

# Laktoseintolerans – resultatvurdering afhænger af patientens genetiske oprindelse

Når patienter gentestes for laktoseintolerans, bør læger og bioanalytikere være opmærksomme på, hvor patienten stammer fra, så fejlagtige svar kan undgås

Gentest for udredning af laktoseintolerans hos børn og voksne er nu blevet en analyse, der udføres på mange laboratorier. På Klinisk Biokemisk Afdeling, Hillerød Hospital indførte vi testen pr. 4. august 2009. Gentesten giver svar på, om patienten har genetisk disposition for primær laktoseintolerans, og kan derfor i mange tilfælde erstatte en laktosebelastningsundersøgelse.

Gentesten gav dog overvejelser om forskelle i resultater mellem gentest og laktosebelastning – og hvad det kan betyde for diagnosen. I denne artikel forklares bl.a., hvorfor gentesten ikke kan anvendes på personer, som stammer fra Saudi Arabien.

## PRIMÆR LAKTOSEINTOLERANS

Hos personer, som tåler mælk, vil enzymet laktase nedbryde laktose (= mælkesukker) til galaktose og glukose i tyndtarmen, som derefter kan optages i blodbanen.

Men hos visse personer kan indtag af laktose medføre ubehagelige symptomer som diarre, oppustethed, rumlen og uro i maven, mavesmerter og vægttab. Disse symptomer kan opstå, hvis produktionen af enzymet laktase i tyndtarmen er nedsat. Laktosen vil herefter blive nedbrudt af bakterier i tyktarmen til gasser (flatulens) og syrer, som vil være årsag til de ubehagelige symptomer.

## SEKUNDÆR LAKTOSEINTOLERANS

Sekundær laktoseintolerans er betegnelsen for en række ikke genetiske tilstande med symptomer som primær laktoseintolerans. Tilstandene kan opstå som komplikationer til mave-tarm-sygdomme, specielt tarmsygdomme med epithellæsioner, f.eks. cøliaki og inflammationer, og kan udredes ved en laktosebelastningstest.

## GEN FOR PRIMÆR LAKTOSEINTOLERANS FUNDET I 2002

I mange år har laktosebelastning været den mest almindelige test for diagnosticering af laktoseintolerans. Men i 2002 fandt en finsk forskningsgruppe et gen, som er associeret med pri-

mær laktoseintolerans (1). Genet er en såkaldt SNP (= single nucleotide polymorphism), som blev lokaliseret 13910 basepar væk fra laktasegenet (= LCT) i et andet gen (MCM6). Personer med genotypen C/C på dette sted (LCT-13910) binder svagt til et genregulatorisk protein (Oct-1), som influerer på aktiviteten af laktasegenet. Hos disse personer falder laktaseproduktionen i tarmen fra 4-års-alderen til teenageårene, så der kun kan indtages ca. 10 g laktose (se tabel 1) uden ubehagelige symptomer som voksen.

Personer med genotyperne C/T eller T/T (i LCT-13910) har genetisk bevaret laktaseproduktion som voksen.

I 2008 blev gentesten (LCT-13910) anbefalet som førstevalg ved mistanke om primær laktoseintolerans i Ugeskrift for Læger (2).

Ved en blodprøve kan der således nu fås diagnosen primær laktoseintolerans.

## FOREKOMST AF GENOTYPEN C/C (LCT-13910)

På Hillerød Hospital blev ved implementeringsfasen af analysen 193 tilfældige patienter gentestet, og vi fandt, at 8 % af patienterne havde genotypen C/C. Samme forekomst af C/C blev fundet blandt 100 bloddonorer på Slagelse Sygehus (3).

Der er altså relativt få mennesker i Danmark, som har genotypen C/C (LCT-13910), men denne genotype er meget mere udbredt i udlandet. Lande ved Middelhavet har en meget større forekomst af C/C (f.eks. 70 % i Syditalien), og hos visse befolkninger har 100 % denne genotype. Disse oplysninger er i overensstemmelse med resultater fra laktosebelastning og andre undersøgelser, som har vist, at op mod 100 % af befolkningerne i Indonesien, Sydafrika og Sydamerika ikke tåler mælk i voksenlivet.

## GENETISK LAKTOSEINTOLERANS ER ARVELIG

En persons genotype fås som bekendt fra dennes forældre. Mulige kombinationer af genotyper fra forældre til børn ses i tabel 2.

Det bør bemærkes, at forældre, der begge har genetisk laktoseintolerans, udelukkende får børn, som har laktoseintolerans. Dermed kan befolkninger med 100 % laktoseintolerans forklares. Men, måske lidt overraskende, genetisk laktoseintolerante forældre (med genotype C/T) kan også få børn med genetisk laktoseintolerans.

## SAUDI ARABIEN - ET PARADOKS?

Fund af genotypen C/C (LCT-13910) kan dog ikke i alle tilfælde bruges som et sandt resultat for, at en person lider af primær laktoseintolerans.



Af bioanalytiker //  
**Flemming Lund**  
Klinisk Biokemisk Afdeling  
Hillerød Hospital

Befolkningen i Saudi Arabien har alle genotypen C/C (LCT-13910). Det burde betyde, at 100 % af befolkningen har genetisk laktoseintolerans og dermed ikke tåler mælk som voksne. Men laktosebelastningsforsøg fra 1975 viste, at flertallet af befolkningen var laktosetolerante, og det var kendt, at mange dagligt indtog store mængder laktose i form af mælk uden ubehagelige symptomer.

I 2007 blev der fundet en ny SNP (LCT-13915) for laktosetolerans, som kunne forklare det tilsyneladende paradoks (4). Personer med genotyperne G/T og G/G (i LCT-13915) havde genetisk laktosetolerans og omfattede 77 % af befolkningen i Saudi Arabien, som altså kunne drikke mælk uden problemer. Opdagelsen korrelerede 100 % med laktaseproduktion målt ved tarmbiopsi. Forfatterne til artiklen konkluderede derfor, at gentest LCT-13915 skulle være førstevalg ved mistanke om primær laktoseintolerans – altså kun for befolkningen i Saudi Arabien.

#### GENTEST FOR PERSONER FRA SAUDI ARABIEN

Baseret på ovennævnte oplysninger vil personer med genetisk oprindelse i Saudi Arabien ikke kunne bruge gentesten LCT-13910 i Danmark til korrekt udredning af laktoseintolerans. Gentesten vil vise, at personen tilhører genotypen C/C og dermed tolkes som genetisk laktoseintolerant, men med 77 % sikkerhed vil personen kunne tåle mælk. Derfor kan/bør personer fra Saudi Arabien sendes direkte til en laktosebelastning uden en gentest LCT-13910.

#### LAKTOSETOLERANSGENER GIVER ANTROPOLOGISK VIDEN OM VORE FORFÆDRE

Eksemplet med personer fra Saudi Arabien giver os imidlertid også en viden om blanding af befolkningsgrupper inden for de sidste 10.000 år.

I tabel 3 ses allelfrekvenser for laktosetoleransgener G(-13915) og T(-13910) i forskellige lande (5). Af tabellen ses, at det europæiske gen T(-13910) faktisk ikke kan findes i Saudi Arabien. Det betyder, at især den nordeuropæiske befolkning (heriblandt Danmark) ikke har blandet sig med befolkningen i Saudi Arabien – og i hvert fald ikke fået børn med hinanden i de sidste 5-10.000 år.

I nabolandene til Saudi Arabien samt Mellemøsten findes G(-13915) dog også, men med meget mindre frekvens. Altså har mennesker fra Saudi Arabien spredt sig til nærtliggende lande, undtagen Iran. I disse lande findes også det europæiske T(-13910) – så befolkningen her er en mere blandet race sammenlignet med Saudi Arabien.

Længere væk ligger Marokko, også med en relativ stor frekvens af G(-13915), men med en meget større frekvens af T(-13910). Befolkningen består altså af en blanding af arabere og europæere. Dette kan måske forklares med, at Marokko er en gammel fransk koloni.

I Sudan er der blevet fundet en befolkningsgruppe med høj frekvens af G(-13915), og en gruppe forskere mener, at dette gen opstod i Østafrika for ca. 6.000 år siden i forbindelse med kamelhold og (kamel)mælkekonsum. Disse folk er senere udvandret til Saudi Arabien, hvor dette gen nu er særligt fremherskende.

Samtidig, også i Østafrika, er det europæiske gen T(-13910) opstået i forbindelse med udvikling af landbrug, kvægdrift og mælkekonsum, og disse folk er så udvandret til Nordeuropa. Dette gen, som har en specielt høj forekomst i Danmark (92 %), har altså været medvirkende til succes og overlevelse af danskere i mindst 5.000 år, fordi vi har kunnet drikke mælk som voksne.

#### GENTEST FOR PERSONER FRA ARABISKE LANDE

Personer fra de nævnte arabiske lande (undtagen Saudi Arabien) bør derfor også i Danmark undersøges for T(-13910). Hvis

#### 10 G LAKTOSE SVARER TIL:

2 dl mælk (sød, let, mini, kakao) - eller  
3 dl ymer, tykmælk, kvark - eller  
4 dl yoghurt - eller

25 g Norsk Myseost - eller  
2 kg Feta ost - eller  
20 kg Danbo ost

**Tabel 1.** Det bør bemærkes, at fedtfattig mælk indeholder samme mængde laktose som fed mælk. Normalt kan personer med laktoseintolerans spise store mængder ost uden problemer – en undtagelse er norsk myseost

#### LAKTOSEINTOLERANS ER ARVELIG

Forældre	Børn
C/C og C/C	C/C
T/T og T/T	T/T
C/C og T/T	C/T
C/T og T/T	C/T, T/T
C/T og C/T	C/T, T/T, C/C
C/C og C/T	C/T, C/C

**Tabel 2.** Personer med genotypen C/C har genetisk disposition for laktoseintolerans. Personer med genotypen T/T eller C/T har genetisk laktosetolerans.

#### ALLELFREKVENS I BEFOLKNINGER

Land	G(-13915)	T(-13910)
Danmark	?	80%
Saudi Arabien	57%	0%
Jordan	5%	5%
Iran	0%	10%
Marokko	8%	21%
N.Sudan	17%	0%
Syrien, Irak, Lib.	11%	13%

**Tabel 3.** Tabellen viser allelfrekvensen af de to laktosetoleransgener G(-13915) og T(-13910) hos forskellige befolkninger

personen er genotype C/C, bør vedkommende henvises til en laktosebelastning for at udelukke tilstedeværelse af G(-13915). Ellers vil personen risikere at få fejldiagnosen genetisk laktoseintolerant, men i virkeligheden være genetisk laktosetolerant med G(-13915).

## BEFOLKNINGER I ØSTAFRIKA

For nylig er der også undersøgt laktoseintolerans hos flere naturfolk i Østafrika med kvæg og mælkekonsum (6). Det europæiske mæketoleransgen T(-13910) kunne slet ikke findes. Dog kunne det arabiske gen G(-13915) findes hos visse befolkninger i Sudan. Men der blev også fundet en mængde andre nye SNP. De nye laktosetoleransgener var C(-14010), G(-13907) og C(-13913).

Fundet af disse SNP kunne ikke forklare fuldstændig laktosetolerans hos disse folk, og der eksisterer sandsynligvis andre endnu ikke fundne SNP.

Grunden til eksistensen af de mange SNP hos disse befolkninger kan forklares med, at i længere tørkeperioder har disse mennesker kun kunnet overleve ved at drikke mælk.

## INDVIRKNING AF UDENLANDSKE SNP PÅ GENTESTEN

Fra litteraturen vides, at fremmede SNP kan have indflydelse på resultatet af gentesten (7). Men gentesten kan udføres med forskellige analysemetoder, så viden om resultater fra fremmede SNP må afprøves på de enkelte laboratorier.

På Hillerød Hospital anvender vi en PCR-baseret TaqMan-analyse for gentesten. To prober mærket med fluorescerende farvestof binder sig til den aktuelle allel. En VIC-mærket probe binder sig til C-allelen, og en FAM-mærket til T-allelen.

Udenlandske SNP tæt på LCT-13910 vil sandsynligvis forstyrre bindingen af proberne, da der ikke vil være perfekt match under annealingsfasen.

På Næstved Sygehus er der gennem flere år kørt en specifik rutineanalyse, der alene detekterer G(-13915) mutationen – og fra Palle Pedersen og Gitte Vedel Madsen, Næstved Sygehus, har vi modtaget to patientprøver med denne mutation.

I vores TaqMan-analyse blev den ene prøve tolket som en genotype T/T. Prøven havde dog en lavere fluorescensintensitet og lå uden for clusteret sammenlignet med de andre T/T (se figur 1). Det rigtige svar var C/T. Forklaringen må være, at C-allelen ikke bliver udtrykt ved fluorescering, da proben ikke binder pga. mutationen G(-13915). Som fænotype ville patienten ikke blive fejldiagnosticeret, da patienten endda havde to SNP, som ville give genetisk laktosetolerans.

Den anden prøve blev tolket som en genotype C/C. Denne prøve havde også en lavere fluorescensintensitet og lå uden for clusteret C/C (se figur 1). Det rigtige svar var C/C, men den ene allel havde G(-13915). Denne patient ville fejlagtigt få diagnosen genetisk laktoseintolerant, men reelt være genetisk laktosetolerant pga. G(-13915). Hvis vi i fremtiden ser sådanne prøver, vil vi ved sekventering prøve at detektere de mulige udenlandske SNP!

De andre beskrevne SNP er også årsag til fejlsvar og fejlkonklusioner, og en tysk forskningsgruppe konkluderede efter en undersøgelse, at "T(-13910) genotyping for ikke-europæer ... er kilde til fejl og bør undgås" (7).

I vores Labka-svar står derfor som en autokommentar til patienter med genotypen C/C: "Patientens etniske oprindelse kan være væsentlig, da visse folkeslag (i Afrika og Saudi Arabien) har genotypen C/C, men har bibeholdt evnen til at tåle mælk i voksenlivet ved hjælp af andre genetiske varianter end den her undersøgte."

## UDREDNING AF LAKTOSEINTOLERANS

Indtil der haves overblik over de udenlandske SNP's indvirkning i vores genanalyse, bør der tages hensyn til patientens genetiske oprindelse ved udredning af laktoseintolerans.

Hvis patienten har genotype C/C og har genetisk oprindelse uden for Europa, bør der henvises til en laktosebelastning (se flowskema figur 2). Belastningens svar vil da vise, om patienten har en genetisk laktosetolerans, f.eks. G(-13915).

Hvis patienten har en allel med T(-13910), dvs. genotype C/T eller T/T, vil et laktosebelastningssvar vise, om patienten har sekundær laktoseintolerans. Denne tilstand kan være forbigående – efter f.eks. infektiøs diarre kan tarmen genetablere laktaseproduktionen, og patienten vil igen kunne tåle mælk. Denne konklusion ville ikke kunne drages uden en gentest. Altså en gentest vil sammen med en laktosebelastning i dette tilfælde give information om, hvorvidt tilstanden laktoseintolerans er livslang eller eventuelt kun for en periode.

## KORTLÆGNING AF FEJLSVAR – ET NYT PROJEKT?

Der findes altså ikke nu et overblik over, hvordan udenlandske SNP indvirker på gentesten, og hvilke fejldiagnoser der kan fås. Det er selvfølgelig også et politisk spørgsmål hvor mange ressourcer der skal ofres på problemet. Ifølge Danmarks Statistik er 91 % af befolkningen i Nordsjælland af dansk herkomst, og 3 % er af arabisk herkomst. På Slagelse Sygehus kunne gentesten ikke diagnosticere 1 % af patientprøverne – formentlig pga. de

## Referencer

1. Enattah, N. S.; Sahi, T.; Savilahti, E.; Terwilliger, J. D.; Peltonen, L.; Jarvela, I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nature Genet.* 2002; 30: 233-237.
2. Vestergaard, E. M.; Troelsen, J.; Lange, A. Laktoseintolerans. *Ugeskrift for Læger* 2008; 170(42):3312.
3. Jørgensen, M. K.; Thode, J.; Davidsen, B.; Gerner, C.; Bathum,

L. Diagnosticering af laktoseintolerans hos voksne. *Ugeskr Læger* 2008;170(42):3309.

4. Imtiaz, F.; Savilahti, E.; Sarnesto, A.; Trabzuni, D.; Al-Kahtani, K.; Kagevi, I.; Rashed, M. S.; Meyer, B. F.; 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;44:e89.

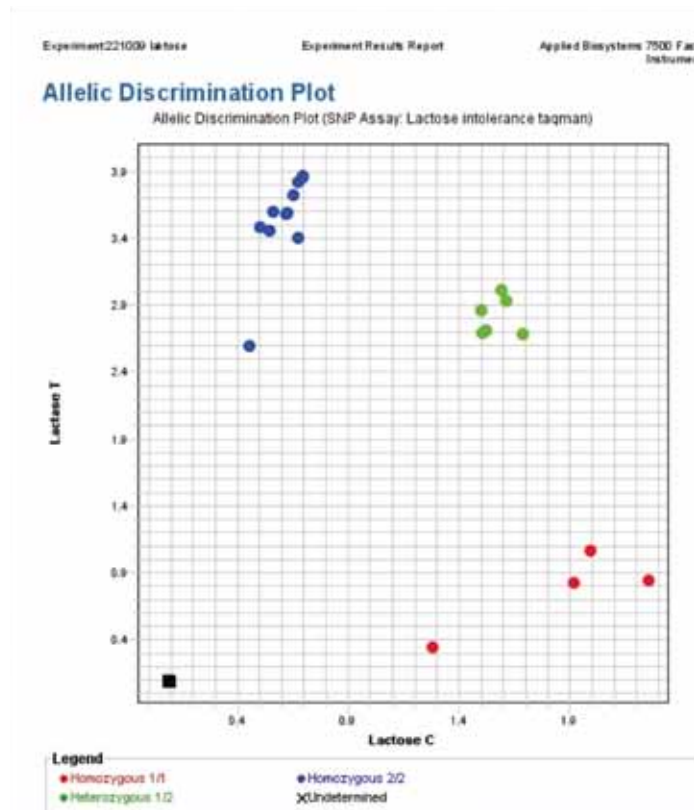
udenlandske SNP (3). Men der er ikke overblik over, hvor mange der reelt er fejlagnosticeret. Derfor må der igangsættes et projekt for at skabe dette overblik.

Et projekt kunne være, at alle patienter med genotypen C/C blev tilbudt en laktosebelastning. Hvis belastningens svar var laktosetolerans, kunne der undersøges for andre SNP ved en sekventering. Projektet vil derved kunne kortlægge antallet af fejlsvar og vil give grundlag for at inkludere analyse af udenlandske SNP i fremtidige analyser.

**GENTEST OG GENETISK OPRINDELSE I FREMTIDEN**

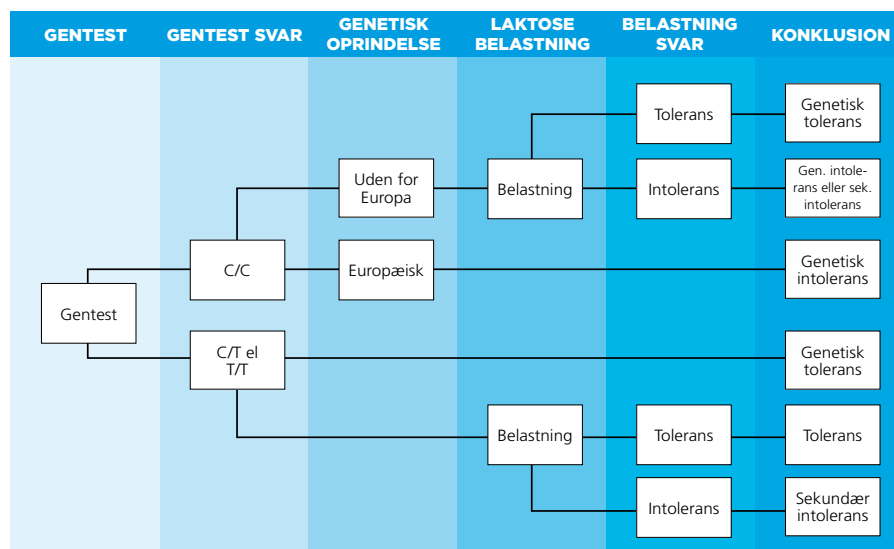
Antallet af patientprøver til flere forskellige gentest vil sandsynligvis stige markant i fremtiden – og problematikken ved laktoseintolerans kan gøre sig gældende ved andre genetisk betingede sygdomme (tilstande).

Derfor – når en gentest i fremtiden præsenteres som en diagnostisk test – bør der i evalueringen af testen inddrages mange patienter med forskellig genetisk oprindelse, inden konklusioner om gentestens diagnostiske værdi endeligt kan drages. □



**Figur 1.** Viser resultater efter en TaqMan-genotypning af LCT (-13910). Prober med fluorescens fra C-allel er afsat hen ad x-aksen, og prober med fluorescens fra T-allel er afsat op ad y-aksen. De to prøver uden for samlingen af punkter (= cluster) for genotyperne er nærmere omtalt i teksten

**Figur 2.** Viser udredning og konklusion af laktoseintolerans efter svar fra gentest, genetisk oprindelse og laktosebelastningstest



**LAD OS UDVEKSEL ERFARINGER**

På Hillerød Hospital vil vi meget gerne undersøge, hvordan udenlandske SNP indvirker i vores analysesystem for laktoseintolerans, og vil meget gerne modtage specielle prøver fra andre laboratorier – så vi kan udveksle erfaringer om analyseresultaterne!

Kontakt Flemming Lund, e-mail: flund@noh.regionh.dk.

5. Enattah, N. S.; et al. Independent introduction of two lactase-persistence alleles into humans reflects different history of adaption to milk culture. The American Journal of Human Genetics 2008;82:57-72.  
 6. Tishkoff, A. S.; et al. Convergent adaption of human lactase persistence in Africa and Europe. Nature Genetics 2007;39:31-40.

7. Weiskirchen, R.; Tag, C. G.; Mengsteab, S.; Gressner, A. M.; Ingram, C. J. E.; Swallow, D. M. Pitfalls in lightcycler diagnosis of the single-nucleotide polymorphism 13.9 kb upstream of the lactase gene that is associated with adult-type hypolactasia. Clinica Chimica Acta 2007;384:93-98.