internal homolog bölge tanımlanmıştır. İntrasellüler proteolitik yıkım, Arg734 ve Leu735 arasında meydana gelir ve LPH- α ile LPH- $\beta_{\text{başlangıç}}$ üretilir. Ekstrasellüler luminal yıkım ise Arg868'de gerçekleşir ve LPH- β_{son} adı verilen olgun fırçamsı kenar enzimi açığa çıkar. Bu enzim Arg868-Phe1927 aminoasit dizisinden oluşur. Pro-LPH'nın membranın sitozolik tarafındaki C terminal ucu sitoplazmik kuyruk (cytoplasmic tail, CT) adı verilen yapıyı taşır.

LPH molekülü yüksek oranda N- ve O- glikoziledir. İnsanlardaki enzimin primer aminoasit dizisi 15 tane potansiyel N-glikozilasyon bölgesi bulundurur. Enzimin N- ve O-glikozilasyonu katlanmada, maturasyonda ve enzimatik aktivitede önemlidir (43, 44). Biyopsi örneklerinde yapılan ve glikozidaz inhibitörlerinin varlığında ya da yokluğunda insan LPH' sının intrasellüler transportu üzerine glikozilasyonun etkisinin incelendiği çalışmalarda, karbonhidrat modifikasyonunun endoplazmik retikulumdan golgiye transport hızını etkilediği; fakat golgiden hücre yüzeyine olan transportu etkilemediği görülmüştür (44, 45). Olgun N- ve O- glikozile LPH proteini, sadece N-glikozile olana göre yaklaşık 4 kat daha aktiftir (44).



Şekil 2.9. Pro-LPH'nin yapısal özellikleri

LPH molekülü 4 adet yapısal ve fonksiyonel bölgeden oluşur (40). Laktaz aktivitesi 3. bölgede yer alan Gln1249'da lokalize iken; florizin hidrolaz aktivitesi, 4. bölgede bulunan Gln1773'te lokalizedir (46).

LPH'nin biyosentezi ve sentez sonrası basamaklar, birçok memeli epitelyal hücrelerinde benzerdir (45,47,48). LPH, tek zincirli ve 215 kDa ağırlığında bir prekürsör molekül olarak sentezlenir. Daha sonra N-glikozilasyona uğrar. N-glikozilasyon önemli bir kovalent modifikasyondur ve pro-LPH'nin doğru bir şekilde katlanmasına katkı sağlar. Ayrıca dimerizasyon için bir ön koşuldur. Dimerizasyon, endoplazmik retikulumda meydana gelir ve endoplazmik retikulumdan pro-LPH'nin çıkması için kesin olarak şarttır (49, 50). Dimerizasyon, aynı zamanda enzimatif aktivitenin

kazanılması için de gereklidir (49). Doğru bir şekilde katlanmış pro-LPH henüz fonksiyonel bir protein özelliğinde değildir. Pro-LPH'nın transmembran bölgesi, dimerizasyon olayında kritik bir öneme sahiptir ve bu yapının eliminasyonu, monomerik ve inaktive pro-LPH oluşumuna yol açar. Golgi aparatında pro-LPH'nın N- ve O-glikozilasyonu, proteolitik yıkım basamağından öncedir.

Proteoliz, Arg734/Leu735'te LPH- α adı verilen yapıyı ayırır ve membrana bağlı LPH β _{başlangıç} (Leu735'ten Tyr1927'ye kadar uzanır) meydana gelir. LPH β _{başlangıç} apikal membranda pankreatik tripsin tarafından Arg868/Ala869'da yıkılır ve LPH β _{son} (Ala869-Tyr1927) ortaya çıkar. LPH β _{son} enzimin fonksiyonel bölgelerini içerir ve 160 kDa ağırlığındaki olgun fırçamsı kenar LPH'sı olarak da bilinir (45, 47, 42). Pro-LPH'nın proteolitik yıkımı, enzimin aktivitesini etkilemez (51-53).

LPH α eliminasyonun ardından hemen intrasellüler olarak yıkılır (54). LPH α polipeptidi, 5 potansiyel N-glikozilasyon bölgesi taşımasına rağmen, N-glikozilasyon ya da O-glikozilasyona uğramaz. Translasyondan hemen sonra kompakt, rijit ve tripsine dirençli bir yapı oluşturma eğilimi ve hidrofobik amino asitleri yüksek oranda içermesi, LPH α 'nın bir intramoleküler şaperon özelliği göstermesini sağlar ve böylece LPH α , LPH β _{başlangıç}'ın katlanmasında görev alır. LPH β _{başlangıç}, sadece LPH α ile birlikte eksprese edildiği zaman doğru şekilde katlanabilir ve enzimatik aktivite gösterebilir (55). LPH α , LPH β ile arasındaki güçlü yapısal homolojiye rağmen, laktoza karşı enzimatik bir aktivite göstermez (51).

Enzimin fizyolojik fonksiyonunun ortaya çıkabilmesi için LPH'nın epitelyal hücrelerin fırçamsı kenar membranı adı verilen luminal yüzeyine taşınması gereklidir. LPH gibi proteinlerin apikal membrana yerleşmesi, sinyal aracılığıyla olur. Bugüne kadar birçok sinyal tipi tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları DIG (detergent-insoluble glycoposphatidylinositol) / kolesterol membran bölgeleri ile ilişkilidir (56). LPH ise bu alanlarla ilişkili değildir ve yerleşimi, sükröz-izomaltaz gibi O-glikanlar yoluyla olmaz (57-59).

2.3.2.3.2. Erişkin Tip Hipolaktazyanın Epidemiyolojisi

Primer erişkin tip hipolaktazya dünya nüfusunun büyük bir çoğunluğunda görülür. Erişkin popülasyonun %75'inden fazlasında, laktaz aktivitesi, doğumdaki

laktaz seviyelerinin yaklaşık %5 ile %10'una kadar düşer (60). Erişkin tip hipolaktazyanın görülme sıklığı, laktazın ekspresyonu genetik olarak belirlendiğinden dolayı, populasyonlar arasında farklılık gösterir. Zenciler, Araplar ve Latinlerin yaklaşık %80'inde; Amerikalı Kızılderililer ve Asyalıların neredeyse tamamında erişkin tip hipolaktazya görülür; en düşük prevalans ise Kuzeybatı Avrupa populasyonunda belirlenmiştir (61).

2.3.2.3.3. Erişkin Tip Hipolaktazyanın Klinik Özellikleri

Primer erişkin tip hipolaktazyalı kişilerin, bebeklik çağlarında herhangi bir beslenme problemlerinin olmadığı görülmüştür. Bunun nedeni enzim eksikliğinin doğumda mevcut olmamasıdır. Enzim aktivitesindeki azalmanın başlangıç yaşı etnik gruplar arasında değişkenlik gösterir. Zencilerde ve Meksikalılarda başlangıç yaşı 3 iken, Kuzey Avrupalılarda ve Amerikalı beyaz gruplarda enzim eksikliği daha ileri yaşlarda belirgin hale gelir. Malabsorbsiyonun prevalansı yaşla artar (60).

Laktoz intoleransı çoğu kişide ergenlikte ve erişkin dönemde ortaya çıkar. Süt tüketiminin hemen ardından, abdominal ağrı (kolik tipte), flatulans, ishal ve gaz görülür. Belirtiler laktozun miktarı ile ilişkilidir. Bununla birlikte şikayete sebep olan miktar, hastalar arasında değişkenlik gösterir. Laktoz malabsorbsiyonu olan kişilerin yaklaşık 1/3'ünde, süt tüketiminden kaçınma davranışı gelişir (60). Yapılan çalışmalarda, laktoz intoleransına sahip kişilerin %59-%75'inde 12 gram (240 mililitre süte eşit) ya da daha az laktoz alımından sonra, 3-4 saat içinde şikayetlerin başladığı görülmüştür; 20 kişiden 2'sinde 3 gram laktoz alımıyla, 20 kişiden 5'inde ise 24-96 gram laktoz alımıyla semptomlar ortaya çıkmıştır (62, 63). 6 gram laktozun jejunumda; 12-24 gram laktozun ileumda sıvı birikimine yol açtığı görülmüştür (53). Laktozun küçük miktarları (0.5-7 gram) laktoz intoleransı olan kişilerin çoğunda, belirtilere yol açmaz (64). Bazı çalışmalarda, günde bir hatta iki bardak süte karşı tolerans gösteren erişkin tip hipolaktazyalı bireyler rapor edilmiştir (65, 66).

Semptomatik laktoz intoleransı olan kişilerde, irritabl bağırsak sendromu gibi ilave bir gastrointestinal problemin olup olmadığı tartışma konusudur (65, 67). İritabl bağırsak sendromunda besin geçişi hızlanır ve bu durum, laktoz malabsorbsiyonunun belirtilerinin ortaya çıkmasına katkıda bulunabilir (68, 69).

2.3.2.3.4. Erişkin Tip Hipolaktazyanın Tanısı

Belirtiler ve beslenme hikayesi, erişkin tip hipolaktazyanın tanısını koydurur. Laboratuvar testleri arasında, hidrojen nefes testi ve duodenum biyopsisinde laktaz aktivitesine bakılması yer alır. Diğer testlerin tanısal değeri sınırlıdır. Feçeste redükta madde bakılması, laktoz malabsorbsiyonu için spesifik değildir. Laktoz tolerans testi, nefes testine göre daha az duyarlıdır(70).

Hidrojen nefes testi, ishal olmuş infantlarda, laktoza karşı toleransı göstermede güvenli değildir (70, 71). Forget ve ark. (72) hidrojen nefes testi ve laktaz aktivitesi arasındaki ilişkinin tam olmadığını bulmuşlardır. Davidson ve ark. (70) kronik diyaresi olan çocuklarda, laktoz tolerans testi, laktaz aktivitesi ve hidrojen nefes testi arasında yetersiz bir uyumun olduğunu öne sürmüşlerdir.

Laktoz tolerans testi ve hidrojen nefes testi, 8 saat açlıktan sonra yapılmalıdır. Gastrointestinal geçiş süresindeki değişiklikler (73-75) ve antibiyotik tedavisi (60), test sonuçlarını etkileyebilir. Ayrıca, bakteriler tarafından hidrojenin metana metabolize edildiği kişilerde (hydrogen nonexcretors), nefes testi yanlış negatif olabilir (60). Gündüz yapılan hidrojen nefes testi, uyandıktan yatma zamanına kadar, yarımsaer saatlik aralıklarla solunum örneklemesini içerir. Bu testin, ishali ve karın ağrısı olan çocuklarda güvenilir olmadığı belirtilmiştir (76).

Enzim seviyelerine bakılarak, erişkin tip hipolaktazyanın tanısı desteklenebilir. Bunun için jejunal veya duodenal biyopsi örneklerinde 8 U/g protein ya da 0.7 U/g yaş doku'dan daha az laktaz aktivitesinin tespit edilmesi gerekir (72). Duodenumdaki disakkaridaz aktivitesinin, proksimal jejunuma göre daha az olduğu öne sürülmüştür (77, 78). Sekonder laktaz eksikliğini dışlamak için, mukoza morfolojisinin yanı sıra laktaz dışındaki diğer disakkaridaz aktivitelerinin de normal olduğu gösterilmelidir. Bu yüzden maltaz veya sükrasin laktaza oranı, ilave bir parametre olarak ileri sürülmüştür (79). Aspire edilmiş sıvıdaki disakkaridaz aktiviteleri, mukozal mikrovillus membranında ölçülen disakkaridaz aktiviteleri ile korele bulunmuştur (80).

Erişkin tip hipolaktazyanın ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken durumlar şunlardır: kronik ishal sebepleri, intestinal mukozanın enfeksiyöz, inflamatuvar ve immünolojik (inek sütü alerjisi gibi) hastalıkları ve mukozal hasara yol açan diğer

sebepler. Tirpitz ve ark.(81) tarafından yapılan bir çalışmada, Crohn hastalığının remisyon dönemine göre, aktif dönemdeki hastalarda, duodenal laktaz aktivitesinin azaldığı ve nefes testinin pozitifleştiği görülmüştür. Başka bir çalışmada, kronik abdominal ağrısı olan hastalarla inflamatuvar bağırsak hastalığı olan kişiler arasında, laktaz aktivitesi açısından bir fark bulunamamıştır (82).

2.3.2.3.5. Erişkin Tip Hipolaktazyanın Tedavisi

2.3.2.3.5.1. Genel Bilgiler

Laktoz intoleransına sahip kişilerin çoğu, laktoza tolerans gösteren kişilere göre daha az süt tüketme eğilimindedir. Bu durum, toplam kalsiyum alımını azaltabilir.

Tablo 2.3. Çeşitli besin türlerinin kalsiyum içerikleri (83)

Besin türü	Miktar	Kalsiyum içeriği (miligram)
Yoğurt	1 bardak	415
Süt	1 bardak	285
Süzme peynir	1 bardak	174
Ispanak	1 kase	291
Brokoli	1 kase	41
Barbunya fasulyesi	1 kase	80
Marul	1 kase	20

Laktoz intoleransı olanlarda süttten kaçınmanın bir sonucu olarak besinsel kalsiyum alımının yetersizliği nedeniyle osteoporoz sıklığında bir artış görülür (85, 86). Laktoz intoleransı olan kişilerde kalsiyumun ana kaynağı olan süt ürünleri yeterince tüketilemediğinden dolayı, bu kişilerde osteoporozu önlemek için kalsiyum desteği gerekebilir (87). 240 ml süt yaklaşık olarak 300 mg kalsiyum içerir; bu kalsiyum

kazeine bağlıdır ve optimum biyoyararlanıma sahiptir (60). Amerikan Ulusal Bilim Akademisi (The National Academy of Science, NAS), 0-6 aylık çocuklar için, 210 mg/gün; 6ay-1 yaş arası çocuklar için, 270 mg/gün; 1-3 yaş arası çocuklar için, 500 mg/gün, 4-8 yaş arası çocuklar için 800 mg/gün ve 9-18 yaş arası çocuklar için 1300 mg/gün kalsiyum alımını önermektedir (88).

Laktoz intoleransına sahip bireyler, genellikle herhangi bir şikayet göstermeksizin küçük miktarlarda sütü tolere edebilmektedirler. Ayrıca katı peynir ve yoğurt, süte göre daha az laktoz içerdiğinden dolayı daha iyi tolere edilir (Tablo 2.5.). Yoğurt aktif, canlı *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* kültürü içeren fermente bir süt ürünüdür. Bu mikroorganizmalar, laktaz aktivitesi gösterebilir. Yoğurt, ayran ve çökelekte laktoz, laktik asite fermente edilir.

Tablo 2.4. Çeşitli besin türlerinin laktoz içerikleri (84)

Besin türü		Miktar	Laktoz içeriği (gram)
Süt	Normal	1 bardak	11
	Buharlaştırılmış	1 bardak	24
Süt tozu		1 bardak	62
Peynir	Amerikan	28 g	1
	Rokfor	28 g	2
	İsviçre	28 g	1
Tereyağı		1 çay kaşığı	eser
Yoğurt		1 bardak	5

Bunların dışında, kalsiyum destekli meyve suları, laktozsuz sütler ya da sebzeler tüketilebilir. Laktaz (β -galaktozidaz) enzimi, maya (*Kluyveromyces lactis*) ve mantarlar (*Aspergillus oryzae*) tarafından üretilir. Laktazla sütün preinkübasyonunun, plasebo ile karşılaştırıldığında, hidrojen nefes testi ve infantlarda kolik'e bağlı ağlama zamanı

açısından daha olumlu sonuçlar verdiği bulunmuştur (89). Enterik salınımlı, stabil laktaz mikropartikülleri, aside hassas olan laktazın aktivitesinin korunmasını sağlar (90). Sütün ve laktazla desteklenmiş formulaların ısıtılması, laktozun hidrolizi sebebiyle, osmolaritede bir artışa yol açar (91). Preterm mamalarına laktaz katılması, kilo artışını hızlandırabilir (92). Sütteki laktoz içeriğini azaltmak için birtakım gen teknolojileri geliştirilmiştir (93).

İskemik kalp hastalığı ve over kanserinin laktoz tüketimi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (94-96). Laktoz tüketiminin bu gibi muhtemel zararlı etkileri sebebiyle, laktaz eksikliği göstermeyen kişilerde bile sütteki laktoz içeriğini azaltmanın faydalı olabileceği ifade edilmiştir (60). Laktaz eksikliğin malarya gibi parazitik enfeksiyonlara karşı koruyucu olduğu konusu ise tartışmalıdır (97, 98). Laktoz intoleransı olmayan kişilerde, galaktozun indüklediği senil (kortikal) katarakt insidansının daha fazla olduğu bulunmuştur (99, 100). Bununla birlikte laktozun prebiyotik potansiyelinden dolayı Crohn hastalığı gibi intestinal hastalıklara karşı faydalı olabileceğini gösteren çalışmalar da vardır (101). Prebiyotikler yenidoğanların intestinal kolonizasyonunun oluşması için esansiyeldir. Diğer taraftan Bifidobacterium bifidum'un farelerde enterositlerin biyokimyasal olgunlaşmasını artırarak laktaz aktivitesindeki postnatal azalmayı uyardığı bulunmuştur (102).

Primer erişkin tip hipolaktazyanın tedavisinde, laktozca zengin gıdalardan (taze süt, süt tozu, sütlü puding gibi) kaçınmak genellikle yeterlidir. Küçük miktarlarda laktoz içeren besinler çoğunlukla iyi tolere edilir. Yoğurt, fermente olmamış süte göre daha az belirtilere yol açma eğilimindedir. Ancak yoğurdun pastörizasyonu, bu durumu olumsuz yönde etkiler. Ayrıca yoğurt, içerdiği kalsiyumun iyi absorbe edilebilmesinden dolayı, besinsel kalsiyumun iyi bir kaynağıdır.

Erişkin tip hipolaktazya hastalarında, yalnızca intolerans belirtileri olduğu durumlarda tedavi düşünülmelidir. Tedavide, sütün diyetten çıkarılması temel yaklaşım olarak benimsenmiş olmakla birlikte, bu durum bazı sorunlara yol açabilir. Özellikle kalsiyumun yetersiz alımı, söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle, eksojen β -galaktozidaz verilmesi, bakteriyel laktaz aktivitesi sağlamak için yoğurt ve probiyotiklerin tüketilmesi ve gastrointestinal geçiş zamanını artırarak enzim ve substrat

arasındaki etkileşim süresinin uzatılması gibi alternatif tedavi yaklaşımları geliştirilmiştir.

2.3.2.3.5.2. Eksojen β Galaktozidaz

Mantar ya da mayalardan elde edilen eksojen β -galaktozidaz enzimi, kapsül ya da tablet şeklinde ticari olarak satılmaktadır. Ülkemizde, *Aspergillus orizae*'den elde edilen β -galaktozidaz enzimini (tilaktaz) içeren preparatlar satışa sunulmuştur (LACDIGEST®, Mustafa Nevzat İlaç Sanayii A.Ş., İstanbul). Ülkemiz dışında kullanımda olan β -galaktozidaz içerikli ilaçlara, Lactogest (kapsül), Lactaid (kapsül + tablet) ve DairyEase (tablet) örnek olarak verilebilir (103). Yapılan bazı çalışmalarda, tüketilmeden birkaç saat önce süte ilave edilen β -galaktozidaz ile “preinkübe süt (preincubated milk)” adı verilen bir ürün elde edilmiştir (104-108). Preinkübe sütler, laktozun hidrolizi sütün tüketiminden önce gerçekleştiği için, oldukça düşük laktoz seviyelerine sahiptir. Bu uygulama ile başarılı sonuçlar elde edilmiş olmakla birlikte, enzimin sütün tüketiminden birkaç saat önce ilave edilmesi gerektiğinden dolayı, söz konusu yöntem, pratik açıdan uygun değildir. Ayrıca, sütle eş zamanlı olarak enzimin alındığı durumlarda bile, tedavinin etkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (103, 109-112). Montalto ve ark. (113) tarafından yakın zamanda yapılan plasebo kontrollü bir çalışmada, preinkübe süt ile enzimin eş zamanlı olarak ilave edildiği sütün, şikayetleri azaltmada benzer ölçüde etkili olduğu görülmüştür. Eksojen olarak verilen β -galaktozidazın, belirtileri azaltmada etkili olduğu yaygın olarak söylenmekle birlikte, bu etkinin düzeyi hakkındaki sonuçlar uyumsuzdur. Bu durum, söz konusu enzimin farklı kaynaklardan elde edilmesinden kaynaklanıyor olabilir. Çünkü farklı mikroorganizmalardan elde edilen enzimlerin, aynı dozlarda dahi, laktozu farklı düzeylerde hidroliz ettikleri bilinmektedir (114). Örneğin, *K.lactis*'ten köken alan β -galaktozidazın, *A.niger*'den elde edileninkine göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (110, 115). Ayrıca, intestinal mukozadaki rezidüel laktaz aktivitesinin bireysel farklılıklar göstermesinin de, intolerans belirtilerinde görülen varyasyona katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bunun dışında, mide pH'sı ve safra tuzlarının konsantrasyonları, eksojen β -galaktozidazın aktivitesini etkileyebilir (114). Tüm bunlara rağmen, hidroliz edilecek laktoz miktarı ile ihtiyaç duyulan enzim ünitesi arasında yakın bir ilişkinin olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (103, 115). Kapsül veya tablet

şeklinde olan laktaz preparatlarının etkili olduğunu gösteren birçok çalışma vardır (116, 117). Bununla birlikte, karşılaştırmalı çalışmalar, bu tür katı preparatların preinkübe sütlerden daha pahalı ve önemli ölçüde daha az etkili olduğunu göstermiştir (108, 118).

Eksojen β -galaktozidaz tedavisine uyum, bazı çalışmalarda tat değişiklikleri rapor edilmesine rağmen (119), oldukça iyidir (103, 107, 113). Kullanılan preparatların güvenilirliği, yakın zamanda Flood ve ark. (120) tarafından yapılan bir çalışmayla da gösterilmiştir.

2.3.2.3.5.3. Yoğurt ve Probiyotikler

Fermente süt ürünlerinde, laktoz sindiriminin daha iyi olduğu ve intolerans belirtilerinin daha az görüldüğü bilinmektedir (108, 121, 112). Onwulata ve ark. (108) ticari olarak satılan sade yoğurdun, belirtileri azaltmada, preinkübe süt kadar etkili olduğunu göstermiştir. Bu durumun sebebi, yoğurttaki mikroorganizmaların endojen laktaz aktivitesine sahip olmasıdır (114). Yoğurt, sütün başlıca iki laktik asit bakterisi ile inkübasyonu sonucu oluşur. Bunlar *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*'tur (121, 123). Bu mikroorganizmalar, hem fermentasyon süreci esnasında hem de laktoz alımından sonra, laktozun hidrolizine katılır (124-126). Fermentasyonun, laktoz içeriğini %25-50 oranında azalttığı bulunmuştur (125, 126). Fermentasyon sonucu asidik bir tat meydana gelir ve bu tat nedeniyle bazı insanlar yoğurdu sevmezler. Bunu engellemek için, süte yüksek konsantrasyonda canlı *L. acidophilus* ilave edilmekte ve böylece yoğurda alternatif bir besin olarak, "tatlı asidofil süt (*sweet acidophilus milk*)" üretilmektedir. Payne ve ark. (109) tatlı asidofil sütlerin belirtileri azaltmada yeterince etkili olmadığını öne sürmüşlerdir. Daha ileri çalışmalar da, bu bulguyu destekler niteliktedir (108, 125, 127). Bunun sebebi, tatlı asidofil sütteki bakteriyel laktazın yetersiz etki göstermesi veya intestinal lümende kullanılabilir hale gelememesi olabilir; çünkü laktaz enzimi, ancak bakteri hücre membranının bozulduğu durumlarda açığa çıkarak, işlev görebilmektedir (122, 125). Bu nedenle, laktik asit bakterilerinin hücre membranlarının yapısı, laktazın etkinliğinde anahtar bir rol oynamaktadır (108, 128). Lin ve ark.(129) benzer laktaz aktivitesi, safra duyarlılığı ve laktoz için aktif transport sistemine sahip iki termofilik bakteri olan *L. bulgaricus* ve *L. acidophilus*'u karşılaştırmış; H_2 atılımı ve klinik skorlara dayanarak, *L. bulgaricus*'un süt ürünleri imalatında daha iyi bir tercih olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu durumun sebebi, *L. bulgaricus*'un *L. acidophilus*'a göre,

hücre duvarı yapısının daha dayanıksız olması ve bu nedenle laktaz enzimini daha kolay salıvermesi olabilir (129).

Yoğurdun, laktoz sindirimi üzerindeki olumlu etkisi esas olarak bakteriyel laktaz aktivitesine bağlı olmakla birlikte, gastrik boşalma ve intestinal geçiş süresini uzatarak ince bağırsaktaki rezidüel laktazın etkinliğini artırması da, öne sürülen mekanizmalar arasındadır (130, 131).

2.3.2.3.5.4. Gastrointestinal Geçiş Süresini Uzatma

Leichter ve ark. (132) tam yağlı sütün, yağsız süte ve sıvı laktoz solüsyonlarına göre, laktoza toleransı artırdığını göstermişlerdir. Bu durum, yağın gastrik boşalma ve intestinal geçiş zamanını uzatmasına ve böylece rezidüel enzimle substrat arasındaki kontakt süresini artırmasına bağlı olabilir (133-135). Bununla birlikte, yağlı sütün laktoz toleransı açısından herhangi bir anlamlı katkı sağlamadığını öne süren çalışmalar da vardır (136, 137). Süt ürünleri ile diğer besinlerin birlikte alınımının, laktozun daha iyi tolere edilmesine yol açtığı ve bunun gastrik boşalma süresinin uzamasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür (110, 138).

Laktoz intoleransının tedavisinde, gastrointestinal geçiş süresini uzatmayı hedefleyen birtakım farmakolojik yaklaşımlar da denenmiştir. Peuhkuri ve ark. (139) antikolinergik bir ilaç olan ve gastrik boşalma süresini uzatan propantelinin etkisini, plasebo ve metoklopramide karşı değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada, propantelinin hidrojen nefes testinde solunum hidrojen konsantrasyonunu, plasebo ve metoklopramide göre önemli ölçüde azalttığı ve intolerans belirtilerini hafiflettiği görülmüştür.

2.3.2.3.5.5. Adaptasyon

Çeşitli durumlar, laktaz aktivitesini etkileyebilir: İnsan sütünün temel fosfolipidi olan sfingomiyelinin, 2 haftalık farelerde bağırsaktaki laktaz aktivitesini azalttığı görülmüştür (140). İntrauterin büyüme geriliği olan tavşan fetuslarında laktaz aktivitesi baskılanmaktadır (141). Yenidoğan farelerde hipoksi, laktazın maturasyonunda bir gecikmeye neden olur (142). Preterm infantlar laktaz aktivitelerinin full-term infantlarınkinin yaklaşık %30'u olması sebebiyle nispi bir laktoz malabsorpsiyonuna

sahiptir (143). Preterm infantların enteral beslenmesinin, laktaz aktivitesini artırdığı bulunmuştur (144) ve bu durum preterm domuzlarda da doğrulanmıştır (145).

Sükraz ve maltaz aktiviteleri fruktoz, sükroz ve maltoz alımından sonra artar. Ancak, laktaz bu şekilde bir adaptasyon göstermez ve aktivitesi laktozsuz ya da laktozca zengin bir diyetten etkilenmez (114, 146). Bununla birlikte, devamlı laktoz tüketiminden sonra hidrojen atılımının ve gastrointestinal belirtilerin azaldığı bildirilmiştir (147-151). Bu adaptasyonun, kolonun fizyolojik özelliklerindeki değişimin yanı sıra, bağırsak mikroflorasındaki değişikliklerle de ilişkili olduğu düşünülmektedir (114). Hertzler ve ark. (152) 10 günlük süt tüketiminden sonra fekal β -galaktozidaz aktivitesinin arttığını göstermişlerdir ve bu durumun, intestinal mikrofloradaki değişikliklere bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir. Hill ve ark. (153) bağırsak lümeninde kalan emilememiş laktozun, bifidobakterilerin ve diğer laktik asit bakterilerinin fermentasyon kabiliyetini artırdığını bulmuşlardır. Bu durum, hidrojen gazı üretimine yol açmaksızın, laktozun metabolize edilmesini sağlayabilir. Perman ve ark. (154) ise emilememiş laktozun fermentasyonu nedeniyle kolonik pH'nın azalmasının, bakteriyel metabolizmayı etkileyerek, hidrojen gazı üretimini inhibe ettiğini öne sürmüşlerdir.

2.3.2.3.5.6. Tedavide Temel İlkeler

Akut gastrointestinal şikayetlerin dışında, laktoz malabsorbsiyonunun herhangi bir bilinen yan etkisi olmadığından dolayı, sadece semptomatik kişiler tedavi edilmelidir (118). Erişkin tip hipolaktazyalı çoğu kişi, genellikle bir bardak sütü herhangi bir semptom göstermeksizin tolere edebilmektedir (155, 156).

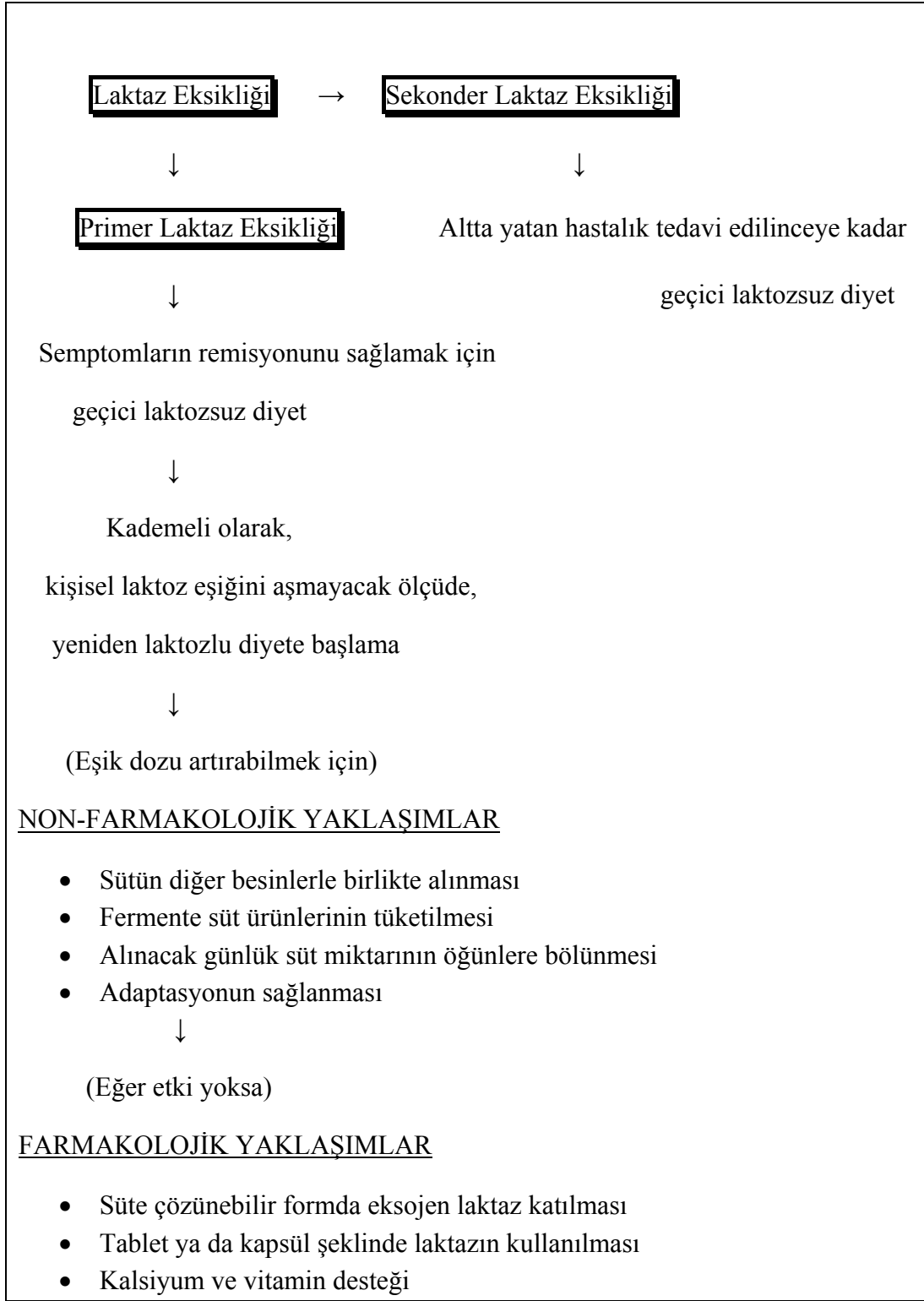
Primer ve sekonder laktaz eksikliğinin ayırıcı tanısının yapılması, tedavide önemlidir. Sekonder laktaz eksikliğinde, altta yatan patolojik durum tamamen düzeltilinceye kadar, laktozsuz diyet tedavisi önerilmektedir (114). Hidrojen nefes testi, enzimatik aktivitenin düzelip düzelmediğini anlamak için yapılabilir.

Primer hipolaktazyada, enzim eksikliği geri dönüşsüz olduğundan dolayı sekonder hipolaktazyadan farklı bir tedavi yaklaşımı benimsenmiştir. Başlangıçta, semptomların remisyonunu sağlamak için, diyetten süt ve süt ürünlerinin çıkarılması tavsiye edilmektedir. Ardından kişisel eşik dozu aşmayacak şekilde süt ürünlerinin alınmasına yeniden başlanabilir (114). Bunun dışında eşik dozu yükseltmek için bazı

nonfarmakolojik ve farmakolojik yaklaşımlar denenebilir. Sütün diğerk besinlerle birlikte alınması, intolerans belirtilerini hafifletmektedir (110, 138). Sütün devamlı ve düzenli bir şekilde tüketilmesi, bir adaptasyona yol açabilir (147-151). Günlük alınması gereken toplam süt miktarının, küçük öğünlere bölünmesi de faydalı olacaktır. Süt yerine fermente süt ürünleri tercih edildiğı takdirde intolerans belirtilerinin şiddeti azalır.

Eğer nonfarmakolojik tedavi yaklaşımları yetersiz kalacak olursa, bazı farmakolojik metotlara başvurulabilir. Süte çözünür formda laktaz ilave edilmesi, etkili bir yoldur. Bu iki şekilde yapılabilir: süt alımı sırasında (eş zamanlı) veya süt alımından önce (preinkübe süt). Eş zamanlı form daha pratiktir ve preinkübe süt kadar etkilidir (113). Katı süt ürünlerinin tüketiminde, β -galaktozidaz tabletleri ya da kapsüllerinin kullanımı daha uygundur. Bunların dışında, literatürde, laktoz intoleransının tedavisine ilişkin çeşitli ilaç çalışmaları vardır (139).

Süt ürünlerinin tüketiminin, söz konusu tedavi yaklaşımlarına rağmen yetersiz kalması durumunda, hastalara vitamin ve kalsiyum desteğı sağlanabilir (114).



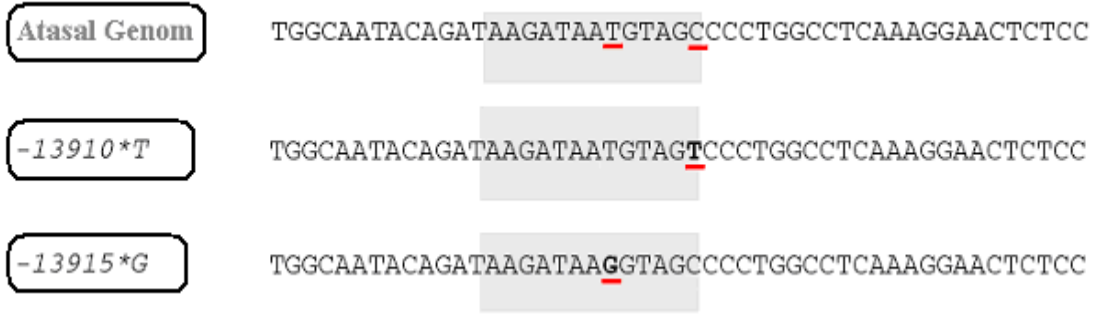
Şekil 2.10. Primer ve Sekonder Hipolaktazyaya Tedavisinde Temel İlkeler (114)

2.3.2.3.6. Laktoz İntoleransıyla İlişkili Gen Polimorfizmleri

Enattah ve ark. (2) 2002 yılında, 2. kromozomun uzun kolu (2q) üzerindeki MCM6 gen bölgesinde (minichromosome maintenance type 6) intron 13 üzerinde

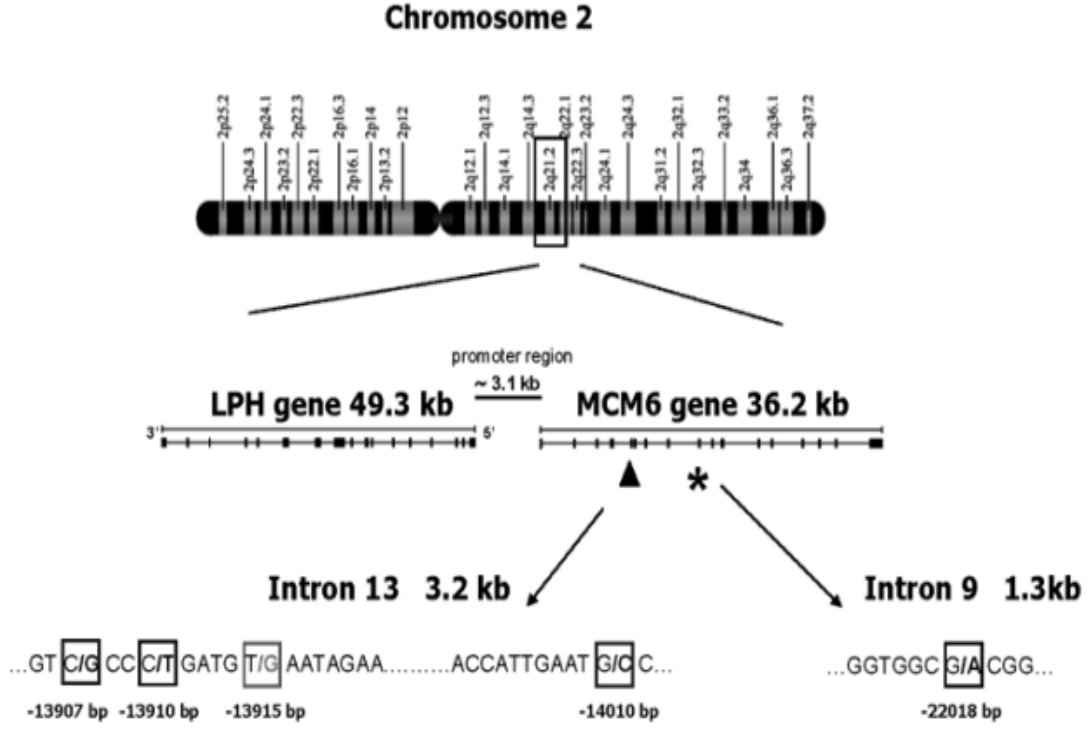
lokalize olan ve laktoz intoleransı ile ilişkili bir ”tek nükleotit polimorfizmi (SNP)” tanımlamışlardır (C/T-13910). Aynı çalışmada, yine MCM6 gen bölgesinin intron 9’u üzerinde, laktoz intoleransı ile C/T-13910’a göre daha zayıf ilişkili olan ikinci bir varyant daha tespit edilmiştir (G/A-22018).

Afrika’da laktaz toleransı fenotipinin yüksek sıklıkta rapor edildiği gruplarda, -13910 T allelinin çok düşük oranlarda görülmesi, bu kişilerde laktaz toleransı ile ilişkili başka polimorfizmlerin de olabileceğini akla getirmiştir. Nitekim Ingram ve ark. (157) Afrika populasyonunda laktoz intoleransı ile ilişkili ve -13910 T alleleline çok yakın yerleşimli bir polimorfizm tanımlamışlardır: T/G-13915 (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. C/T-13910 ve T/G-13915 Gen Polimorfizmleri

Afrika populasyonunda, laktaz toleransı ile ilişkili olduğu düşünülen iki önemli polimorfizm daha vardır: C/G-13907 ve G/C-14010 (152). İmtiaz ve ark. (159) T/G-13915 genotipi ile intestinal laktaz aktivitesi arasındaki ilişkiyi, Suudi Arabistan populasyonunda göstermiştir. Bu bulgu, Enattah ve ark. (160) tarafından da doğrulanmış ve ayrıca MCM6 geninin ekson 17’sinde yeni bir polimorfizm belirlenmiştir: T/C-3712.



Şekil 2.12. Laktoz İntoleransıyla İlişkili Gen Polimorfizmleri (155)

2.3.2.3.6.1. Polimorfizmlerin Dünyadaki Yaygınlığı

Enattah ve ark. (2)'nın, 2002 yılında, C/T-13910 gen polimorfizmi ile laktoz intoleransı arasında birebir ilişkinin olduğunu göstermesinden itibaren, bu polimorfizmin sıklığı konusunda farklı populasyonlarda birçok çalışma yapılmıştır (Tablo 2.6.).

Tablo 2.5. Farklı Populasyonlarda CC-13910 Genotipinin Prevalansı

Araştırmacılar	Yayın Yılı	Populasyon	CC Prevalansı (%)
Enattah ve ark. (2)	2002	Finliler	%18.1
		Fransızlar	%41.2
		Kuzey Amerikalılar	%7.6
		Afrikan Amerikalılar	%79.2
Rasinpera ve ark. (98)	2004	Finliler	%14.7
		Afrikalılar	%95.4
		Finli olmayan beyazlar	%75
Rasinpera ve ark. (156)	2005	Finliler	%18
		İngilizler	%8.8
		İspanyollar	%36.7
Kuokkanen ve ark. (157)	2005	Finliler	%18.1
		Polonyalılar	%33.1
		İsveçliler	%10.3
Bodlaj ve ark. (158)	2006	Avusturyalılar	%21.4
Rasinpera ve ark. (159)	2006	Finliler	%16
Lehtimaki ve ark. (160)	2006	Finliler	%17.6
Lember ve ark. (161)	2006	Estonyalılar	%24.8
Borinskaia ve ark. (162)	2006	Ruslar	%36.6
		Sibiryalı Chukchi	%88.2

Anthoni ve ark. (163)	2007	Finliler	%18
Torniainen ve ark. (164)	2007	Finliler	%17.3
		İsveçliler	%7.6
Enattah ve ark. (165)	2007	Finliler	%25
Enattah ve ark. (166)	2007	37 farklı populasyon	-Tablo 2.7.-
Schirru ve ark. (167)	2007	Sardinyalılar (İtalya)	%90
Lehtimaki ve ark. (168)	2008	Finliler	%17.6
Waud ve ark. (169)	2008	İngilizler	%14.5
Krawczyk ve ark. (170)	2008	Polonyalılar	%26
Mottes ve ark. (171)	2008	İtalyanlar	%70
Jorgensen ve ark. (172)	2008	Danimarkalılar	%8-14
Bacsi ve ark. (173)	2008	Macarlar	%36
Nagy ve ark. (174)	2009	Macarlar	%37
Khabarova ve ark. (175)	2009	Kuzeybatı Rusya	%35.6
Babu ve ark. (176)	2010	Güney Hindistan	%86.8
		Kuzey Hindistan	%67.5
Khabarova ve ark. (177)	2010	Kuzey Rusya	%28.4

Enattah ve ark. (172) tarafından, 37 farklı populasyondan elde edilen toplam 1611 DNA örneği üzerinde yapılan ve 2007 yılında yayımlanan çalışmada, C/T-13910 gen polimorfizminin dünyadaki yaygınlığı konusunda önemli bilgilere ulaşılmıştır (Tablo 2.7.).

Tablo2.6. Enattah ve ark.'a göre C/T-13910 Allel Frekansları (172)

	Bölge ya da Popülasyon	N	Genotip			Allel Frekansı		LP Prevalansı (% [SD])
			CC	CT	TT	C	T	
1	South Korea	23	23	0	0	100	0	0 (.00)
2	Han Chinese	100	100	0	0	100	0	0 (.00)
3	Ob-Ugric speakers	62	58	4	0	96.8	3.2	6 (3.02)
4	Komi	10	7	3	0	85	15	30 (14.50)
5	Udmurts	30	12	16	2	66.6	33.4	60 (8.90)
6	Mokshas	30	13	17	0	71.6	28.4	56.6 (9.01)
7	Erzas	30	17	10	3	73.3	26.7	43.3 (9.05)
8	Saami	30	20	10	0	83.3	16.7	33.3 (8.60)
9	Finns, eastern	77	18	35	24	46.1	53.9	76.6 (4.75)
10	Finns, western	154	25	68	61	38.3	61.7	83.7 (2.98)
11	Daghestan Druss	17	13	4	0	88.2	11.8	23.5 (10.30)
12	Daghestan Nog	20	15	5	0	87.5	12.5	25 (9.70)
13	Daghestan mixed	23	19	3	1	89.1	11.9	17.4 (7.90)
14	Balti	23	23	0	0	100	0	0 (.00)
15	Burusho	30	29	1	0	98.3	1.7	3.3 (3.26)
16	Kashmiri	20	15	5	0	87.5	12.5	25 (9.68)
17	Kalash	30	30	0	0	100	0	0 (.00)
18	Pathan	28	12	15	1	69.6	30.4	57.1 (9.35)
19	Hazara	14	13	1	0	96.4	3.6	7.1 (6.86)
20	Baluch	19	10	6	3	68.4	31.6	47.4 (11.46)
21	Sindi	28	10	13	5	58.9	41.1	64.3 (9.11)
22	Brahui	30	17	10	3	73.3	26.7	43.3 (9.05)
23	Makrani Baluch	29	19	10	0	82.8	17.2	34.5 (8.83)
24	Mohannes	29	16	10	3	72.4	27.6	44.8 (9.23)
25	Parsi	29	21	8	0	86.2	13.8	27.6 (8.30)
26	Iranians	21	17	4	0	90.5	9.5	19 (8.56)
27	Qashqai	10	9	1	0	95	5	10 (9.49)
28	Arabs	51	42	8	1	90.2	9.8	17.6 (5.33)
29	Southern Italy	100	89	11	0	94.5	5.5	11 (3.13)
30	French	17	6	9	1	61.7	38.3	58.8 (11.94)
31	Basques	85	7	44	34	34.1	65.9	91.7 (2.99)
32	Utah	92	7	33	52	25.5	74.5	92.4 (2.76)
33	Somalia	79	74	5	0	96.8	3.2	6.3 (2.73)
34	Fulani Sudanese	44	13	20	11	52	48	70.4 (6.88)
35	Saharawi	57	29	26	2	73.7	26.3	49.1 (6.62)
36	Morocco	90	62	25	3	82.7	17.3	31.1 (4.88)
37	African Americans	50	44	3	3	91	9	12 (4.60)

G/A-22018 polimorfizminin, laktoz intoleransı ile nedensel ilişkisi gösterilmiş olmasına karşın (2, 3, 184-186); bu polimorfizmin populasyonlardaki yaygınlığı konusunda çok az çalışma yapılmıştır. Bersaglieri ve ark. (187) laktoz toleransı ile ilişkili A allelini Asyalılarda tespit edememiş (%0) ve bu allelin Afrikan Amerikalılarda düşük bir sıklığa sahip olduğunu (%13.3), Avrupa kökenli Amerikalılarda ise yüksek sıklıkta görüldüğünü (%77.1) bulmuşlardır. Coelho ve ark. (188) laktoz intoleransı ile ilişkili G allelinin, Afrika (Mozambik, Sao Tome) populasyonundaki sıklığını %94-99; Fellahlar ve İtalyanlardaki sıklığını %79-87 ve Portekizlilerdeki sıklığını %62 olarak bulmuşlardır.

2.3.2.3.6.2. Polimorfizmlerin Laktoz İntoleransı ile İlişkisi

13910 CC genotipi laktoz intoleransı ile ilişkili iken, CT ve TT genotipleri laktaz persistansı (laktoz toleransı) ile ilişkilidir. Laktaz persistansı, yüksek laktaz aktivitesini hayat boyu sürdürebilme yeteneğidir (2).

Enattah ve ark. (2) tarafından yapılan çalışmada, 59 adet primer laktaz eksikliği bulunan Finli vaka incelenmiş ve bu 59 vakanın tamamının CC (homozigot) genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Laktoz intoleransı ile ilişkili diğer bir polimorfizm olan G/A-22018 açısından ise bu 59 vakadan 53'ünün GG (homozigot); geriye kalan 6'sının ise GA (heterozigot) genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Finli olmayan ve laktoz intoleransı gösteren 40 kişiden tamamının C/T-13910 açısından homozigot (CC); G/A-22018 açısından 1 kişinin heterozigot (GT) ve geriye kalan 39 kişinin ise homozigot (GG) genotipine sahip olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada, laktaz persistansı gösteren 137 Finli ve 5 Finli olmayan vaka incelenmiş, vakaların tamamının CC veya GG genotipinde olmadığı bulunmuştur.

C/T-13910 tek nükleotit polimorfizminin erişkin tip hipolaktazyaya için tanısal bir test olarak kullanılabilirliği hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar, CC genotipinin laktoz intoleransını göstermede, yüksek spesifikite ve sensitiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Rasinpera ve ark. (104), 329 kişi üzerinde yaptıkları bir araştırmada, 12 yaş üzerindeki bireylerde, CC genotipinin düşük laktoz aktivitesini belirlemede %100 spesifik ve %93 sensitif olduğunu bulmuşlardır. 123 kişi üzerinde yapılan başka bir çalışmada (183) ise, 37 kişinin CC genotipine sahip

olduğu, geri kalan 86 kişinin ise ya TC ya da TT genotipine sahip oldukları belirlenmiştir. CC genotipine sahip kişilerin 36'sının (%97) nefes testlerinin pozitif olduğu bulunmuştur. TC veya TT genotipine sahip 86 kişiden 74'ünde (%86) yapılan nefes testi negatif çıkmıştır. Bu bulgulara dayanarak, CC genotipi ve pozitif nefes testi arasındaki korelasyonun mükemmel olduğu; ancak TC veya TT genotipi ile negatif nefes testi arasındaki korelasyonun nispeten daha kötü olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmaya göre, C/T-13910 gen polimorfizminin, laktoz intoleransını tespit etmedeki tanısal sensitivitesinin %75, spesifisitesinin ise % 99 olduğu görülmektedir. Bulhoes ve ark. (186) tarafından, 10 laktoz intoleranslı ve 10 laktaz persistanslı Brezilyalıda yapılan genetik incelemede, nefes testi negatif olanların tamamında -13910 T allelinin mevcut olduğu ve CC genotipine sahip olan 10 kişiden 9'unun pozitif nefes testi gösterdiği bulunmuştur. Bu sonuçlar, Brezilyalılarda, C/T-13910 gen polimorfizminin, %90 sensitivite ve %100 spesifisite ile laktaz persistansı/nonpersistansı fenotipinin bir belirteci olduğunu ortaya koymaktadır.

Elde edilen veriler, C/T-13910 polimorfizminin özellikle Kuzey Avrupa popülasyonunda laktaz aktivitesi ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu; ancak bu ilişkinin Afrika popülasyonda bulunmadığını göstermektedir.

Schirru ve ark. (190) C/T-13910 polimorfizminin erişkin tip hipolaktazyanın genetik tanısındaki önemini, Akdeniz popülasyonunda araştırmışlardır. Bu amaçla 49 laktoz malabsorpsiyonu ve 24 normal laktoz absorpsiyonu olan kişide C/T-13910 polimorfizmine bakılmıştır. Laktoz malabsorpsiyonu olan kişilerin tamamında CC genotipinin olduğu, normal laktoz absorpsiyonuna sahip kişilerden ise 23 tanesinin CT genotipini taşıdığı ve sadece 1'inin C/C polimorfizmi gösterdiği tespit edilmiştir. Buna göre, Akdeniz popülasyonu için, C/T-13910 gen polimorfizminin, nefes testi baz alındığında, sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif prediktif değerleri, sırasıyla, %100, %95.8, %98 ve %100 olmaktadır. Avusturyalılarda yapılan bir çalışmada (191), nefes testi pozitif bulunan 60 kişiden 37'sinin CC, 36'sının GG genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada nefes testi negatif bulunan 60 kişiden sadece 1'inin CC genotipini taşıdığı ve hiçbirinin GG genotipine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Enattah ve ark. (171) C/T-13910 varyantları ile intestinal laktaz aktivitesi arasındaki ilişkiyi belirlemek için, 18-83 yaş arası toplam 222 erişkinden elde edilen intestinal biyopsi

örneklerinde, laktaz aktivitesine bakmışlardır. CC genotipine sahip kişiler arasında ortalama laktaz aktivitesi 6.86 ± 0.35 U/g protein; CT genotipine sahip olanlarda 37.8 ± 1.4 U/g protein ve TT genotipi taşıyanlarda ise 57.6 ± 2.4 U/g protein olarak bulunmuştur.

Kuokkanen ve ark. (3), T-13910 ve A-22018 allellere sahip kişilerde, intestinal mukozadaki LPH mRNA ekspresyonunun C-13910 ve G-22018 allellere sahip kişilerdekinden birkaç kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu bulgu, C/T-13910 ve G/A-22018 tek nükleotit polimorfizmlerinin, erişkin tip hipolaktazya (laktaz nonpersistansı) ile ilişkisinin, LPH geninin transkripsiyonal regülasyonu ile bağlantılı olduğunu göstermektedir.

İntestinal hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar, C ve T varyantlarının laktaz geni-promoter aktivitesi üzerine farklı etkilerinin olduğunu ve bu durumun laktaz persistansı/nonpersistansı fenotiplerinin ortaya çıkmasında nedensel bir rol oynayabileceğini ortaya koymuştur (184).

Ingram ve ark. (157) Afrika popülasyonunda laktoz intoleransı ile ilişkili -13915 T/G polimorfizmini tanımlamışlardır. Söz konusu çalışmada incelenen 83 bireyden 21 tanesinin heterozigot (TG) veya homozigot (GG) olarak G allelini taşıdığı tespit edilmiştir. Bu 21 kişiden 16'sı (%76) laktoz persistansı gösterirken, geri kalan 5 kişide ise laktoz intoleransı olduğu belirlenmiştir. Bu durum, T/G-13915 gen polimorfizminin laktaz persistansı ile ilişkisinin tam olmadığını göstermektedir.

2.3.2.3.6.3. Polimorfizmlerin Diğer Hastalıklarla İlişkisi

2.3.2.3.6.3.1. Diyabet ve Metabolik Sendrom

Yapılan çalışmalarda, Tip 1 ve Tip 2 diyabet ile artmış intestinal laktaz aktivitesi arasında bir ilişkinin varlığı tespit edilmiştir (186-188). Bununla birlikte, Enattah ve ark. (195), Tip 1 ve Tip 2 diyabet ile C/T-13910 gen polimorfizmi arasında bir ilişki bulamamışlardır. Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada, T allelinin, metabolik sendrom gelişimine yatkınlığı artırabilecek bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (196).

2.3.2.3.6.3.2. Katarakt

Simoons (197) tarafından yapılan bir çalışmada, erişkin yaşlarda yüksek laktaz aktivitesi gösteren ve böylece daha fazla süt tüketebilen kişilerde, senil katarakt gelişme riskinin arttığı bulunmuştur. Bu durum, hipergalaktozemi ve buna bağlı olarak lenste galaktitol birikimiyle ilişkili olabilir (198-199). Lensin hücresel mebranları, galaktitole geçirgen olmadığından dolayı, lens hücrelerinde galaktitol birikimi, hücrelerin su alarak şişmesine ve lensin saydamlığını kaybetmesine yol açmaktadır (200, 201).

2.3.2.3.6.3.3. Osteoporoz

Obermayer ve ark. (202) tarafından 258 postmenopozal kadında yapılan bir çalışmada, CC genotipine sahip kadınlarda, süt tüketiminin, süttten kalsiyum alımının ve kemik mineral yoğunluğunun (BMD) daha az olduğu; kemik fraktür insidansının ise arttığı gösterilmiştir. Enattah ve ark.(203) tarafından genç erkeklerde yapılan bir çalışmada ise, C/T-13910 gen polimorfizminin, kemik turnover hızını etkilemediği, pik kemik kitlesini azaltmadığı ve stres kırıkları için bir risk faktörü olmadığı bulunmuştur. Benzer şekilde, Esterle ve ark.(204) 12-22 yaş arası 173 genç bayanda yaptıkları çalışmada, C/T-13910 gen polimorfizmi ile BMD arasında herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir. Sonuç olarak, CC genotipinin, kemik fraktürleriyle ilişkisinin yaşa bağlı olduğu görülmektedir (205). Bununla birlikte, Laaksonen ve ark.(206) genç erişkinlerde, CC genotipine sahip erkeklerin kemik kaybına daha yatkın olduğunu bulmuşlardır. Aynı çalışmada kemik kaybının laktaz genotipinden ziyade, kalsiyum alımı ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Lehtimaki ve ark (166) tarafından 3596 kişi üzerinde yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada, CC genotipinin ortalama boy artış hızı ve ortalama boy uzunluğu üzerine bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

2.3.2.3.6.3.4. Kanser

Rasinpera ve ark. (162) tarafından yapılan bir çalışmada, CC genotipine sahip Finlilerde kolorektal kanser riskinin arttığı bulunmuştur; bununla birlikte aynı ilişki İngiliz ve İspanyol kökenli kişilerde tespit edilememiştir. İtalya’da yapılan başka bir araştırmada da, CC genotipli kişilerde kolorektal kanser riskinin artmadığı görülmüştür (207). Buna karşın, Bacsı ve ark. (179) CC genotipinin Macar popülasyonunda kolorektal kanser insidansını ve progresyonunu artırdığını saptamışlardır.

Başka bir çalışmada, laktaz persistansı ile ilişkili genotipe sahip Finlilerde, over kanser riskinin azaldığı belirlenmiştir (163). Bu durum, kalsiyumun over kanseri riskine karşı koruyucu etki göstermesine bağlı olabilir (208, 209).

Torniainen ve ark. (170) Finli ve İsveçli kişilerde C/T-13910 polimorfizmi ile prostat kanser riski arasında bir ilişki olup olmadığını incelemişler ve laktaz persistansının prostat kanser riskini artırmadığını bulmuşlardır.

Timpson ve ark. (210) erişkin yaşlarda süt tüketen kişilerde renal hücreli karsinom riskinin az da olsa arttığını; bununla birlikte, C/T-13910 genotipleri ile renal hücreli karsinom arasında bir ilişki olmadığını bulmuşlardır.

2.3.2.3.6.3.5. Kardiyovasküler Hastalıklar

Lehtimäki ve ark. (174) tarafından, 24-39 yaş arası 2109 genç erişkinde yapılan ve ateroskleroz üzerine erişkin tip hipolaktazyanın etkisinin incelendiği bir araştırmada, C/T-13910 genotipleri ile aterosklerozun erken belirteçleri arasında herhangi bir önemli ilişki tespit edilememiştir.

2.3.2.4. Sekonder Laktaz Eksikliği

Disakkaridazlar fırçamsı kenarda bulunduklarından dolayı intestinal mukozanın hasara uğradığı herhangi bir hastalık durumundan etkilenmektedirler. Laktaz eksikliği sekonder disakkaridaz eksiklikleri arasında en önemli komponenti oluşturur. Bu durumun çeşitli sebepleri vardır. Laktaz enzim aktivitesi gebeliğin geç dönemlerine kadar optimal seviyeye ulaşamaz ve sükröz ve maltaz aktivitelerine göre daha düşük kalır. Ayrıca laktoz içeren besinlerle enzim aktivitesinin indüklenememesi ve histolojik düzelme sonrası aktivitenin normale dönmesinin birkaç ayı bulması da mukozal hasar durumunda laktaz eksikliğini ön planda olmasının başlıca sebepleridir(60).

Tablo 2.7. Sekonder Laktaz Eksikliği İle İlişkili Bazı Durumlar

• Çölyak hastalığı	• Şiddetli malnütrüsyon
• Tropikal sprue	• Crohn hastalığı
• Kistik fibroz	• İnfantlarda intestinal cerrahi
• Kır loop sendromu	• Abetalipoproteinemi
• Giardiazis	• Viral ya da bakteriyel gastroenterit
• Uzunış ishal	• Kronik ülseratif kolit
• İmmün defektler	• İlaçlar (Kemoterapotik ajanlar, neomisin)

2.4. Çölyak Hastalığı (Non-Tropikal Sprue, Glutene Sensitif Enteropati)

Çölyak hastalığı, tahıllarda bulunan gluten adlı protein ailesine karşı gelişen immunolojik bir reaksiyon ve bunun sonucunda ince bağırsak villuslarının destrüksiyonu ile karakterize bir hastalıktır. Tipik semptomlar, karın ağrısı (%64), gaz (%72), kusma (%16), ishal (%56) veya kabızlık (%12), yorgunluk (%78) ve kemik ağrılarıdır (%12). Demir eksikliği anemisi ve vitamin eksikliklerine bağlı şikayetler de tabloya eşlik edebilir. Hastalığın serolojik tanısında çeşitli antikor düzeylerine bakılabilmektedir (205-215).

Chorzelski ve ark. (216), 1980'lerin başında, Çölyak Hastalığı olan kişilerde anti-endomisyum antikorlarının varlığını göstermişlerdir. Bu antikorlar, gluten enteropatisi için yüksek spesifisite ve sensitiviteye sahiptir (217).

Tablo 2.8. Çölyak Hastalığı'nda Serolojik Testlerin Sensitivite ve Spesifisite (%) (218)

Serolojik Test	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)
IgA sınıfı antigliadin antikor (IgA AGA)	75-90	82-95
IgG sınıfı antigliadin antikor (IgG AGA)	69-85	73-90
IgA sınıfı antiendomisyum antikor (IgA EMA)	85-98	97-100
IgA sınıfı doku transglutaminaz antikor (IgA tTG)	93-96	99-100

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Erzurum Valiliği İl Sağlık Müdürlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 08.01.2010 tarih ve 11 no.lu kararı ile etik kurul onayı alındıktan sonra başlandı.

3.1. Çalışma Grubunun Seçilmesi

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniği ile İç Hastalıkları polikliniğine başvuran ve laktoz intoleransı olduğu düşünülen 28 gönüllü, çalışma kapsamına alındı. Laktoz tolerans testi pozitif çıkan, IgA sınıfı anti-endomisyum antikor (IgA EMA) ve IgA sınıfı anti-gliadin antikor (IgA AGA) sonuçları negatif olarak tespit edilen ve herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan 20 kişi (9 bayan, 11 erkek) hasta grubu (Grup 1) olarak belirlendi. Bu gruptan elde edilen sonuçlar, C/T-13910 ve G/A-22018 polimorfizmlerinin tanısal duyarlılıklarını belirlemek için kullanıldı. Ayrıca, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine başvuran 17 gönüllü (7 bayan, 10 erkek), genetik polimorfizm analizleri için çalışmaya dahil edildi (Grup 2). Bu gruptan elde edilen sonuçlar, toplumdaki polimorfizm sıklığının belirlenmesi için kullanıldı.

3.2. Numunelerin Toplanması ve Deneysel İşlemler

3.2.1. Laktoz Tolerans Testi

Laktoz tolerans testi için, 8 saatlik açlığın ardından, katılımcılara 50 g laktoz oral yolla verildi. Laktoz verilmeden önce ve verildikten 120 dk sonra alınan kan örneklerinden, 3000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj yapılarak serum elde edildi. Serum glukoz düzeyleri Cobas c501 (Roche, Germany) otoanalizöründe ölçüldü. Bazal glukoz seviyelerine göre (sıfırıncı dk), 120. dakikada ölçülen glukoz seviyeleri,

- 30 mg/dL'den daha fazla artış gösterenler normal (negatif),
- 20-30 mg/dL arası artış gösterenler şüpheli,
- 20 mg/dL'den daha az artış gösterenler laktoz intolerant (pozitif)

olarak kabul edildi (219).

3.2.2. Çölyak Antikorları

Çölyak antikorlar seviyelerinin belirlenmesi için jelli biyokimya tüplerine 2'şer mL venöz kan örneği alındı. 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj yapılan numunelerden serum elde edildi. Serumlar alikotlanarak analiz işlemine kadar -80 °C'de saklandı.

Analiz işlemi, titerplane tekniği ile, EUROIMMUN Endomysium/Gliadin IgA Indirect Immunfluorescence Test kiti (EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Germany) kullanılarak yapıldı. Endomysyum antijeni olarak, maymun karaciğeri, özefagusu, bağırsak dokusu ile insan umbilikal kord dokusu karışımı kullanıldı. Hasta serumlarında endomysyum ve gliadin proteinlerine karşı IgA sınıfı antikorlar arandı. Sonuçlar, Olympus BX51 floresan mikroskobu (Olympus Europa, Hamburg, Germany) kullanılarak ve pozitif kontroldeki ışına ile mukayese edilerek değerlendirildi.

3.2.3. Polimorfizm Analizleri

C/T-13910 ve G/A-22018 polimorfizmlerinin analizi için, EDTA'lı hemogram tüplerine alınan venöz kan örnekleri alikotlanarak, analiz işlemi yapılncaya kadar -80 °C'de saklandı. Sugar Intolerance StripAssay kiti (ViennaLab Diagnostics, Avusturya) kullanılarak polimorfizm analizleri yapıldı. Bu analiz işlemleri, DNA izolasyonu, biotinlenmiş primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifikasyon ve amplifikasyon ürünlerinin revers-hibridizasyonu olmak üzere üç basamakta gerçekleştirildi.

3.2.3.1. DNA İzolasyonu

Çalışmaya başlamadan önce, kan örneklerinin, lizis solusyonunun ve GEN^XTRACT Resin solusyonunun oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Tüpler birkaç kez hafifçe altüst edilerek karıştırıldı. Aşağıdaki işlemler sırasıyla yapılarak venöz kan örneklerinden DNA izole edildi.

- 1.5 mL lik steril mikrotüplere 100 µL venöz kan örneği pipetlendi.
- Üzerine 1 mL lizis solusyonu konularak tüpün kapağı kapatıldı ve birkaç kez altüst edilerek karışması sağlandı.

- Oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi.
- Mikrosantrifüj cihazında 3000 rpm’de 5 dakika süreyle santrifüj işlemi yapıldı.
- Süpernatantın 1 mL’si atıldı.
- 1 mL lizis solusyonu tüplere konuldu ve tüpün ağzı kapatılarak karıştırıldı.
- Mikrosantrifüj cihazında 12000 rpm’de 5 dk süreyle santrifüj işlemi yapıldı.
- Yaklaşık 50 µL’lik görünür yumuşak pelletin haricinde kalan süpernatant atıldı.
- Tüplere 200 µL GEN^XTRACT Resin ilave edildi. GEN^XTRACT Resin, hızla sediment oluşturduğundan dolayı, her bir pipetleme işleminden önce tekrar resüspanse olması sağlandı.
- Tüplerin ağzı kapatılarak 10 saniye süreyle vortekslendi.
- 56 °C’de 20 dakika süreyle inkübe edildi.
- Daha sonra, 10 saniye süreyle vortekslendi .
- 98 °C’de 10 dakika süreyle inkübe edildi.
- 10 saniye süreyle vortekslendi .
- Mikrosantrifüj cihazında, 12000 rpm’de 5 dakika süreyle santrifüj edildi.
- Bu işlemlerin ardından, tüpler buz üzerinde soğutuldu.

PCR’de kullanılabilecek uygun DNA örneğini içeren süpernatant, temiz bir tüpe aktarılarak PCR işlemine kadar (1 gün boyunca) 2-8 °C’de saklandı.

3.2.3.1.1. DNA Saflık Tayini ve Konsantrasyonunun Hesaplanması

DNA konsantrasyonları ve saflık dereceleri, quartz küvette, 195 µL saf su + 5 µL süpernatant olacak şekilde, 260 ve 280 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri yapılarak belirlendi. A_{260}/A_{280} oranının 1.7-1.8 olması PCR analizinde kullanılabilecek saflık derecesi olarak kabul edildi. DNA konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{DNA Konsantrasyonu (ng/mL)} = A_{260} \times 50 \times \text{Seyreltme Faktörü}$$

3.2.3.2. İn Vitro Amplifikasyon (PCR)

PCR işleminde, termal siklus programı başlayıncaya kadar, tüm basamaklar buz üzerinde yapıldı ve PCR reaktifleri ile DNA örnekleri donmuş halde tutuldu. Taq Dilüsyon Buffer'de Taq DNA Polimeraz'ın taze bir dilüe örneği hazırlandı (0.2 U/ μ L). Amplifiye edilecek her bir örnek için bir reaksiyon tüpü, buz üzerine yerleştirildi.

PCR reaksiyon karışımı şu şekilde oluşturuldu:

- 15 μ L Amplifikasyon Mix
- 5 μ L dilüe Taq DNA Polimeraz
- 5 μ L DNA Template

Thermocycler 94 °C'ye ısıtıldı. Reaksiyon tüpleri bölmelere yerleştirildi ve aşağıdaki PCR

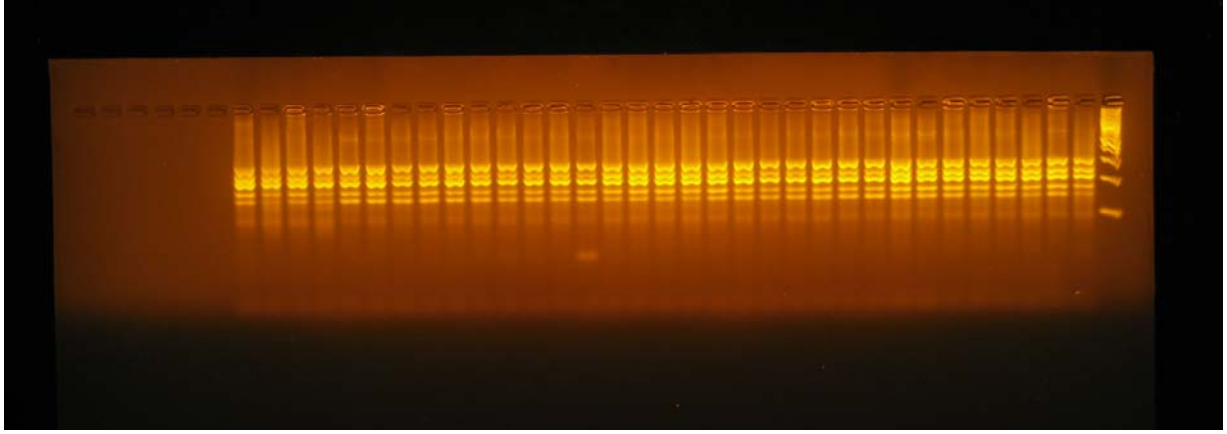
programı uygulandı:

- Pre-PCR : 94 °C/2 dakika
- Thermocycling: 94 °C/15 saniye, 58 °C/30 saniye, 72 °C/30 saniye (35 siklus)
- Final ekstansiyonu: 72 °C/3 dakika

Elde edilen amplifikasyon ürünleri 2-8 °C'de saklandı.

3.2.3.2.1. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Analizi

%3'lük agaroz jel hazırlandı. Mikrodalga fırında ısıtılarak hazırlanan agaroz jele, 0.5 μ g/mL olacak şekilde, etidyum bromür eklendi ve elektroforez tepsisine döküldü. Uygun dişli tarak jele yerleştirilerek 24 saat boyunca +4 °C'de tutuldu. Bu şekilde donması sağlanan jel, yükleme noktası (-) kutba yakın olacak biçimde elektroforez sistemine konuldu. $\frac{1}{2}$ x TBE (Tris, Borik asit, EDTA) tamponu, jelin üstünü kapatacak şekilde elektroforez tankına eklendi. 6X yükleme tamponu ile DNA belirteci ve amplifikasyon ürünleri jel üzerinde bulunan kuyucuklara sırası ile yerleştirildi. Sisteme 5 volt/cm voltaj, 2 saat boyunca verildi ve numuneler jel üzerinde yürütüldü.



Şekil 3.1. %3'lük agaroz jel elektroforezi ile analiz edilen amplifikasyon ürünleri (DNA fragmanlarının boyları: 142, 166, 210, 241, 319 bp).

3.2.3.3. Hibridizasyon

3.2.3.3.1. Ön İşlemler

Hibridizasyondan önce aşağıdaki işlemler yapıldı:

- Typing Tray'ın yüksekliğinin yaklaşık yarısına kadar su banyosunun su seviyesi ayarlandı ve sıcaklığı 45 °C'ye getirildi.
- Hibridizasyon buffer (HYB) ve Wash A solüsyonlarının sıcaklığı 45 °C'ye getirildi. Böylece 2-8 °C'de oluşmuş olan presipitatların çözünmüş durumda olması sağlandı.
- Test stripleri, DNAT, konjugat solüsyonu, Wash B solüsyonu ve Color Developer'in oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.
- Her bir örnek için bir test stribi çıkarıldı ve etiketlendi.

3.2.3.3.2. Hibridizasyon İşlemleri

PCR ile amplifiye edilen DNA örneklerinin hibridizasyonu, aşağıdaki prosedüre göre yapıldı:

- 10 µL DNAT, striplerin yerleştirildiği pleytteki kuyucukların köşelerine pipetlendi.
- Üzerine PCR ile çoğaltılmış amplifikasyon ürünlerinden 10 µL konuldu ve karıştırıldı.
- Örnekler, oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi ve solusyon mavi bir renk aldı.
- Striplerin yerleştirileceği pleytteki kuyucuklara önceden 45°C'ye ısıtılmış olan 1 mL HYB ilave edildi.
- Mavi renk kaybolup solusyon homojen bir hal alıncaya kadar yavaşça çalkalandı.
- Stripler kuyucuklara yerleştirildi. Stripin işaretlenmiş yüzünün üste bakması sağlandı.
- Önceden hazırlanan su banyosunun çalkalayıcı platformu üzerinde, 45°C'de, 30 dakika boyunca inkübasyon işlemi yapıldı.
- Inkübasyon sonunda vakum pompası kullanılarak hibridizasyon solusyonu kuyucuklardan tamamen boşaltıldı.

3.2.3.3.3. Yıkama İşlemleri

Hibridizasyonun ardından yıkama safhasına geçildi ve aşağıdaki işlemler uygulandı.

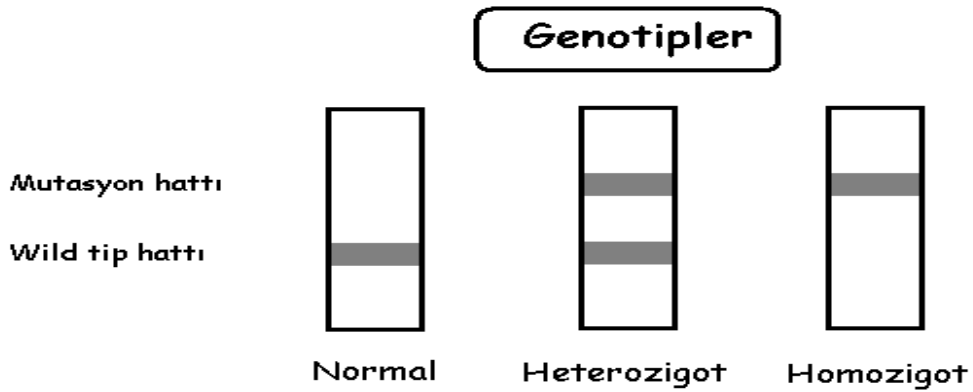
- Her bir kuyucuğa önceden 45°C'ye ısıtılmış olan 1 mL Wash A solusyonu eklendi. 1 dakika boyunca çalkalandı ve vakum pompası kullanılarak boşaltıldı.
- 1 mL Wash A solusyonu ilave edildi.
- Su banyosunda 45°C'de 15 dakika boyunca çalkalanarak inkübe edildi.
- Wash A solusyonu boşaltıldı.
- Yeniden 1 mL Wash A solusyonu ilave edildi.
- Su banyosunda 45°C'de 15 dakika boyunca çalkalanarak inkübe edildi.
- Wash A solusyonu kuyucuklardan tray atık kabına tamamen boşaltıldı ve kuyucuklar içerisinde kalan az miktarda sıvı tray ters çevrilerek ve üst ucu kurutma kağıdına emdirilerek uzaklaştırıldı.
- Bu basamaktan itibaren bütün işlemler oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

3.2.3.3.4. Renklendirme İşlemleri

- Her bir kuyucuğa 1 mL konjugat solusyonu eklendi.
- 15 dakika boyunca oda sıcaklığında çalkalanarak inkübe edildi.
- Bir vakum pompası ile sıvı uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 1 mL Wash B solusyonu ilave edildi ve 1 dakika süreyle çalkalanarak boşaltıldı.
- 1 mL Wash B solusyonu ilave edildi.
- Oda sıcaklığında 5 dakika boyunca çalkalanarak inkübe edildi.
- Kuyucuklardan Wash B solusyonu boşaltıldı.
- Yeniden 1 mL Wash B solusyonu ilave edildi.
- Oda sıcaklığında 5 dakika boyunca çalkalanarak inkübe edildi.
- Kuyucuklardan Wash B solusyonu uzaklaştırıldı.
- Her bir strip üzerine 1 mL substrat (Color Developer) solusyonu eklendi.
- Karanlıkta ve oda sıcaklığında 15 dakika boyunca çalkalanarak inkübe edildi.
- Bant oluşma işlemi, stripler 2 kez distile su ile yıkanarak sonlandırıldı.
- Stripler kuyucuklardan alınarak kurutma kağıdının arasına konuldu ve değerlendirme aşamasına geçildi.

3.2.3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi

Renklendirme işlemlerinin ardından, striplerde wild tip ve/veya mutasyon bantları ortaya çıktı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Striplerde Oluşan Wild Tip ve Mutasyon Bantları

Striplerde yalnızca wild tip bandının oluşması normal; hem wild tip hem de mutasyon bandının oluşması heterozigot; sadece mutasyon bandının oluşması ise homozigot genotip olarak değerlendirildi (Tablo 2.9.)

Tablo 3.1. Striplerde Oluşan Bantlara Göre Sonuçların Değerlendirilmesi

	Wild tip hattı	Mutasyon hattı	Genotip
NOR	Pozitif	Negatif	Normal
HET	Pozitif	Pozitif	Heterozigot
HOM	Negatif	Pozitif	Homozigot

C/T-13910 polimorfizmi açısından normal genotip TT, heterozigot genotip CT ve homozigot genotip CC allellerini; G/A-22018 polimorfizmi açısından normal genotip AA, heterozigot genotip GA ve homozigot genotip GG allellerini ifade etmektedir.

3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Kimyasal Malzeme veya Reaktif Adı	Temin Edildiği Firma
Sugar intolerance StripAssay Kiti	ViennaLab Diagnostics
Lysis Solution	ViennaLab Diagnostics
GENXTRACT Resin	ViennaLab Diagnostics
Taq Dilution Buffer	ViennaLab Diagnostics
DNAT	ViennaLab Diagnostics
Typing Trays	ViennaLab Diagnostics
Test Strips	ViennaLab Diagnostics
Hybridization Buffer	ViennaLab Diagnostics

Wash Solution A	ViennaLab Diagnostics
Conjugate Solution	ViennaLab Diagnostics
Wash Solution B	ViennaLab Diagnostics
Color Developer	ViennaLab Diagnostics
EUROIMMUN Immunfluorescence test kiti	Euroimmun, Germany
Etanol (%96–100)	Merck
Agaroz	Sigma

3.4. Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar

Alet/Cihaz	Marka
Derin Dondurucu (-80 0C), Derin Dondurucu (-20 0C)	Sanyo Ultra Low, Sanyo Electric Co Ltd, Arçelik, Türkiye
Spektrofotometre	Cecil CE 304 UV ve Beckman DU 500
Laminar Flow Kabin	Nüve LN 120, Türkiye
Mikrosantrifüj	Mikro 200 Hettich, Germany
Mikro Otomatik Pipetler	Eppendorf, Finn timer, Medispes plus
Termomikser	Thermomixer Comfort Eppendorf, Germany
Elektroforez Sistemleri	
-Tank	Biometra Agatel Midi

-Translüminatör	Biometra BDA Digital
-Güç Kaynağı	Biometra High Voltage Power Pack P30
Vorteks Yellov Line TTS2	IKA, USA
Farklı Boyutlarda Filtreli Pipet Uçları	Biosphere filter tips, Nümbrecht, Germany
PCR Tüpleri (DNAaz ve RNAaz free)	Axygen, Union City, USA
Pudrasız Tek Kullanımlık Eldivenler	Aldrich, Malasia
UV Küvetler	Plastbrand, Germany
Otoklav	Hmc-Hirayama, Japan.
Cobas 6000 Otoanalizör	Roche, Germany
Olympus BX51 floresan mikroskobu	Olympus Europa, Germany
Hassas Terazî	Denver Instrument, Germany
Saf Su Cihazı	Mes mp minipure, Türkiye
Su Banyosu	Kotterman, Germany
Magnetik Karıştırıcı	Fisher, USA ve Yellowline MSH Basic, Germany

4. BULGULAR

Yapılan analizler sonucu, laktoz intoleransı testi pozitif çıkan, IgA sınıfı anti-endomisyum antikor (IgA EMA) ve IgA sınıfı anti-gliadin antikor (IgA AGA) sonuçları negatif olarak tespit edilen ve herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan 20 kişilik hasta grubunda (Grup 1), C/T 13910 polimorfizmi açısından 18 kişinin CC ve 2 kişinin CT genotipi taşıdığı belirlendi. Aynı grupta G/A-22018 polimorfizmi açısından 12 kişinin GG, 7 kişinin GA genotipi taşıdığı tespit edildi; 1 hastada ise G/A-22018 polimorfizm analizi yapılamadı (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Grup 1’de C/T-13910 ve G/A-22018 Gen Polimorfizm Analizlerinin Sonuçları

Grup 1	C/T-13910	G/A-22018
1	CC	GG
2	CC	GG
3	CC	GG
4	CC	GG
5	CC	GG
6	CC	GG
7	CC	Belirlenemedi
8	CC	GA
9	CT	GA
10	CC	GA
11	CC	GA
12	CT	GA
13	CC	GA
14	CC	GG
15	CC	GA
16	CC	GG
17	CC	GG
18	CC	GG
19	CC	GG
20	CC	GG

Bu sonuçlara göre, hastaların %90 oranında CC genotipi ve % 10 oranında CT genotipi taşıdıkları; CC genotipinin, laktoz intoleransını göstermedeki tanısal duyarlılığının %90 olduğu görüldü. Aynı grupta GG genotipi %63.2, GA genotipi %36.8 oranında tespit edildi ve GG genotipinin laktoz intoleransını göstermedeki tanısal duyarlılığı %63.2 olarak hesaplandı. Bu durum, CC-13910 genotipinin, GG-22018 genotipine göre, laktoz intoleransını belirlemede daha sensitif olduğunu göstermektedir.

Toplumdan rastgele seçilen 17 gönüllüde (Grup 2) yapılan C/T-13910 ve G/A-22018 polimorfizm analizleri sonucu, 13 kişide CC; 4 kişide CT; 7 kişide GG; 7 kişide GA ve 3 kişide AA genotipi olduğu tespit edildi (Tablo 4.2.). Buna göre, CC genotipinin toplumumuzdaki görülme sıklığı %76.5; CT genotipinin görülme sıklığı %23.5; GG genotipinin görülme sıklığı %41.2; GA genotipinin görülme sıklığı %41.2 ve AA genotipinin görülme sıklığı %17.6 olarak bulundu (Şekil 4.1).

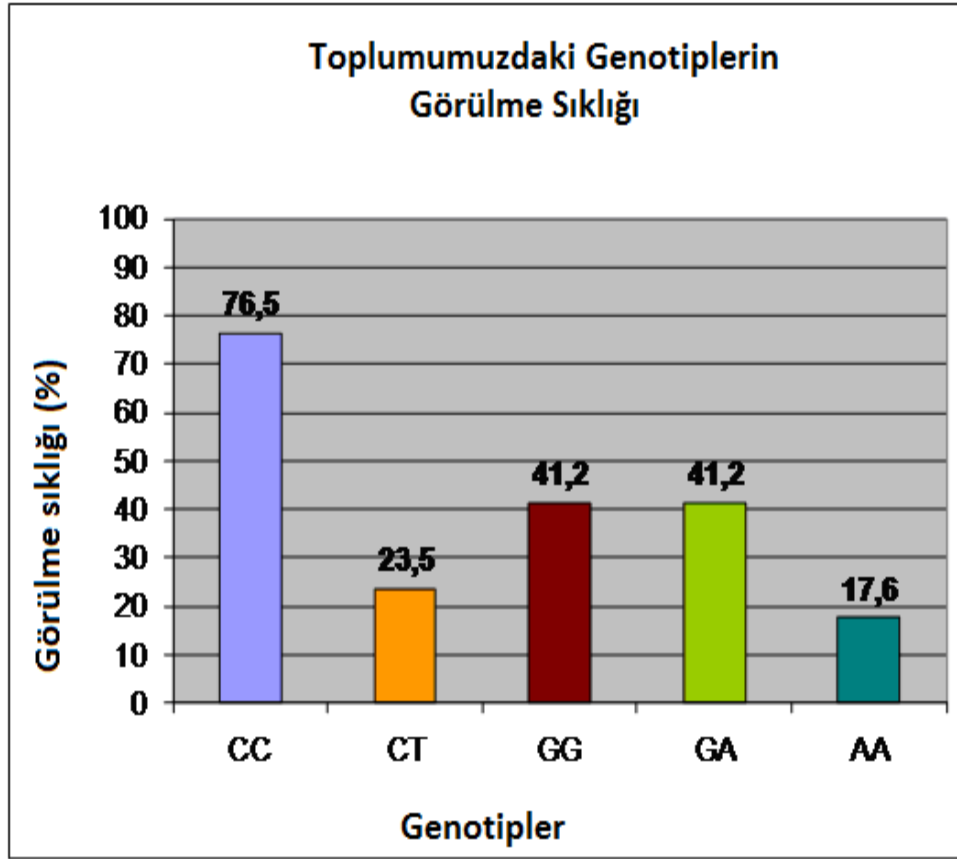
Tablo 4.2. Grup 2’de C/T-13910 ve G/A-22018 Gen Polimorfizm Analizlerinin Sonuçları

Grup 2	C/T-13910	G/A-22018
1	CT	GA
2	CT	GA
3	CC	GA
4	CC	GA
5	CC	AA
6	CC	AA
7	CC	GG
8	CC	GG
9	CC	GG
10	CT	GA

11	CC	GG
12	CC	GG
13	CC	GG
14	CT	GA
15	CC	GG
16	CC	GA
17	CC	AA

Tablo 4.3. Grup 1 ve Grup 2’de C/T-13910 ve G/A-22018 Gen Polimorfizm Analizlerinin Sonuçları

	C/T-13910			G/A-22018		
	CC	CT	TT	GG	GA	AA
Grup 1	18	2	0	12	7	0
Grup 2	13	4	0	7	7	3
Toplam	31	6	0	19	14	3



Şekil 4.1. Genotiplerin Toplumdaki Görölme Sıklıkları

5. TARTIŞMA

Erişkin tip hipolaktazya, dünyadaki erişkin popülasyonun büyük bir kısmını etkileyen yaygın bir halk sağlığı problemidir (60) ve görülme sıklığı popülasyonlar arasında önemli farklılıklar göstermektedir (61).

Enattah ve ark. (2), 2. kromozomdaki MCM6 gen bölgesinde, intron 13 ve intron 9 üzerinde lokalize olan C/T-13910 ve G/A-22018 SNP'lerinin, laktoz intoleransı ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmanın ardından, söz konusu polimorfizmlerin, özellikle C/T-13910'un, farklı popülasyonlardaki sıklığı konusunda birçok çalışma yapılmıştır; ancak ülkemizde bugüne kadar yapılmış böyle bir çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız çalışma ile, C/T-13910 ve G/A-22018 polimorfizmlerinin toplumumuzdaki sıklığı konusundaki ilk bilgilere ulaşmış olduk.

Kuzey Avrupa bölgesinde yapılan araştırmalar, C/T-13910 polimorfizmiyle ilişkili CC genotipinin, bu bölgede çok az sıklıkta görüldüğünü ortaya koymuştur. Finlilerde CC genotipinin prevalansı %14.7-25 arasında (2, 104, 169-171) belirlenirken; Estonyalılarda %24.8 (167); İngilizlerde %8 (162); İsveç halkında %10.3 (163) olarak bulunmuştur. Prevalans, Avrupa'nın içlerine doğru giderek artmakta ve Güney Avrupa'da en yüksek düzeylere ulaşmaktadır: Avusturyalılarda %21.4 (164); Polonyalılarda %33.1 (163); Macarlarda %36 (179); İspanyollarda %36.7 (162); Fransızlarda %41.2 (2) ve İtalyanlarda %70 oranında CC genotipi tespit edilmiştir. Rus popülasyonundaki prevalansı ise %28.4-36.6 arasında bulunmuştur (168, 183). İlginç bir gözlem, Rusya'da yaşayan Chukchi kızılderililerindeki prevalansın Rus popülasyonunkine göre oldukça yüksek olmasıdır. Borinskaia ve ark. (168) CC genotipinin Chukchi kızılderililerinde %88.2'lik bir sıklıkta görüldüğünü tespit etmişlerdir. Bu yüksek prevalans, Asyalı ırkların geneli için de geçerlidir. Enattah ve ark. (172)'nin 37 farklı popülasyonda yaptıkları çalışma, C/T-13910 gen polimorfizminin dünyadaki yaygınlığı konusunda önemli bilgiler sağlamıştır. Bu çalışma, Asyalı ırklarda CC genotipinin çok yüksek bir sıklıkta görüldüğünü ortaya koymuştur. Çalışma kapsamında incelenen 23 Güney Koreli ve 100 Çinlinin tamamında CC genotipi tespit edilmiş ve böylece prevalans %100 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, CC genotipinin görülme sıklığını %76.5 olarak bulduk. Bu oran, Avrupalı popülasyonlarınkine göre yüksektir ve diğer Asyalı toplumlarda belirlenen

yüksek orana yakındır. Bu durum, Türk ırkının Orta Asya bölgesine uzanan tarihsel kökeniyle açıklanabilir.

C/T-13910 polimorfizminin aksine, G/A-22018 polimorfizminin popülasyonlardaki yaygınlığı konusunda çok az çalışma yapılmıştır. A allelinin Asyalılarda ve Afrikalılarda nadir (%0-13.3); buna karşın Avrupalılarda yüksek bir sıklıkta görüldüğü (%77.1) ve G alleleline, Afrika popülasyonunda sık (%94-99); Avrupalılarda ise daha nadir (%62) rastlandığı bulunmuştur (187, 188). Bizim elde ettiğimiz sonuçlar (Tablo 2.11. ve Şekil 2.15.), toplumumuzun, G/A-22018 allellerinin sıklığı açısından, Asya ve Avrupa popülasyonları arasında bir yerde durduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, hem ülkemizde hem de dünyada, G/A-22018 polimorfizminin prevalansı konusunda daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

C/T-13910 ve G/A-22018 polimorfizmlerinin laktoz intoleransı ile ne ölçüde ilişkili olduğu konusunda, farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Enattah ve ark. (2) tarafından Finli hastalarda yapılan çalışmada, primer laktaz eksikliği tanısı konulmuş 59 vakanın tamamının CC, 53'ünün GG ve 6'sının GA genotipinde olduğu görülmüş ve laktaz toleransı gösteren 137 vakanın hiçbirinde CC veya GG genotiplerine rastlanmamıştır. Bu ilk sonuçlara göre, Finlandiya popülasyonunda primer laktaz eksikliğini göstermede, C/T-13910 polimorfizm analizinin %100 spesifik ve %100 sensitif; G/A-22018 polimorfizm analizinin %100 spesifik ve %89.8 sensitif testler olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada, Finli olmayan grupta C/T-13910 polimorfizm analizinin sensitivite ve spesifisite değerleri %100; G/A-22018 polimorfizm analizinin sensitivite değeri %97.5 ve spesifisite değeri %100 olarak belirlenmiştir. Bu durum, hem Finli popülasyonda hem de Finli olmayan popülasyonda, C/T-13910 polimorfizm analizinin, G/A-22018 analizine göre daha değerli bir test olduğunu göstermiştir. Bulhoes ve ark. (186) tarafından, Brezilyalılarda yapılan bir çalışmada, 10 laktaz persistanslı ve 10 laktoz intoleranslı kişi incelenmiş ve C/T-13910 gen polimorfizminin %90 sensitivite ve %100 spesifisiteye sahip olduğu bulunmuştur. Schirru ve ark. (190) tarafından Akdeniz popülasyonunda yapılan bir çalışmada ise, C/T-13910 gen polimorfizminin, nefes testi baz alındığında, sensitivite ve spesifisite değerleri %100 ve %95.8 olarak belirlenmiştir. Rasinpera ve ark. (104), CC genotipinin

düşük laktoz aktivitesini belirlemede %100 spesifik ve %93 sensitif olduğunu tespit etmişlerdir. Hogenauer ve ark. (189) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, sensitivitenin %75, spesifisitenin %99 olduğu görülmüştür. Bu bulgular, C/T-13910 polimorfizminin erişkin tip hipolaktazya tanısı açısından %75-100 arasında bir sensitiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Bizim yaptığımız çalışmada, sensitivite %90 olarak belirlendi. Yaptığımız çalışmada ayrıca, GG genotipinin sensitivitesini %63.2 olarak bulduk. Bu sonuç, CC-13910 genotipinin, GG-22018 genotipine göre daha sensitif olduğunu göstermektedir ve Enattah ve ark. (2)'nın yaptığı çalışma ile uyumludur.

Toplumumuzda CC genotipinin nispeten yüksek bir sıklıkta (%76.5) görüldüğünün tespit edilmesi, bu genotipe sahip olmanın taşıdığı muhtemel risklerin neler olduğu ve bu riskleri en aza indirmek için nelerin yapılması gerektiği gibi hususları, halk sağlığı açısından önemli meseleler haline getirmektedir. Laktoz intoleransı olan kişilerde, süttten kaçınma davranışının bir sonucu olarak, besinsel kalsiyum alımının yetersizliği, osteoporoz sıklığında bir artışa yol açabilir (85, 86). Obermayer ve ark. (172) tarafından yapılan bir çalışmada, CC genotipine sahip kadınlarda, süt tüketiminin, süttten kalsiyum alımının ve kemik mineral yoğunluğunun (BMD) daha az olduğu; kemik fraktür insidansının ise arttığı bulunmuştur. Benzer şekilde, Laaksonen ve ark. (206) da CC genotipine sahip kişilerin kemik kaybına daha yatkın olduğunu göstermişlerdir. Rasinpera ve ark. (162) ile Bacci ve ark. (179) tarafından yapılan iki ayrı çalışmada, CC genotipinin kolorektal kanser riskini artırdığı öne sürülmüştür. Ayrıca, laktaz persistansı ile ilişkili genotipe sahip kişilerde, over kanseri riskinin azaldığı iddia edilmiştir (183). Sonuç olarak, CC genotipi ve bununla bağlantılı olarak laktoz intoleransına sahip kişilerde, yetersiz kalsiyum alımının bir sonucu olarak gerek osteoporoz gerekse kanser riskinde bir artışın olabileceği öne sürülmektedir. Ancak literatüre girmiş çalışmaları bir bütün halinde incelediğimizde, laktoz intoleransını bir “hastalık” olarak kabul eden klasik yaklaşımın ve buna binaen T allelini “wild-type”; CC genotipini ise mutant homozigot varsayan Batı menşeli anlayışın, meseleyi tüm yönleriyle izah etme noktasında yeterli ve uygun olmadığı görülmektedir. Şöyle ki, hem laktoz intoleransının taşıdığı risklerin boyutları sınırlı ve tartışmalıdır, hem de laktoza tolerans gösteren kişiler için birtakım başka riskler söz konusudur.

Yapılan çalışmalarla, C/T-13910 gen polimorfizminin osteoporotik sürece olan etkisinin, yaşa bağlı olduğu anlaşılmıştır. Enattah ve ark. (203) genç erkekler üzerinde yaptıkları çalışmada, C/T-13910 gen polimorfizminin, kemik turnover hızını etkilemediğini, pik kemik kitlesini azaltmadığını ve stres kırıkları için bir risk oluşturmadığını bulmuşlardır. Esterle ve ark. (204) da, 12-22 yaş arası genç bayanlarda, C/T-13910 gen polimorfizmi ile BMD arasında herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir. Lehtimäki ve ark. (166) tarafından yapılan çalışmada ise, CC genotipinin ortalama boy artış hızı ve ortalama boy uzunluğu üzerine bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Rasinpera ve ark. (162) CC genotipi ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişkiyi yalnız Finlilerde tespit etmişler ve aynı ilişkiyi İngiliz ve İspanyol kökenli kişilerde gösterememişlerdir. Piepoli ve ark. (207) da, İtalya'da yaptıkları çalışmada, CC genotipli kişilerde kolorektal kanser riskinin artmadığını bulmuşlardır. Bunun dışında, C/T-13910 polimorfizmi ile prostat kanser riski arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmış ve herhangi bir ilişki tespit edilememiştir (170).

Laktoza tolerans gösteren kişilerin birtakım riskler taşıdığı yönünde birçok çalışma vardır. İntestinal laktaz aktivitesi ile Tip 1 ve Tip 2 diyabet arasında bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (192-194). Ayrıca, T allelinin metabolik sendrom gelişimine yatkınlığı artırabilecek bir faktör olduğu öne sürülmüştür (196). Simoons (197) tarafından yapılan bir çalışmada, erişkin yaşlarda laktaz aktivitesini sürdüren kişilerde senil katarakt riskinin arttığı bulunmuştur. Timpson ve ark. (210) ise, erişkin yaşlarda süt tüketen kişilerde renal hücreli karsinom riskinin az da olsa arttığını iddia etmişlerdir. Hill ve ark. (153) bağırsak lümeninde kalan emilememiş laktozun, bifidobakterilerin ve diğer laktik asit bakterilerinin fermentasyon kabiliyetini artırdığını bulmuşlardır. Bu faydalı bakterilerin azlığı birtakım hastalıkların görülme riskini artırabilir (38). Laktozun prebiyotik potansiyelinden dolayı, Crohn hastalığı gibi intestinal hastalıklara karşı faydalı olabileceğini gösteren çalışmalar vardır (101). İskemik kalp hastalığı ve over kanserinin laktoz tüketimi ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (94-96). Bu nedenle, laktaz eksikliği göstermeyen kişilerde bile, sütteki laktoz içeriğini azaltmanın faydalı olabileceği ifade edilmiştir (60).

Laktoz intoleransına ait riskler, yetersiz kalsiyum alımıyla ilişkilendirilmiştir (85, 86, 163, 202, 208, 209). Bu nedenle, laktoz intoleransı gösteren kişilerde, yeterli

kalsiyum alımının sağlanması çok önemlidir. Fermente süt ürünleri, benzer kalsiyum içerikleri ve intolerans belirtilerine daha az yol açmaları sebebiyle iyi bir alternatif olarak görülmektedir (108, 121, 122). Yoğurt, sütün laktik asit bakterileri ile inkübasyonu sonucu oluşan bir fermentasyon ürünüdür. Fermentasyonun, laktoz içeriğini % 25-50 oranında azaltmaktadır (125, 126). Yoğurdun, laktoz sindirimi üzerindeki olumlu etkisi, içerdiği bakteriyel laktaz aktivitesinin yanı sıra, gastrik boşalma ve intestinal geçiş süresini uzatması ve böylece ince bağırsaktaki rezidüel laktaz etkinliğini artırmasıyla da ilişkili olabilir (130, 131). Yoğurt kelimesi, Türkçede “kalın, kıvamlı” anlamına gelen “yoğun” kelimesinden türemiştir ve çeşitli dünya dillerine girmiştir (220). Bizim alışmamızda gözlemlediğimiz yüksek CC prevalansı (%76.5), yoğurdun neden Türk toplumunun öteden beridir tercih ettiği temel bir besin maddesi olduğuna da bir açıklama getirmektedir.

Laktaz, skrazın ve maltazın aksine, adaptasyon göstermeyen bir enzimdir ve aktivitesi diyetteki laktoz içeriğinden etkilenmez (114, 146). Bununla birlikte, devamlı laktoz tüketimi, bağırsak florasında değişikliğe yol açarak, gastrointestinal belirtilerin azalmasını sağlayabilir (114, 147-151). Yapılan alışmalar az miktarda süt alımının erişkin tip hipolaktazyalı kişilerde, herhangi bir belirtiye yol açmaksızın tüketilebileceğini göstermektedir (64-66, 155, 156). Bu nedenle, toplumumuzda, sütten kaçınma davranışı yerine az miktarlarda fakat devamlı süt tüketim alışkanlığının edinilmesi ve toplumun bu konularda bilinçlendirilmesi önem taşımaktadır.

Bugüne kadar laktoz intoleransıyla ilişkili birçok polimorfizm belirlenmiş olmakla birlikte, etyopatogenetik mekanizmalar henüz tam olarak anlařılabilmē değildir (2, 157, 158). Bu mekanizmaların anlaşılması, yapılacak genetik analizler sonucu, kişilerin laktaz eksikliği açısından taşıdıkları riski, henüz sürecin başında ortaya koyabilecektir. Genetik testlerin, maliyetleri nedeniyle günümüzde rutin uygulamalar için elverişli olmamasına karşın, gelecekte tedavi protokollerinin belirlenmesinde kullanıma girmeleri mümkün olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, laktoz tolerans testi pozitif olarak belirlenen ve herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan 20 kişi hasta grubu olarak seçildi ve 17 gönüllü kişi ile birlikte C/T-13910 ve G/A-22018 genetik polimorfizm analizleri, Sugar Intolerance StripAssay kiti (ViennaLab Diagnostics, Avusturya) kullanılarak polimorfizm analizleri yapıldı. Bu analiz işlemleri, DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifikasyon ve hibridizasyon basamaklarından oluşmaktadır.

Yapılan analizler sonucu, 20 kişilik hasta grubunda, C/T-13910 polimorfizmi açısından 18 kişinin CC ve 2 kişinin CT genotipi taşıdığı; G/A-22018 polimorfizmi açısından ise 12 kişinin GG, 7 kişinin GA genotipine sahip olduğu belirlendi; 1 hastada ise G/A-22018 polimorfizm analizi yapılamadı

Bu sonuçlara göre, hastaların %90 oranında CC genotipi, % 10 oranında CT genotipi, %63.2 oranında GG genotipi ve %36.8 oranında GA genotipi taşıdıkları; CC genotipinin, laktoz intoleransını göstermedeki tanısal duyarlılığının %90, GG genotipinin %63.2 olduğu belirlendi. . Bu durum, CC-13910 genotipinin, GG-22018 genotipine göre daha sensitif olduğunu göstermektedir ve daha önceden yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerdir (2).

Toplumdan rastgele seçilen 17 gönüllüde yapılan analizler sonucu, CC genotipinin toplumumuzdaki görülme sıklığı %76.5 olarak bulundu. Bu oran, Avrupalı popülasyonlarınkine göre yüksektir ve Asyalı toplumlarda belirlenen yüksek orana yakındır. Bulduğumuz sonuç, Türk ırkının Orta Asya'ya uzanan tarihsel kökeniyle uyumludur. Bu çalışma, Türkiye'de ilk olma özelliğini de taşımaktadır.

Toplumumuzda CC genotipinin yüksek bir sıklıkta görülmesi, bu genotipe sahip olmanın taşıdığı muhtemel risklerin neler olduğu sorusunu önemli kılmaktadır. CC genotipi ve bununla ilişkili olarak laktoz intoleransına sahip kişilerde, yetersiz kalsiyum alımı, osteoporoz ve birtakım kanserlerin görülme riskinde bir artışa yol açmaktadır. Bununla birlikte, bu konuda yapılan çalışmalar bir bütün halinde incelendiğinde, laktoz intoleransının bir “hastalık” olarak kabul edilip edilmemesinin tartışmaya açık bir mesele olduğu görülmektedir. Laktoz intoleransının taşıdığı risklerin boyutları sınırlı ve

tartışmalıdır. Ayrıca yapılan çalışmalarla laktoza tolerans gösteren kişilerin birtakım başka riskler taşıdığı görülmüştür.

Laktoz intoleransı gösteren kişilerde, yeterli kalsiyum alımının sağlanması önemlidir. Yoğurt gibi fermente süt ürünleri, benzer kalsiyum içerikleri ve intolerans belirtilerine daha az yol açmaları sebebiyle iyi bir alternatif olarak tercih edilebilir. Ayrıca, devamlı laktoz tüketimi, bağırsak florasında değişikliğe yol açarak, gastrointestinal belirtilerin azalmasını sağlayabildiğinden dolayı, toplumumuzda, süttten kaçınma davranışı yerine az miktarlarda fakat devamlı süt tüketim alışkanlığının tavsiye edilmesi faydalı olabilir.

Laktoz intoleransı ile ilişkili birçok polimorfizm belirlenmiş olmakla birlikte, bu polimorfizmlerin hangi etyopatogenetik mekanizmalar aracılığıyla rol oynadığı konusu henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Bu konuda, daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Yapılacak çalışmalar, gelecekte genetik testleri, hastalığın erken teşhisinde ve tedavi protokollerinin belirlenmesi safhasında önemli kılabilir.

Çalışmamızdaki vak'a sayılarının düşük tutulması, bu konudaki maddi kaynaklarımızın kısıtlı olması sebebiyledir. Elde edilen sonuçların daha iyi vurgulanabilmesi için vak'a sayısının artırılmasının önemli olduğu düşünülmektedir. Bütün bunlara rağmen, çalışmamızın Türkiye'de bir ilk olması ve beslenme ile ilgili olarak sosyoekonomik yönünün bulunması kanaatimizce önemlidir.

7. KAYNAKLAR:

1. Sahi T. Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. Scand J Gastroenterol Suppl. 1994;202:7-20.
2. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. Nat Genet. 2002 Feb;30(2):233-7.
3. Kuokkanen M, Enattah NS, 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 May;52(5):647-52.
4. Onat T. Karbonhidratlar. Onat T, Emerk K, Sönmez EY. İnsan Biyokimyası. Ankara, 2006. Palme Yayıncılık: 249-252
5. Bakan N. Disakkaridler, Oligosakkaridler ve Polisakkaridler. Onat T, Emerk K, Sönmez EY. İnsan Biyokimyası. Ankara, 2006. Palme Yayıncılık: 290-298
6. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Lippincott's illustrated Biochemistry. Ulukaya E. Biyokimya. Ankara. Nobel Kitab Evi. 2007: 95-141
7. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Lippincott's illustrated Biochemistry. Ulukaya E. Biyokimya. Ankara. Nobel Kitab Evi. 2007: 85-87
8. Murray RK, Garnner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. Dikmen N, Özgünen T. Harper Biyokimyası. Ankara. Nobel Kitab Evi. 2004:652 Harper sayfa 652
9. Sibley, Eric. Carbonhydrate Intolerance. Current Opinion in Gastroenterology. March 2004. Volum 20, Issue 2 :pp 162-167
10. Naim HY, Sterchi EE, Lentze MJ. Biosynthesis of the human sucrase-isomaltase complex. Differential O-glycosylation of the sucrase subunit correlates with its position within the enzyme complex. J Biol Chem. 1988 May 25;263(15):7242-53.

11. Naim HY, Sterchi EE, Lentze MJ. Biosynthesis and maturation of lactase-phlorizin hydrolase in the human small intestinal epithelial cells. *Biochem J.* 1987 Jan 15;241(2):427-34.
12. Hauri HP, Sterchi EE, Bienz D, Fransen JA, Marxer A. Expression and intracellular transport of microvillus membrane hydrolases in human intestinal epithelial cells. *J Cell Biol.* 1985 Sep;101(3):838-51.
13. Launiala K. The effect of unabsorbed sucrose and mannitol on the small intestinal flow rate and mean transit time. *Scand J Gastroenterol.* 1968;3(6):665-71.
14. Houghton LA, Atkinson W, Whitaker RP, Whorwell PJ, Rimmer MJ. Increased platelet depleted plasma 5-hydroxytryptamine concentration following meal ingestion in symptomatic female subjects with diarrhoea predominant irritable bowel syndrome. *Gut.* 2003 May;52(5):663-70.
15. Wackerbauer R, Schmidt T. Symbolic dynamics of jejunal motility in the irritable bowel. *Chaos.* 1999 Sep;9(3):805-811.
16. Cummings JH, Englyst HN. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *Am J Clin Nutr.* 1987 May;45(5 Suppl):1243-55.
17. Hauri HP, Quaroni A, Isselbacher KJ. Biogenesis of intestinal plasma membrane: posttranslational route and cleavage of sucrase-isomaltase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979 Oct;76(10):5183-6.
18. Nichols BL, Avery S, Sen P, Swallow DM, Hahn D, Sterchi E. The maltase-glucoamylase gene: common ancestry to sucrase-isomaltase with complementary starch digestion activities. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Feb 4;100(3):1432-7.
19. Nichols BL, Eldering J, Avery S, Hahn D, Quaroni A, Sterchi E. Human small intestinal maltase-glucoamylase cDNA cloning. Homology to sucrase-isomaltase. *J Biol Chem.* 1998 Jan 30;273(5):3076-81.
20. Nichols BL, Avery SE, Karnsakul W, Jahoor F, Sen P, Swallow DM, Luginbuehl U, Hahn D, Sterchi EE. Congenital maltase-glucoamylase

- deficiency associated with lactase and sucrase deficiencies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002 Oct;35(4):573-9.
21. Lebenthal E, Khin-Maung-U, Zheng BY, Lu RB, Lerner A. Small intestinal glucoamylase deficiency and starch malabsorption: a newly recognized alpha-glucosidase deficiency in children. *J Pediatr.* 1994 Apr;124(4):541-6.
 22. Lifschitz CH, Boutton TW, Carrazza F, Beyreiss K, Schmitz J, Ricour C, Shulman R, Nichols BL. A carbon-13 breath test to characterize glucose absorption and utilization in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1988 Nov-Dec;7(6):842-7.
 23. Karnsakul W, Luginbuehl U, Hahn D, Sterchi E, Avery S, Sen P, Swallow D, Nichols B. Disaccharidase activities in dyspeptic children: biochemical and molecular investigations of maltase-glucoamylase activity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002 Oct;35(4):551-6.
 24. Galand G. Brush border membrane sucrase-isomaltase, maltase-glucoamylase and trehalase in mammals. Comparative development, effects of glucocorticoids, molecular mechanisms, and phylogenetic implications. *Comp Biochem Physiol B.* 1989;94(1):1-11.
 25. Sacktor B, Berger SJ. Formation of trehalose from glucose in the renal cortex. *Biochem Biophys Res Commun.* 1969 Jun 27;35(6):796-800.
 26. Eze LC. Plasma trehalase activity and diabetes mellitus. *Biochem Genet.* 1989 Oct;27(9-10):487-95.
 27. Yoshida K, Mizukawa H, Haruki E. Serum trehalase activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta.* 1993 Apr 16;215(1):123-4.
 28. Ishihara R, Taketani S, Sasai-Takedatsu M, Kino M, Tokunaga R, Kobayashi Y. Molecular cloning, sequencing and expression of cDNA encoding human trehalase. *Gene.* 1997 Nov 20;202(1-2):69-74.

29. Bergoz R. Trehalose malabsorption causing intolerance to mushrooms. Report of a probable case. *Gastroenterology*. 1971 May;60(5):909-12.
30. Madzarovova-Nohejlova J. Trehalase deficiency in a family. *Gastroenterology*. 1973 Jul;65(1):130-3.
31. Murray IA, Coupland K, Smith JA, Ansell ID, Long RG. Intestinal trehalase activity in a UK population: establishing a normal range and the effect of disease. *Br J Nutr*. 2000 Mar;83(3):241-5.
32. Gudmand-Hoyer E, Fenger HJ, Skovbjerg H, Kern-Hansen P, Madsen PR. Trehalase deficiency in Greenland. *Scand J Gastroenterol*. 1988 Sep;23(7):775-8.
33. Welsh JD, Poley JR, Bhatia M, Stevenson DE. Intestinal disaccharidase activities in relation to age, race, and mucosal damage. *Gastroenterology*. 1978 Nov;75(5):847-55.
34. 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 Sep;34(9):898-903.
35. Holzel A, Schwarz V, Sutcliffe KW. Defective lactose absorption causing malnutrition in infancy. *Lancet*. 1959 May 30;1(7083):1126-8.
36. Savilahti E, Launiala K, Kuitunen P. Congenital lactase deficiency. A clinical study on 16 patients. *Arch Dis Child*. 1983 Apr;58(4):246-52.
37. Lifshitz F. Congenital lactase deficiency. *J Pediatr*. 1966 Aug;69(2):229-37.
38. Björkstén B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy*. 1999 Mar;29(3):342-6.
39. Colombo V, Lorenz-Meyer H, Semenza G. Small intestinal phlorizin hydrolase: the "beta-glycosidase complex". *Biochim Biophys Acta*. 1973 Dec 19;327(2):412-24.

40. Mantei N, Villa M,ENZLER T, Wacker H, Boll W, James P, Hunziker W, Semenza G. Complete primary structure of human and rabbit lactase-phlorizin hydrolase: implications for biosynthesis, membrane anchoring and evolution of the enzyme. *EMBO J.* 1988 Sep;7(9):2705-13.
41. 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 May;48(5):889-902.
42. Kruse TA, Bolund L, Grzeschik KH, Ropers HH, Sjöström H, Noren O, Mantei N, Semenza G. The human lactase-phlorizin hydrolase gene is located on chromosome 2. *FEBS Lett.* 1988 Nov 21;240(1-2):123-6.
43. Jacob R, Weiner JR, Stadge S, Naim HY. Additional N-glycosylation and its impact on the folding of intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *J Biol Chem.* 2000 Apr 7;275(14):10630-7.
44. Naim HY, Lentze MJ. Impact of O-glycosylation on the function of human intestinal lactase-phlorizin hydrolase. Characterization of glycoforms varying in enzyme activity and localization of O-glycoside addition. *J Biol Chem.* 1992 Dec 15;267(35):25494-504.
45. Naim HY, Sterchi EE, Lentze MJ. Biosynthesis and maturation of lactase-phlorizin hydrolase in the human small intestinal epithelial cells. *Biochem J.* 1987 Jan 15;241(2):427-34.
46. Wacker H, Keller P, Falchetto R, Legler G, Semenza G. Location of the two catalytic sites in intestinal lactase-phlorizin hydrolase. Comparison with sucrase-isomaltase and with other glycosidases, the membrane anchor of lactase-phlorizin hydrolase. *J Biol Chem.* 1992 Sep 15;267(26):18744-52.
47. Danielsen EM, Skovbjerg H, Noren O, Sjöström H. Biosynthesis of intestinal microvillar proteins. Intracellular processing of lactase-phlorizin hydrolase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984 Jul 18;122(1):82-90.

48. Buller HA, Montgomery RK, Sasak WV, Grand RJ. Biosynthesis, glycosylation, and intracellular transport of intestinal lactase-phlorizin hydrolase in rat. *J Biol Chem.* 1987 Dec 15;262(35):17206-11.
49. Naim HY, Naim H. Dimerization of lactase-phlorizin hydrolase occurs in the endoplasmic reticulum, involves the putative membrane spanning domain and is required for an efficient transport of the enzyme to the cell surface. *Eur J Cell Biol.* 1996 Jul;70(3):198-208.
50. Danielsen EM. Biosynthesis of intestinal microvillar proteins. Dimerization of aminopeptidase N and lactase-phlorizin hydrolase. *Biochemistry.* 1990 Jan 9;29(1):305-8.
51. Naim HY. The pro-region of human intestinal lactase-phlorizin hydrolase is enzymatically inactive towards lactose. *Biol Chem Hoppe Seyler.* 1995 Apr;376(4):255-8.
52. Jacob R, Brewer C, Fransen JA, Naim HY. Transport, function, and sorting of lactase-phlorizin hydrolase in Madin-Darby canine kidney cells. *J Biol Chem.* 1994 Jan 28;269(4):2712-21.
53. Jacob R, Zimmer KP, Naim H, Naim HY. The apical sorting of lactase-phlorizin hydrolase implicates sorting sequences found in the mature domain. *Eur J Cell Biol.* 1997 Jan;72(1):54-60.
54. Naim HY, Jacob R, Naim H, Sambrook JF, Gething MJ. The pro region of human intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *J Biol Chem.* 1994 Oct 28;269(43):26933-43.
55. Jacob R, Peters K, Naim HY. The prosequence of human lactase-phlorizin hydrolase modulates the folding of the mature enzyme. *J Biol Chem.* 2002 Mar 8;277(10):8217-25.
56. Simons K, Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. *Nature.* 1997 Jun 5;387(6633):569-72.

57. Alfalah M, Jacob R, Preuss U, Zimmer KP, Naim H, Naim HY. O-linked glycans mediate apical sorting of human intestinal sucrase-isomaltase through association with lipid rafts. *Curr Biol*. 1999 Jun 3;9(11):593-6.
58. Naim HY. Processing and transport of human small intestinal lactase-phlorizin hydrolase (LPH). Role of N-linked oligosaccharide modification. *FEBS Lett*. 1994 Apr 11;342(3):302-7.
59. Jacob R, Preuss U, Panzer P, Alfalah M, Quack S, Roth MG, Naim H, Naim HY. Hierarchy of sorting signals in chimeras of intestinal lactase-phlorizin hydrolase and the influenza virus hemagglutinin. *J Biol Chem*. 1999 Mar 19;274(12):8061-7.
60. Naim HY, Zimmer KP. Genetically Determined Disaccharidase Deficiency. Walker, Goulet, Kleinman, Sherman, Shneider, Sanderson (eds). *Pediatric Gastrointestinal Disease*, (880-893), Ontario, 2004.
61. Sahi T. Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1994;202:7-20.
62. Bayless TM, Rothfeld B, Massa C, Wise L, Paige D, Bedine MS. Lactose and milk intolerance: clinical implications. *N Engl J Med*. 1975 May 29;292(22):1156-9.
63. Bedine MS, Bayless TM. Intolerance of small amounts of lactose by individuals with low lactase levels. *Gastroenterology*. 1973 Nov;65(5):735-43.
64. Vesa TH, Korpela RA, Sahi T. Tolerance to small amounts of lactose in lactose maldigesters. *Am J Clin Nutr*. 1996 Aug;64(2):197-201.
65. 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 Engl J Med*. 1995 Jul 6;333(1):1-4.
66. 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 May;65(5):1502-6.

67. Malagelada JR. Lactose intolerance. *N Engl J Med*. 1995 Jul 6;333(1):53-4.
68. Houghton LA, Atkinson W, Whitaker RP, Whorwell PJ, Rimmer MJ. Increased platelet depleted plasma 5-hydroxytryptamine concentration following meal ingestion in symptomatic female subjects with diarrhoea predominant irritable bowel syndrome. *Gut*. 2003 May;52(5):663-70.
69. Wackerbauer R, Schmidt T. Symbolic dynamics of jejunal motility in the irritable bowel. *Chaos*. 1999 Sep;9(3):805-811.
70. Davidson GP, Robb TA. Value of breath hydrogen analysis in management of diarrheal illness in childhood: comparison with duodenal biopsy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1985 Jun;4(3):381-7.
71. Lifschitz CH, Bautista A, Gopalakrishna GS, Stuff J, Garza C. Absorption and tolerance of lactose in infants recovering from severe diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1985 Dec;4(6):942-8.
72. Forget P, Lombet J, Grandfils C, Dandrifosse G, Geubelle F. Lactase insufficiency revisited. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1985 Dec;4(6):868-72.
73. Krasilnikoff PA, Gudman-Hoyer E, Moltke HH. Diagnostic value of disaccharide tolerance tests in children. *Acta Paediatr Scand*. 1975 Sep;64(5):693-8.
74. Newcomer AD, McGill DB. Lactose tolerance tests in adults with normal lactase activity. *Gastroenterology*. 1966 Mar;50(3):340-6.
75. Vonk RJ, Priebe MG, Koetse HA, Stellaard F, Lenoir-Wijnkoop I, Antoine JM, Zhong Y, Huang CY. Lactose intolerance: analysis of underlying factors. *Eur J Clin Invest*. 2003 Jan;33(1):70-5.
76. Kneepkens CM, Bijleveld CM, Vonk RJ, Fernandes J. The daytime breath hydrogen profile in children with abdominal symptoms and diarrhoea. *Acta Paediatr Scand*. 1986 Jul;75(4):632-8.

77. Smith JA, Mayberry JF, Ansell ID, Long RG. Small bowel biopsy for disaccharidase levels: evidence that endoscopic forceps biopsy can replace the Crosby capsule. *Clin Chim Acta*. 1989 Aug 31;183(3):317-21.
78. Rana SV, Bhasin DK, Katyal R, Singh K. Comparison of duodenal and jejunal disaccharidase levels in patients with non ulcer dyspepsia. *Trop Gastroenterol*. 2001 Jul-Sep;22(3):135-6.
79. Newcomer AD, McGill DB. Distribution of disaccharidase activity in the small bowel of normal and lactase-deficient subjects. *Gastroenterology*. 1966 Oct;51(4):481-8.
80. Aramayo LA, De Silva DG, Hughes CA, Brown GA, McNeish AS. Disaccharidase activities in jejunal fluid. *Arch Dis Child*. 1983 Sep;58(9):686-91.
81. Von Tirpitz C, Kohn C, Steinkamp M, Geerling I, Maier V, Möller P, Adler G, Reinshagen M. Lactose intolerance in active Crohn's disease: clinical value of duodenal lactase analysis. *J Clin Gastroenterol*. 2002 Jan;34(1):49-53.
82. Pfefferkorn MD, Fitzgerald JF, Croffie JM, Gupta SK, Corkins MR, Molleston JP. Lactase deficiency: not more common in pediatric patients with inflammatory bowel disease than in patients with chronic abdominal pain. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002 Sep;35(3):339-43.
83. <http://digestive.niddk.nih.gov/ddiseases/pubs/lactoseintolerance/>
84. www.healthsystem.virginia.edu/internet/digestivehealth/nutrition/LactoseContent.pdf.
85. Birge SJ Jr, Keutmann HT, Cuatrecasas P, Whedon GD. Osteoporosis, intestinal lactase deficiency and low dietary calcium intake. *N Engl J Med*. 1967 Feb 23;276(8):445-8.
86. Newcomer AD, Hodgson SF, McGill DB, Thomas PJ. Lactase deficiency: prevalence in osteoporosis. *Ann Intern Med*. 1978 Aug;89(2):218-20.

87. Jarvis JK, Miller GD. Overcoming the barrier of lactose intolerance to reduce health disparities. *J Natl Med Assoc.* 2002 Feb;94(2):55-66.
88. Baker SS, Cochran WJ, Flores CA, Georgieff MK, Jacobson MS, Jaksic T, Krebs NF. American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Calcium requirements of infants, children, and adolescents. *Pediatrics.* 1999 Nov;104(5 Pt 1):1152-7.
89. Kanabar D, Randhawa M, Clayton P. Improvement of symptoms in infant colic following reduction of lactose load with lactase. *J Hum Nutr Diet.* 2001 Oct;14(5):359-63.
90. Alavi AK, Squillante E 3rd, Mehta KA. Formulation of enterosoluble microparticles for an acid labile protein. *J Pharm Pharm Sci.* 2002 Sep-Dec;5(3):234-44.
91. Fenton TR, Belik J. Routine handling of milk fed to preterm infants can significantly increase osmolality. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002 Sep;35(3):298-302.
92. Erasmus HD, Ludwig-Auser HM, Paterson PG, Sun D, Sankaran K. Enhanced weight gain in preterm infants receiving lactase-treated feeds: a randomized, double-blind, controlled trial. *J Pediatr.* 2002 Oct;141(4):532-7.
93. Vilotte JL. Lowering the milk lactose content in vivo: potential interests, strategies and physiological consequences. *Reprod Nutr Dev.* 2002 Mar-Apr;42(2):127-32.
94. Segall JJ. Dietary lactose as a possible risk factor for ischaemic heart disease: review of epidemiology. *Int J Cardiol.* 1994 Oct;46(3):197-207.
95. Meloni GF, Colombo C, La Vecchia C, Ruggiu G, Mannazzu MC, Ambrosini G, Cherchi PL. Lactose absorption in patients with ovarian cancer. *Am J Epidemiol.* 1999 Jul 15;150(2):183-6.
96. Cramer DW. Lactase persistence and milk consumption as determinants of ovarian cancer risk. *Am J Epidemiol.* 1989 Nov;130(5):904-10.

97. Meloni T, Colombo C, Ogana A, Mannazzu MC, Meloni GF. Lactose absorption in patients with glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency with and without favism. *Gut*. 1996 Aug;39(2):210-3.
98. Anderson B, Vullo C. Did malaria select for primary adult lactase deficiency? *Gut*. 1994 Oct;35(10):1487-9.
99. Simoons FJ. A geographic approach to senile cataracts: possible links with milk consumption, lactase activity, and galactose metabolism. *Dig Dis Sci*. 1982 Mar;27(3):257-64.
100. Rinaldi E, Albini L, Costagliola C, De Rosa G, Auricchio G, De Vizia B, Auricchio S. High frequency of lactose absorbers among adults with idiopathic senile and presenile cataract in a population with a high prevalence of primary adult lactose malabsorption. *Lancet*. 1984 Feb 18;1(8373):355-7.
101. Szilagyi A. Review article: lactose--a potential prebiotic. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002 Sep;16(9):1591-602.
102. Kozakova H, Rehakova Z, Kolinska J. *Bifidobacterium bifidum* monoassociation of gnotobiotic mice: effect on enterocyte brush-border enzymes. *Folia Microbiol (Praha)*. 2001;46(6):573-6.
103. Lin MY, Dipalma JA, Martini MC, Gross CJ, Harlander SK, Savaiano DA. Comparative effects of exogenous lactase (beta-galactosidase) preparations on in vivo lactose digestion. *Dig Dis Sci*. 1993 Nov;38(11):2022-7.
104. Rasinpera H, Savilahti E, Enattah NS, Kuokkanen M, Tötterman N, Lindahl H, Jarvela I, Kolho KL. A genetic test which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children. *Gut*. 2004 Nov;53(11):1571-6.
105. Reasoner J, Maculan TP, Rand AG, Thayer WR Jr. Clinical studies with low-lactose milk. *Am J Clin Nutr*. 1981 Jan;34(1):54-60.
106. Rask Pedersen E, Jensen BH, Jensen HJ, Keldsbo IL, Hylander Moller E, Norby Rasmussen S. Lactose malabsorption and tolerance of lactose-hydrolyzed

- milk. A double-blind controlled crossover study. *Scand J Gastroenterol*. 1982 Oct;17(7):861-4.
107. Nielsen OH, Schiotz PO, Rasmussen SN, Krasilnikoff PA. Calcium absorption and acceptance of low-lactose milk among children with primary lactase deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1984 Mar;3(2):219-23.
 108. Onwulata CI, Rao DR, Vankineni P. Relative efficiency of yogurt, sweet acidophilus milk, hydrolyzed-lactose milk, and a commercial lactase tablet in alleviating lactose maldigestion. *Am J Clin Nutr*. 1989 Jun;49(6):1233-7.
 109. Payne DL, Welsh JD, Manion CV, Tsegaye A, Herd LD. Effectiveness of milk products in dietary management of lactose malabsorption. *Am J Clin Nutr*. 1981 Dec;34(12):2711-5.
 110. Solomons NW, Guerrero AM, Torun B. Dietary manipulation of postprandial colonic lactose fermentation: II. Addition of exogenous, microbial beta-galactosidases at mealtime. *Am J Clin Nutr*. 1985 Feb;41(2):209-21.
 111. Barillas C, Solomons NW. Effective reduction of lactose maldigestion in preschool children by direct addition of beta-galactosidases to milk at mealtime. *Pediatrics*. 1987 May;79(5):766-72.
 112. Corazza GR, Benati G, Sorge M, Strocchi A, Calza G, Gasbarrini G. beta-Galactosidase from *Aspergillus niger* in adult lactose malabsorption: a double-blind crossover study. *Aliment Pharmacol Ther*. 1992 Feb;6(1):61-6.
 113. Montalto M, Nucera G, Santoro L, Curigliano V, Vastola M, Covino M, Cuoco L, Manna R, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Effect of exogenous beta-galactosidase in patients with lactose malabsorption and intolerance: a crossover double-blind placebo-controlled study. *Eur J Clin Nutr*. 2005 Apr;59(4):489-93.
 114. 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 Jan 14;12(2):187-91.

115. 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 Nov;87(5):1072-82.
116. DiPalma JA, Collins MS. Enzyme replacement for lactose malabsorption using a beta-D-galactosidase. *J Clin Gastroenterol*. 1989 Jun;11(3):290-3.
117. Biller JA, King S, Rosenthal A, Grand RJ. Efficacy of lactase-treated milk for lactose-intolerant pediatric patients. *J Pediatr*. 1987 Jul;111(1):91-4.
118. Suarez FL, Savaiano DA, Levitt MD. Review article: the treatment of lactose intolerance. *Aliment Pharmacol Ther*. 1995 Dec;9(6):589-97.
119. 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 Engl J Med*. 1995 Jul 6;333(1):1-4.
120. Flood MT, Kondo M. Toxicity evaluation of a beta-galactosidase preparation produced by *Penicillium multicolor*. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2004 Dec;40(3):281-92.
121. Adolfsson O, Meydani SN, Russell RM. Yogurt and gut function. *Am J Clin Nutr*. 2004 Aug;80(2):245-56.
122. Hove H, Norgaard H, Mortensen PB. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. *Eur J Clin Nutr*. 1999 May;53(5):339-50.
123. Bourlioux P, Pochart P. Nutritional and health properties of yogurt. *World Rev Nutr Diet*. 1988;56:217-58.
124. Kolars JC, Levitt MD, Aouji M, Savaiano DA. Yogurt--an autodigesting source of lactose. *N Engl J Med*. 1984 Jan 5;310(1):1-3.
125. McDonough FE, Hitchins AD, Wong NP, Wells P, Bodwell CE. Modification of sweet acidophilus milk to improve utilization by lactose-intolerant persons. *Am J Clin Nutr*. 1987 Mar;45(3):570-4.

126. Gorbach SL. Lactic acid bacteria and human health. *Ann Med.* 1990 Feb;22(1):37-41.
127. Savaiano DA, AbouElAnouar A, Smith DE, Levitt MD. Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase-deficient individuals. *Am J Clin Nutr.* 1984 Dec;40(6):1219-23.
128. Mustapha A, Jiang T, Savaiano DA. Improvement of lactose digestion by humans following ingestion of unfermented acidophilus milk: influence of bile sensitivity, lactose transport, and acid tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. *J Dairy Sci.* 1997 Aug;80(8):1537-45.
129. Lin MY, Yen CL, Chen SH. Management of lactose maldigestion by consuming milk containing lactobacilli. *Dig Dis Sci.* 1998 Jan;43(1):133-7.
130. Labayen I, Forga L, Gonzalez A, Lenoir-Wijnkoop I, Nutr R, Martinez JA. Relationship between lactose digestion, gastrointestinal transit time and symptoms in lactose malabsorbers after dairy consumption. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001 Apr;15(4):543-9.
131. de Vrese M, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S, Laue C, Schrezenmeir J. Probiotics--compensation for lactase insufficiency. *Am J Clin Nutr.* 2001 Feb;73(2 Suppl):421S-429S.
132. Leichter J. Comparison of whole milk and skim milk with aqueous lactose solution in lactose tolerance testing. *Am J Clin Nutr.* 1973 Apr;26(4):393-6.
133. Spiller RC, Trotman IF, Higgins BE, Ghatei MA, Grimble GK, Lee YC, Bloom SR, Misiewicz JJ, Silk DB. The ileal brake--inhibition of jejunal motility after ileal fat perfusion in man. *Gut.* 1984 Apr;25(4):365-74.
134. Holgate AM, Read NW. Effect of ileal infusion of intralipid on gastrointestinal transit, ileal flow rate, and carbohydrate absorption in humans after ingestion of a liquid meal. *Gastroenterology.* 1985 Apr;88(4):1005-11.

135. Houghton LA, Mangnall YF, Read NW. Effect of incorporating fat into a liquid test meal on the relation between intragastric distribution and gastric emptying in human volunteers. *Gut*. 1990 Nov;31(11):1226-9.
136. Cavalli-Sforza LT, Strata A. Double-blind study on the tolerance of four types of milk in lactose malabsorbers and absorbers. *Hum Nutr Clin Nutr*. 1987 Jan;41(1):19-30.
137. Vesa TH, Marteau PR, Briet FB, 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 Dec;127(12):2316-20.
138. Martini MC, Savaiano DA. Reduced intolerance symptoms from lactose consumed during a meal. *Am J Clin Nutr*. 1988 Jan;47(1):57-60.
139. Peuhkuri K, Vapaatalo H, Nevala R, Korpela R. Influence of the pharmacological modification of gastric emptying on lactose digestion and gastrointestinal symptoms. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999 Jan;13(1):81-6.
140. Motouri M, Matsuyama H, Yamamura J, Tanaka M, Aoe S, Iwanaga T, Kawakami H. Milk sphingomyelin accelerates enzymatic and morphological maturation of the intestine in artificially reared rats. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003 Feb;36(2):241-7.
141. Buchmiller-Crair TL, Gregg JP, Rivera FA Jr, Choi RS, Diamond JM, Fonkalsrud EW. Delayed disaccharidase development in a rabbit model of intrauterine growth retardation. *Pediatr Res*. 2001 Oct;50(4):520-4.
142. Lee PC, Struve M, Raff H. Effects of hypoxia on the development of intestinal enzymes in neonatal and juvenile rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2003 Jun;228(6):717-23.
143. Antonowicz I, Lebenthal E. Developmental pattern of small intestinal enterokinase and disaccharidase activities in the human fetus. *Gastroenterology*. 1977 Jun;72(6):1299-303.

144. McClure RJ, Newell SJ. Randomized controlled study of digestive enzyme activity following trophic feeding. *Acta Paediatr.* 2002;91(3):292-6.
145. Sangild PT, Petersen YM, Schmidt M, Elnif J, Petersen TK, Buddington RK, Greisen G, Michaelsen KF, Burrin DG. Preterm birth affects the intestinal response to parenteral and enteral nutrition in newborn pigs. *J Nutr.* 2002 Dec;132(12):3786-94.
146. Gilat T, Russo S, Gelman-Malachi E, Aldor TA. Lactase in man: a nonadaptable enzyme. *Gastroenterology.* 1972 Jun;62(6):1125-7.
147. Habte D, Sterky G, Hjalmarsson B. Lactose malabsorption in Ethiopian children. *Acta Paediatr Scand.* 1973 Nov;62(6):649-54.
148. Stephenson LS, Latham MC. Lactose intolerance and milk consumption: the relation of tolerance to symptoms. *Am J Clin Nutr.* 1974 Mar;27(3):296-303.
149. Sadre M, Karbasi K. Lactose intolerance in Iran. *Am J Clin Nutr.* 1979 Sep;32(9):1948-54.
150. Johnson AO, Semenya JG, Buchowski MS, Enwonwu CO, Scrimshaw NS. Adaptation of lactose maldigesters to continued milk intakes. *Am J Clin Nutr.* 1993 Dec;58(6):879-81.
151. Hertzler SR, Savaiano DA. Colonic adaptation to daily lactose feeding in lactose maldigesters reduces lactose intolerance. *Am J Clin Nutr.* 1996 Aug;64(2):232-6.
152. Hertzler SR, Savaiano DA, Levitt MD. Fecal hydrogen production and consumption measurements. Response to daily lactose ingestion by lactose maldigesters. *Dig Dis Sci.* 1997 Feb;42(2):348-53.
153. Hill MJ. Bacterial adaptation to lactase deficiency. Delmont J, ed. *Milk intolerances and rejection.* Basel, Switzerland: Karger, 1983: 22-26.

154. Perman JA, Modler S, Olson AC. Role of pH in production of hydrogen from carbohydrates by colonic bacterial flora. Studies in vivo and in vitro. *J Clin Invest.* 1981 Mar;67(3):643-50.
155. Haverberg L, Kwon PH, Scrimshaw NS. Comparative tolerance of adolescents of differing ethnic backgrounds to lactose-containing and lactose-free dairy drinks. I. Initial experience with a double-blind procedure. *Am J Clin Nutr.* 1980 Jan;33(1):17-21.
156. Vonk RJ, Priebe MG, Koetse HA, Stellaard F, Lenoir-Wijnkoop I, Antoine JM, Zhong Y, Huang CY. Lactose intolerance: analysis of underlying factors. *Eur J Clin Invest.* 2003 Jan;33(1):70-5.
157. Ingram CJ, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekegn A, Raga TO, Bekele E, Elamin FM, Thomas MG, Bradman N, Swallow DM. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet.* 2007 Feb;120(6):779-88.
158. Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman JS, Powell K, Mortensen HM, Hirbo JB, Osman M, Ibrahim M, Omar SA, Lema G, Nyambo TB, Ghori J, Bumpstead S, Pritchard JK, Wray GA, Deloukas P. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet.* 2007 Jan;39(1):31-40.
159. Imtiaz F, Savilahti E, Sarnesto A, Trabzuni D, Al-Kahtani K, Kagevi I, Rashed MS, Meyer BF, Jarvela I. The T/G 13915 variant upstream of the lactase gene (LCT) is the founder allele of lactase persistence in an urban Saudi population. *J Med Genet.* 2007 Oct;44(10):e89.
160. Enattah NS, Jensen TG, Nielsen M, Lewinski R, Kuokkanen M, Rasinpera H, El-Shanti H, Seo JK, Alifrangis M, Khalil IF, Natah A, Ali A, Natah S, Comas D, Mehdi SQ, Groop L, Vestergaard EM, Imtiaz F, Rashed MS, Meyer B, Troelsen J, Peltonen L. Independent introduction of two lactase-persistence alleles into human populations reflects different history of adaptation to milk culture. *Am J Hum Genet.* 2008 Jan;82(1):57-72.

161. <http://consensus.nih.gov/2010/lactoseabstracts.htm>
162. Rasinpera H, Forsblom C, Enattah NS, Halonen P, Salo K, Victorzon M, Mecklin JP, Jarvinen H, Enholm S, Sellick G, Alazzouzi H, Houlston R, Robinson J, Groop PH, Tomlinson I, Schwartz S Jr, Aaltonen LA, Jarvela I. The C/C-13910 genotype of adult-type hypolactasia is associated with an increased risk of colorectal cancer in the Finnish population. *Gut*. 2005 May;54(5):643-7.
163. Kuokkanen M, Butzow R, Rasinpera H, Medrek K, Nilbert M, Malander S, Lubinski J, Jarvela I. Lactase persistence and ovarian carcinoma risk in Finland, Poland and Sweden. *Int J Cancer*. 2005 Oct 20;117(1):90-4.
164. Bodlaj G, Stöcher M, Hufnagl P, Hubmann R, Biesenbach G, Stekel H, Berg J. Genotyping of the lactase-phlorizin hydrolase -13910 polymorphism by LightCycler PCR and implications for the diagnosis of lactose intolerance. *Clin Chem*. 2006 Jan;52(1):148-51.
165. Rasinpera H, Saarinen K, Pelkonen A, Jarvela 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 Apr 14;12(14):2264-8.
166. Lehtimäki T, Hemminki J, Rontu R, Mikkilä V, Rasanen L, Laaksonen M, Hutri-Kahonen N, Kahonen M, Viikari J, Raitakari O. The effects of adult-type hypolactasia on body height growth and dietary calcium intake from childhood into young adulthood: a 21-year follow-up study--the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Pediatrics*. 2006 Oct;118(4):1553-9.
167. Lember M, Torniainen S, Kull M, Kallikorm R, Saadla P, Rajasalu T, Komu H, Jarvela I. Lactase non-persistence and milk consumption in Estonia. *World J Gastroenterol*. 2006 Dec 7;12(45):7329-31.
168. Borinskaia SA, Rebrikov DV, Nefedova VV, Kofiadi IA, Sokolova MV, Kolchina EV, Kulikova EA, Chernyshov VN, Kutsev SI, Polonikov AV, Ivanov VP, Kozlov AI, Iankovskii NK. Molecular diagnosis and frequencies of primary

hypolactasia in populations of RUSSIA and neighboring countries. *Genetika*. 2005 Aug;41(8):1132-6.

169. Anthoni SR, Rasinperä HA, Kotamies AJ, Komu HA, Pihlajamäki HK, Kolho KL, Jarvela IE. Molecularly defined adult-type hypolactasia among working age people with reference to milk consumption and gastrointestinal symptoms. *World J Gastroenterol*. 2007 Feb 28;13(8):1230-5.
170. Torniainen S, Hedelin M, Autio V, Rasinpera H, Balter KA, Klint A, Bellocco R, Wiklund F, Stattin P, Ikonen T, Tammela TL, Schleutker J, Grönberg H, Jarvela I. Lactase persistence, dietary intake of milk, and the risk for prostate cancer in Sweden and Finland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007 May;16(5):956-61.
171. Enattah NS, Kuokkanen M, Forsblom C, Natah S, Oksanen A, Jarvela I, Peltonen L, Savilahti E. Correlation of intestinal disaccharidase activities with the C/T-13910 variant and age. *World J Gastroenterol*. 2007 Jul 7;13(25):3508-12.
172. 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, Mehdi SQ, Terwilliger JD, Sahi T, Savilahti E, Perola M, Sajantila A, Jarvela I, Peltonen L. Evidence of still-ongoing convergence evolution of the lactase persistence T-13910 alleles in humans. *Am J Hum Genet*. 2007 Sep;81(3):615-25.
173. Schirru E, Corona V, Usai-Satta P, Scarpa M, Cucca F, De Virgiliis S, Rossino R, Frau F, Macis MD, Jores RD, Congia M. Decline of lactase activity and c/t-13910 variant in Sardinian childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007 Oct;45(4):503-6.
174. Lehtimäki T, Hutri-Kahönen N, Kahönen M, Hemminki J, Mikkilä V, Laaksonen M, Rasanen L, Mononen N, Juonala M, Marniemi J, Viikari J, Raitakari O. Adult-type hypolactasia is not a predisposing factor for the early

functional and structural changes of atherosclerosis: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Clin Sci (Lond)*. 2008 Nov;115(9):265-71.

175. Waud JP, Matthews SB, Campbell AK. Measurement of breath hydrogen and methane, together with lactase genotype, defines the current best practice for investigation of lactose sensitivity. *Ann Clin Biochem*. 2008 Jan;45(Pt 1):50-8.
176. Krawczyk M, Wolska M, Schwartz S, Gruenhage F, Terjung B, Portincasa P, Sauerbruch T, Lammert F. Concordance of genetic and breath tests for lactose intolerance in a tertiary referral centre. *J Gastrointest Liver Dis*. 2008 Jun;17(2):135-9.
177. Mottes M, Belpinati F, Milani M, Saccomandi D, Petrelli E, Calacoci M, Chierici R, Pignatti PF, Borgna-Pignatti C. Genetic testing for adult-type hypolactasia in Italian families. *Clin Chem Lab Med*. 2008;46(7):980-4.
178. Jorgensen MK, Thode J, Davidsen B, Gerner C, Bathum L. Diagnosing lactose intolerance in adults. *Ugeskr Laeger*. 2008 Oct 13;170(42):3309-12.
179. Bacsi K, Hitre E, Kosa JP, Horvath H, Lazary A, Lakatos PL, Balla B, Budai B, Lakatos P, Speer G. Effects of the lactase 13910 C/T and calcium-sensor receptor A986S G/T gene polymorphisms on the incidence and recurrence of colorectal cancer in Hungarian population. *BMC Cancer*. 2008 Nov 3;8:317.
180. Nagy D, Bogacsi-Szabo E, Varkonyi A, Csanyi B, Czibula A, Bede O, Tari B, Rasko I. Prevalence of adult-type hypolactasia as diagnosed with genetic and lactose hydrogen breath tests in Hungarians. *Eur J Clin Nutr*. 2009 Jul;63(7):909-12.
181. Khabarova YA, Tornaiainen ST, Nurmi HA, Jarvela IE, Isokoski MK, Mattila KJ. Prevalence of lactase persistent/non-persistent genotypes and milk consumption in a young population in north-west Russia. *World J Gastroenterol*. 2009 Apr 21;15(15):1849-53.
182. Babu J, Kumar S, Babu P, Prasad JH, Ghoshal UC. Frequency of lactose malabsorption among healthy southern and northern Indian populations by

- genetic analysis and lactose hydrogen breath and tolerance tests. *Am J Clin Nutr*. 2010 Jan;91(1):140-6.
- 183.** Khabarova Y, Torniaainen S, Savilahti E, Isokoski M, Mattila K, Jarvela I. The -13914G>A variant upstream of the lactase gene (LCT) is associated with lactase persistence/non-persistence. *Scand J Clin Lab Invest*. 2010 May 31.
 - 184.** Olds LC, Sibley E. Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element. *Hum Mol Genet*. 2003 Sep 15;12(18):2333-40.
 - 185.** Troelsen JT, Olsen J, Moller J, Sjöström H. An upstream polymorphism associated with lactase persistence has increased enhancer activity. *Gastroenterology*. 2003 Dec;125(6):1686-94.
 - 186.** Bulhøes AC, Goldani HA, Oliveira FS, Matte US, Mazzuca RB, Silveira TR. Correlation between lactose absorption and the C/T-13910 and G/A-22018 mutations of the lactase-phlorizin hydrolase (LCT) gene in adult-type hypolactasia. *Braz J Med Biol Res*. 2007 Nov;40(11):1441-6.
 - 187.** 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 Jun;74(6):1111-20.
 - 188.** Coelho M, Luiselli D, Bertorelle G, Lopes AI, Seixas S, Destro-Bisol G, Rocha J. Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. *Hum Genet*. 2005 Aug;117(4):329-39.
 - 189.** Högenauer 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 lactase non-persistence. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005 Mar;17(3):371-6.
 - 190.** Schirru E, Corona V, Usai-Satta P, Scarpa M, Oppia F, Loriga F, Cucca F, De Virgiliis S, Rossino R, Macis MD, Jores RD, Congia M. Genetic testing

improves the diagnosis of adult type hypolactasia in the Mediterranean population of Sardinia. *Eur J Clin Nutr.* 2007 Oct;61(10):1220-5.

191. Kerber M, Oberkanins C, Kriegshauser G, Kollerits B, Dossenbach-Glaninger A, Fuchs D, Ledochowski M. Hydrogen breath testing versus LCT genotyping for the diagnosis of lactose intolerance: a matter of age? *Clin Chim Acta.* 2007 Aug;383(1-2):91-6.
192. Meloni GF, Colombo C, La Vecchia C, Pacifico A, Tomasi P, Ogana A, Marinaro AM, Meloni T. High prevalence of lactose absorbers in Northern Sardinian patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 2001 Mar;73(3):582-5.
193. Caspary WF, Rhein AM, Creutzfeldt W. Increase of intestinal brush border hydrolases in mucosa of streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologica.* 1972;8:412-4.
194. Madara JL, Wolf JL, Trier JS. Structural features of the rat small intestinal microvillous membrane in acute experimental diabetes. *Dig Dis Sci.* 1982;27:801-6.
195. Enattah NS, Forsblom C, Rasinpera H, Tuomi T, Groop PH, Jarvela I. The genetic variant of lactase persistence C (-13910) T as a risk factor for type I and II diabetes in the Finnish population. *Eur J Clin Nutr.* 2004 Sep;58(9):1319-22.
196. Almon R, Alvarez-Leon EE, Engfeldt P, Serra-Majem L, Magnuson A, Nilsson TK. Associations between lactase persistence and the metabolic syndrome in a cross-sectional study in the Canary Islands. *Eur J Nutr.* 2009 Oct 22.
197. Simoons FJ. A geographic approach to senile cataracts: possible links with milk consumption, lactase activity, and galactose metabolism. *Dig Dis Sci.* 1982 Mar;27(3):257-64.
198. Stambolian D. Galactose and cataract. *Surv Ophthalmol.* 1988 Mar-Apr;32(5):333-49.

199. Couet C, Jan P, Debry G. Lactose and cataract in humans: a review. *J Am Coll Nutr.* 1991 Feb;10(1):79-86.
200. Reddy VN, Schwass D, Chakrapani B, Lim CP. Biochemical changes associated with the development and reversal of galactose cataracts. *Exp Eye Res.* 1976 Nov;23(5):483-93.
201. Mackic JB, Ross-Cisneros FN, McComb JG, Bekhor I, Weiss MH, Kannan R, Zlokovic BV. Galactose-induced cataract formation in guinea pigs: morphologic changes and accumulation of galactitol. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994 Mar;35(3):804-10.
202. Obermayer-Pietsch BM, Bonelli CM, Walter DE, Kuhn RJ, Fahrleitner-Pammer A, Berghold A, Goessler W, Stepan V, Dobnig H, Leb G, Renner W. Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. *J Bone Miner Res.* 2004 Jan;19(1):42-7.
203. Enattah N, Valimaki VV, Valimaki MJ, Löyttyniemi E, Sahi T, Jarvela I. Molecularly defined lactose malabsorption, peak bone mass and bone turnover rate in young finnish men. *Calcif Tissue Int.* 2004 Dec;75(6):488-93.
204. Esterle L, Sabatier JP, Guillon-Metz F, Walrant-Debray O, Guaydier-Souquieres G, Jehan F, Garabedian M. Milk, rather than other foods, is associated with vertebral bone mass and circulating IGF-1 in female adolescents. *Osteoporos Int.* 2009 Apr;20(4):567-75.
205. Enattah NS, Sulkava R, Halonen P, Kontula K, Jarvela I. Genetic variant of lactase-persistent C/T-13910 is associated with bone fractures in very old age. *J Am Geriatr Soc.* 2005 Jan;53(1):79-82.
206. Laaksonen MM, Impivaara O, Sievanen H, Viikari JS, Lehtimäki TJ, Lamberg-Allardt CJ, Karkkainen MU, Valimaki M, Heikkinen J, Kröger LM, Kröger HP, Jurvelin JS, Kahönen MA, Raitakari OT; Cardiovascular Risk in Young Finns Study Group. Associations of genetic lactase non-persistence and sex with bone loss in young adulthood. *Bone.* 2009 May;44(5):1003-9.

207. Piepoli A, Schirru E, Mastroilli A, Gentile A, Cotugno R, Quitadamo M, Merla A, Congia M, Usai Satta P, Perri F. Genotyping of the lactase-phlorizin hydrolase c/t-13910 polymorphism by means of a new rapid denaturing high-performance liquid chromatography-based assay in healthy subjects and colorectal cancer patients. *J Biomol Screen*. 2007 Aug;12(5):733-9.
208. Goodman MT, Wu AH, Tung KH, McDuffie K, Kolonel LN, Nomura AM, Terada K, Wilkens LR, Murphy S, Hankin JH. Association of dairy products, lactose, and calcium with the risk of ovarian cancer. *Am J Epidemiol* 2002;156:148–57.
209. Bidoli E, La Vecchia C, Talamini R, Negri E, Parpinel M, Conti E, Montella M, Carbone MA, Franceschi S. Micronutrients and ovarian cancer: a case-control study in Italy. *Ann Oncol* 2001;12:1589–93.
210. Timpson NJ, Brennan P, Gaborieau V, Moore L, Zaridze D, Matveev V, Szeszenia-Dabrowska N, Lissowska J, Mates D, Bencko V, Foretova L, Janout V, Chow WH, Rothman N, Boffetta P, Harbord RM, Smith GD. Can lactase persistence genotype be used to reassess the relationship between renal cell carcinoma and milk drinking? Potentials and problems in the application of Mendelian randomization. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010 May;19(5):1341-8.
211. Green PH, Jabri B. Celiac disease. *Annu Rev Med*. 2006;57:207-21.
212. Dieterich W, Esslinger B, Schuppan D. Pathomechanisms in celiac disease. *Int Arch Allergy Immunol*. 2003 Oct;132(2):98-108.
213. Jones RB, Robins GG, Howdle PD. Advances in celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2006 Mar;22(2):117-23.
214. Wahab PJ, Meijer JW, Dumitra D, Goerres MS, Mulder CJ. Coeliac disease: more than villous atrophy. *Rom J Gastroenterol*. 2002 Jun;11(2):121-7.
215. See J, Murray JA. Gluten-free diet: the medical and nutrition management of celiac disease. *Nutr Clin Pract*. 2006 Feb;21(1):1-15.

- 216.** Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol.* 1984 Oct;111(4):395-402.
- 217.** James MW, Scott BB. Endomysial antibody in the diagnosis and management of coeliac disease. *Postgrad Med J.* 2000 Aug;76(898):466-8.
- 218.** Gheller-Rigoni AI, Yale SH, Abdulkarim AS. Celiac Disease: celiac sprue, gluten-sensitive enteropathy. *Clin Med Res.* 2004 Feb;2(1):71-2.
- 219.** <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003500.htm>
- 220.** <http://www.foodscience.uoguelph.ca/dairyedu/yogurt.html>

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**LAKTOZ İNTOLERANSI BULUNANLARDA LAKTAZ (-13910 T/C VE 228 A/G)
GEN POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Canan YİĞİT

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi: 01.08.2006

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 18.08.2010

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 18.08.2010

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ebubekir BAKAN

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Nuri BAKAN

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zühal UMUDUM

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Halil YAZGI


Prof. Dr. Ebubekir BAKAN
Tıbbi Biyokimya AD Başkanı

Ağustos-2010

ERZURUM