

# Biokemijska podloga nepodnošenja laktoze

---

**Tagliaretti, Petra**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:459347>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-11**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijски odsjek

Petra Tagliaretti

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

# **BIOKEMIJSKA PODLOGA NEPODNOŠENJA LAKTOZE**

**Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za biokemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Jasmina Rokov Plavec

Zagreb, 2017. godina



Datum predaje prve verzije Završnog rada:

07. srpnja 2017.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

Mentor rada: doc. dr. sc. Jasmina Rokov Plavec

Potpis:



## Sadržaj

<b>§ SAŽETAK .....</b>	<b>VII</b>
<b>§ 1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Netolerancija na hranu .....</b>	<b>2</b>
2.1.1. Što je netolerancija na hranu? .....	2
2.1.2. Tipovi netolerancije na laktozu .....	3
2.1.3. Mliječna revolucija .....	3
<b>2.2. Laktoza .....</b>	<b>4</b>
2.2.1. Razgradnja laktoze kod bakterija.....	4
<b>2.3. Laktaza .....</b>	<b>9</b>
2.3.1. Laktaza i LCT .....	9
2.3.2. Aktivnost laktaze .....	11
2.3.3. Polimorfizam jednog nukleotida .....	12
2.3.4. Fenotipovi povezani s laktazom .....	12
2.3.5. Istraživanja genetske podloge hipolaktazije .....	14
2.3.6. Istraživanja LCT promotora .....	14
<b>2.4. Uzroci nepodnošenja laktoze .....</b>	<b>15</b>
2.4.1. Malapsorpcija .....	17
<b>2.5. Dijagnosticiranje, simptomi i liječenje nepodnošenja laktoze .....</b>	<b>17</b>
2.5.1. Dijagnosticiranje nepodnošenja laktoze .....	17
2.5.2. Simptomi hipolaktazije .....	19
2.5.3. Liječenje .....	20
2.5.4. FODMAP .....	21
<b>2.6. Zaključak .....</b>	<b>23</b>
<b>§ 3. LITERATURNI IZVORI .....</b>	<b>24</b>



## § Sažetak

Laktoza je mliječni šećer koji se nalazi u mlijeku sisavaca. Laktozu u organizmu razgrađuje laktaza. Laktaza je enzim koji laktozu može razgraditi na monosaharidne podjedinice glukozu i galaktozu. Većina sisavaca, što uključuje i 65% ljudi ne može probaviti laktozu u svojoj odrasloj dobi. Aktivnost laktaze i nakon dojenačke dobi rezultat je promjene u regulacijskim mehanizmima stvaranja mRNA koja kodira enzim laktazu. Ove promjene uzrokovane su mutacijama u mjestu vezanja jednog od transkripcijskih faktora koji regulira ekspresiju gena za laktazu.

Nepodnošenje laktoze kod odraslih ljudi ima simptome u obliku gastrointestinalnih tegoba, kao što su nadutost, bolovi u trbuhu, problemi sa crijevima. Temeljni problem netolerancije laktoze ne može se u potpunosti izliječiti, jer se ne može dokazati jesu li navedeni simptomi uzrok samo nepodnošenja laktoze ili i nekih drugih čimbenika. Simptomi se mogu samo ublažiti unosom smanjenih količina laktoze ili FODMAP dijetama.



## § 1. UVOD

Nakon djetinjstva, isključuje se mehanizam stvaranja enzima laktaze kod ljudi. To znači da nema enzima kojim se laktoza iz mlijeka razgrađuje na šećere, glukozu i galaktozu, koji se nakon toga mogu koristiti za proizvodnju energije. Umjesto toga, laktoza prolazi kroz ljudski organizam neprobavljena te se može fermentirati i stvoriti poremećaj koji je poznat pod nazivom nepodnošenje laktoze.

Laktoza je šećer koji se nalazi u mlijeku, a razgrađuje ga enzim laktaza koji se kod čovjeka nalazi u epitelnim stanicama sluznice tankog crijeva. U ranijoj, dječjoj dobi, enzim je aktivan, a u odrasloj dobi on se prestane eksprimirati te osoba postane netolerantna na laktozu. Istraživanjem je dokazano da kod odraslih osoba koje su tolerantne na laktozu dolazi do promjene jedne nukleotidne baze, čime se povećava ekspresija laktaze.

Nedostatak laktaze definiran je kao značajno smanjena aktivnost laktaze kod odraslih u odnosu na razinu aktivnosti laktaze koja je zabilježena kod dojenčadi. Ovaj gubitak ekspresije laktaze u odrasloj dobi naziva se primarnim nedostatkom laktaze i predstavlja normalni „divlji tip“. Postoji i sekundarni nedostatak laktaze, prolazni poremećaj koji nastaje uslijed oštećenja sluznice tankog crijeva pri čemu sposobnost probavljanja laktoze može biti smanjena zbog infekcije, operacije ili nekih drugih povreda.

Bez obzira na uzrok, malapsorpcija laktoze uzrokuje simptome zbog djelovanja nekoliko mehanizama: neapsorbirana laktoza dovodi do proljeva ili do proizvodnje plinova. Dijagnoza malapsorpcije laktoze temelji se na otkrivanju bilo koje genetske mutacije, gubitka aktivnosti laktaze u sluznici ili dokazima za malapsorpciju u krvi ili u dah. Kod osobe se mogu pojaviti simptomi malapsorpcije laktoze čiji uzrok ne mora biti malapsorpcija laktoze, već su ti simptomi uzrokovani drugim poremećajima.

## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

### 2.1. Netolerancija na hranu

#### 2.1.1. Što je netolerancija na hranu?

Nepodnošenje hrane je neimunološka pojava koja se javlja kao odgovor na farmakološke učinke hrane ili komponenata hrane, osjetljivost na gluten ili zbog nedostatka nekih enzima (npr. laktaze). To je uobičajena pojava u modernom svijetu te ovisno o metodama prikupljanja podataka i njejoj definiciji, utječe na 15-20% stanovništva. Prije 20 godina čak 20% ljudi izjasnilo se da nisu tolerantni hranu. Većina ljudi koji nisu tolerantni na hranu ima poremećaje gastrointestinalnog sustava koji se javljaju čak i kod ljudi sa potpuno funkcionalnim gastrointestinalnim sustavom. U tablici 1. prikazani su najčešći uzročnici gastrointestinalnih simptoma.

Tablica 2.1.1.1. Uzročnici gastrointestinalnih simptoma<sup>[1]</sup>

Vrstahrane	Proizvod
Žitarice	Pšenica
Povrće	Kupus
	Luk
	Grah/ grašak
Mliječni proizvod	Mlijeko
Razno	Ljuti začini
	Masna/ duboko pržena hrana
Pića	Kava

U hrani postoji niz tvari koje imaju moguću farmakološku aktivnost, a to uključuje vazoaktivne amine (histamin), glutamate (mononatrijev glutamat) i kafein. Reakcije ne moraju uvijek uzrokovati gastrointestinalne simptome, ali i gdje ih uzrokuju, mehanizmi nisu u potpunosti objašnjeni. Izbjegavanje hrane, ograničavanje raznolikosti hrane potencijalno može dovesti do višestrukih nedostataka hranjivih tvari, ali dijete kojima se organizam izlaže učinkovite su kod ljudi sa gastrointestinalnim simptomima, što je i klinički dokazano.

Primjer gastrointestinalnih simptoma kao nedostatka enzima ili problema enzima u transportu je aktivnost laktaze.

### 2.1.2. Tipovi netolerancije na laktozu

1. Kongenitalna (prirođena) deficijencija laktaze je vrlo rijetka, a javlja se u novorođenčadi. Glavni simptom je vodenasti proljev koji se javlja ubrzo nakon prvog dojenja. Gubitak hranjivih tvari, tekućine i elektrolita je velik, a novorođenče iz tih razloga ne napreduje, dehidrira, javljaju se hipoglikemija i acidoza. Prije dvadesetog stoljeća novorođenčad koja ne bi mogla podnositi mlijeko, ne bi preživljavala s obzirom da nije postojala adekvatna zamjena za majčino mlijeko, koja ne bi sadržavala laktozu. Ovaj tip nedostatka laktaze je doživotan i stoga zahtijeva trajnu prehranu bez laktoze.
2. Sekundarna (stečena) deficijencija laktaze je prolazni poremećaj koji nastaje uslijed oštećenja sluznice tankog crijeva. Česta je pojava akutnog gastroenteritisa čiji simptomi su temperatura, povraćanje i učestale vodenaste stolice. Uročnik kod djece je rotavirus, a kod odraslih norovirus. Privremena netolerancija prestaje nakon 3-4 tjedna kada se sluznica tankog crijeva oporavi od oštećenja. Potrebno je primjenjivati prehranu bez laktoze. Može se javiti u bilo kojem razdoblju života, no djeca do dvije godine najpodložnija su privremenoj netoleranciji zbog visoke osjetljivosti crijeva na infektivne agense, manje površine crijeva i prehrani koja se bazira na mlijeku.
3. Primarna deficijencija laktaze (adultna hipolaktazija) posljedica je genske predodređenosti, a karakterizira je smanjenje razine laktaze na oko 10% u odnosu na onu razinu koja postoji pri rođenju. Nasljeđuje se autosomalno recesivno. Heterozigoti posjeduju aktivnost laktaze i nakon dojenačke dobi, ali ne onoliko koliko posjeduju homozigoti. Aktivnost laktaze se najčešće počinje smanjivati oko 2. godine te se do odrasle dobi smanji čak i do 90%. Kod nekih populacija postoji varijanta gena na kromosomu 2 koja je povezana s daljnjom produkcijom i aktivnošću laktaze i u odrasloj dobi. <sup>[17]</sup>

### 2.1.3. Mliječna revolucija

Tijekom zadnjeg ledenog doba, mlijeko se smatralo otrovom za odrasle ljude jer nisu mogli proizvoditi laktozu koja je potrebna za razgradnju laktoze, glavnog šećera u mlijeku.

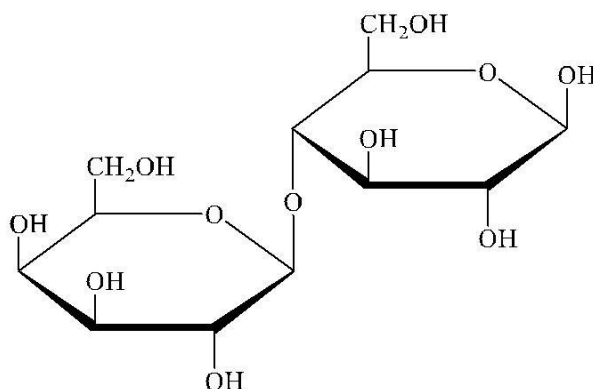
Kada se prije 11000 godina na Bliskom istoku lovački život zamijenio poljoprivredom, poljoprivrednici su naučili kako smanjiti količinu laktoze u proizvodima na onu razinu koju su mogli tolerirati, tako što su iz mlijeka radili sir ili jogurt.

Nekoliko tisuća godina kasnije, genetska mutacija proširila se Europom te omogućila ljudima da proizvode laktazu u odrasloj dobi i konzumiraju mlijeko tijekom cijelog života. Mliječna revolucija bila je jedan od primarnih faktora koji su omogućavali poljoprivrednicima s istoka da na području cijele Europe napuste lovački način života, koji je opstao tisućama godina.

Većina ljudi, koji su u mogućnosti probaviti mlijeko, mogu naći pretke u Europi, gdje se ta značajka povezuje s mutacijom u kojem je citozin zamijenjen timinom u genomskoj regiji koja se nalazi blizu gena za laktazu. Promjena se dogodila relativno nedavno. Istraživanja su proučavala genetske promjene u modernoj populaciji te je zaključeno da se značajka aktivnosti laktaze u odrasloj dobi, nazvana LP alel, pojavila prije 7500 godina u plodnoj ravnici u Mađarskoj.<sup>[2]</sup>

## 2.2. Laktoza

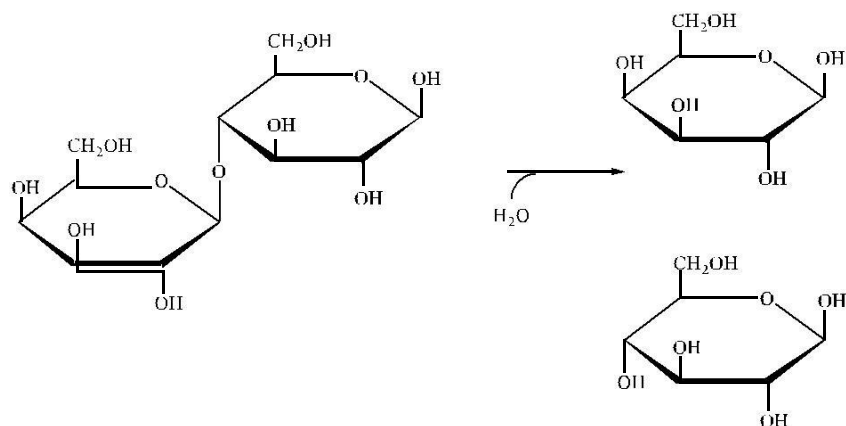
Laktoza, poznata još i kao mliječni šećer, je disaharid molekulske formule  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . Nalazi se u mlijeku sisavaca. Sastoji se od monosaharida  $\beta$ -D-galaktoze i  $\beta$ -D-glukoze, iz kojih nastaje u mliječnim žlijezdama sisavaca.  $\beta$ -D-galaktoza i  $\beta$ -D-glukoza povezani su ( $\beta 1 \rightarrow 4$ ) glikozidnom vezom. Razgrađuje se u crijevima, gdje nastaje enzim laktaza, koji katalizira reakciju razgradnje na galaktozu i glukozu.



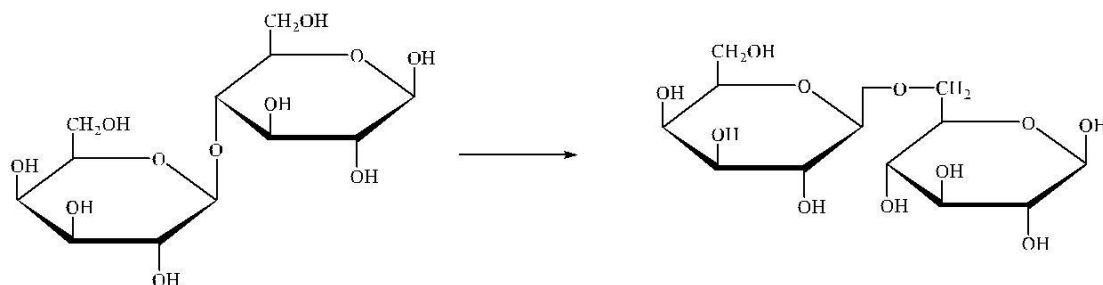
Slika 2.2.1. Struktura laktoze

### 2.2.1. Razgradnja laktoze kod bakterija

Razgradnja laktoze najbolje je proučena kod bakterije *Escherichia coli* gdje se odvija pod kontrolom *lac* operona. Operon čine više susjednih gena pod zajedničkom transkripcijskom kontrolom istog promotora i operatora. *Lac* operon je jedan od najbolje proučenih i istraživanih primjera ekspresije gena.



Slika 2.2.1.1. Reakcija cijepanja glikozidne veze među monosaharidnim jedinicama pomoću enzima  $\beta$ -galaktozidaze. Laktoza se razgrađuje na glukozu i galaktozu.

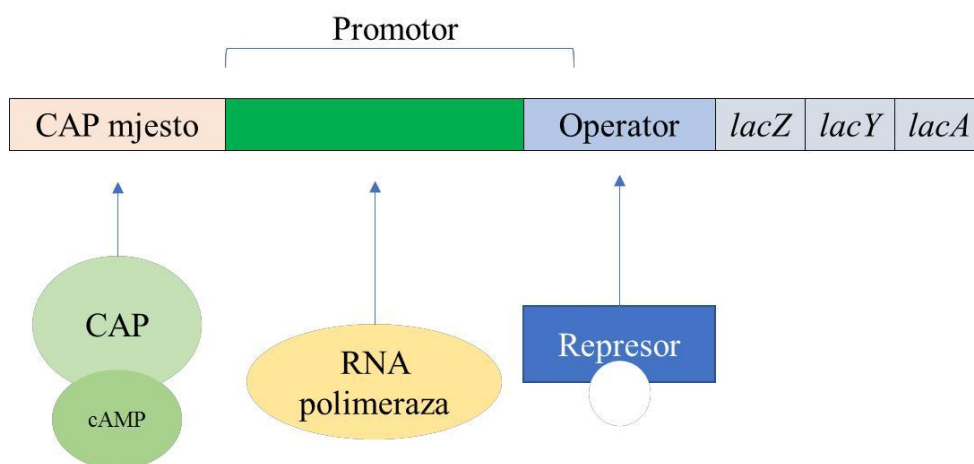


Slika 2.2.1.2. Reakcija pretvorbe laktoze u izomer alolaktozu pomoću enzima  $\beta$ -galaktozidaze

*Lac* operon sadrži tri gena: *lacZ*, *lacY* i *lacA*. Geni su pod kontrolom jednog zajedničkog promotora te njihovom transkripcijom nastaje mRNA koja kodira za tri proteina. Geni u *lac* operonu određuju proteine koji pomažu stanici da koristi laktozu. *LacZ* gen kodira enzim zvan  $\beta$ -galaktozidaza, koji je odgovoran za cijepanje laktoze (disaharida) na lako upotrebljive glukozu i galaktozu (monosaharide) (slika 2.2.1.1.). Osim toga,  $\beta$ -galaktozidaza pretvara laktozu u alolaktozu (slika 2.2.1.2.).

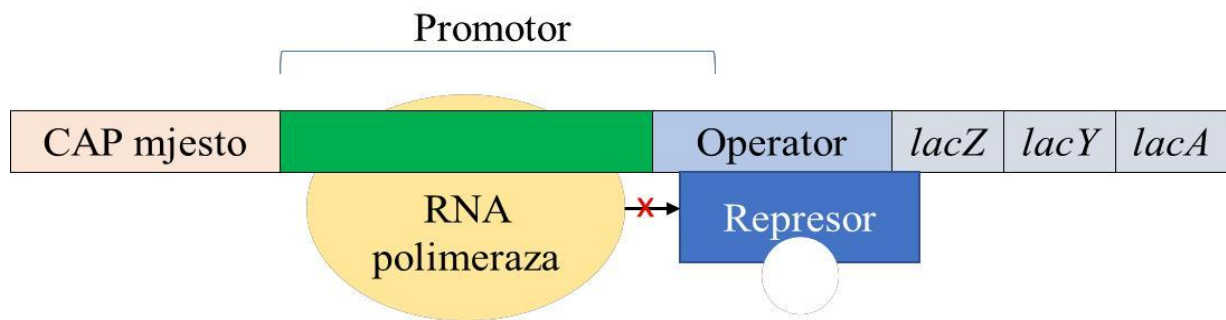
*LacY* kodira membranski protein zvan permeaza, koja je transmembranska pumpa i omogućuje stanici unos laktoze. *LacA* gen kodira enzim koji se naziva transacetilaza i povezuje određenu kemijsku skupinu sa ciljanim molekulama. Još nije otkriven mehanizam kako transacetilaza djeluje. Uz tri gena, *lac* operon sadrži i niz regulacijskih DNA sekvenci.

To su područja DNA na koja se mogu vezati određeni regulacijski proteini koji kontroliraju transkripciju operona.

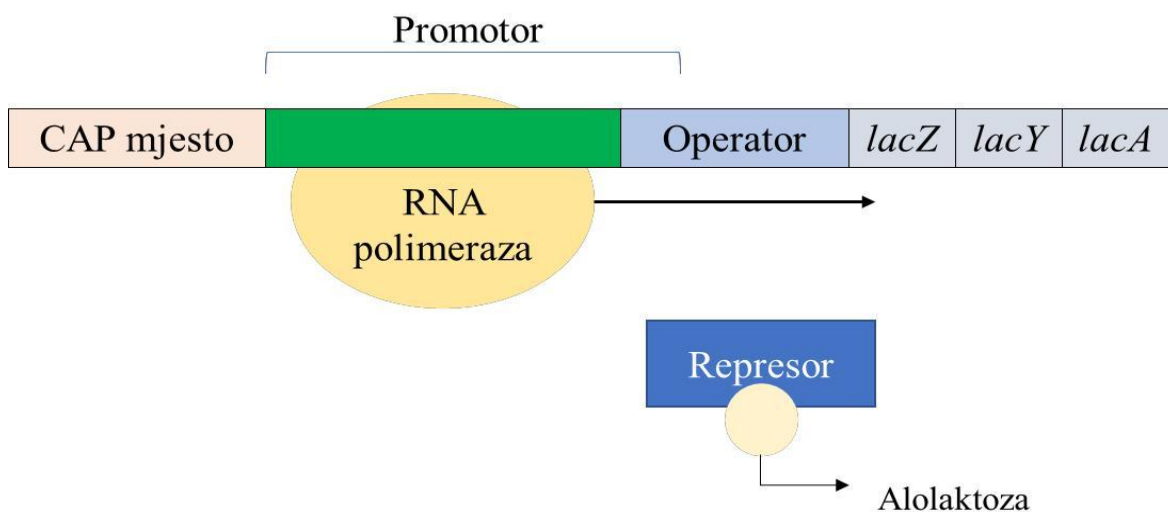
Slika 2.2.1.2. Struktura *lac* operona

Promotor je mjesto na *lac* operonu na koji se veže RNA-polimeraza, enzim koji provodi transkripciju. Operator je negativno regulacijsko mjesto za koje se veže represorski protein Lac represor. Operator se preklapa s promotorom pa kada je Lac represor vezan za operator, RNA-polimeraza se ne može vezati na promotor i započeti transkripciju. Mjesto vezanja CAP-a je pozitivno regulacijsko mjesto za koje se veže katabolički aktivator CAP. Kada je CAP vezan za svoje mjesto, on potiče transkripciju pomažući RNA-polimerazi da se veže na promotor.

Lac represor je protein koji inhibira transkripciju *lac* operona. Veže se na operator, koji se djelomično preklapa s promotorom. Kada je vezan, Lac represor sprječava RNA-polimerazi put i tako sprječava transkripciju operona. Gen koji kodira Lac represor naziva se *lacI* i za razliku od ostalih *lac* gena, pod kontrolom je vlastitog promotora. *lacI* nalazi se u blizini *lac* operona, ali nije dio njega. *lacI* se kontinuirano transkribira tako da je njegov produkt Lac represor uvijek prisutan. Kad laktoza nije prisutna, Lac represor čvrsto se veže za operator, sprječavajući transkripciju RNA-polimerazom. Međutim, kada je prisutna laktoza, Lac represor gubi sposobnost vezanja DNA. Neke će molekule laktoze biti pretvorene u alolaktozu unutar stanice. Alolaktoza, koja je izomer laktoze, veže se na represor i tako sprječava njegovo vezanje za operator. Represor je alosterički protein koji vezanjem alolaktoze mijenja konformaciju i afinitet vezanja za operator; takav represor nije vezan za operator i ostavlja mjesto za vezanje RNA-polimeraze.



Slika 2.2.1.3 Regulacija ekspresije gena bez pristunosti laktoze (alolaktoze).

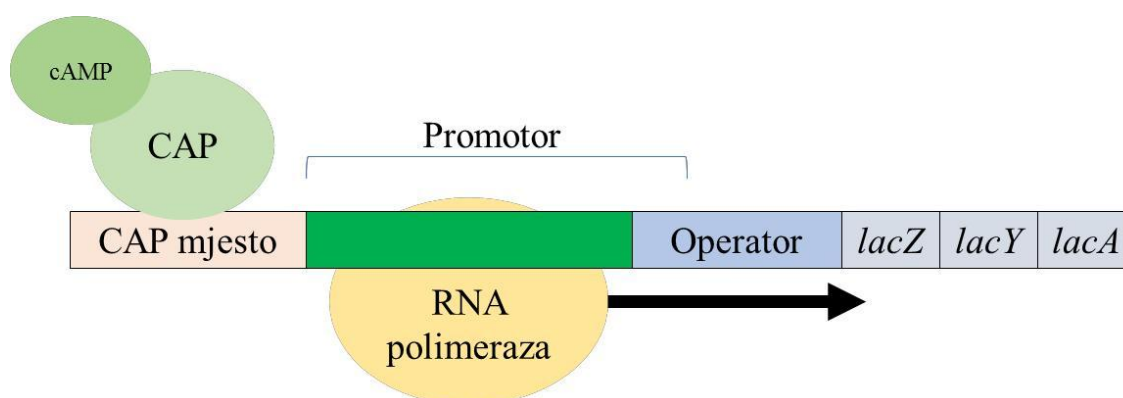


Slika 2.2.1.4. Regulacija ekspresije gena u prisutnosti laktoze (alolaktoze) RNA-polimeraza sama se ne veže vrlo dobro na promotor *lac* operona. Stoga takva RNA-polimeraza može transkribirati nekoliko transkripata, ali neće učiniti mnogo više od toga ukoliko ne dobije dodatnu pomoć CAP (eng. *catabolite gene activator protein*) proteina. CAP se veže na područje DNA neposredno prije promotora *lac* operona i pomaže pri vezanju RNA-polimeraze na promotor, što omogućuje RNA-polimerazi visoku aktivnost i produktivnost.

Kao i Lac represor, CAP je kodiran regulacijskim genom koji se nalazi na bakterijskom kromosomu. Gen za CAP nije dio *lac* operona. CAP protein je uvijek dostupan u stanici da veže cAMP i „obavještava“ o razinama glukoze na *lac* operonu i na drugim ciljanim genima i operonima. CAP nije uvijek aktivan, odnosno sposoban za vezanje DNA. Vezanje CAP za operon regulira mala molekula nazvana ciklički AMP (cAMP). cAMP je signal koji javlja da je razina glukoze niska. cAMP se veže na CAP, koji mijenja svoju konformaciju i čini ga

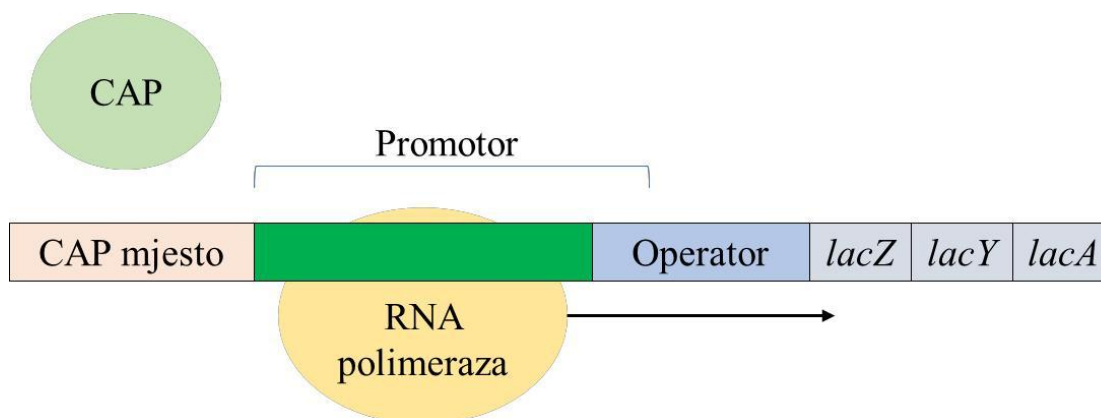
sposobnim za vezanje na DNA te poticanje transkripcije. Kada je razina glukoze mala, povisi se razina cAMP-a koji se veže na CAP, koji se potom veže na CAP mjesto na DNA. Kada je razina glukoze visoka, razina cAMP je smanjena. CAP se ne veže na DNA bez prisutnosti cAMP, te je transkripcija operona znatno smanjena.

Kada se glukoza prenosi u stanicu, transportni proces inhibira sintezu cAMP-a, stoga kada je dostupna velika količina glukoze i njen ulazak u stanicu, ne može se proizvesti puno cAMP. Međutim, ako malo ili nimalo glukoze nije dostupno za transport u stanicu, sinteza cAMP više neće biti inhibirana i razina cAMP-a će porasti. S druge strane, pri visokoj razini glukoze, količina cAMP-a je niska. CAP je aktivan samo kada su razine glukoze u stanici niske, odnosno kada je razina cAMP visoka. *Lac* operon može se snažno transkribirati samo kada nema glukoze. Ova strategija omogućava da se *lac* operon uključi i počne koristiti laktozu, samo nakon što je potrošen sav primarni izvor energije – glukoza. Dakle, *lac* operon se najjače transkribira kada su razine glukoze niske te kada je laktoza dostupna. [3]



Slika 2.2.1.5. Regulacija ekspresije gena pri niskim koncentracijama glukoze – transkripcija pojačana





Slika 2.2.1.6. Razina ekspresije gena pri visokim koncentracijama glukoze – utišana transkripcija

Tablica 2. Sumarna regulacija transkripcije<sup>[3]</sup>

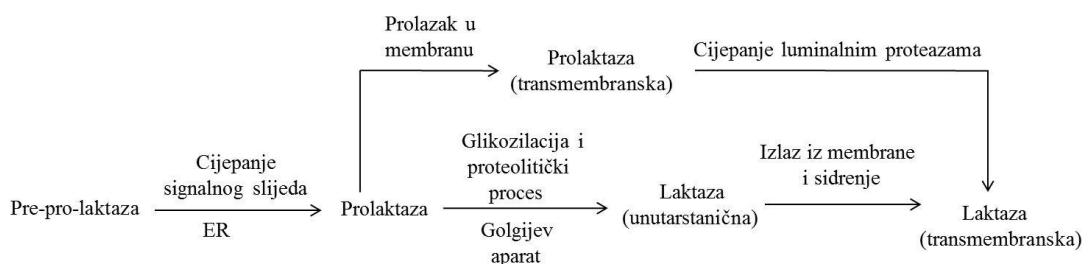
Glukoza	Laktoza	Vežanje CAP	Vežanje represora	Razina transkripcije
+	-	-	+	Nema
+	+	-	-	Niska
-	-	+	+	Nema
-	+	+	-	Visoka

## 2.3. Laktaza

### 2.3.1. Laktaza i LCT

Laktaza je enzim koji proizvode mnogi organizmi, a nalazi se na sluznici tankog crijeva u ljudi i drugih sisavaca. Potreban je za potpunu razgradnju mlijeka, odnosno za razgradnju mliječnog šećera. Laktaza spada u porodicu  $\beta$ -galaktozidaza.  $\beta$ -galaktozidaze cijepaju  $\beta$ -glikozidnu vezu između dvije monosaharidne jedinice, koje su povezane u disaharid. Laktaza je poznata i kao glikozid-hidrolaza, što znači da hidrolizira  $\beta$ -glikozidnu vezu disaharida laktoze na monosaharide  $\beta$ -glukozu i  $\beta$ -galaktozu. Ljudska laktaza kodirana je genom LCT (eng. *human lactase gene*). Ljudski laktazni gen sadrži 55 000 parova baza i sastoji se od 17 eksona. LCT se transkribira u laktaznu mRNA pomoću RNA-polimeraze, a laktazna mRNA prevodi se na ribosomu, koji je vezan za membranu ER-a, u polipeptid nazvan pre-pro-laktaza. Laktaza se sastoji od pet domena: signalni slijed duljine 19 aminokiselina koji se otcjepljuje, velika domena koja nije prisutna u zreloj laktazi, zreli segment laktaze, membransko hidrofobno sidro i kratki hidrofilni karboksilni kraj. Tijekom translacije polipeptid duljine 1927 aminokiselina ulazi u endoplazmatski retikulum, ali ostaje usidren u

lipidnom dvosloju membrane endoplazmatskog retikuluma. Nekoliko podjedinica pre-pro-laktaze odcjepljuje se dok se enzim prevodi u zreli oblik. Nezreli protein dimerizira unutar ER. Tada transportna vezikula koja sadržava prolaktazu napušta ER i odlazi kako bi se spojila s Golgijevim aparatom. Unutar Golgijevog aparata „pro“ podjedinica, prije no što napusti enzim, sprječava degradaciju i osigurava pravilno smatanje laktaze u zrelu kvarternu strukturu. Vezikula koja sadrži zrelu laktazu putuje iz Golgijevog aparata kako bi se spojila s membranom epitelne stanice u sluznici crijeva. Enzim ovdje obavlja funkciju hidrolize laktoze.<sup>[4][9]</sup>



Slika 2.3.1.1. Obrada i lokalizacija produkata translacije ljudske laktaze

Laktaza je homotetramer, izgrađen od četiri identična polipeptidna lanca s više od 1000 aminokiselina. Peptidni lanci povezani su nekovalentnim vezama. Laktaza sadrži natrijeve i magnezijeve katione.<sup>[5]</sup>

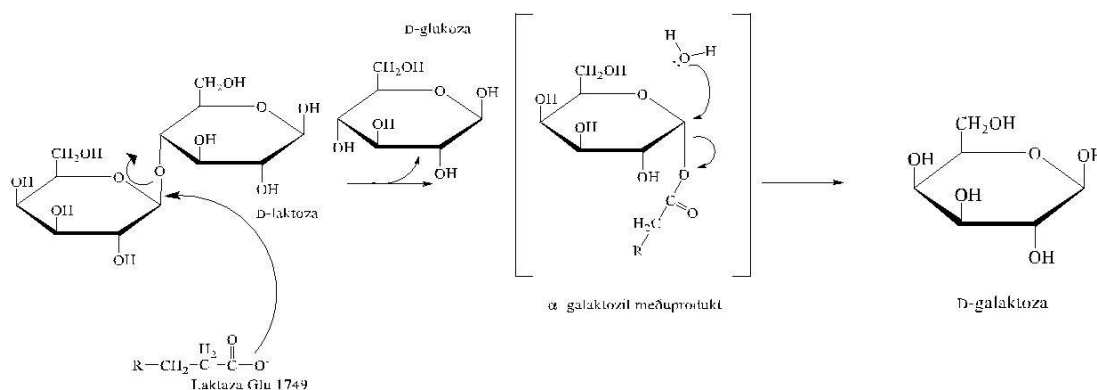


Slika 2.3.1.2. Kvaterna struktura laktaze<sup>[5]</sup>

### 2.3.2. Aktivnost laktaze

Laktaza razgrađuje mliječni šećer, laktozu, što omogućava ljudima i ostalim sisavcima normalnu probavu mlijeka i mliječnih proizvoda. Optimalna temperatura za aktivnost ljudske laktaze je oko 37 °C, a optimalan pH se kreće oko 6. [6]

U aktivnom mjestu laktaze nalazi se Glu koji je bitan za razgradnju laktoze.



Slika 2.3.1.2. Mehanizam razgradnje laktoze kataliziran laktazom

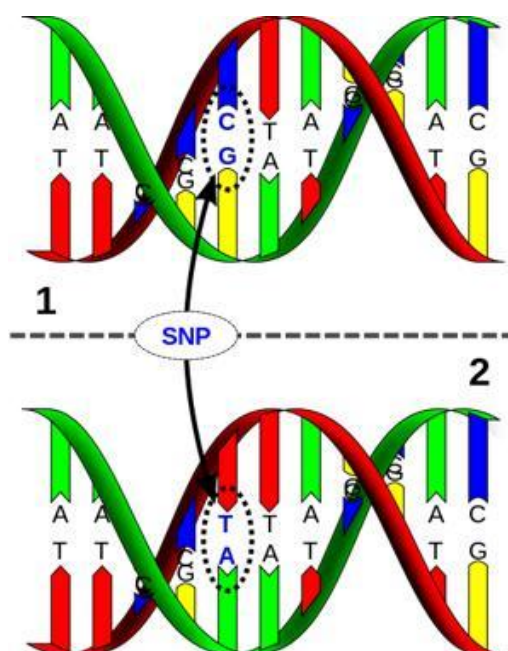
U metabolizmu,  $\beta$ -glikozidna veza u D-laktozi hidrolizira se kako bi nastala D-galaktoza i D-glukoza, koje se transportiraju kroz crijeva i odlaze u krvotok. Katalitički mehanizam hidrolize D-laktoze sadržava anomernu konfiguraciju supstrata u produktima. Detalji mehanizma nisu potvrđeni, a stereokemijsko zadržavanje postiže se reakcijom dvostrukog pomaka. Najistraživanija laktaza je ona iz bakterije *E. coli*. Predloženo je da se hidroliza inicira kada glutamatni nukleofil na enzimu napada aksijalnu stranu galaktozidnog ugljika u  $\beta$ -glikozidnoj vezi. Uklanjanje D-glukozne skupine može biti olakšano Mg-ovisnom kiselim katalizom. Enzim se oslobađa iz galaktozidne jedinice na ekvatorijalni nukleofilni napad vode, što dovodi do stvaranja D-galaktoze. [7]

Istraživanja modifikacije supstrata pokazale su da su 3'-OH i 2'-OH skupine na galaktopiranoznom prstenu bitni za enzimsko prepoznavanje i hidrolizu. 3'-hidroksi skupina uključena je u početno vezanje na supstrat dok 2'-hidroksi skupina nije nužna za prepoznavanje, ali je potrebna u kasnijim koracima. To je dokazano činjenicom da je 2-deoksianalog učinkovit djelotvorni inhibitor ( $K_i = 10 \text{ mmol/ dm}^{-3}$ ). [8]

### 2.3.3. Polimorfizam jednog nukleotida

Ako nukleotidna supstitucijska mutacija postiže učestalost od 1% u populaciji tijekom nekog vremena, smatra se polimorfizom jednog nukleotida odnosno SNP (eng. *single nucleotide polymorphism*). SNP je vrsta mutacije pri kojoj se mijenja samo jedan nukleotid u slijedu.

S genom za laktazu povezano je nekoliko polimorfizama jednog nukleotida. Polimorfizmi ili povećavaju ili smanjuju sposobnost transkripcijskog faktora da se veže na DNA na potrebnom mjestu. Afinitet vezanja utječe na vjerojatnost da će faktori transkripcije vezani za DNA ili odbiti ili privući RNA-polimerazu, koja je ključna za transkripciju. U jednom dobro proučavanom SNP-u 13910 parova baza uzvodno od gena za laktazu, citozinska baza koja se nalazi u DNA, zamijenjena je timidinom. Mutacija T umjesto C povećava afinitet vezanja transkripcijskog faktora Oct-1 koji djeluje kao aktivator transkripcije gena za laktazu. [9]



Slika 2.3.3.1. Polimorfizam jednog nukleotida na primjeru gena za laktazu [9]

### 2.3.4. Fenotipovi povezani s laktazom

Većina ispitivanja pokazuje prisutnost dva fenotipa „laktaza – aktivni“ (izvedeni fenotip) i „laktaza – neaktivni“ koji se odnose na aktivnost/neaktivnost laktaze nakon dječje dobi. „Laktaza – aktivan“ fenotip uključuje visoku ekspresiju mRNA i visoku aktivnost laktaze, što je uvjet za sposobnost probavljanja laktoze i kod odraslih osoba. „Laktaza – neaktivan“ fenotip, ponaša se obrnuto od „laktaza - aktivnog“ te uključuje nisku ekspresiju mRNA i nisku aktivnost laktaze.

Uočeno je da se hipolaktazija recesivno i autosomno nasljeđuje, što znači da su pojedinci s „laktaza – neaktivnim“ fenotipom, homozigotni, što upućuje na to da su primili dvije kopije laktaznog alela s niskom aktivnošću od svojih roditelja, koji mogu biti homozigotni ili heterozigotni za laktazni alel s niskom aktivnošću. S druge strane, „laktaza-aktivan“ alel je dominantan što znači da i heterozigoti koji sadrže samo jednu kopiju „laktaza-aktivnog“ alela, pokazuju „laktaza-aktivan“ fenotip. Pojačana aktivnost laktaze ponaša se kao dominantna osobina, jer samo pola njene aktivnosti dovoljno je za pokazivanje značajnog probavljanja laktoze. Cis–regulirano transkripcijsko utišavanje laktaznog gena je odgovorno za fenotip hipolaktazije. Istraživanja pokazuju da je pronađeno samo osam slučajeva gdje su djeca imala „laktaza-aktivni“ fenotip iako su oba roditelja bila hipolaktatična. [11]

Dok razni genetički i nutritivni čimbenici utječu na ekspresiju laktaze, nije pronađen nikakav dokaz za adaptacijsku promjenu ekspresije laktaze unutar pojedinca kao odgovor na promjene u razini potrošnje laktoze. Poznata su dva različita fenotipa hipolaktazije: fenotip I, karakteriziran smanjenom sintezom prekursora laktaze, LPH (eng. *lactase phlorizin hydrolase*) i fenotip II, povezan s dovoljnom sintezom prekursora, ali smanjenom pretvorbom proteina u zreli enzimski oblik.

Postoji šest mutacija koje su povezane s ekspresijom laktaze. Sve mutacije locirane su u regiji gena MCM6 u blizini gena za laktazu LCT. Ta regija smatra se područjem pojačivača za transkripciju LCT. Prva identificirana genetska varijanta povezana s visokom aktivnošću laktaze je promjena baze C u T\* na mjestu -13910. Divlji tip alela je C, a izvedeni alel, povezan s visokom aktivnošću laktaze je T. U istom istraživanju pronađena je druga varijanta koja se također povezuje s „laktaza – aktivnim“ fenotipom, G\*/A-22018. Identificirani su i drugi aleli povezani s visokom aktivnošću laktaze: G/ C\*-14010, C/G\* - 13907 i T/ G\*-13915. Ove tri varijante rasprostranjene su u nekim populacijama.

Aleli koji omogućuju visoku aktivnost laktaze variraju u različitim zemljopisnim regijama. Unutar europskih populacija i populacija europskog podrijetla, oni su u potpunosti korelirani s prisutnošću

-13910 C/ T mutacije u pojačivačkoj regiji laktaznog gena. Aleli se razlikuju u ostatku svijeta, posebno u Africi i na Bliskom Istoku, gdje postoji nekoliko alela. T/ G\* -13915 alel nalazi se uglavnom u populacijama Istočne i Sjeverne Afrike i Bliskog istoka. Alel G/C\*-14010 identificiran je u Istočnoj Africi. C/G\* 13907 alel pronađen je u Sudanu i Etiopiji. „Europski“ alel C/T\* -13910 alel također se nalazi u populacijama iz Afrike i središnje Azije. Nije

poznato kako određene varijante ovih alela reguliraju ekspresiju LCT gena. Nijedna identificirana mutacija nije pokazala kako djeluje na aktivnost laktaze. „Europska varijanta“ na položaju -13910 ima funkciju pojačivača na promotoru laktaze (promotor olakšava transkripciju LCT gena). T-13910 ima veću aktivnost pojačivača transkripcije u odnosu C-13910 pa se smatra da je ova mutacija odgovorna za razlike u ekspresiji gena za laktazu, iako nije pronađeno dovoljno dokaza je li visoka aktivnost laktaze uzrokovana samo promjenom C

→ T na mjestu -13910. [10]

### 2.3.5. Istraživanja genetske podloge hipolaktazije

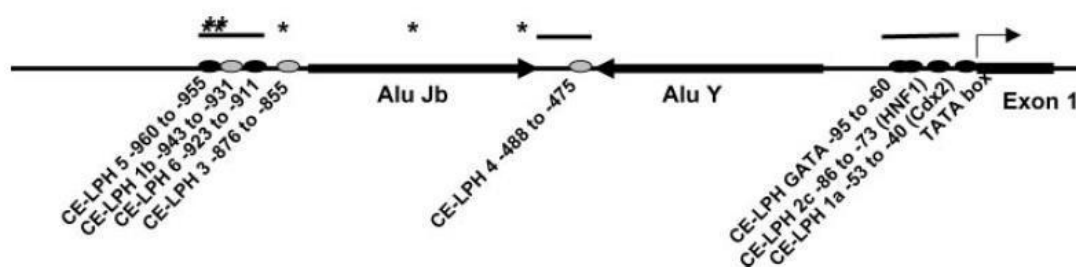
Istraživanja obitelji koja su koristila testove tolerancije na laktozu, pokazala su da su individualne razlike u aktivnostima laktaze bile uzrokovane genetskim polimorfizmom.

Rezultati pokazuju da su odrasli sa smanjenom aktivnošću laktaze homozigoti za autosomni recesivni alel koji uzrokuje smanjenu aktivnost laktaze, dok su ljudi koji imaju aktivnu laktazu ili heterozigotni ili homozigotni za dominantni alel. Daljnji dokaz o genetskoj prirodi ove varijacije dolazi iz studije razgradnje laktoze u blizancima. Usklađenost fenotipova laktaze bila je potpuna u jednojajčanim blizancima, dok je u dvojajčanim bila podijeljena. U daljnjim istraživanjima je uočeno da u uvjetima stresa, heterozigoti s jednim dominantnim alelom imaju veću sklonost od homozigota da postanu netolerantni prema laktozi, jer imaju samo jedan aktivan gen te stoga proizvode manje količine laktaze. Znamljivo je da kod osobe koja nema aktivnu laktazu, laktoza u mlijeku ili mliječnim proizvodima ne mora nužno prouzročiti pojavu simptoma netolerancije na laktozu, osobito ako se konzumiraju vrlo male količine prehrambenih proizvoda u kojima se nalazi laktoza. Mnogi genetički i prehrambeni čimbenici mogu utjecati na probavu laktoze kod jedne osobe, tako da samo procjena statusa tolerancije nije u potpunosti točna. Studije pokazuju da ljudi mijenjaju unos mlijeka i mliječnih proizvoda, svjesno ili nesvjesno s obzirom na njihov osobni prag tolerancije na laktozu, međutim, zasad nema dokaza za prilagodljivu promjenu u ekspresiji laktaze. [11]

### 2.3.6. Istraživanja LCT promotora

Provedena su istraživanja funkcije promotora gena za laktazu iz svinja i štakora u transgeničnim miševima. Proučeni su slijedovi ispred TATA regije promotora LCT gena iz svinja i kod drugih vrsta koji bi imali cis-ulogu u regulaciji transkripcije. Cis-elementi su slijedovi u DNA koji reguliraju transkripciju nekog gena i obično se nalaze uzvodno od

kodirajućeg slijeda. Trans-elementi su transkripcijski faktori, proteini koji djeluju trans na aktivnost gena. Ljudski, štakorski i svinjski promotori LCT gena sadrže homologne sljedove, iako je kod čovjeka ta homologija poremećena parom Alu elemenata. Uzvodno od Alu sljedova pronađena je homologija sa sljedovima kod svinja, ali ne i kod štakora. Ljudske promotorske regije prikazane su na slici 2.3.5.1. Za dio tih sljedova koji su homologni promotoru kod svinja pretpostavljeno je da sadrže vezna mjesta za transkripcijske faktore što je kasnije i eksperimentalno dokazano. Većina tih očuvanih sljedova nalaze se u regijama gdje nema pronađenih SNP-ova. Međutim, pronađeni su i dodatni sljedovi koji su dio visoko polimorfne regije u blizini Alu ponavljanja koja sadrži nekoliko SNP-ova. Ta regija je najviše proučavana jer je unatoč velikim razlikama, ona vrlo slična između čovjeka i svinje, i sadrži elemente sličnih sljedova. Međutim, ta mjesta ipak nisu uzrok fenotipskog polimorfizma jer ne pokazuju odgovarajuću povezanost s visokom aktivnošću, odnosno neaktivnošću laktaze u odrasloj dobi. Sekvenciranje regija neposredno uz LCT te eksonskih regija nisu omogućili identificiranje bilo kakve razlike nukleotida koje bi mogle biti uzrok fenotipskom polimorfizmu.



Slika 2.3.5.1. Struktura humanog LCT promotora<sup>[11]</sup>

## 2.4. Uzroci nepodnošenja laktoze

Oko dvije trećine stanovništva podložno je genetski uvjetovanom smanjenju sinteze laktaze nakon dojenačke dobi – primarni nedostatak laktaze. Sekundarni nedostatak laktaze može nastati kod osoba koje inače imaju „laktaza-aktivni“ fenotip, ali uslijed gastrointestinalnih infekcija, bolesti crijeva, abdominalnih kirurških zahvata i drugih zdravstvenih tegoba kod njih dolazi do smanjenja aktivnosti laktaze. Oba slučaja razlikuju se od urođenog nedostatka laktaze, što je iznimno rijetko, a uočeno je tek kod 40 slučajeva, uglavnom u Finskoj. Bez obzira na uzrok, nedostatak laktaze rezultira neapsorbiranom laktozom u crijevu, koja ima

učinke koji dovode do nepodnošenja laktoze u osjetljivim pojedincima. [12] Kao prvi rezultat nedostatka laktaze javlja se povećano osmotsko opterećenje koje povećava sadržaj crijevne vode. Drugo, mikroorganizmi debelog crijeva mogu fermentirati laktozu, što dovodi do proizvodnje kratkolančanih masnih kiselina i plinova kao što su vodik, ugljikov dioksid i metan. Ovi procesi također su prisutni kod svih ostalih slabo apsorbiranih, fermentabilnih oligosaharida, disaharida i monosaharida. U istraživanju su sudjelovali zdravi dobrovoljci kod kojih je primijenjena scintigrafija i magnetska rezonancija kako bi se dokumentiralo vrijeme prolaska laktoze od usta do anusa zajedno s ispitivanjem daha za procjenu fermentacije supstrata. Fruktaza, koja je disaharid baš kao i laktoza, malo je, ali vidljivo povećala crijevnu vodu, te ubrzala usno-anusno tranzitno vrijeme i izazvala porast proizvodnje vodika. S druge strane 30 grama glukoze, koja je kontrolirano dobro apsorbirana, nije imalo učinka. Dugolančani ugljikohidrati, kao na primjer fruktani ili celuloza, koji nisu probavljeni ili apsorbirani u tankom crijevu imaju manje utjecaja na tranzit kroz tanko crijevo nego ugljikohidrati kratkog lanca. Međutim, fermentacija ovih materijala u debelom crijevu ima slične učinke na funkciju debelog crijeva. Tolerancija na prehrambenu laktozu ovisi o nekoliko čimbenika koji uključuju doze konzumirane laktoze, preostalu ekspresiju laktaze, konzumiranje laktoze s drugim dijetalnim sastojcima, vrijeme probavnog transporta, ali i o sastavu crijevnog mikrobioma.

Simptomi nepodnošenja laktoze obično se ne pojavljuju dok aktivnost laktaze ne padne ispod 50%. Redoviti unos laktoze također može imati isti učinak. Konzumacija laktoze, odnosno tolerancija iste, može biti inducirana prilagodbom crijevne flore. Većina ljudi koji nemaju laktazu mogu podnijeti male količine laktoze, posebno kada se kombinira s drugom hranom.

Ispitivanja su provedena s tri različite količine laktoze, 10 g, 20 g i 40 g, kod pacijenata sa sindromom iritabilnih/nadražljivih crijeva (*IBS*, eng. *irritable bowel syndrome*) i kontrolnih pacijenata u kineskoj populaciji s nedostatkom laktaze. Istraživanje je uključivalo dozu ispod normalnog praga količine laktoze do pojave simptoma (10 g), dozu koja odražava normalni unos laktoze u jednom obroku (20 g) i dozu laktoze koja uzrokuje simptome (40 g). Ta metoda se zove „metoda višestruke doze“, a pokazuje učinak doze u obje istraživane skupine i zabilježava prehrambene navike pacijenta. Uočeno je da je rizik od simptoma uvelike povećan kod pacijenata s nadražljivim debelim crijevom, a naročito pri niskim dozama u prehrani. Poznato je da su IBS bolesnici osjetljiviji na različite prehrambene i fizičke promjene



gastrointestinalnog trakta u odnosu na zdrave ljude. Daljnja istraživanja kineskog stanovništva pokazala su da su anksioznost, visceralna preosjetljivost i visoka proizvodnja plinova na testovima disanja povezani sa simptomima i nakon skromne doze od 20 g.<sup>[13]</sup>

#### 2.4.1. Malapsorpcija

Malapsorpcija se odnosi na nesposobnost da se apsorbiraju nutrijenti i vitamini iz hrane.

Postoji mnogo različitih faktora koji mogu utjecati na probavu i apsorpciju, kao što su paraziti, anatomske nedostaci, sindrom nadraženih crijeva, ali i poremećaji gušterače i bolesti jetre. Većina slučajeva malapsorpcije uključuje nedostatak jednog ili nekoliko ključnih hranjivih tvari, a ne potpunu neuhranjenost.<sup>[14]</sup>

## 2.5. Dijagnosticiranje, simptomi i liječenje nepodnošenja laktoze

### 2.5.1. Dijagnosticiranje nepodnošenja laktoze

Malapsorpcija laktoze gotovo uvijek se može pripisati nedostatku laktaze, a može se dokazati iz mjerenja malapsorpcije kao što je povećanje glukoze u krvi ili povećanje vodika u dahu (eng. *breath test*).

U tablici 2.5.1.1. prikazan je popis testova za dijagnosticiranje malapsorpcije i netolerancije laktoze. Kao referentni standard za nedostatak primarne i sekundarne laktaze smatraju se testovi aktivnosti laktaze pri kojima se uzima uzorak sluzave kože iz dvanaesnika. Genetski testovi mogu biti korisni za identifikaciju prisutnosti laktaze u nekim europskim populacijama jer je T -13910 alel povezan sa 86-98% aktivnosti laktaze u europskim populacijama međutim ostali SNP-ovi su prisutni u arapskim i afričkim populacijama.

Razgradnja laktoze i povezanost probavnih problema sa simptomima mogu se procijeniti testom disanja (H<sub>2</sub>) i testom na netoleranciju laktoze. Prvi problem pri izvođenju i tumačenju testova može predstavljati fluktuacija šećera u krvi. Također, test disanja može biti lažno pozitivan u prisutnosti pretjeranog bakterijskog rasta u tankom crijevu, ali veći problem su lažno-negativni rezultati zbog prisutnosti bakterija koje ne proizvode vodik u debelom crijevu (2%-43%). Problem nestvaranja vodika može se do određene mjere ublažiti ispitivanjem izvješća o bolesniku o simptomima nakon testne doze. Pacijenti s lažno pozitivnim testovima disanja imaju simptome neposredno nakon konzumiranja laktoze, a oni s pravim pozitivnim testovima netolerancije na laktozu pokazuju simptome tek nakon što je supstrat ušao u debelo crijevo, obično nakon 50-100 minuta od uzimanja laktoze. Da bi se poboljšali rezultati

ispitivanja moguće je kombinirati druge testove, biopsiju tankog crijeva ili genetsko testiranje s testovima disanja. [13]

Tablica 2.5.1.1. Vrste testova za ispitavnje malapsorpcije laktoze i tolerancije na laktozu<sup>[13]</sup>

	<b>Izdisajni test vodika</b>	<b>Test tolerancije na laktozu</b>	<b>Genetički test</b>	<b>Aktivnost laktaze u tankom crijevu</b>
<b>Princip testa</b>	Promatranje povećanja H <sub>2</sub> u respiratornom zraku nakon uzimanja laktoze	Povećanje glukoze u krvi nakon uzimanja laktoze	Genetički -13910 C/T polimorfizam	Enzimska aktivnost laktaze u biopsiji
<b>Granične vrijednosti</b>	>20 ppm tokom 3 sata	< 1.1 mmol/ L tokom 3 sata	C:C13910 neaktivna laktaza	<17-20 IU**/g
<b>Dostupnost testa</b>	Dobra	Odlična	Promjenjiva	Rijetka
<b>Lažno pozitivan rezultat</b>	Brzi GI* – prijelaz	Brzi GI-prijelaz	Rijetko	Vrlo rijetka
<b>(pogrešna dijagnoza)</b>	Pretjeran rast bakterija u tankom crijevu	Smanjena tolerancija na glukozu	kod Europljana (<5%)	
<b>Lažno negativno:</b>	Bakterije debelog crijeva ne proizvode H <sub>2</sub>	Fluktuacije u	Svi uzroci	mozaična
<b>Malapsorpcija pogrešno isključena</b>		razini glukoze u krvi	sekundarne malapsorpcije laktoze	ekspresija enzima
<b>Sekundarni uzroci</b>	Ne mogu biti isključeni, sugestivno kinetičko povećanje H <sub>2</sub>	Ne mogu biti isključeni	Ne mogu biti isključeni	Mogu biti isključeni (ako se provede histopatologija u istoj proceduri)
<b>Procjena simptoma</b>	Moguća	Moguća	Nemoguća	Nemoguća
<b>Komentar</b>	Metoda izbora za procjenu malapsorpcije i nepodnošenja laktoze	Rijetko se izvodi zbog slabe osjetljivosti i specifičnosti	Daje definitivan odgovor kod Europljana, manje u ostalim populacijama. Nije pogodan za sekundarni nedostatak laktaze	Referentni standard za otkrivanje nedostatka laktaze (primarne ili sekundarne)

\*GI – gastrointestinalni – probavni

\*\*IU – International unit – mjerna jedinica za enzimsku aktivnost

Izdisajni test vodika je jedan od mogućih testova koji se provodi u svrhu dokazivanja netolerancije na laktozu. Test disanja mjeri količinu vodika u izdahnutom zraku, a koji nastaje kao produkt bakterijske razgradnje laktoze. Visoka koncentracija tog plina u izdahnutom zraku je znak da laktoza nije razgrađena. Mjerenja se rade na prazan želudac, prije i u određenim vremenskim intervalima nakon konzumiranja tekućine s laktozom. Nedostatak testa je to što je dug i zamoran te je potrebno konzumirati veće količine laktoze te se mogu dobiti lažno pozitivni ili lažno negativni rezultati. Test nije pogodan za jako malu djecu.

Test netolerancije na laktozu drugi je test koji se provodi za dokazivanje netolerancije na laktozu. Krvna pretraga mjeri količinu glukoze (šećera koji nastaje razgradnjom laktoze) prije i u određenim vremenskim periodima nakon konzumiranja tekućine s laktozom. Osam sati prije testa ne smije se jesti. Manjak glukoze u krvi dokaz je netolerancije laktoze, što znači da se laktoza nije razgradila. Test je vrlo jednostavan, no ne primjenjuje se često jer zahtijeva višestruko vađenje krvi koje kod pojedinaca može izazvati nelagodu ili osjećaj boli.

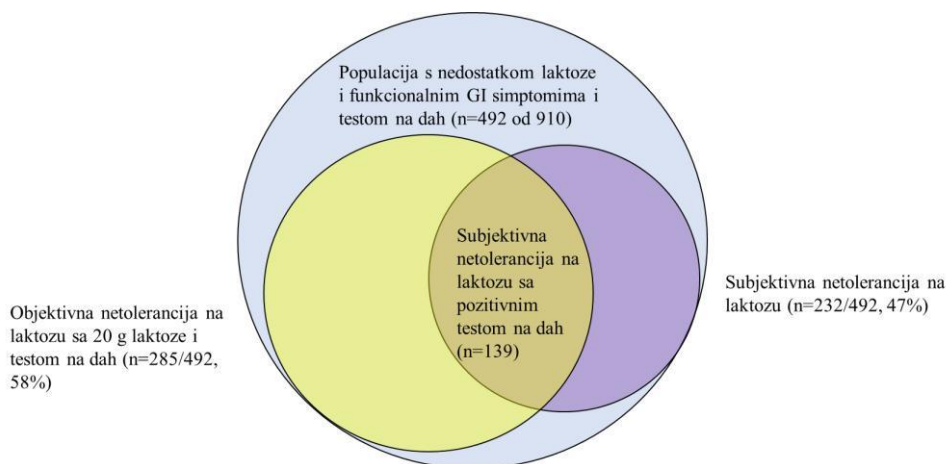
Genetički test spada u molekularne metode koje se baziraju na analizi DNA. Odrasli tip hipolaktazije povezan je s nekodirajućom mutacijom u genu MCM6. Radi se o jednostavnoj zamjeni citozina u timin (C u T). Genotipiziranje C/ T polimorfizma moguće je napraviti različitim metodama, no većina ih je tehnički zahtjevna i skupa, a neke su manje osjetljive i nedovoljno specifične.

Zadnja metoda utvrđivanja nedostatka laktaze u crijevnoj sluznici je biopsija tankog crijeva. Najdirektnija je metoda za utvrđivanje nepostojanja ili prisutnosti laktaze u crijevnoj sluznici, a provodi se endoskopijom što znači da je vrlo neugodna. Za utvrđivanje točne količine laktaze potrebno je provesti mjerenja glasničke RNA. [17]

### 2.5.2. *Simptomi hipolaktazije*

Kod većine ljudi koji ne mogu probaviti laktozu javljaju se isti simptomi. Najčešće su to simptomi gastrointestinalnog sustava, koji uključuju crijevne probleme, bolove u trbuhu i nadutost. Rijetko se netolerancija može povezati i s mučninom ili zatvorom, te nizom sustavnih problema, uključujući glavobolje, umor, lošom koncentracijom, bolovima u mišićima i zglobovima, čireve u ustima i urinarne probleme. Međutim, nije jasno jesu li ti atipični simptomi izravno posljedica konzumiranja laktoze ili su povezane sa prisutnošću

„funkcionalnih bolesti“ kao što je sindrom nadražljivog crijeva (IBS) kojeg često prate više somatskih problema. Nije moguće napraviti konačnu dijagnozu samo zbog dvostrukih slijepih pokusa koji su pokazali da je povezanost netolerancije laktoze i pojava simptoma nakon konzumiranja laktoze vrlo loša, čak i kod bolesnika s nedostatkom laktaze.



Slika 2.5.2.1. Nedostatak argumenata za razlike između subjektivne i objektivne netolerancije na laktozu<sup>[13]</sup>

### 2.5.3. Liječenje

Liječenje nepodnošenja laktoze nije prvenstveno usmjereno na smanjenje malapsorpcije nego na poboljšanje gastrointestinalnih simptoma. Preporučuje se ograničavanje unosa laktoze, ali čak i ljudi sa IBS-om, mogu uzimati najviše 12 g laktoze bez simptoma. Ponekad se i veće doze laktoze, na primjer 15 do 18 grama, mogu tolerirati kada se mliječni proizvodi uzimaju s dodatnim hranjivim tvarima. Istraživanja su pokazala da samo ograničavanje unosa laktoze nije dovoljno kako bi se simptomi djelotvorno ublažili ili u potpunosti nestali. Kod IBS-bolesnika, netolerancija na laktozu ima tendenciju da bude dio šire netolerancije prema slabo adsorbiranim, fermentabilnim oligo-, di-, monosaharidima i polioluma (FODMAP, vidi poglavlje 2.5.4.). FODMAP je prisutan čak kod polovice bolesnika s IBS-om i ne zahtijeva samo ograničavanje unosa laktoze, već i niske količine oligo-, di-, monosaharida i poliola.

Niska FODMAP dijeta može imati koristi kod IBS bolesnika. Sva istraživanja uključuju restrikciju laktoze u ranim fazama prehrane intervencije, ali posebna uloga laktoze koja uzrokuje simptome ne može se procijeniti, što ujedno i predstavlja glavno pitanje u gotovo svim ispitivanjima, odnosno kad se želi znati doprinos jedne komponente (npr. laktoze), što je vrlo teško procijeniti.

Oralno uzimanje enzima još je jedan važan pristup bolesnicima s netolerancijom na laktozu, kako bi oni mogli konzumirati mliječne proizvode bez posljedica. U tu svrhu se koristi laktaza dobivena iz kvasca *Kluyvermyces lactis* koja predstavlja dobru terapijsku strategiju s objektivnom i subjektivnom djelotvornošću, bez nuspojava. Ova laktaza pretvara laktozu u glukozu i galaktozu kako bi se omogućila učinkovita apsorpcija.

Slična strategija uključuje probiotike koji mijenjaju crijevnu floru i mogu imati blagotvorne učinke kod IBS pacijenata. Četiri tjedna probiotika poboljšali su simptome i smanjili proizvodnju vodika u bolesnika netolerantnih na laktozu. Takvi učinci trajali su najmanje tri mjeseca nakon prestanka uzimanja probiotika. U drugoj studiji, mlijeko koje sadrži jedan od probiotika, nije smanjilo simptome od pacijenata kod kojih je uočeno nepodnošenje laktoze u usporedbi s ostalim sudionicima. [13]

#### 2.5.4. FODMAP

FODMAP (eng. *Fermentable Oligosaccharides Disaccharides Monosaccharides And Polyols*) je skupina ugljikohidrata kratkog lanca i šećernih alkohola koji se prirodno nalaze u hrani ili kao prehrambeni aditivi. FODMAP uključuje fruktozu, fruktane, galakto-oligosaharide, laktozu i poliole. „Low FODMAP diet“ je dijeta koja inzistira na niskoj razini ovih šećera i alkohola. Dijeta je znanstveno dokazana, a koristi se na međunarodnoj razini, kao najučinkovitija dijetalna terapija za simptome nadražljivog crijeva. Takvi simptomi uključuju pretjerane vjetrove, bol u trbuhu, nadutost i napetost i promjene u crijevnim navikama.

FODMAP dijeta dokazana je u znanstvenim istraživanjima, kako bi se smanjili simptomi umora, letargije i slabe koncentracije.

FODMAP je akronim koji označava:

F – fermentirani

O – oligosaharidi – molekule šećera koje se sastoje od više monosaharida spojenih u lanac

D – disaharidi – molekula s dva monosaharida

M – monosaharidi

A – i (eng. *and*) kao veznik

P – poliole – šećerni alkoholi koji ne dovode do opijenosti<sup>[15]</sup>

„Niska“ FODMAP dijeta pokazala se kao učinkovit tretman za većinu ljudi koji pate od IBS i IBS tipa simptoma. Pacijenti sa IBS simptomima trebaju se konzultirati sa svojim liječnikom o svojim simptomima. Svi pacijenti sa simptomima sličnim IBS-u trebaju biti ispitani zbog

celijakije (osjetljivost na gluten). Ako se potvrdi sindrom nadražljivog crijeva preporuča se niska FODMAP dijeta.

FODMAP dijeta provodi se u dvije faze:

1. U početku poduzima se probna prehrana od osam tjedana koja smanjuje unos hrane visoke u „FODMAP-ovima“ kod osoba koje imaju IBS ili slične simptome.
2. Nakon osam tjedana u prvoj fazi FODMAP prehrane restrikcije preporuča se pregled specijalističkom dijetetičaru kako bi procijenio poboljšanja u prvoj fazi. Važno je utvrditi koliko dobro osoba može tolerirati ponovno uvođenje FODMAP-ova u svoju prehranu. Osim što nastoji smanjiti simptome, cilj dijetetičara je osigurati da osoba dobije maksimalnu raznolikost u svojoj prehrani.

Najčešći ishod dvostupanjskog postupka je da osobe sa IBS simptomima doživljavaju minimalne simptome, a toleriraju povećaju raznolikost hrane u planu prehrane koji je individualiziran.

Tijekom 3 do 4 tjedna potrebno je jesti samo dozvoljene namirnice, a zatim postupno dodavati i ostalu hranu te pritom obratiti pozornost na pojavu simptoma. Hrana koja uzrokuje probavne smetnje je ona koju treba izbjegavati. Bitno je dobro rasporediti obroke kako bi probava radila što bolje, između svakog jela treba napraviti pauzu od 3-4 sata.

Hrana koja se treba jesti na FODMAP dijeti je: voće (banana, borovnica, dinja, brusnica, grožđe, grejp, kivi, limun, limeta, mandarina, naranča, marakuja, malina, jagoda), povrće (patlidžan, mrkva, celer, krastavac, salata, zeleno lisnato povrće, bundeva, špinat, maslina, krumpir, žuta paprika, tikvica, batat), začini (bosiljak, chilli, korijandar, mažuran, menta, origano, peršin, ružmarin, timijan), žitarice (kruh bez glutena ili žitarice bez glutena, riža, zob, palenta, kvinoja, tapioka), meso i riba (dozvoljeno je svježe i duboko smrznuto), jaja, sjemenke (bučine, suncokretove, bademi, lješnjaci, indijski oraščić).

Hrana koju je potrebno izbjegavati: voće koje sadrži veliku količinu fruktoze (jabuka, mango, kruška, lubenica, voće u limenkama, voćni sokovi, velike porcije voća), laktoza, odnosno mlijeko i mliječni proizvodi (kravlje, kozje i ovčje mlijeko, sladoled, jogurt, kremasti sirevi), fruktani (šparoga, cikla, brokula, prokulice, kupus, komorač, češnjak, poriluk, luk, pšenica, raž, velike količine kruha, krekeri, keksa, kus-kusa ili tjestenine, cikorija, maslačak), sjemenke (zapečene grahorice, slanutak, grah i leća) i poliololi (jabuka, marelica, avokado,

višnja, nektarina, breskva, kruška, šljiva, suha šljiva, lubenica, cvjetača, zelena paprika, gljiva, kukuruz, zaslađivači (sorbitol, manitol, isomalt, maltitol).

## 2.6. Zaključak

Za probavu laktoze, mliječnog šećera, u ljudskom organizmu nužan je enzim laktaza, koji se sintetizira u tankom crijevu. Laktaza se veže na molekulu laktoze i cijepa ju na glukozu i galaktozu koje prelaze dalje u krvotok. Ukoliko je sinteza laktaze umanjena ili potpuno izostaje, to stanje zove se netolerancija na laktozu. Javlja se kod većine ljudi u svijetu, najmanje kod Europljana, jer je kod njih uočen polimorfizam jednog nukleotida, odnosno mutacija citozina u timin na mjestu -13910 alela za laktazu. Ova mutacija omogućuje visoku ekspresiju laktaze i nakon dojenačke dobi.

Postoji nekoliko vrsta testova netolerancije na laktozu, od kojih su najpoznatiji izdisajni test vodika, biopsija tankog crijeva i molekularne metode. Iako su se provela mnoga istraživanja, još uvijek nije dokazano je li pojava simptoma netolerancije na laktozu, posljedica samo netolerancije na laktozu ili i utjecaj nekih drugih faktora. Simptomi koji se javljaju variraju od pojedinca do pojedinca, mogu ovisiti o količini konzumirane hrane, stupnju nedostatka enzima laktaze i namirnicama kojima se laktoza unosi u organizam.

Netolerancija na laktozu ne može se u potpunosti izliječiti, ali postoje metode kojima se može umanjiti, od kojih gotovo sve uključuju smanjenje ili potpuno izbacivanje laktoze iz prehrane.

### § 3. LITERATURNI IZVORI

- [1] M. C. E. Lomer, Reviewarticle: theaetiology, diagnosis, mechanisms and clinical evidence for food intolerance, *AP&T Alimentary Pharmacology and Therapeutics* **41** (2015) 263-264
- [2] A. Curry, The milk revolution, *Nature***500** (2013) 20-23
- [3] <https://www.khanacademy.org/science/biology/gene-regulation/gene-regulation-in-bacteria/a/the-lac-operon> (preuzeto 10-07-2017)
- [4] H. Y. Naim, E. E. Sterchi, M. J. Lentze, Biosynthesis and maturation of lactase-phlorizin hydrolase in the human small intestine epithelial cells, *The Biochemical Journal*. **241** (1987) 427–434
- [5] <http://2015.igem.org/Team:Marburg/Curli> (preuzeto 12-07-2017)
- [6] H. Skovbjerg, H.Sjöström, O. Norén, Purification and characterisation of amphiphilic lactase/phlorizin hydrolase from human small intestine, *European Journal of Biochemistry / FEBS*. **114** (1981) 653–661
- [7] D. H. Juers, T.D.Heightman, A. Vasella, J. D.McCarter, L. Mackenzie, S. G.Withers, B. W. Matthews, A structural view of the action of Escherichia coli (lacZ) beta-galactosidase, *Biochemistry*. **40** (2001) 14781–94
- [8] P. Fernandez, F. J.Cañada, J.Jiménez-Barbero, M. Martín-Lomas, Substrate specificity of small-intestine lactase: study of the steric effects and hydrogen bonds involved in enzyme-substrate interaction, *Carbohydrate Research*. **271** (1995) 31–42
- [9] <http://www.evo-ed.org/Pages/Lactase/genetics.html> (preuzeto 15-07-2017)
- [10] J.T. Troelsen, Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression, *Biochim. Biophys. Acta*. **1723** (2005) 19–32
- [11] D. M. Swallow, Genetics of lactase persistence and lactose intolerance, *Annual Review of Genetics*. **37** (2003) 197–219
- [12] A. Gasbarrini, G. R. Corazza, G. Gasbarrini, M. Montalto, M. diStefano, G. Basilisco, A. Parodi, P. Usai-Satta, P. Vernia, C. Anania, et al. Methodology and indications of H2-breath testing in gastrointestinal diseases: The Rome Consensus Conference. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **29** (2009) 1–49



- 
- [13] Y. Deng, B. Misselwitz, N. Dai, M. Fox, Biological Mechanism and Dietary Management, *Nutrients* **7** (2015) 8020-8035
- [14] [http://proimmun.hr/index.php?option=com\\_content&view=article&id=57&Itemid=209](http://proimmun.hr/index.php?option=com_content&view=article&id=57&Itemid=209)  
(preuzeto 22-07-2017)
- [15] <http://fodmapfriendly.com/what-are-fodmaps/> (preuzeto 27-07-2017)
- [16] <http://fodmapfriendly.com/the-low-fodmap-diet/> (preuzeto 02-09-2017)
- [17] V. Škaro, Genetička predispozicija za nepodnošenje laktoze, *PaediatrCroat* **60** (2016) 100-104

