

Diagnosticering af laktoseintolerans hos voksne

Kemiker Mikala Klok Jørgensen, overlæge Jørgen Thode, overlæge Bogi Davidsen, overlæge Christian Gerner & overlæge Lise Bathum

Region Sjælland Sygehus Syd, Slagelse Sygehus,
Klinisk Biokemisk Afdeling og Afdeling for Gastroenterologi

Resume

Introduktion: Primær adult laktoseintolerans er tæt korreleret til genotypen CC i en regulerende sekvens tilknyttet laktasegenet (LCT-13910), hvorimod genotyperne CT eller TT i denne position korrelerer til laktosetolerans. Genotypning er indført som rutineanalyse for primær laktoseintolerans for patienter, der er henvist fra speciallæger og sygehusafdelinger i det daværende Vestsjællands Amt. Vi har her bestemt genotypefordelingen i en gruppe bloddonorer og sammenlignet den med fordelingen blandt de henviste patienter.

Materiale og metoder: DNA blev isoleret fra 478 patienter og 100 bloddonorer. Et DNA-stykke, der overlappede med den relevante gensekvens, blev amplificeret med *real-time*-PCR og analyseret ved smeltepunktsanalyse.

Resultater: I gruppen af donorer fandt vi genotypefordelingen 8% CC, 38% CT og 54% TT og hos de henviste patienter fordelingen 14% CC, 37% CT, 48% TT.

Konklusion: Hyppigheden af CC-genotypen korreleret med laktoseintolerans er næsten dobbelt så stor i patientgruppen sammenlignet med kontrolgruppen. Gentesten er let at anvende i klinisk brug.

Mælkesukkerintolerans (primær laktoseintolerans, adult-type) er en recessiv, arvelig tilstand, hvor evnen til at nedbryde mælkesukker næsten forsvinder under opvæksten grundet nedgang i produktionen af fordøjelsenzymet laktase-phlorizin-hydrolase (LPH). Dette enzym spaltes laktosen i monosakkariderne glukose og galaktose, der i modsætning til laktose kan optages fra tarmen. Ved laktoseintolerans forbliver laktosen i tarmen og bliver i kolon nedbrudt af tarmbakterierne. Dette resulterer i dannelse af luft og symptomerne mavesmerter, diarré og oppustethed.

Prævalensen af primær laktoseintolerans viser udtalt etnisk variation og varierer fra den laveste forekomst på 5% i Nord-europa til næsten 100% i de asiatiske befolkninger [1]. Størstedelen af verdens befolkning er laktoseintolerante. I 2002 identificerede en finsk gruppe flere hyppige genetiske variationer i relation til laktasegenet (LCT), der koder for LPH [2]. Genotypen i position 13.910 foran laktasegenet (C eller T) var korreleret til adult-type hypolaktasi (laktase nonpersistens), hvor homozygositet for C-varianten fuldstændig kunne forklare forekomsten af denne tilstand. Flere studier har bekræftet

denne association i europæiske, nordafrikanske og asiatiske populationer [3-7], mens studier af udvalgte afrikanske befolkningsgrupper syd for Sahara ikke kunne eftervise dette [8].

Medfødt laktaseinsufficiens med et fuldstændigt fravær af enzymet er sjælden og giver symptomer fra fødslen, da modernælk indeholder laktose. Barnet trives ikke og har sure afføringer. Denne tilstand skyldes også genetisk variation i laktasegen locus, men er af en helt anden natur end primær adult laktoseintolerans [9, 10].

Laktoseintolerans ses også i en sekundær form ved sygdomme, der påvirker slimhinderne i tarmen, f.eks. ubehandlet coliaci.

Laktose findes naturligt i mælk og mælkeprodukter, uanset om mælken kommer fra køer, får eller geder. De fleste patienter med laktoseintolerans tåler 1-2 dl mælk (7-12 g laktose) uden at få symptomer, dog bedst i forbindelse med et måltid [11, 12]. Syrnede mælkeprodukter tåles bedre, da de har et lavere indhold af laktose, mens faste oste og skimmeloste indeholder meget lidt laktose og typisk kan indtages ubegrænset. Laktose tilsættes imidlertid industrielle levnedsmidler i stigende grad, hvorfor problemet muligvis øges.

Diagnosticering af laktoseintolerans

Biopsi: Tilstanden kan diagnosticeres ved direkte bestemmelse af enzymet LPH i en tyndtarmsbiopsi. Denne metode betragtes som guldstandard, men den er ikke anvendelig ved et større patientantal. Der er derfor udviklet flere indirekte, ikkeinvasive metoder:

Selvdiagnosticering: Diagnosen stilles af patienten selv, ved at denne ophører med at indtage mælkeholdig føde i nogle dage og derefter indtager 2-3 glas mælk. Giver dette symptomer, er diagnosen laktoseintolerans sandsynlig.

Laktosebelastning: Denne metode er formentlig den hyppigst anvendte i Danmark. Patienten møder fastende. Der foretages blodsuktermålinger før og efter indtagelse af 50 g laktose. Blodsukkeret måles hvert kvarter i minimum en time, og en stigning på mindre end 1,4 mmol/l, eventuelt med samtidig tilstedeværelse af symptomer, bekræfter diagnosen. Metoden kan ikke anvendes hos diabetikere [13, 14].

Analyse af udåndingsluft: Måling af hydrogen i udåndingsluft før og hver halve time i to timer efter indtagelse af 50 g mælkesukker. Patienten møder fastende. Ved en stigning på mere end 20 ppm efter laktoseindtagelse betragtes undersøgelsen som positiv for laktoseintolerans [15].

Genotypning for LCT-13910 C/T: Undersøgelse for polymorfien-13910 C/T på genomisk DNA, typisk fra en blodprøve.

Af de ovennævnte metoder er kun gentesten specifik for primær adult laktoseintolerans.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | ORIGINALARTIKEL

Materiale og metoder

Genotypning blev indført som rutineanalyse for primær laktoseintolerans for patienter henvist fra speciallæger og sygehusafdelinger i det daværende Vestsjællands Amt 1. januar 2006. I alt 478 patienter har fået bestemt LCT-13910 genotype i perioden frem til 31. august 2007. For at vurdere fordelingen af genotyperne i befolkningen, er der desuden blevet foretaget genotypning af en kontrolgruppe på 100 anonyme bloddonorer. Bloddonorerne er udvalgt tilfældigt i januar og februar 2007 i blodbanken på Slagelse Sygehus.

Kromosomt DNA blev isoleret fra 200 mikroliter EDTA fuldblod eller *buffy coat* ved anvendelse af »High Pure PCR template Preparation kit« (Roche Diagnostics). Ved genotypningen blev anvendt analysekittet »LactoScan« (AnDiaTec GmbH, Tyskland) i overensstemmelse med producentens vejledning og »LightCycler« *real-time PCR*-apparatur og tilhørende software (Roche Diagnostics). Genotypningen er baseret på tolkning af smeltekurver (Figur 1).

STATA 8,2 blev anvendt til de statistiske beregninger.

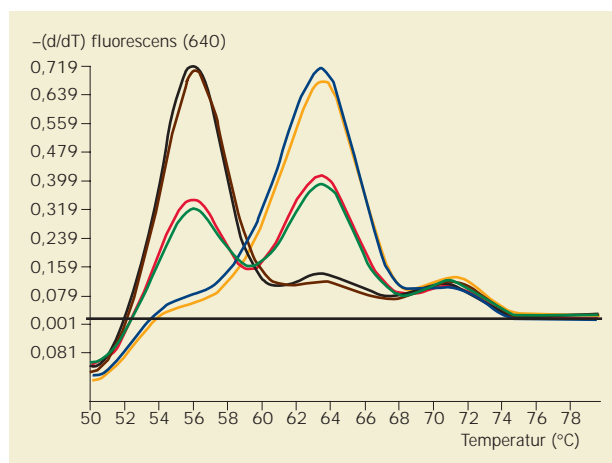
Resultater

Genotypefordelingen i de to populationer ses i Tabel 1. Fordelingen blandt bloddonorerne var i (*Hardy-Weinberg*) ligevægt ($p = 0,71$), hvorimod fordelingen i patientpopulationen ikke var i ligevægt ($p < 0,01$).

Det er velkendt, at der ved genotypning kan forekomme atypiske mønstre, hvor smeltekurven forløber anderledes end ved de kendte genotyper CC, CT og TT. Dette skyldes formentlig forekomst af genetiske polymorfier tæt på den genotype, der undersøges for [16]. Hos disse patienter kan der ikke afgives svar.

Diskussion

Tidligere studier har vist overensstemmelse mellem laktase-



Figur 1. Kurveforløb ved smeltepunktanalyse. Top ved 56 °C ses ved genotypen TT og top 63,5 °C ved genotypen CC. Prøver med begge toppe er heterozygote CT.

Tabel 1. Resultater fra patient- henholdsvis bloddonorpopulationen.

Genotype	Diagnostiske analyser n (%)	Kontrolpersoner (bloddonor) n
LCT-13910-CC	69 (14)	8
LCT-13910-CT	176 (37)	38
LCT-13910-TT	229 (48)	54
Atypisk mønster	4 (1)	-
Antal analyser	478 (100)	100

aktivitet i tyndtarmsbiopsier og LCT gentest i 329 børn [17] og 222 voksne [18], der gennemgik gastroscopi. LCT-13910-CC-genotypen var associeret med meget lav laktaseaktivitet i størstedelen af børnene under otte år, i alle børnene over 12 år og hos alle voksne. Personer med genotypen CT har lavere laktaseaktivitet end personer med allel-kombinationen TT [3, 17, 18]. Imidlertid har CT-gruppen tilstrækkelig laktaseaktivitet til, at der ikke optræder kliniske symptomer. I overensstemmelse hermed er det tidligere fundet, at personer med genotyperne CT og TT ikke viser forskellig blodsukkerstigning ved laktosebelastning [5].

Der er publiceret flere studier, hvor man har sammenlignet LCT gentest med en belastningstest (analyse af udåndingsluft eller blodsukkermåling efter belastning med laktose) [4, 5, 19]. Disse viser overensstemmelse mellem gentest og belastningstest i 90-94% af de undersøgte patienter. De resterende 6-10% var patienter med genotype CC og negativ belastningstest eller patienter med genotype CT/TT og positiv belastning. En gruppe har gentaget belastningen hos patienter med genotype CC og negativ belastning, hvorved belastningstesten blev fundet positiv [19]. I CT/TT-gruppen med positiv belastning findes hos nogle patienter anden gastrointestinal sygdom, som evt. kan forklare en sekundær laktoseintolerans [11, 19]. Der er kun moderat overensstemmelse mellem de to belastningstests [4].

Den genetiske test, som er anvendt her, kan ikke diagnosticere 4/478 (1%) af patientprøverne, da der fremkommer atypiske mønstre, formentlig pga. polymorfier under proben. I disse tilfælde meddeles rekvisitent, at patienten antageligt har en atypisk gensækvens i det undersøgte område, og at vi ikke kender betydningen for evnen til at nedbryde laktose. Vi har i disse tilfælde tilbudt en laktosebelastning.

Frekvensen af laktoseintolerans er estimeret til omkring 5% i Nordeuropa [1]. I vores undersøgelse af donorer har vi fundet, at omkring 8% har en genotype (LCT-13910-CC), der er forenelig med forekomst af laktoseintolerans. Genotypefordelingen kan sammenlignes med flere tidligere studier: I et studie fik 635 etnisk svenske børn bestemt genotype, og der blev fundet en fordeling, hvor genotypen CC udgjorde 10%, CT 41% og TT 49% [6]. Denne fordeling er i overensstemmelse med vores fund. Studier i den finske befolkning viser en fordeling på 18% med genotype CC, 47% med CT og 35% med

VIDENSKAB OG PRAKSIS | ORIGINALARTIKEL

TT [11]. Et østrigsk studie fandt en hyppigere forekomst af CC genotypen. Her var genotypfordelingen CC 21%; CT 42% og TT 37% blandt 220 østrigere [20]. Dette viser, at genotypfordelingen er etnisk bestemt, og at den danske befolkning har en forholdsvis lav frekvens af den genotype, som kan forårsage laktoseintolerans.

Fordelingen af genotyper er signifikant forskellig mellem de to undersøgte populationer med en stigning i genotypen, der er forenelig med laktoseintolerans (LCT-13.910-CC) fra 8% blandt bloddonorerne til 14% i patientgruppen. Som man kan vente, er der altså flere med hypolaktasi i patientgruppen end i baggrundsbefolkningen, men ved størstedelen af de henviste kan mistanken om primær laktoseintolerans ikke bekræftes. Det skyldes formentlig, at symptomerne er vanskelige at relatere til laktoseindtagelse og ses ved andre gastrointestinale lidelser, bl.a. ved irriteret tyktarm [11].

Et nyt finsk studie [11] har vist, at ganske mange voksne oplever gastrointestinale symptomer (GIS), der er forenelige med laktoseintolerans. I alt 1.900 voksne finder besvarede et spørgeskema omhandlende GIS og forbruget af mejeriprodukter ved henvendelse hos egen læge. Desuden blev en blodprøve udtaget til genotypning mht. LCT-13910 C/T. GIS var årsagen til besøget hos lægen hos 19%. I dette studie havde 80% oplevet GIS inden for de sidste tre måneder, næsten med samme hyppighed som i CC-gruppen (84%) og i de øvrige grupper (78-79%). I alt 45% angav at have haft GIS i forbindelse med indtagelse af mælk. De fleste (69%) i CC-gruppen, der havde oplevet GIS i forbindelse med indtagelse af mælk, drak aldrig mælk. Det samme gjaldt ca. halvdelen af personerne, der havde angivet disse symptomer i CT- og TT-gruppen. Dette skønt kun en lille del af disse havde fået konstateret laktoseintolerans ved belastning (36% af personerne i CC-gruppen og ca. 10% af de øvrige).

Der er i andre studier fundet ringe overensstemmelse mellem selvrapporeret laktoseintolerans og resultatet af diagnostiske test for tilstanden [21, 22], og det er vist, at calciumindtaget kan være kompromitteret blandt patienter med selvrapporeret laktoseintolerans [21, 23]. Det er endnu kontroversielt, om LCT-13.910-CC genotypen er associeret med øget risiko for osteoporose og knoglebrud, men flere studier peger på, at det kan være tilfældet [24, 25]. Da mælk er så væsentlig og lettilgængelig en calciumkilde, er det derfor vigtigt, at mælk ikke udelukkes af diæten på et utilstrækkeligt grundlag. Derfor er korrekt diagnosticering af primær laktoseintolerans væsentlig. Adgang til let og præcis diagnostik kunne medvirke til, at et større antal patienter bliver testet, og til at diagnosen udelukkes hos patienter uden påviselig laktoseintolerans. Endvidere kan diagnosticering af tilstanden forhåbentlig føre til bedre rådgivning, – især med opfordring til at indtage mælkeprodukter i mindre mængder eller få calcium på anden vis, f.eks. i berigede fødevarer.

Dette studie viser, at den genetiske test er velegnet til klinisk brug, samt at forekomsten af genotypen CC, der er for-

enelig med laktoseintolerans, er lidt hyppigere end den beskrevne forekomst af fænotypen laktoseintolerans blandt etniske danskere. Testen stiller ikke krav til patienten om faste, indtagelse af laktose eller gennemgang af gastrokopi, men kræver udelukkende en blodprøvetagning. Alternativt kan andre DNA-kilder som eksempelvis kindbørste anvendes. Da LCT-genotypning ikke diagnosticerer sekundær laktoseintolerans, ikke med sikkerhed kan anvendes på patienter af afrikansk oprindelse og børn under 8 år, samt ikke kan tolkes hos en lille patientgruppe, der kan have andre polymorfier i samme område, skal der fortsat være mulighed for at rekvirere indirekte test såsom laktosebelastning.

Korrespondance: Mikala Klok Jørgensen, Klinisk Biokemisk Afdeling, Slagelse Sygehus, DK-4200 Slagelse. E-mail: mjir@regionsjaelland.dk

Antaget: 20. februar 2008
Interessekonflikter: Ingen

Taksigelser: Overlæge Theis Bacher samt bioanalytiker Dorrit Krøll, Klinisk Immunologi, Slagelse Sygehus takkes for indsamling af kontrolmateriale.

Litteratur

- Sahi T. Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. *Scand J Gastroenterol* 1994;29 (suppl 202):7-20.
- Enattah NS, Sahi T, Savilahti E et al. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet* 2002;30:233-7.
- Kuokkanen M, Enattah NS, Oksanen A et al. Transcriptional regulation of the lactase-phlorizin hydrolase gene by polymorphisms associated with adult-type hypolactasia. *Gut* 2003;52:647-52.
- Szilagyi A, Malolepszy P, Hamard E et al. Comparison of a real-time polymerase chain reaction assay for lactase genetic polymorphism with standard indirect tests for lactose maldigestion. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:192-6.
- Ridefelt P, Håkansson LD. Lactose intolerance test versus genotyping. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:822-6.
- Almon R, Engfeldt P, Tysk C et al. Prevalence and trends in adult-type hypolactasia in different age cohorts in central Sweden diagnosed by genotyping for the adult-type hypolactasia-linked LCT-13010 C > T mutation. *Scand J Gastroenterol* 2007;42:165-70.
- Myles S, Bouzekri N, Haverfield E et al. Genetic evidence in support of a Eurasian-North African dairying origin. *Hum Genet* 2005;117:34-42.
- Ingram CJ, Elamin MF, Mulcare CA et al. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet* 2007;120:779-88.
- Järvelä IE. Molecular genetics of adult-type hypolactasia. *Ann Med* 2005;37:179-85.
- Robayo-Torres CC, Nichols BL. Molecular differentiation of congenital lactase deficiency from adult-type hypolactasia. *Nutr Rev* 2007;65:95-8.
- Anthoni SR, Rasinperä HA, Kotamies AJ et al. Molecularly defined adult-type hypolactasia among working age people with reference to milk consumption and gastrointestinal symptoms. *World J Gastroenterol* 2007;13:1230-5.
- Suarez FL, Savaiano D, Arbisi P et al. Tolerance to daily ingestion of two cups of milk by individuals claiming lactose intolerance. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1502-6.
- Lerch MM, Rieband HC, Feldberg W et al. Concordance of indirect methods for the detection of lactose malabsorption in diabetic and nondiabetic subjects. *Digestion* 1991;48:81-8.
- Macdonald MJ, Horowitz R, Duncan TG. Use of the lactose-ethanol tolerance test in diabetes. *Am J Med Sci* 1975;269:193-9.
- Kerber M, Oberkanins C, Kriegshäuser G et al. Hydrogen breath testing versus LCT genotyping for the diagnosis of lactose intolerance: a matter of age? *Clin Chim Acta* 2007;383:91-6.
- Weiskirchen R, Tag CG, Mengsteab S et al. Pitfalls in LightCycler diagnosis of the single-nucleotide polymorphism 13.9 kb upstream of the lactase gene that is associated with adult-type hypolactasia. *Clin Chim Acta* 2007;384:93-8.
- Rasinperä H, Savilathi E, Enattah NS et al. A genetic test which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children. *Gut* 2004;53:1571-6.
- Enattah NS, Kuokkanen M, Forsblom C et al. Correlation of intestinal disac-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

- charidase activities with the C/T-13910 variant and age. *World J Gastroenterol* 2007;13:3508-12.
19. Büning C, Genschel J, Jurga J et al. Introducing genetic testing for adult-type hypolactasia. *Digestion* 2005;71:245-50.
 20. Bodlaj G, Stöcher M, Hufnagl P et al. Genotyping the lactase-phlorizin hydrolase -13910 polymorphism by LightCycler PCR and implications for the diagnosis of lactose intolerance. *Clin Chem* 2006;52:148-51.
 21. Carroccio A, Montalto G, Cavera G et al. Lactose Intolerance and self-reported milk intolerance: relationship with lactose maldigestion and nutrient intake. *J Am Coll Nutr* 1998;17:631-6.
 22. Vernia P, Marinaro V, Argnani F et al. Self-reported milk intolerance in irritable bowel syndrome: What should we believe? *Clin Nutr* 2004;23:996-1000.
 23. Lovelace HY, Barr SI. Diagnosis, symptoms, and calcium intakes of individuals with self-reported lactose intolerance. *J Am Coll Nutr* 2005;24:51-7.
 24. Enattah NS, Sulkava R, Halonen P et al. Genetic variant of lactase-persistent C/T-13910 is associated with bone fractures in very old age. *J Am Geriatr Soc* 2005;53:79-82.
 25. Obermayer-Pietsch BM, Bonelli CM, Walter DE et al. Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. *J Bone Miner Res* 2004;19:42-7.

Laktoseintolerans

Gentest forenkler og forbedrer diagnostikken

Afdelingslæge Else Marie Vestergaard,
cand.scient. Jesper Troelsen & overlæge Aksel Lange

Århus Universitetshospital, Skejby, Molekylærdiagnostisk
Laboratorium, Klinisk Biokemisk Afdeling, og
Københavns Universitet, Panum Institut, og
Institut for Cellulær og Molekylær Medicin

Laktoseintolerans eller laktosemalabsorption er manglende evne til at nedbryde mælkesukker (disakkaridet laktose), som medfører symptomer fra mave-tarmkanalen efter indtagelse af mælk og mælkeprodukter

Laktoseintolerans kan inddeles i tre former: 1) primær er-

hvervet laktoseintolerans (*adult-type hypolactasia, lactase non-persistence*), som er en arvelig tilstand, hvor laktaseaktiviteten i tyndtarmen falder i perioden fra toårsalderen til teenage-årene, 2) primær kongenit laktoseintolerans (*congenital lactase deficiency*), som er en meget sjælden arvelig tilstand, hvor mangel på laktaseaktivitet er til stede fra fødslen, og 3) sekundær erhvervet laktoseintolerans, som opstår som komplikation til en række mave-tarmsygdomme, specielt tarmsygdomme med epitellæsioner f.eks. coliki og kroniske tarminflammationer.

Nedenfor gøres der kort status over ny viden om den molekylærbioologiske baggrund for primær erhvervet laktoseintolerans, hvilket har resulteret i forenklet og forbedret molekylærbioologisk screening for denne tilstand.

Primær erhvervet laktoseintolerans

Laktase findes i tyndtarmen og er nødvendig for nedbrydning af disakkaridet laktose til glukose og galaktose. Ufordøjet laktose kan give diare, luft i maven og mavesmerter.

Med hensyn til fordøjelse af laktose findes der to fænotyper hos voksne. Laktasenonpersistens-fænotypen er karakteriseret ved et tab af laktaseenzymaktivitet i løbet af opvæksten. Nedreguleringen af enzymaktivitet varierer mellem forskellige folkeslag fra 2-3-års-alderen hos asiater til teenageårene hos finner. Årsagen til den etniske forskel i, hvornår enzymaktiviteten aftager, kendes ikke. Fænotypen nedarves autosomt recessivt, og der er ikke evidens for, at laktaseaktiviteten er influeret af mælkeindtaget som almindelig antaget. Prævalensen var i 1975 ca. 4% i Danmark, mens den er 40-100% i Afrika, Sydamerika og asiatiske lande og i Grønland (Figur 1) [1-3].

Laktasepersistens-fænotypen er karakteriseret ved høj laktaseaktivitet i barnealderen og en livslang evne til at nedbryde og optage laktose. Fænotypen er meget almindelig i Nord-europa.

Faktaboks

LCT -13910C>T er associeret med primært erhvervet laktoseintolerans.

Gentest for laktoseintolerans kan anvendes som første screeningsundersøgelse ved mistanke om laktoseintolerans.

Fortolkning af gentestsvær

TT – homozygot genotype T/T: Der er ikke belæg for genetisk disposition for laktoseintolerans.

CT – heterozygot genotype C/T: Der er ikke belæg for genetisk disposition for laktoseintolerans.

CC – homozygot genotype C/C: Der er genetisk disposition for laktoseintolerans. Genotypen medfører, at laktaseaktiviteten falder i barneårene, og at patienten i voksenalderen ikke kan nedbryde laktose. Symptomer kan variere afhængigt af, hvor meget mælk patienten indtager, tarmslimhindens status og personens følsomhed.