

**Diplomarbeit**

**VERGLEICH DIAGNOSTISCHER METHODEN  
ZUM NACHWEIS DER LAKTOSEINTOLERANZ**

eingereicht von

**Teresa Ederer**

Mat.Nr.: 0433440

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin**

**Klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie**

unter der Anleitung von

**ao. Univ.-Prof. Dr. Christoph Högenauer**

Graz, Dezember 2009

## *Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am*

## DANKSAGUNG

Während des Studiums und der Entstehung der Diplomarbeit haben mich viele Personen begleitet und unterstützt. Dafür möchte ich ihnen herzlich „danke“ sagen.

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn **ao. Univ.-Prof. Dr. Christoph Högenauer** für die Vergabe und Betreuung der Diplomarbeit bedanken. Seine engagierte und uneingeschränkte Unterstützung (auch während meiner Auslandsaufenthalte) und seine hilfreiche Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten machten diese Arbeit überhaupt erst möglich.

Für die Übernahme der Zweitbegutachtung bin ich Frau **ao. Univ.-Prof. Dr. Barbara Obermayer-Pietsch** dankbar, die zudem vor einiger Zeit im Rahmen einer Vorlesung mein Interesse für die Genetik der Laktoseintoleranz weckte.

Ich danke meinem Freund **Zacharias** von ganzem Herzen für seine Unterstützung, seine Geduld und sein Interesse beim Entstehen dieser Arbeit.

Ein herzlicher Dank gilt abschließend auch meinen **Eltern** und meiner (Groß-)**Familie**. Für ihre vielfältige Unterstützung bin ich unendlich dankbar und sie hat nicht zuletzt zum erfolgreichen Abschluss meines Studiums und dieser Diplomarbeit beigetragen.

*„Zwei Dinge sollen Kinder von ihren Eltern bekommen: Wurzeln und Flügel.“  
(J.W. von Goethe)*

# ZUSAMMENFASSUNG

## Einleitung:

Die klinische Standardmethode für die Testung der Laktoseintoleranz ist bislang der Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest. Dieser Test hat den Nachteil, dass er einerseits zeitaufwendig ist und andererseits seine Sensitivität und Spezifität durch verschiedene Faktoren eingeschränkt ist. Genetisch ist ein „Single Nukleotid Polymorphismus“ (SNP) -13910 kb stromaufwärts des Laktasegens mit dem Vorkommen des primär adulten Laktasemangels assoziiert. Bisherige Studienergebnisse zeigten eine gute Korrelation zwischen einem Gentest für diesen SNP und dem Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest zum Nachweis eines Laktasemangels. Ziel der Diplomarbeit war, anhand eines Patientenkollektivs der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz die genetische Analyse für den -13910 T>C Polymorphismus mit dem derzeitigen klinischen Standard, dem Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest, zur Diagnose des primären Laktasemangels zu vergleichen.

## Patienten und Methodik:

205 Patienten (140 weiblich, 64 männlich; Alter  $41 \pm 14$  Jahre), die zur Testung auf Laktoseintoleranz an die Universitätsklinik für Gastroenterologie und Hepatologie in Graz überwiesen wurden, nahmen an der Studie teil. Bei den Patienten wurde nach oraler Gabe von 50 g Laktose die H<sub>2</sub>-Konzentration der Atemluft gemessen. Ein Anstieg um 20 ppm wurde als diagnostisch für eine Laktosemalabsorption gewertet. Aus Leukozyten nach Blutabnahme gewonnene DNA wurde mittels PCR-RFLP auf den Genotyp des 13910 T>C SNP untersucht. Patienten mit diskrepanten Testergebnissen wurden – soweit möglich – auf das Bestehen einer Dünndarmerkrankung als sekundäre Ursache für einen Laktasemangel abgeklärt.

## **Resultate:**

Die Symptome, die zur Testung der Patienten führten, waren Diarrhoe (53%), Blähungen (69%), Flatulenz (41%), Bauchkrämpfe (45%) und Milchunverträglichkeit (18%). Von 205 Patienten hatten 63 einen positiven Gentest (CC-Genotyp), davon hatten 59 (94%) auch einen positiven Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest. 142 Patienten hatten einen negativen Gentest (TC oder TT Genotyp), von diesen zeigten 124 (87%) ein negatives Ergebnis im Atemtest. Bei vier Patienten (6%) mit positivem Gentest zeigte sich ein negativer Atemtest. Drei dieser Patienten hatten keine Symptome nach Laktoseeinnahme. 18 Patienten (13%) mit negativem Gentest (15 TC- /3 TT-Genotyp) hatten einen positiven Atemtest, 9 davon berichteten über Symptome nach Laktosegabe. Bei zwei dieser Patienten konnte eine Zöliakie als sekundäre Ursache für Laktasemangel festgestellt werden.

## **Diskussion:**

Die Übereinstimmung zwischen Gentest und Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest zur Diagnose des primären Laktasemangels ist vor allem bei positivem Gentest sehr gut (94%). Allerdings kann der Gentest einen (sekundären) Laktasemangel nicht sicher ausschließen und gibt keine Informationen über Symptome nach Laktosegabe. Der neue genetische Test mit anschließendem Therapieversuch einer laktosefreien Diät ist allerdings eine diagnostische Alternative zum Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest bei klinischem Verdacht auf primären Laktasemangel.

# ABSTRACT

## **Background & Aims:**

Recent publications have found that the CC genotype of the DNA variant -13910 T/C upstream of the LCT gene is associated with lactase non-persistence. The current clinical standard for the diagnosis of lactase non-persistence is the lactose hydrogen breath test (H<sub>2</sub> test), which has limitations with respect to its sensitivity and specificity. The aim of this diploma thesis was to compare the usefulness of genetic testing for lactase non-persistence to the lactose hydrogen breath test for patients with suspected lactose intolerance.

## **Patients & Methods:**

205 patients (140 female, 64 male; age 41 ± 14 yrs) with suspected lactose intolerance who were referred to our clinic were tested for the presence of the -13910 T/C variant by PCR-RFLP analysis. These patients also underwent an H<sub>2</sub> breath test after ingestion of 50 g of lactose. Subjects with discrepant results between the genetic test and the lactose H<sub>2</sub> test were invited for additional clinical examinations to exclude causes of secondary lactase deficiency.

## **Results:**

63 patients had a CC genotype of the -13910 T>C polymorphism suggesting lactase non-persistence, of these 59 (94%) also had a positive H<sub>2</sub> test. 142 subjects had a negative result on the genetic test with either a TC or a TT genotype suggestive of lactase persistence. 124 (87%) of these tested patients had a negative H<sub>2</sub> test result, while 18 patients with a negative genetic test had a positive H<sub>2</sub> test. In two of these patients further testing identified a celiac disease as the reason for a secondary lactase deficiency. Four patients carrying a CC genotype had a negative H<sub>2</sub> test. Three of these patients showed no symptoms during the H<sub>2</sub> breath test.

## **Conclusions:**

We observed an excellent correlation between a CC genotype and a positive H<sub>2</sub> test, whereas the correlation between a TC or TT genotype and a negative H<sub>2</sub> test result was lower. The analysis of -13910 T/C variant is therefore a good test for predicting the presence of lactase non-persistence in our patient population with suspected lactose intolerance. However, the genetic test cannot rule out secondary lactase deficiency, furthermore it does not provide information about possible symptoms after lactose ingestion. The genetic test can be used as an alternative to the current clinical standard testing for the diagnosis of lactase non-persistence.

# INHALTSVERZEICHNIS

DANKSAGUNG .....	III
ZUSAMMENFASSUNG .....	IV
ABSTRACT .....	VI
INHALTSVERZEICHNIS .....	VIII
GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN .....	XI
ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	XII
TABELLENVERZEICHNIS .....	XIV
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1 TERMINOLOGIE .....	1
1.2 LAKTOSE UND LAKTASE .....	3
1.2.1 <i>Der Milchzucker (Laktose)</i> .....	3
1.2.2 <i>Das Enzym LPH (=Laktase)</i> .....	4
1.2.2.1 Lokalisation und Verteilungsmuster .....	4
1.2.2.2 Synthese .....	5
1.3 KLASSIFIKATION DES LAKTASEMANGELS .....	7
1.3.1 <i>Primärer Laktasemangel</i> .....	7
1.3.1.1 Entwicklungsbedingter Laktasemangel .....	7
1.3.1.2 Kongenitaler Laktasemangel .....	7
1.3.1.3 Primär adulter Laktasemangel .....	8
1.3.2 <i>Sekundärer Laktasemangel</i> .....	8
1.4 PHYSIOLOGIE UND PATHOPHYSIOLOGIE DER LAKTOSEAUFNAHME UND SYMPTOMENTSTEHUNG BEI LAKTOSEINTOLERANZ .....	11
1.4.1 <i>Physiologie bei Normolaktasie</i> .....	11
1.4.2 <i>Pathophysiologie bei Hypolaktasie</i> .....	11
1.4.3 <i>Symptome bei Laktasemangel</i> .....	13
1.4.3.1 Gastrointestinale Beschwerden .....	13
1.4.3.2 Systemische Symptome .....	14
1.5 MOLEKULARE GENETIK UND REGULATION DER LAKTASE-(NON)PERSISTENZ .....	15
1.5.1 <i>Entwicklung der Laktase-Expression</i> .....	15
1.5.1.1 Laktaseaktivität des Fetus und Neugeborenen .....	15
1.5.1.2 Abnahme der Laktaseexpression .....	15
1.5.2 <i>Regulation der Laktaseexpression</i> .....	17
1.5.3 <i>Genetische Ursache der Laktose-(Non-)Persistenz</i> .....	18

1.5.4	<i>Andere genetische Varianten, die mit Laktase-(Non-)Persistenz assoziiert sind</i>	21
1.6	PRÄVALENZ DES LAKTASEMANGELS	23
1.6.1	<i>Prävalenz weltweit</i>	23
1.6.2	<i>Prävalenz in Europa</i>	26
1.6.3	<i>Hypothesen zur Erklärung der Prävalenzunterschiede</i>	27
1.7	LAKTOSEINTOLERANZ UND ASSOZIIERTE FOLGEERKRANKUNGEN	28
1.7.1	<i>Laktoseintoleranz und Osteoporose</i>	28
1.7.2	<i>Weitere Krankheitshypothesen</i>	30
1.8	DIAGNOSTIK BEI VERDACHT AUF LAKTOSEINTOLERANZ	31
1.8.1	<i>Der H<sub>2</sub>-Atemtest</i>	32
1.8.1.1	<i>Das Funktionsprinzip des H<sub>2</sub>-Atemtests</i>	32
1.8.1.2	<i>Patientenvorbereitung</i>	33
1.8.1.3	<i>Interpretation des H<sub>2</sub>-Atemtests</i>	34
1.8.1.3.1	<i>H<sub>2</sub>-Non-Producer</i>	38
1.8.2	<i>Der Gentest</i>	39
1.9	THERAPEUTISCHES MANAGEMENT BEI LAKTASEMANGEL	40
1.9.1	<i>Laktose in Lebensmitteln</i>	41
1.10	FRAGESTELLUNG DER STUDIE	44
<b>2</b>	<b>PATIENTEN UND METHODEN</b>	<b>45</b>
2.1	STUDIENDESIGN	45
2.2	UNTERSUCHUNGSKOLLEKTIV	45
2.2.1	<i>Studie 1</i>	45
2.2.2	<i>Studie 2</i>	46
2.2.2.1	<i>Ein- und Ausschlusskriterien</i>	46
2.2.3	<i>Kombinierte Studie (Studie 1+2)</i>	46
2.3	LAKTOSE-H <sub>2</sub> -ATEMTEST	47
2.4	DNA-GENOTYP-BESTIMMUNG	48
2.4.1	<i>Prinzip der PCR</i>	48
2.4.2	<i>Durchführung der PCR</i>	49
2.4.3	<i>Prinzip der quantitativen Real-Time-PCR</i>	51
<b>3</b>	<b>RESULTATE</b>	<b>52</b>
3.1	STUDIE 1	52
3.2	STUDIE 2	53
3.2.1	<i>Intestinale Symptommhäufigkeiten in der Anamnese in Studie 2</i>	53
3.2.2	<i>Resultate des H<sub>2</sub>-Atemtests in Studie 2</i>	53
3.2.3	<i>Resultate des genetischen Tests in Studie 2</i>	54
3.2.4	<i>Durchschnittlicher H<sub>2</sub>-Anstieg in Studie 2</i>	55
3.2.5	<i>Symptome nach Laktosegabe in Studie 2</i>	56
3.2.6	<i>Übersicht über Ergebnisse der Studie 2</i>	58

3.2.7	<i>Diskrepante Befunde zwischen dem DNA-Test und dem H<sub>2</sub>-Atemtest in Studie 2</i>	59
3.3	KOMBINIERTE STUDIE (STUDIE 1+2)	60
3.3.1	<i>Intestinale Symptommhäufigkeiten in der Anamnese in der kombinierten Studie</i>	60
3.3.2	<i>Resultate des H<sub>2</sub>-Atemtests in der kombinierten Studie</i>	60
3.3.3	<i>Resultate des genetischen Tests in der kombinierten Studie</i>	61
3.3.4	<i>Durchschnittlicher H<sub>2</sub>-Anstieg in der kombinierten Studie</i>	62
3.3.5	<i>Symptome nach Laktosegabe in der kombinierten Studie</i>	63
3.3.6	<i>Übersicht über Ergebnisse in der kombinierten Studie</i>	65
3.3.7	<i>Diskrepante Befunde zwischen dem DNA-Test und dem H<sub>2</sub>-Atemtest in der kombinierten Studie</i>	66
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>70</b>
4.1	VERGLEICH MIT LITERATUR	70
4.2	DISKREPANTE BEFUNDE	71
4.2.1	<i>Fehlerquellen beim Atemtest</i>	71
4.2.1.1	<i>Cut-off-Level</i>	71
4.2.1.2	<i>H<sub>2</sub>-Non-Producer</i>	73
4.2.1.3	<i>Hohe Basalwerte</i>	74
4.2.1.4	<i>Frühzeitiger Anstieg der H<sub>2</sub>-Konzentration</i>	74
4.2.2	<i>Fehlerquelle Darmbiopsien</i>	75
4.2.3	<i>TC-Genotyp und Laktaseaktivität</i>	75
4.2.4	<i>Alter der Patienten</i>	76
4.2.5	<i>Andere genetische Mutationen</i>	77
4.3	KONKLUSIONEN	79
<b>5</b>	<b>LITERATUR</b>	<b>81</b>
<b>6</b>	<b>ANHANG</b>	<b>89</b>
	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>90</b>

## GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN

A	Adenin
AT	Atemtest
bp	base pair (Basenpaar)
C	Cytosin
CH <sub>4</sub>	Methan
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EMA	Endomysiale Antikörper
ER	Endoplasmatisches Retikulum
FRET	Fluoreszenz-Energietransfer
G	Guanin
Gal	Galaktose
Glu	Glukose
GLUT2	Glukosetransporter Typ 2
GT	Gentest
H <sub>2</sub>	Wasserstoff
H <sub>2</sub> O	Wasser
kb	Kilobase
LCT-Gen	Laktase-Gen
LKH Graz	Landeskrankenhaus Graz
LPH	Laktase-Phlorizin-Hydrolase
LTT	Laktosetoleranztest
L/S-Ratio	Laktase/Sukrase-Verhältnis
MCM6	minichromosome maintenance deficient 6 gene
mRNA	messenger RNA
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
ppm	parts per million
qRT-PCR	quantitative Real-Time PCR
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
SCFA	short chain fatty acids (kurzkettige Fettsäuren)
SIBO	small intestinal bacterial overgrowth (bakterielle Fehlbesiedelung)
SNP	Single Nukleotid Polymorphismus
T	Thymin

# ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Strukturformel Laktose .....	3
Abbildung 2: Immunelektronenmikroskopische Lokalisierung von Laktase im Bürstensaum.....	4
Abbildung 3: Überblick über die Struktur des LPH-Enzyms.....	6
Abbildung 4: Überblick über die Biosynthese des LPH-Enzym .....	6
Abbildung 5: Endoskopischer Aspekt einer Zöliakie im Duodenum.....	9
Abbildung 6: Histologischer Schnitt einer Duodenalbiopsie bei Infektion mit <i>Giardia lamblia</i> .....	9
Abbildung 7: Physiologie bei Normolaktasie .....	12
Abbildung 8: Pathophysiologie bei Laktasemangel.....	12
Abbildung 9: Schematische Darstellung von entwicklungsbedingten Veränderungen der Laktaseaktivität .....	16
Abbildung 10: Darstellung der Hypothese zur molekularen Regulation der LPH-Expression im Menschen bei Laktasepersistenz und Non-Persistenz.....	17
Abbildung 11: Laktaseexpression in einzelnen Dünndarmabschnitten.....	17
Abbildung 12: Darstellung des Genlokus der mit Laktasemangel assoziierten SNPs im Intron des MCM6-Gens.....	19
Abbildung 13: Trimodale Verteilung des Laktase/Sukrase- (L/S-) Verhältnisses.....	20
Abbildung 14: Verteilung der Laktasepersistenzraten (interpoliert) .....	25
Abbildung 15: Verteilung der -13910*T Genvariante (interpoliert) .....	25
Abbildung 16: Prävalenzen der Laktase-Nonpersistenz in Europa.....	26
Abbildung 17: Vergleich der Körpergröße bei unterschiedlichen Genotypen der Laktase-(Non- Persistenz) .....	29
Abbildung 18: Funktionsprinzips eines Atemtests.....	36
Abbildung 19: Graphische Darstellung von H <sub>2</sub> -Messwerten bei Laktosetoleranz und Laktosemalabsorption.....	36
Abbildung 20: Kurve eines normalen Laktulose-H <sub>2</sub> -Atemtests .....	38
Abbildung 21: Polymerase-Kettenreaktion.....	49
Abbildung 22: Beispiel für Resultate der einzelnen Genotypen einer RFLP-Analyse auf Agarosegel .....	50
Abbildung 23: Beispiel für Resultate einer Genotypisierung des C/T <sub>-13910</sub> -Polymorphismus mittels real-time PCR.. ..	51
Abbildung 24: Intestinale Symptome, die zur Überweisung an die klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie geführt haben (Studie 2).....	53
Abbildung 25: Genotypverteilung in Studie 2. ....	54
Abbildung 26: Vergleich der H <sub>2</sub> -Konzentrationsänderungen in unterschiedlichen Genotypen in Studie 2.....	55
Abbildung 27: Patienten mit Symptomen nach Laktosegabe und ihr Ergebnis im H <sub>2</sub> -Atemtest in Studie 2.....	57

<i>Abbildung 28: Patienten mit Symptomen nach Laktosegabe und ihr Ergebnis im Gentest in Studie 2</i>	57
<i>Abbildung 29: Patientenübersicht der Studie 2.</i>	58
<i>Abbildung 30: Intestinale Symptome, die zur Überweisung an die klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie geführt haben (Studie 1+2).</i>	60
<i>Abbildung 31: Genotypverteilung in der kombinierten Studie.</i>	61
<i>Abbildung 32: Vergleich der H<sub>2</sub>-Konzentrationsänderungen in unterschiedlichen Genotypen in der kombinierten Studie.</i>	62
<i>Abbildung 33: Patienten mit Symptomen nach Laktosegabe und ihr Ergebnis im H<sub>2</sub>-Atemtest in der kombinierten Studie.</i>	64
<i>Abbildung 34: Patienten mit Symptomen nach Laktosegabe und ihr Ergebnis im Gentest in der kombinierten Studie.</i>	64
<i>Abbildung 35: Patientenübersicht der kombinierten Studie.</i>	65
<i>Abbildung 36: Positiver Gentest (CC- Genotyp) und Symptome nach Laktoseaufnahme.</i>	69
<i>Abbildung 37: Negativer Gentest (TC- und TT- Genotyp) und Symptome nach Laktoseaufnahme</i>	69
<i>Abbildung 38: Übersicht über Alter der Patienten mit TC-Genotyp und korrelierendem H<sub>2</sub>-Anstieg nach Laktosegabe.</i>	77
<i>Abbildung 39: Vorschlag für eine Herangehensweise in der Praxis bei Verdacht auf Laktoseintoleranz.</i>	79

## TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Ursachen eines sekundären Laktasemangels.....</i>	<i>10</i>
<i>Tabelle 2: Übersicht über das trimodale Verteilungsmuster der Genotypen.....</i>	<i>20</i>
<i>Tabelle 3: Übersicht über die bisher bekannten SNPs, die mit Laktasepersistenz vergesellschaftet sind.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 4: Durchschnittliche Häufigkeit der Laktasepersistenz.....</i>	<i>24</i>
<i>Tabelle 5: Faktoren, die den H<sub>2</sub>-Atemtest beeinflussen.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabelle 6: Übersicht der Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen zur Durchführung des H<sub>2</sub>-Atemtest mit Laktose.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 7: Vor- und Nachteile des genetischen Tests.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabelle 8: Laktose- und Kalziumgehalt von Milch und ausgewählten Milchprodukten.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabelle 9: Laktosehaltige Produkte, welche bei Verzehr größerer Mengen zu Beschwerden führen können.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabelle 10: Resultate des Gentests für adulten Laktasemangel im Vergleich zu den Ergebnissen des Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest in Studie 2.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 11: Resultate des Gentests für adulten Laktasemangel im Vergleich zu den Ergebnissen des Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest in der kombinierten Studie.....</i>	<i>65</i>
<i>Tabelle 12: Übersicht und weitere Testergebnisse bei Patienten mit positivem H<sub>2</sub>-Atemtest und negativem Gentest (TT oder TC Genotyp) in der kombinierten Studie.....</i>	<i>67</i>
<i>Tabelle 13: Übersicht und weitere Testergebnisse bei Patienten mit negativem H<sub>2</sub>-Atemtest und positivem Gentest (CC Genotyp) in der kombinierten Studie.....</i>	<i>67</i>
<i>Tabelle 14: Zusammenfassung der veröffentlichten Daten bezüglich des Vergleichs Gentest versus H<sub>2</sub>-Atemtest.....</i>	<i>71</i>

# 1 EINLEITUNG

Laktoseintoleranz bzw. Laktasemangel wurde erst in den letzten 50 Jahren zum breiten wissenschaftlichen Interessensgebiet in verschiedenen Fachrichtungen (z.B. Medizin, Soziologie, Ernährungswissenschaften und Geschichte), obwohl bereits Hippokrates beschrieben hatte, dass es bei manchen Menschen nach dem Genuss von Milch zu gastrointestinalen Beschwerden kam.

Bis dato sind eine Vielzahl von Publikationen zum Thema erschienen und im Folgenden soll ein Überblick über einzelne Aspekte der Problematik Laktoseintoleranz gegeben werden. Wichtig ist das Verständnis, dass die Fähigkeit Milchzucker zu spalten nicht einfach nur eine Eigenschaft ist, die man hat oder nicht hat, sondern dass fließende Übergänge herrschen und die Grenze zwischen normal und pathologisch nicht immer einfach zu ziehen ist.

## 1.1 Terminologie

In der englischsprachigen Literatur, werden die Bezeichnungen „lactose intolerance“, „lactase deficiency“, „hypolactasia“, „lactose malabsorption“ und „lactose maldigestion“ (fälschlicherweise) oft synonym verwendet. Immer wieder wird auf diese Problematik hingewiesen und eine einheitliche Begriffsdefinition gefordert [1] [2] [3].

Auch in der deutschsprachigen Terminologie existiert leider keine einheitliche Definition, am geläufigsten sind jedoch folgende Bezeichnungen:

- *Laktoseintoleranz* = ein positiver Laktosetoleranztest ( $< 1,1$  mmol Anstieg der Glukosekonzentration im Blut) oder ein positiver Laktose- $H_2$ -Atemtest (Anstieg  $> \Delta 20$  ppm in der Ausatemluft) bei Vorhandensein von gastrointestinalen und/oder systemischen Symptomen nach Laktoseingestion.
- *Laktosemalabsorption/Laktosemaldigestion* = ein positiver Laktosetoleranztest oder Laktose- $H_2$ -Atemtest ohne Vorhandensein von gastrointestinalen und/oder systemischen Symptomen nach Laktoseingestion.

Der Begriff „*Laktosemalabsorption*“ wird in der neueren englischsprachigen Literatur oft angeprangert [2] [3], da er irreführend ist. Er impliziert nämlich, dass Laktose als biochemische Struktur als solche aufgenommen wird. Das ist aber nicht korrekt, da die Laktose vor der Resorption im Dünndarm erst in ihre Zucker Glukose und Galaktose aufgespalten werden muss.

Die Bezeichnung „*Laktosemaldigestion*“ scheint sinnvoller, da es bei Laktasemangel ja zu einer unzureichenden Spaltung der Laktose kommt. Doch auch gegen diesen Terminus gibt es Einwände. So wird von einem Autor [4] kritisiert, dass der Begriff insofern falsch ist, als Laktose schlussendlich doch gespalten wird – entweder vom Enzym Laktase selbst oder von Bakterien.

All diese Begriffsvermengungen führen zu Verwirrungen und erschweren sowohl die Literatursuche als auch die Vergleichbarkeit und Interpretation von Studienergebnissen.

In dieser Diplomarbeit werden hauptsächlich die Begriffe Laktosemalabsorption (da dies in der deutschsprachigen Literatur geläufiger ist als Laktosemaldigestion) und Laktoseintoleranz – im Sinne einer symptomatischen Malabsorption – verwendet.

## 1.2 Laktose und Laktase

### 1.2.1 Der Milchzucker (Laktose)

Laktose ist ein Disaccharid, bestehend aus den Zuckern Glukose und Galaktose. Der chemische Name lautet  $\beta$ -Galaktose-1,4-Glukose und die beiden Zucker sind – wie Abbildung 1 zeigt – über eine O-glykosidische Bindung miteinander verbunden.

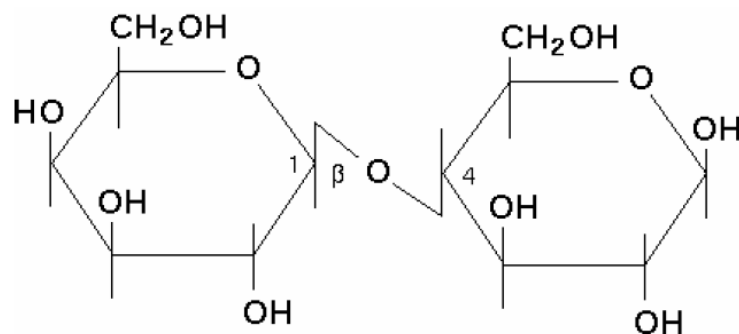


Abbildung 1: Strukturformel Laktose [5]

In der Natur kommt Laktose ausschließlich als Hauptzucker in der Milch von Säugetieren vor. Die einzige bekannte Ausnahme unter den Säugern ist die Milch des Seelöwen [1], die interessanterweise laktosefrei ist. Gewöhnliche Kuhmilch enthält ungefähr 5% Laktose, während menschliche Muttermilch aus circa 7% Laktose besteht [6].

Die Laktosesynthese erfolgt in der Milchdrüse und benötigt sowohl das Enzym N-Acetyl-Galaktose-Transferase als auch das Protein  $\alpha$ -Laktalbumin [7].

Gegen Ende der Schwangerschaft bzw. nach der Geburt wird die Milchproduktion der Mutter durch das Hypophysenhormon Prolaktin angeregt, welches  $\alpha$ -Laktalbumin induziert, das sich wiederum an die Galaktosetransferase bindet. Der Komplex wird zu einer Laktosesynthase, sodass die Produktion von Laktose möglich wird [8].

## 1.2.2 Das Enzym LPH (=Laktase)

Um überhaupt absorbiert werden zu können, muss die Laktose im Dünndarm weiter aufgespalten werden. Dies geschieht durch ein Enzym namens Laktase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) [9]. Zwei enzymatische Aktivitäten wurden festgestellt, die auch zur Namensgebung geführt haben: Einerseits teilt eine Laktase (EC 3.2.1.108) die Laktose in ihre Grundbestandteile Glukose und Galaktose auf, andererseits spaltet eine Phlorizin-Hydrolase (EC 3.2.1.62)  $\beta$ -Glykoside [10].

Trotz dieser dualen Funktion wird das gesamte Enzym oft nur als Laktase bezeichnet.

### 1.2.2.1 Lokalisation und Verteilungsmuster

Die Laktase ist an der apikalen Seite des Bürstensaums der Enterozyten verankert (Abbildung 2). Die Aktivität des Enzyms variiert in den einzelnen Dünndarmabschnitten, wobei Laktase ihre höchste Aktivität im proximalen Teil des Jejunums besitzt [11].



*Abbildung 2: Immunelektronenmikroskopische Lokalisierung von Laktase im Bürstensaum. [12]*

- a) Normaler Bürstensaum mit reichhaltigem Nachweis von Laktase.*
- b) Bürstensaum bei Patienten mit Laktasemangel.*

Das Aktivitätsniveau der Laktase hängt nicht nur von ihrer Verteilung in den einzelnen Darmabschnitten, sondern damit verbunden auch vom jeweiligen pH-Wert des Verdauungstraktes ab. Das pH-Optimum für das Enzym liegt ungefähr bei pH 6 [8]. Im sauren Milieu des Magens wäre es also inaktiv.

Der pH-Wert nimmt bekanntlich entlang des Dünndarmes zu und bei einem pH von 8-9 zeigt die Laktase nur mehr eine Aktivität von 50% [8].

#### 1.2.2.2 Synthese

Die Bildung des Enzyms findet in differenzierten Enterozyten im Endoplasmatischem Reticulum (ER) und im Golgi-Apparat statt, es wird anschließend modifiziert und an die Oberfläche der Zelle transportiert [13]. Abbildung 3 gibt einen Überblick über die Struktur des Enzyms. Von den ursprünglichen fünf Segmenten erreichen am Ende nur zwei das Darmlumen, da es intrazellulär bereits zu einer Abspaltung kommt. Das Signalpeptid in der Pro-Region wird nach der Translokation im ER abgespalten. Die Domänen I und II dienen wahrscheinlich als Chaperone [14], damit es zur richtigen Faltung kommt. Am Ende werden die Domänen III und IV glykosyliert und in die Membran der Mikrovilli eingebaut [15].

Abbildung 4 stellt den gesamten Prozess der Biosynthese des Enzyms dar. Aber auch luminale Faktoren verändern das Protein abermals: Durch Pankreasenzyme (wahrscheinlich Trypsin) werden noch einmal zwei Aminosäuren abgespalten [16], bis die Laktase ihre endgültige Form erreicht hat und ihre Funktionen erfüllen kann.

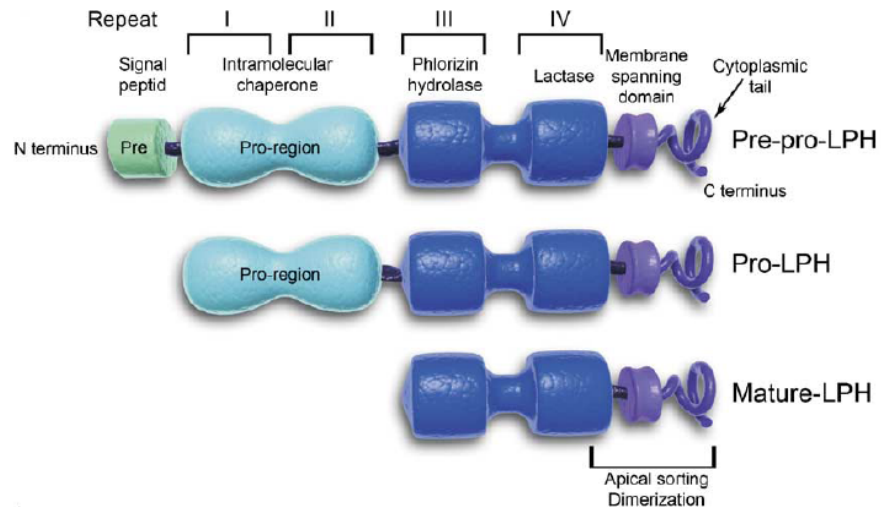


Abbildung 3: Überblick über die Struktur des LPH-Enzyms. [10] [modifiziert]

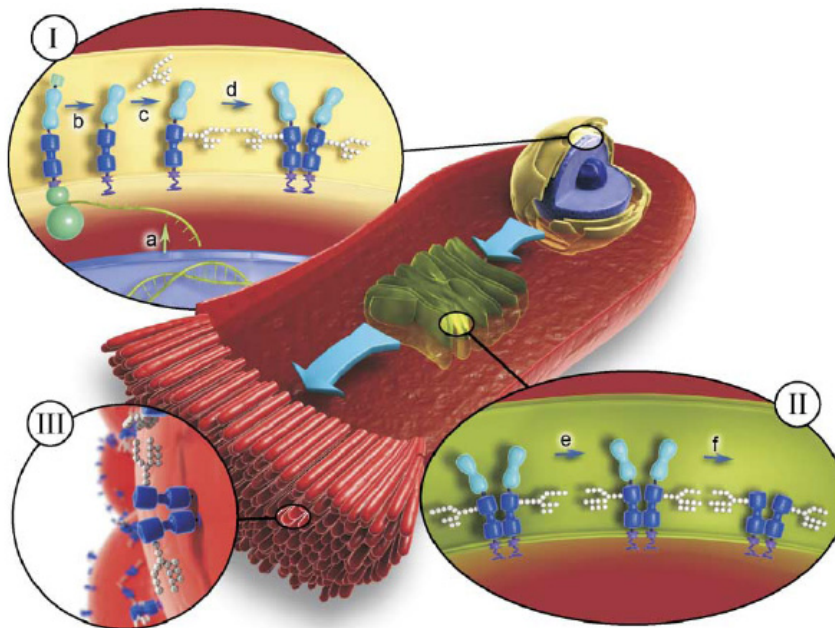


Abbildung 4: Überblick über die Biosynthese des LPH-Enzyms. [10] [modifiziert]

I a) Transkription in mRNA und Translokation ins ER; b) Signalpeptid in der Prä-Region wird abgespalten; c) pro-LPH wird N-glykosyliert; d) Homodimere werden geformt.

II e) Die Homodimere werden zum Golgi-Apparat gebracht und O-glykosyliert; f) Die Pro-Region wird abgespalten.

III Das reife LPH-Enzym wird an die Oberfläche der Villi transportiert.

## 1.3 Klassifikation des Laktasemangels

Um eine Einteilung der verschiedenen Arten des Laktasemangels zu treffen, lässt sich festhalten, dass ein Laktasemangel (auch Hypolaktasie genannt) entweder primär oder sekundär – als Folge von Erkrankungen – bedingt sein kann.

### 1.3.1 Primärer Laktasemangel

#### 1.3.1.1 Entwicklungsbedingter Laktasemangel

Im unreifen Gastrointestinaltrakt sind Laktase und andere Disaccharidase zumindest bis zur 34. Schwangerschaftswoche [17] noch unzureichend entwickelt. So wurde beispielsweise errechnet, dass Babys, die kurz nach dem 6. Schwangerschaftsmonat zur Welt kamen, nur ca. 3% der aufgenommenen Laktose absorbieren konnten [1] [18].

Unter entwicklungsbedingtem Laktasemangel versteht man also einen relativen temporären Laktasemangel bei frühgeborenen Kindern.

#### 1.3.1.2 Kongenitaler Laktasemangel

Beim kongenitalen Laktasemangel („congenital lactase deficiency“) handelt es sich um eine seltene autosomal-rezessive Erbkrankheit, die in der finnischen Bevölkerung beschrieben wurde [19]. Das Enzym Laktase fehlt beinahe vollkommen, bei sonst erhaltener Aktivität von anderen Disaccharidasen. Der Zustand muss schnell erkannt werden, da es sonst zu lebensgefährlichen Durchfällen mit Flüssigkeits- und Elektrolytverlust kommt. Der genetische Defekt wurde – wie der primär adulte Laktasemangel – dem Chromosom 2q21-22 [19] zugeordnet. Wirklicher kongenitaler Laktasemangel bei reif geborenen Säuglingen ist allerdings sehr selten.

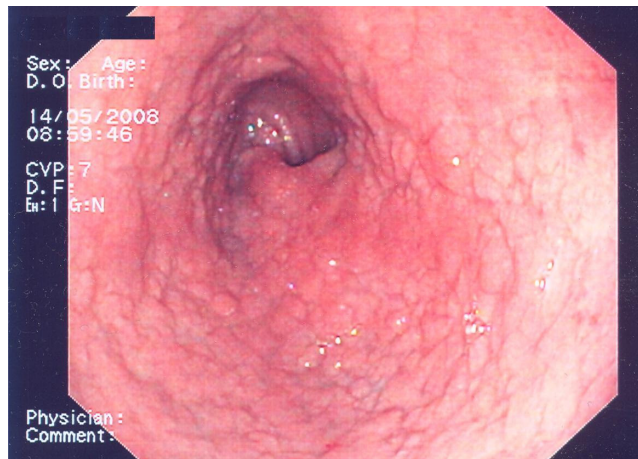
### 1.3.1.3 Primär adulter Laktasemangel

Um ein vielfaches häufiger als der kongenitale Laktasemangel ist der primär adulte Laktasemangel. Ungefähr 65% der Weltbevölkerung [20] sind nach heutigem Stand davon betroffen, wobei das zeitliche Auftreten des Laktasemangels je nach Alter und ethnischer Abstammung sehr unterschiedlich sein kann. Auch die Verteilung auf dem Globus variiert enorm, worauf im Folgenden noch genauer eingegangen wird.

Als primärer Laktasemangel wird die Tatsache bezeichnet, dass aufgrund einer genetischen Prädisposition die Laktaseaktivität im Dünndarm im Laufe des Lebens abnimmt und in Folge nur noch wenig bis keine Laktose mehr gespalten werden kann. Weitere Bezeichnungen für den primär adulten Laktasemangel sind auch „adulte Hypolaktasie“, „Laktase-Nonpersistenz“, oder „hereditärer Laktasemangel“. Auch hier liegt – wie eingangs erwähnt – keine einheitliche Begriffsbezeichnung vor.

### 1.3.2 Sekundärer Laktasemangel

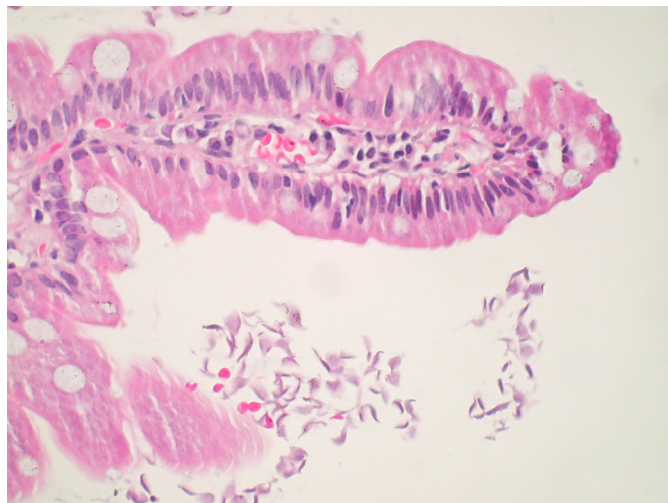
Sekundärer Laktasemangel ergibt sich als Folge einer Schädigung des Dünndarmepithels. Da das Enzym Laktase an den Spitzen der Mikrovilli sitzt, wo die Epithelzellen leicht abgeschliffen werden, kann es schnell zu einer (passageren) Laktosemalabsorption oder Laktoseintoleranz kommen. Die Ätiologie des sekundären Laktasemangels ist mannigfaltig (Tabelle 1). Zu ihren Ursachen zählen Infektionskrankheiten des Darms, Zöliakie (Abbildung 5), Morbus Crohn, Malnutrition sowie Parasitenbefall wie Giardiasis (Abbildung 6) und Kryptosporidose [21]. Auch HIV-Infektionen und SIBO (small intestinal bacterial overgrowth/bakterielle Fehlbesiedelung) sind mögliche Auslöser. Rotavirus-Infektionen sind speziell bei Kindern [1] eine häufige Ursache für sekundären Laktasemangel.



*Abbildung 5: Endoskopischer Aspekt einer Zöliakie im Duodenum.*

*Die typischen löchrigen strukturellen Defekte bezeichnet man als „scalloping“.*

*[Bild von Univ.-Prof. Dr. Christoph Högenauer - Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz]*



*Abbildung 6: Histologischer Schnitt einer Duodenalbiopsie bei Infektion mit Giardia lamblia. [Bild von Univ.-Prof. Dr. Christoph Högenauer - Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz]*

Aufgrund der unterschiedlichen Ätiologie des sekundären Laktasemangels (Tabelle 1) ist es wichtig, die primäre Ursache, die zur Hypolaktasie führt, zu identifizieren und zu behandeln.

Da es sich bei sekundären Ursachen meist nur um eine vorübergehende Hypolaktasie handelt, muss keine lebenslange laktosefreie Diät eingehalten werden.

*Tabelle 1: Ursachen eines sekundären Laktasemangels. [22] [modifiziert]*

<b>Dünndarmerkrankungen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Infektiöse Gastroenteritis (z.B. Rotaviren, Giardien, Kryptosporidien und andere)</li> <li>Morbus Crohn</li> <li>Morbus Whipple</li> <li>Zöliakie/Sprue</li> <li>HIV-Enteropathie</li> <li>bakterielle Fehlbesiedlung</li> </ul>
<b>Multisystemerkrankungen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Karzinoidsyndrom</li> <li>Zystische Fibrose</li> <li>Diabetische Gastroenteropathie</li> <li>Zollinger-Ellison-Syndrom</li> <li>Kwashiorkor</li> </ul>
<b>Iatrogene Ursachen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chemotherapie</li> <li>Bestrahlung</li> <li>Operationen</li> <li>Medikamentös (z.B. Colchicin)</li> </ul>

## 1.4 Physiologie und Pathophysiologie der Laktoseaufnahme und Symptomentstehung bei Laktoseintoleranz

### 1.4.1 Physiologie bei Normolaktasie

Bei ausreichend hoher Laktaseaktivität wird das Disaccharid Laktose durch die Laktase in Glukose und Galaktose aufgespalten, welche daraufhin über die Enterozyten in den Blutkreislauf gelangen. Sowohl Glukose als auch Galaktose werden mit einem gekoppelten  $\text{Na}^+$ -Transporter in den Enterozyten aufgenommen und anschließend passiv mit dem Glukose-Uniport-Carrier GLUT2 ins Pfortaderblut abgegeben [23].

Während die Glukose vom Körper in der Regel direkt in freier Form in die Zelle aufgenommen wird, muss die Galaktose zuerst in der Leber verstoffwechselt werden. Erst dann wird sie u.a. über die Glykolyse zur Energiegewinnung herangezogen [24].

Typischerweise findet die Hydrolyse der Laktose im Jejunum statt (Abbildung 7), wo eine geringere Bakterienkonzentration vorherrscht. Bei Normolaktasie kommt es nur in kleinem Ausmaß zur Spaltung der Laktose durch Bakterien [25].

### 1.4.2 Pathophysiologie bei Hypolaktasie

Im Falle einer herabgesetzten Laktaseaktivität im Dünndarm (Abbildung 8) bleibt die Laktose v.a. im Jejunum unhydrolysiert, gelangt in tiefere Darmabschnitte und wird daraufhin von Darmbakterien metabolisiert.

Die bei jedem Individuum unterschiedliche Darmflora ist für eine bessere oder schlechtere Toleranz gegenüber Laktose mitverantwortlich, zumal nicht alle Darmbakterien Laktose überhaupt spalten können. Es sind vor allem anaerobe Bakterien [26], die in der Lage sind, Laktose zu fermentieren. Durch Gärungsprozesse entstehen neben Wasserstoff ( $\text{H}_2$ ), Methan ( $\text{CH}_4$ ) und Kohlendioxid ( $\text{CO}_2$ ) auch kurzkettige Fettsäuren (short chain fatty acids – SCFA).

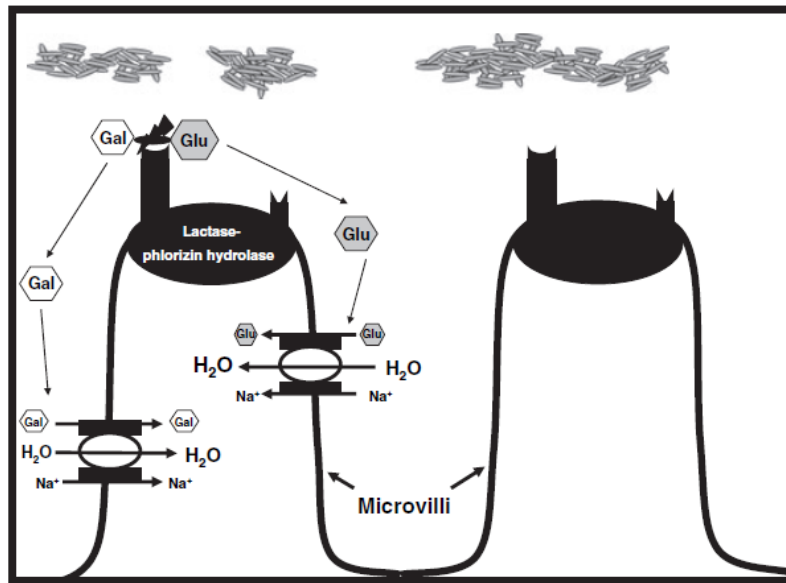


Abbildung 7: Physiologie bei Normolaktasie. [25]

Bei Laktasepersistenz spaltet das Enzym Laktase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) Laktose in Galaktose (Gal) und Glukose (Glu). Diese werden rasch in den Blutstrom aufgenommen und nehmen dabei Wasser ( $H_2O$ ) mit. Aufgrund der geringen Bakterienkonzentration im Jejunum wird wenig Laktose fermentiert.

4

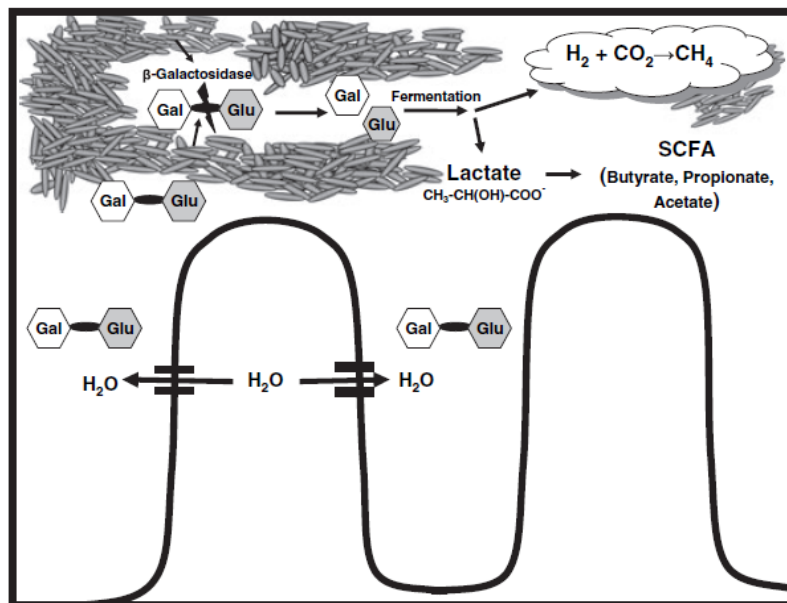


Abbildung 8: Pathophysiologie bei Laktasemangel. [25]

Die verbleibende Laktose wird bei Laktasemangel von der  $\beta$ -Galaktosidase der Bakterien gespalten. Danach erfolgt die Fermentation zu kurzkettigen Fettsäuren (SCFA); Wasserstoff ( $H_2$ ), Kohlendioxid ( $CO_2$ ) und Methan ( $CH_4$ ) entstehen als Nebenprodukte.

Neben der Aktivität des Enzyms Laktase im Dünndarm und der intestinalen Mikroflora gibt es noch eine Reihe anderer Faktoren, die eine effiziente Laktoseaufnahme beeinflussen. So spielen auch die Menge der aufgenommenen Laktose, die Magenentleerungszeit und die gastrointestinale Passagezeit eine Rolle [26].

Ernährungsabhängige Faktoren sind für eine veränderte Laktaseexpression an den Mikrovilli wahrscheinlich unbedeutend. Bei regelmäßiger Aufnahme von Laktose kommt es zu keiner Zunahme der Laktaseaktivität, allerdings wurde in einer Studie eine Änderung der Mikroflora des Dickdarms [27] im Sinne einer Adaptation auf Milchprodukte nachgewiesen.

Eine aktuellere Studie [28] stellte wiederum fest, dass Bakterien mit  $\beta$ -Glukosidaseaktivität weder im Prozentsatz noch in der Zusammensetzung einen Einfluss auf klassische Symptome eines Laktasemangels haben.

### 1.4.3 Symptome bei Laktasemangel

#### 1.4.3.1 Gastrointestinale Beschwerden

Typische akute klinische Symptome des Gastrointestinaltrakts bei Laktasemangel sind Übelkeit, Abdominalschmerzen, Bauchkrämpfe, Flatulenz und Diarrhoe [29]. Der vollständige Zusammenhang der Symptomentstehung ist noch nicht gänzlich geklärt; folgende Einzelfaktoren wurden jedoch bislang herausgefunden: Unabsorbierte Kohlenhydrate im Darmlumen bewirken aufgrund ihres osmotischen Effekts [30], dass Wasser ins Darmlumen sezerniert wird; Diarrhoe ist die Folge. Abdominalschmerzen und Blähungen hingegen werden typischerweise durch die oben erwähnte Fermentation der unabsorbierten Laktose durch Bakterien ausgelöst, wodurch kurzkettige Fettsäuren (SCFA), Wasserstoff ( $H_2$ ), Methan ( $CH_4$ ) und Kohlendioxid ( $CO_2$ ) als Nebenprodukte entstehen [31].

Gase aus dem bakteriellen Stoffwechsel können jedoch auch Obstipation verursachen. So hat ein Tierversuch gezeigt, dass Methan ( $CH_4$ ) die Colon-Transitzeit verlangsamt und zu Kontraktionen führt, die sich jedoch nicht ausbreiten (so genannte „nonpropagating contractions“) [32].

### 1.4.3.2 Systemische Symptome

Bakterien können neben den bereits erwähnten Gasen (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> und CH<sub>4</sub>) zusätzlich noch andere biologisch aktive Substanzen bilden, weshalb sich die Symptome bei Laktasemangel nicht zwangsläufig auf den Gastrointestinaltrakt beschränken müssen.

Was systemische Symptome betrifft, ist im Zusammenhang mit Laktoseintoleranz jedoch Vorsicht geboten. Oft kann es sich um ein gleichzeitiges Auftreten von unterschiedlichen Pathologien handeln. Vor allem bei Kindern lassen systemische Symptome nach Milchaufnahme beispielsweise eine Kuhmilchproteinallergie vermuten [33]. Auch bei Erwachsenen sollte man immer auch andere Ursachen für die Symptome in Betracht ziehen, besonders wenn die Beschwerden nach laktosefreier Diät nicht verschwinden.

Systemische Symptome bei Laktasemangel wurden bis dato ebenfalls beschrieben. So konnten in einer Studie Muskel- und Gelenkschmerzen, Kopfschmerzen, Müdigkeit, Schwindel und Tachykardie in Verbindung mit Laktoseintoleranz gebracht werden [34], nachdem nach gründlichen Untersuchungen keine anderen Ursachen gefunden wurden und alle genannten Beschwerden nach laktosefreier Diät verschwanden.

Selbst dermatologische Befunde wie chronisches Ekzem [35] oder Urtikaria [36] wurden im Zusammenhang mit Laktoseintoleranz geschildert. Auch das Zusammenspiel von Laktoseintoleranz und Depression wurde untersucht, und dabei zeigte sich ein verstärkender Effekt der Laktoseintoleranz auf die Psyche, wenn bereits andere Malabsorptionssymptome existierten [37].

Der kausale Zusammenhang zwischen diesen Symptomen und dem Laktasemangel ist aber in Fachkreisen nicht generell akzeptiert und bedarf weiterer Untersuchungen.

## 1.5 Molekulare Genetik und Regulation der Laktase-(Non)Persistenz

Die Abnahme der Laktaseaktivität nach der Entwöhnung von der Muttermilch ist ein normales Phänomen, das bei beinahe allen Säugetieren beobachtet werden kann. Änderungen des Erbguts scheinen dafür verantwortlich, dass heute ca. ein Drittel der Menschen auch im Erwachsenenalter Milch bzw. Laktose tolerieren kann. Immer mehr Details über die molekulare Genetik und Regulation des Enzyms Laktase sind mittlerweile bekannt und publiziert.

### 1.5.1 Entwicklung der Laktase-Expression

#### 1.5.1.1 Laktaseaktivität des Fetus und Neugeborenen

Im Gegensatz zu anderen Glukosidasen im Darm, wie z.B. Sukrase,  $\alpha$ -Dextrinase und Maltase, beginnt die Laktaseaktivität erst spät im fetalen Leben [1].

Zwischen der 10. und der 26. Schwangerschaftswoche sind die Werte relativ niedrig, bevor es zu einem kontinuierlichen Anstieg bis zum Ende der Gestationszeit kommt, wo die Laktaseaktivität einen Gipfel erreicht [17]. In den ersten Lebensmonaten nimmt die Laktaseaktivität wieder ab, man spricht von einer Laktase-Nonpersistenz.

#### 1.5.1.2 Abnahme der Laktaseexpression

Wie bereits erwähnt sinkt bei den meisten Säugetieren die Laktaseaktivität mit der Entwöhnung von der Muttermilch in den ersten Lebensmonaten ab [38]. Dieser Mechanismus ist nicht vollständig verstanden, findet jedoch auf molekular-genetischer Ebene statt.

Doch auch hormonelle Faktoren spielen bei der Expression von Laktase eine nachweisliche Rolle. So weiß man aus Tierversuchen, dass die in der Gestationszeit steigenden Kortikosteroidwerte mit der steigenden Laktaseaktivität

korrelierten [39], während Schilddrüsenhormone die Laktaseaktivität bei Ratten nach der Geburt absinken ließen [40].

Je nach ethnischer Herkunft zeigen sich darüber hinaus große Unterschiede bezüglich des Manifestationszeitpunktes der gesunkenen Laktaseaktivität. Während bei betroffenen finnischen Jugendlichen ein Laktasemangel durchschnittlich erst mit 15 Jahren [41] – in einzelnen Fällen auch nach dem 20. Lebensjahr [42] – bemerkbar wird, liegt das mittlere Alter des Auftretens eines Laktasemangels bei Thais bereits bei 2-4 Jahren [43].

Bei einigen Menschen jedoch, man schätzt weltweit ca. 35% der Bevölkerung [20], persistiert die hohe Laktaseaktivität. Die entwicklungsbedingte Veränderung der Laktaseaktivität sowie deren Unterschied zwischen Säugetieren und Menschen zeigt Abbildung 9.

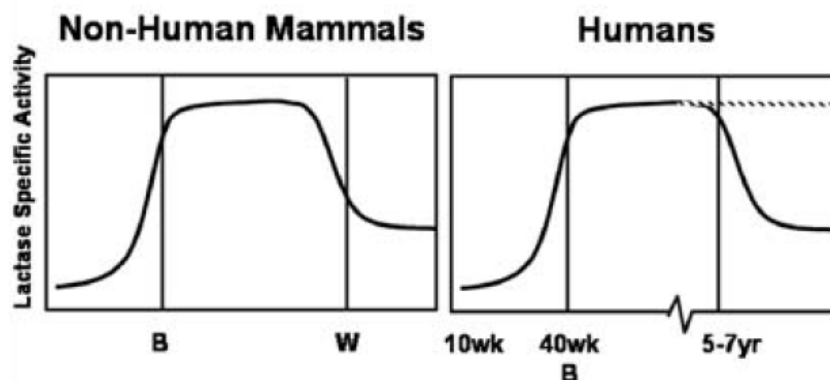


Abbildung 9: Schematische Darstellung von entwicklungsbedingten Veränderungen der Laktaseaktivität. [44]

B...birth (Geburt); W...weaning (Milchentwöhnung); wk...week (Gestationswoche); yr...years (Lebensjahre)

## 1.5.2 Regulation der Laktaseexpression

Die Regulation des Enzyms Laktase ist bis dato nicht vollständig geklärt. Eine Hypothese zur Regulation (Abbildung 10) lautet, dass die Expression der Laktaseaktivität von einem positiven Regulator abhängt, der die entwicklungsbedingte Transkriptionserhöhung von LPH lenkt und die hohe Laktaseaktivität bei der adulten Laktasepersistenz aufrechterhält [44].

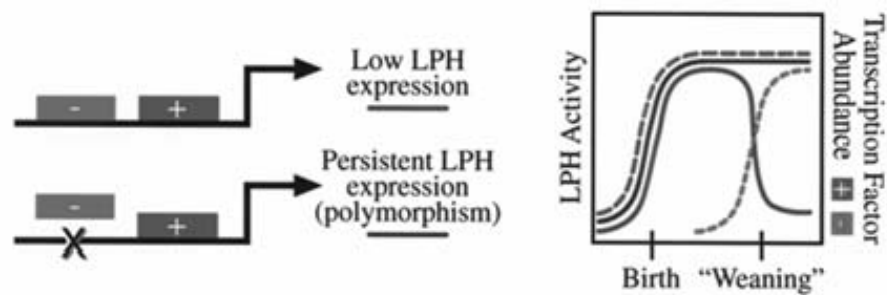


Abbildung 10: Darstellung der Hypothese zur molekularen Regulation der LPH-Expression im Menschen bei Laktasepersistenz und Non-Persistenz. [44]

Tierversuche zeigten [10], dass die Laktaseexpression bei Säugern im mittleren Jejunum am höchsten war (Abbildung 11), während der proximale Teil des Jejunums und das Duodenum weniger Laktase aufwiesen. Die niedrigsten Werte wurden hingegen im distalen Jejunum und Ileum gemessen.

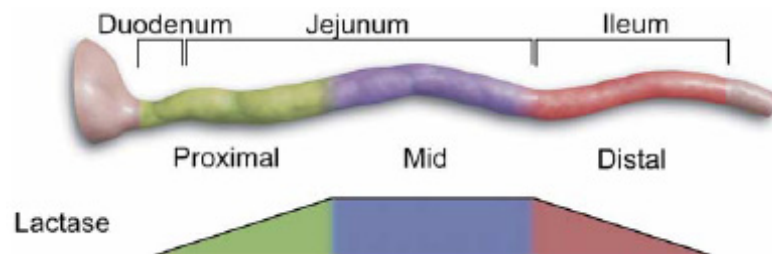


Abbildung 11: Laktaseexpression in einzelnen Dünndarmabschnitten. [10] [modifiziert]

### 1.5.3 Genetische Ursache der Laktose-(Non-)Persistenz

Lange Zeit war nicht klar, warum manche Menschen bis ins hohe Alter Milch (in größeren Mengen) zu sich nehmen können, ohne Beschwerden zu bekommen, und andere nicht. Den Grund für einen persistierend hohen Laktaselevel bei einem Teil der Bevölkerung hat man auf der Ebene der molekularen Genetik gefunden.

In den 1970er Jahren wurde festgestellt, dass Laktasepersistenz eine genetische Ursache hat und autosomal dominant vererbt wird [45]. Da die Studien an Nordeuropäern durchgeführt wurden, wo der Großteil der Bevölkerung laktosetolerant ist, ging man davon aus, dass der „Wildtyp“ (=ursprüngliche Typ) ebenfalls laktosetolerant war. Familienstudien [41] [46] lieferten den Hinweis, dass die adulte Hypolaktasie auf autosomal-rezessive Weise vererbt wird.

In den 1980er Jahren festigte sich die Hypothese, dass die Laktasepersistenz einem genetischen Pfad folgt. Es wurde von einer dreifachen Streuung des Sukrase/Laktase-Verhältnisses (S/L-Ratio) berichtet und eine Aufteilung der Individuen in drei Genotypen vorgeschlagen [47] :

- *homozygot* für Laktasepersistenz mit hoher Laktaseaktivität
- *heterozygot* für Laktasepersistenz mit mittlerer Laktaseaktivität, da nur eine Kopie des Laktasegens vollkommen exprimiert wird
- *homozygot* für Laktase-Nonpersistenz mit niedriger Laktaseaktivität

Ein Kandidatengen, das Laktase-Gen LCT, wurde auf Chromosom 2q21-22 geortet [48] [49]. Weitere Studien lieferten sowohl Evidenz für eine Regulation der Laktaseexpression auf Ebene der Transkription [50], sowie eine Bestätigung, dass cis-Elemente in der Regulation involviert sind [51]. Diese cis-Elemente sind beispielsweise in der Lage, die Aktivierung des Laktasepromotors zu verstärken.

Im Jahr 2002 wurde von einer finnischen Arbeitsgruppe eine bemerkenswerte Studie [52] veröffentlicht. Finnische Familien wurden mit Hilfe von Kopplungsungleichgewicht („linkage disequilibrium“) und Haplotypen-Analysen untersucht und ein Genort, der (zumindest in der finnischen Bevölkerung) sehr stark mit Laktasepersistenz assoziiert ist, konnte auf eine 47kb Region außerhalb

des LCT-Gens lokalisiert werden. Zwei Punktmutationen (SNPs) wurden identifiziert, die dem LCT-Gen vorgeschaltet sind und eine signifikante Assoziation mit Laktase-(Non-)Persistenz zeigten. Bei -13910 bp wurde Cytosin (C) mit Thymin (T) vertauscht und bei -22018 bp wurde Guanin (G) durch Adenosin (A) ersetzt.

Diese DNA-Varianten sind im Intron 9 und 13 des „minichromosome maintenance gene“ (MCM6) lokalisiert (Abbildung 12). MCM6 ist Mitglied einer Genfamilie (MCM 2-7), die für die Initiation der DNA Replikation verantwortlich ist und damit den Zellzyklus reguliert [53].

Vor allem der C>T Polymorphismus (C als ursprüngliche Variante und T als Mutation) hat sich in der europäischen Bevölkerung als Marker für eine genetische Laktasepersistenz herauskristallisiert.

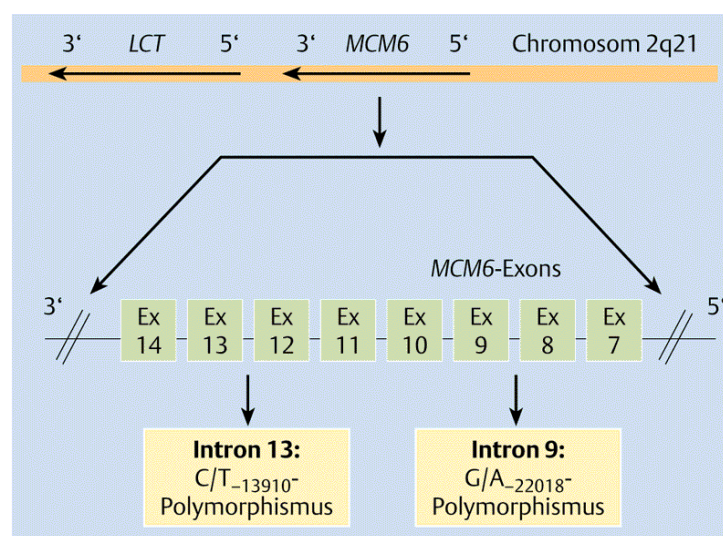


Abbildung 12: Darstellung des Genlokus der mit Laktasemangel assoziierten SNPs im Intron des MCM6-Gens. [54] modifiziert nach [52]

In über 600 Dünndarmbiopsien wurde der Zusammenhang der C>T Variante mit der Disaccharidaseaktivität und des Laktase/Sukrase-Verhältnisses (L/S-Ratio) verifiziert [55] [52] [56] [57].

Die trimodale Verteilung des L/S-Verhältnisses ist in Abbildung 13 dargestellt.

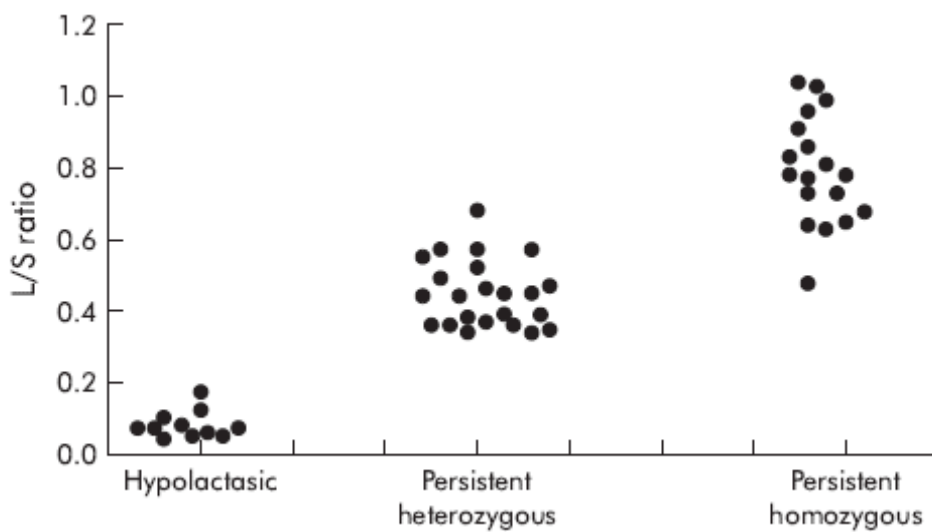


Abbildung 13: Trimodale Verteilung des Laktase/Sukrase- (L/S-) Verhältnisses. [56]

Nur beim C/C<sub>-13910</sub>-Genotyp findet sich eine komplette Assoziation mit dem primär adulten Laktasemangel, während die Genotypen T/C<sub>-13910</sub> und T/T<sub>-13910</sub> auf genetische Anlage der Laktasepersistenz hinweisen.

Die Präsenz des T<sub>-13910</sub> Allels weist signifikant höhere Werte des L/S-Verhältnisses auf (Abbildung 13). Der TT-Genotyp wiederum zeigt deutlich höhere Laktaseaktivität als der TC-Genotyp [57].

Damit bestätigte sich das bereits beschriebene trimodale Verteilungsmuster [47] und es ergeben sich die in Tabelle 2 beschriebenen Genotypvarianten.

Tabelle 2: Übersicht über das trimodale Verteilungsmuster der Genotypen.

TT <sub>-13910</sub> homozygot	Genetische Anlage für Laktasepersistenz
TC <sub>-13910</sub> heterozygot	Genetische Anlage für Laktasepersistenz (mit geringerer Enzymaktivität)
CC <sub>-13910</sub> homozygot	Genetische Anlage für Laktasemangel

Die Expression von Laktase-mRNA in der intestinalen Mukosa ist bei Individuen mit T<sub>-13910</sub> Allelen höher als bei Individuen mit der C<sub>-13910</sub> Variante. Dies suggeriert, dass der C>T SNP (sowie der G>A SNP) mit der transkriptionellen Regulation des Laktase-Gens assoziiert ist [56].

Die beiden SNPs könnten so genannte “enhancer” des Laktase-Gens sein; darunter versteht man DNA-Sequenzen, die das Ablesen eines Gens verstärken [58]. Weitere Experimente sind jedoch nötig, um die Hypothese zu bestätigen. Hinweise für eine funktionelle Mutation der C/T<sub>-13910</sub> -Variante lieferten bereits einige Studien [59] [60] [61].

Ob die gefundenen SNPs schlussendlich direkt die Laktaseexpression beeinflussen und damit funktionell relevant sind, oder ob es sich um simple Marker handelt, die mit Laktasepersistenz oder Laktase-Nonpersistenz einhergehen, ist nach derzeitigem Stand noch unklar.

#### 1.5.4 Andere genetische Varianten, die mit Laktase-(Non-)Persistenz assoziiert sind

Mit der Identifizierung und Beschreibung der SNPs von der bereits genannten finnischen Arbeitsgruppe [52] dachte man, das Rätsel der Laktasepersistenz gelöst zu haben. Folgestudien zeigten allerdings, dass der C/T-Polymorphismus zwar bei Europäern eine Laktasepersistenz gut vorhersagen kann, diese Assoziation jedoch nicht auf die afrikanische Bevölkerung zutrifft, obwohl auch dort Laktasepersistenz vorkommt [62].

Es wurden drei weitere Mutationen beschrieben [63], die mit Laktasepersistenz vergesellschaftet sind: G/C<sub>-14010</sub>, T/G<sub>-13915</sub> und C/G<sub>-13907</sub>. Alle 3 Mutationen befinden sich wie die C/T<sub>-13910</sub>-Variante ebenfalls im Intron 13 des Gens MCM6 und scheinen genauso die LCT-Promotorregion zu aktivieren.

Die adulte Laktasepersistenz hat sich in der Evolutionsgeschichte wohl mehr als ein Mal selbstständig entwickelt und unterschiedliche Genotypen der Laktase-(Non-)Persistenz rufen offensichtlich gleiche Phänotypen hervor. Eine Übersicht der bisher bekannten SNPs zeigt Tabelle 3.

*Tabelle 3: Übersicht über die bisher bekannten SNPs, die mit Laktasepersistenz vergesellschaftet sind. [20] [modifiziert]*

Autor	Jahr	Position des SNP in bp aufwärts des LCT	Austausch	Geographische Region
Tishkoff et.al.	2007	14010	G>C	Kenia/Tansania
Tishkoff et.al.	2007	13915	T>G	Saudi-Arabien
Enattah et.al.	2002	13910	C>T	Europa
Tishkoff et.al.	2007	13907	C>G	Äthiopien/Sudan

Wann die Entwicklung der Anpassung ihren Ursprung genommen hat, ist nicht ganz geklärt. Daten aus Knochenfunden zeigen, dass in der Jungsteinzeit in Europa noch keine Laktasepersistenz vorhanden war [64].

Funktionsgewinnende Genveränderungen, die eine adulte Laktasepersistenz bewirkten, haben jedoch offensichtlich zu einer starken Selektion vor ca. 5000 - 10 000 Jahren geführt [65].

Dies passt zeitlich zu den Daten [66], die belegen, dass die Milchwirtschaft vor ca. 9000 Jahren im nördlichen Europa ihren Ursprung hatte. Die Bevölkerung hatte mit der Milchaufnahme nicht nur einen Vorteil in der Ernährung, sondern profitierte auch im Bezug auf Wasserhaushalt und Knochenstabilität [67].

Eine der neu bekannt gewordenen Mutationen (G/C<sub>-14010</sub>) aus Afrika wird auf 3000-7000 Jahre geschätzt [63], was entwicklungsgeschichtlich sehr jung ist und damit auch bedeutet, dass diese Veränderung zeitlich nach der C/T<sub>-13910</sub>-Variante in Europa aufgetreten sein dürfte.

Die beschriebenen Mutationen zählen im Übrigen zu den bisher stärksten beobachteten Selektionssignalen, die jemals für ein Gen in unserem Genom nachgewiesen wurden [65].

Es ist nicht nur die Tatsache bemerkenswert, dass das menschliche Erbgut im Laufe der Evolution Anpassungsformen an die Ernährung zeigte und allein durch die Adaptation mutiert ist. Noch viel erstaunlicher scheint, dass diese Veränderungen nicht nur einmal aufgetreten sind, sondern unabhängig voneinander in unterschiedlichen Regionen der Welt zu verschiedenen Zeitpunkten passierten.

## 1.6 Prävalenz des Laktasemangels

Im Laufe der letzten Jahre sind unzählige Studien in vielen verschiedenen Ländern durchgeführt worden, sodass die globale Verteilung der Laktase-(Non-)Persistenz gut beschrieben ist. Es existieren große Übersichtsarbeiten [3] [68] [69], die die Prävalenz der adulten Hypolaktasie, die weltweit zwischen einzelnen Bevölkerungsgruppen und Kontinenten beträchtlich variiert, detailliert besprechen.

Nach derzeitigem Stand liegt bei 65% der Weltbevölkerung [20] ein adulter Laktasemangel vor. Damit ist die Laktase-Nonpersistenz nach wie vor der häufigste Phänotyp beim Menschen.

### 1.6.1 Prävalenz weltweit

Global betrachtet ist auf keinem Kontinent die Häufigkeit einer adulten Laktasepersistenz so hoch wie in Europa.

Wie Tabelle 4 im Überblick zeigt, dürften im Raum um Australien und Neuseeland (Australasien) ca. 30% der Bevölkerung eine Laktasepersistenz aufweisen,

während spärliche Daten aus Nord- und Südamerika eine dortige Prävalenz von ca. 40% Laktasepersistenz vermuten lassen [20].

In Indien ist die Laktasepersistenz am häufigsten im Nordwesten anzutreffen; je weiter man nach Osten geht, desto niedriger werden die Prävalenzraten [20].

Aus Afrika kommende Daten sind sehr inhomogen, da die Prävalenzen dort sehr ungleichmäßig verteilt sind. Einige Nomadenstämme, die Milchwirtschaft betreiben, zeigen hohe Raten an Laktasepersistenz, während benachbarte Stämme oft Laktasemangel aufweisen [68] [20].

*Tabelle 4: Durchschnittliche Häufigkeit der Laktasepersistenz. [20]*

∅ Häufigkeit der Laktasepersistenz	
weltweit	35%
Afrika	34%
Amerika	39%
Australien	28%
Europa	61%
Naher Osten	35%

Abbildung 14 zeigt eine interpolierte Verteilung der bekannten Laktasepersistenzraten einzelner Ländern und Regionen, ermittelt mittels H<sub>2</sub>-Atemtest oder Blutglukoseanstieg nach Laktosegabe.

Wenn man die Verteilung des Allels -13910\*T, das als kausale Ursache der Laktosetoleranz in Europa vermutet wird, betrachtet (Abbildung 15), wird jedoch deutlich, dass die Assoziation zwischen Genotyp und Phänotyp tatsächlich nur in Europa zutrifft. Dies unterstützt aktuelle Erkenntnisse [63], die vermuten, dass zumindest in der afrikanischen Bevölkerung andere Mutationen zur Laktasepersistenz geführt haben.

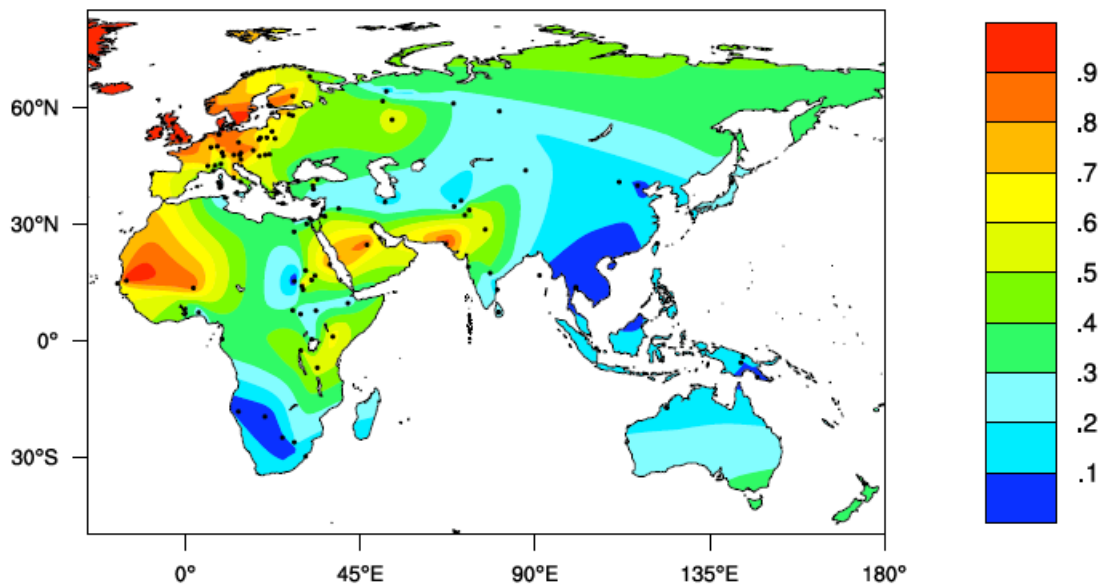


Abbildung 14: Verteilung der Laktasepersistenzraten (interpoliert). [20]

Messdaten (mittels  $H_2$ -Test oder Blutglukoseanstieg ermittelt) werden als Punkte dargestellt. Amerika ist mangels ausreichender Daten ausgenommen. Die farbcodierte Skala gibt z.B. mit 0.9 eine Häufigkeit von 90 % für das Vorhandensein von Laktasepersistenz in der Bevölkerung an.

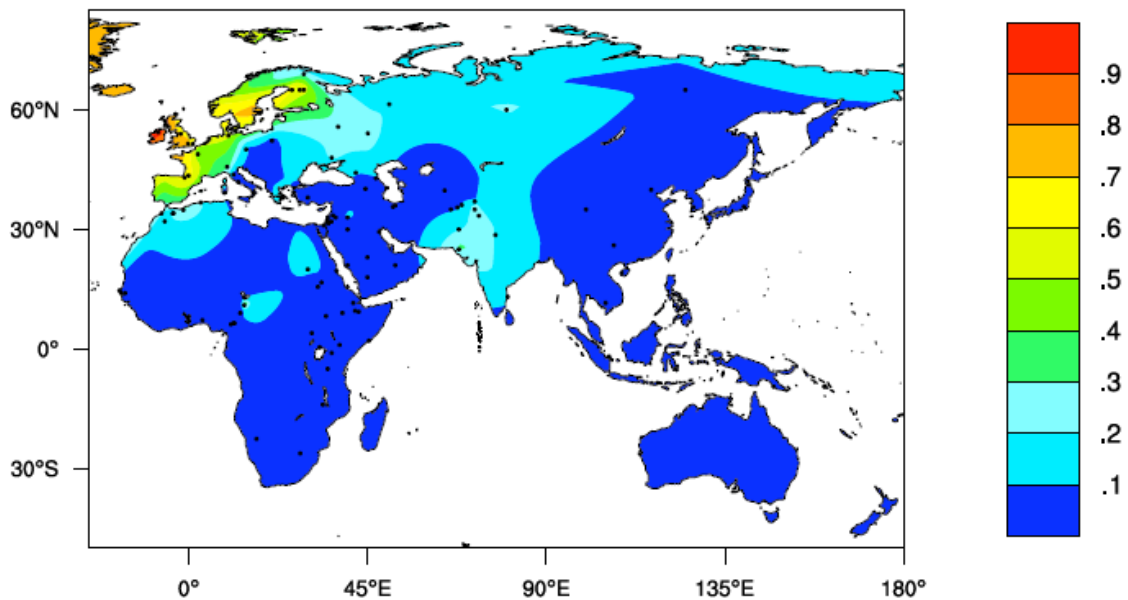


Abbildung 15: Verteilung der -13910\*T Genvariante (interpoliert). [20]

Messdaten werden als Punkte dargestellt. Amerika ist mangels ausreichender Daten ausgenommen. Die farbcodierte Skala gibt z.B. mit 0.1 eine Häufigkeit von 10 % für das Vorhandensein der -13910\*T Genvariante in der Bevölkerung an.

## 1.6.2 Prävalenz in Europa

In Europa, wo ca. 60% der Bevölkerung laktosetolerant sind, findet sich die höchste Prävalenz der Laktasepersistenz in Nord-Westeuropa; die Häufigkeit nimmt jedoch nach Süden und Osten ab [20].

Eine Arbeit aus dem Jahr 1982 [70] mit ca. 500 gesunden Probanden stellte mittels H<sub>2</sub>-Atemtest eine Häufigkeit der adulten Hypolaktasie in Österreich von durchschnittlich 20% (15% im Westen und 25% im Südosten) fest. In Deutschland fand man eine Prävalenz von ca. 15 % [71], wobei die Zahlen innerhalb des Landes beträchtlich variieren (Abbildung 16).

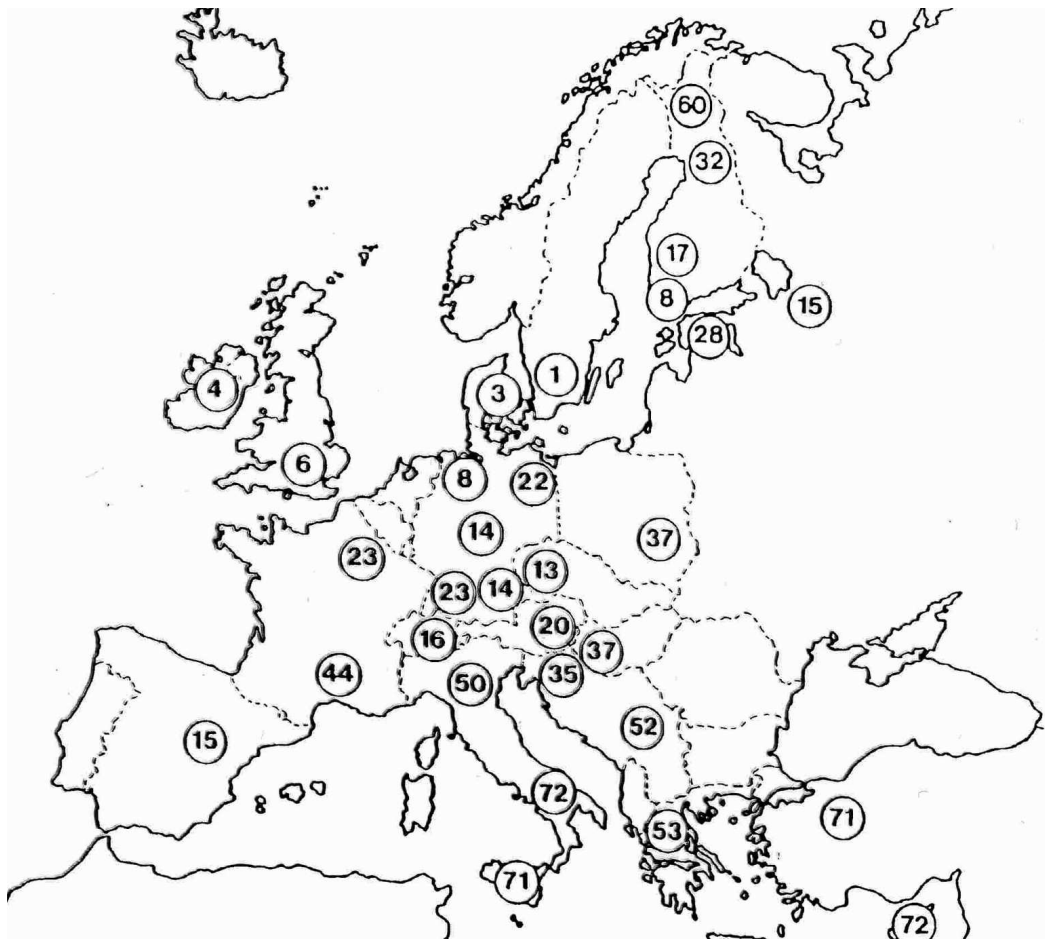


Abbildung 16: Prävalenzen der Laktase-Nonpersistenz in Europa. [11]

Die Zahlen geben den prozentualen Bevölkerungsanteil mit Laktasemangel in der jeweiligen Region an.

### 1.6.3 Hypothesen zur Erklärung der Prävalenzunterschiede

Es gibt verschiedene Theorien als Antwort auf die Frage, welche Faktoren dazu beigetragen haben, dass sich eine Art genetische Selektion im Bezug auf Laktosetoleranz entwickelt hat.

Milch stellt die einzige natürliche Quelle für Laktose dar und es ist schon länger bekannt, dass Laktasepersistenz vor allem in Bevölkerungsgruppen verbreitet ist, deren Vorfahren Milchwirtschaft betrieben haben [66].

Einerseits wurde eine kulturell-historische Hypothese beschrieben [72], die annimmt, dass eine Mutation entstand, die dazu führte, dass Milch auch noch bis ins Erwachsenenalter als Nahrungsmittel verwendet werden konnte. Durch einen Selektionsdruck, der „Laktosetolerante“ favorisierte, kam es über eine lange zeitliche Periode durch das Nomadentum zu einer Verbreitung der Laktosetoleranz über den Erdball. Die hohe Prävalenzrate der Laktosetoleranz in Nordeuropa lässt sich damit jedoch nicht erklären.

Die Hypothese über einen Selektionsvorteil durch die Kalziumaufnahme [73] lässt sich hingegen ganz gut mit den Zahlen der Laktosetoleranz in (Nord-)Europa vereinbaren. Durch den häufigen Mangel an Vitamin D standen Becken-deformationen, Rachitis und Osteomalazie in nördlicheren Breiten an der Tagesordnung. Man geht davon aus, dass sowohl Milch als Kalziumquelle als auch eine mögliche Stimulation der Kalzium-Aufnahme durch Laktose [74] dazu beitrugen, dass sich die Laktasepersistenz vor allem in (Nord-)Europa durchsetzte.

## 1.7 Laktoseintoleranz und assoziierte Folgeerkrankungen

### 1.7.1 Laktoseintoleranz und Osteoporose

Bereits in den 1960er Jahren [75] wurde auf den Zusammenhang zwischen Laktoseintoleranz und Knochendichte hingewiesen.

Es folgten zahlreiche Publikationen zu diesem Thema, wobei durchaus auch kontroverse Studienergebnisse veröffentlicht wurden. So fand eine Arbeitsgruppe zu Beginn der 1990er keinen Hinweis darauf, dass Laktasemangel einen mindernden Effekt auf die Knochenmasse ausübt [76].

Viele andere Studien lieferten jedoch Ergebnisse, die die Hypothese unterstreichen, dass Laktoseintoleranz zu einer Verschlechterung der Knochendichte führen kann. Es wurde beispielsweise gezeigt, dass eine Vermeidung von Milch bei Kindern in der Wachstumsphase mit deutlich geringerer Körpergröße und schlechterem Knochenstatus einhergeht [77]. Vor allem langzeitliches Vermeiden von Milchprodukten über Jahre hinweg kann daher zu einem späteren Risiko für Osteoporose beitragen [78].

Andere Daten [79] belegen, dass Laktoseintoleranz das Erreichen einer adäquaten Knochenspitzenmasse verhindert und damit auch zu schwerer Osteoporose im Alter prädisponieren kann.

Einerseits lassen sich diese Ergebnisse dadurch erklären, dass es aufgrund einer Laktoseintoleranz zur bewussten (oder unbewussten) Vermeidung von Milchprodukten kommt, was einen Mangel an Kalzium mit sich führt. Andererseits steht die Hypothese im Raum, ob nicht auch Laktose selbst einen Beitrag zur Kalziumabsorption leistet. So wurde in einer Studie nachgewiesen [74], dass die Anwesenheit von Laktose die Absorption von Kalzium erhöht bzw. umgekehrt, dass laktosefreie Diät in niedrigerer Kalziumabsorption resultiert.

Es dürften also nach heutigem Wissensstand sowohl verminderte Kalziumzufuhr als auch verhinderte Kalziumabsorption dazu beitragen, dass Personen mit Laktasemangel zu Osteoporose prädisponiert sind [80].

Auf eine ausreichende Kalziumzufuhr ist deshalb besonders bei Kindern und Jugendlichen in der Wachstumsphase zu achten!

Interessant ist abschließend auch der Zusammenhang zwischen einem Laktasemangel und der Körpergröße, die ein wichtiges Merkmal für die Knochenspitzenmasse ist. So wurde aus Daten der niederländischen Bevölkerung ermittelt, dass zwischen den einzelnen Genotypen der Laktase-(Non-)Persistenz ein Größenunterschied von ca. 2 cm besteht [81], was Abbildung 17 verdeutlicht.

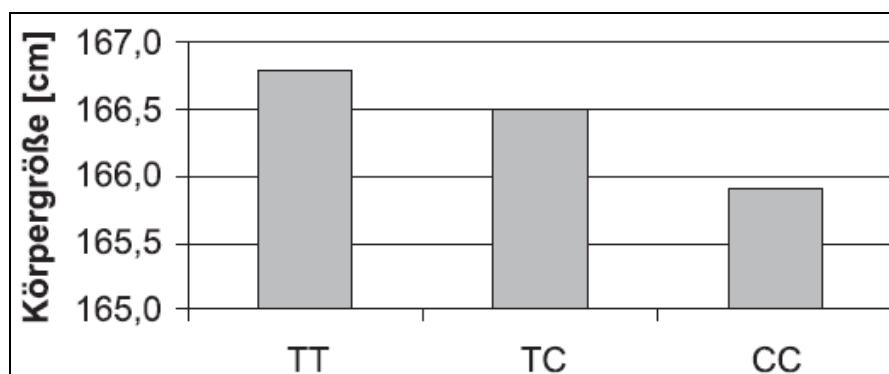


Abbildung 17: Vergleich der Körpergröße bei unterschiedlichen Genotypen der Laktase-(Non-)Persistenz. [67] [modifiziert]

TT-Genotyp + TC-Genotyp: Laktasepersistenz; CC-Genotyp: Laktasemangel.

## 1.7.2 Weitere Krankheitshypothesen

Es wurden auch Zusammenhänge untersucht, die auf den ersten Blick nicht in Verbindung mit Laktasemangel zu stehen scheinen.

So wurde suggeriert, dass Milchprodukte Risikofaktoren für Krebserkrankungen darstellen könnten. Ein Zusammenhang von Prostatakarzinom mit Laktasepersistenz/Non-Persistenz konnte hierbei jedoch nicht nachgewiesen werden [82].

Die Hypothese, dass Laktasepersistenz das Risiko für Ovarialkarzinom erhöht, wurde ebenfalls nicht bestätigt, sondern die Studie ergab, dass Laktasepersistenz das Risiko für Ovarialkarzinom sogar senkt – zumindest in der finnischen Bevölkerung [83].

Ein Zusammenhang zwischen niedrigerer Laktaseaktivität der Genotypen der C/T(-13910) Variante und kolorektalem Karzinom wurde ebenfalls untersucht [84], konnte allerdings nicht ausgeschlossen werden.

Eine weitere Hypothese wurde kürzlich publiziert [85], wo vermutet wird, dass Laktose der verantwortliche Ernährungsfaktor für Ischämische Herzinsuffizienz sein könnte. Weitere Studien sind jedoch nötig, um diese Vermutung weiter zu untersuchen.

## 1.8 Diagnostik bei Verdacht auf Laktoseintoleranz

Eine gute Anamnese ist bei Verdacht auf Laktoseintoleranz essentiell und kann bereits eine Beziehung zwischen den klinischen Symptomen und dem Verzehr von laktosehaltigen Produkten herstellen. Oft vermuten auch die Patienten selbst einen Zusammenhang, allerdings ist dies nicht immer zuverlässig. So wurde in einer Studie [86] berichtet, dass nur bei 10% der Patienten, die sich selbst als laktoseintolerant bezeichneten, auch tatsächlich eine Laktoseintoleranz (im Sinne einer symptomatischen Malabsorption) nachgewiesen wurde.

Um einen klinischen Laktasemangel, also in anderen Worten eine Laktoseintoleranz, festzustellen, gibt es verschiedene direkte und indirekte Methoden; es sind jedoch bei weitem nicht alle für den klinischen Alltag geeignet.

Die direkte Diagnostik des adulten Laktasemangels wird als „Goldstandard“ erachtet und basiert auf der Messung der Aktivitäten von Laktase, Sukrase und Maltase und des Laktase/Sukrase-Verhältnisses (L/S-Ratio) in intestinalen Biopsien [87]. Diese Technik ist jedoch invasiv und für ein primäres Screening verständlicherweise nicht geeignet.

Als klinischer Standard zur Diagnostik hat sich der H<sub>2</sub>-Atemtest durchgesetzt. Als Alternative wird auch der Laktosetoleranztest angewendet, bei dem der Blutglukoseanstieg nach Laktoseaufnahme gemessen wird.

Als neue Alternative steht ein Gentest, der die Mutation C>T 13910 stromaufwärts des Laktase-Gens nachweist, zur Verfügung. Zur Sinnhaftigkeit der routinemäßigen Anwendung gibt es konträre Meinungen, auf die im Folgenden noch spezieller eingegangen wird.

Wenn man sich die Genauigkeit der Tests im Vergleich ansieht, so wurde für den Laktosetoleranztest (LTT) eine Spezifität von 77-96% und eine Sensitivität von 76-94% beschrieben [88]. Vor allem bei Kindern ist der LTT ungeeignet, da bis zu 30% falsch positive Resultate vorkommen [89].

Der H<sub>2</sub>-Atemtest zeigt in der Literatur eine Spezifität von 89-100% und eine Sensitivität von 69-100% [88]. Die Spezifität des genetischen Tests liegt bei 100% mit einer Sensitivität von 93% bei Patienten über 12 Jahren [57].

## 1.8.1 Der H<sub>2</sub>-Atemtest

Atemtests werden im Bereich der Gastroenterologie häufig und bei vielfältigen Indikationen mit unterschiedlichen Substraten angewandt. Ein großer Vorteil ist, dass sie nicht invasiv sind.

Der H<sub>2</sub>-Atemtest hat sich klinisch zur Diagnostik einer Kohlenhydrat-Malabsorption bzw. Kohlenhydrat-Unverträglichkeit bewährt und basiert auf einer Messung von Wasserstoffgas (H<sub>2</sub>) nach oraler Aufnahme von gärfähigen Kohlenhydraten wie z.B. Laktose, Laktulose, Glukose oder Fruktose.

### 1.8.1.1 Das Funktionsprinzip des H<sub>2</sub>-Atemtests

Bereits Ende der 1960er Jahre wurde beschrieben [90], dass im menschlichen Organismus ungespaltene Laktose, die den Dickdarm erreicht, unter der Entstehung von Wasserstoff (H<sub>2</sub>) fermentiert wird.

Eine ausreichende Konzentration von Bakterien, die fähig sind Wasserstoff zu produzieren, findet sich physiologischerweise hauptsächlich im Kolon. Zur Diagnostik macht man sich die Tatsache zu Nutze, dass es im menschlichen Körper keine andere Quelle für Wasserstoff als den bakteriellen Kohlenhydrat-Stoffwechsel gibt [91].

In den 1970er Jahren entdeckte man [92], dass ein Teil des produzierten Wasserstoffs über die Darmschleimhaut in den Blutkreislauf diffundiert, zu den Lungen transportiert und anschließend über diese abgeatmet wird.

Abbildung 18 zeigt die schematische Darstellung des Funktionsprinzips eines Atemtests. Die endexpiratorische H<sub>2</sub>-Konzentration beim Atemtest wird mit Gaschromatographie in unterschiedlichen Zeitabständen gemessen und aufgezeichnet. Über den idealen Zeitabstand zwischen den Messproben herrscht keine Einigkeit. Die Durchführung eines Atemtests ist durch verschiedene Faktoren modifizierbar (Tabelle 5) und an verschiedenen Zentren wird der Laktose-H<sub>2</sub>-Test unterschiedlich durchgeführt.

*Tabelle 5: Faktoren, die den H<sub>2</sub>-Atemtest beeinflussen [103]*

- **Dosis** der entsprechenden Kohlenhydrate
- Volumen und Art der Flüssigkeit, in der die Kohlenhydrate gelöst werden (**Osmolarität**)
- **Dauer** der Messung der H<sub>2</sub>-Exhalation
- **Intervalle** zwischen den einzelnen Messungen
- **Kriterium für** den signifikanten **Anstieg** der H<sub>2</sub>-Exhalation gegenüber dem Basalwert

#### 1.8.1.2 Patientenvorbereitung

Es gibt einige Verhaltensmaßnahmen, die vom Arzt und Patienten vor und während der Testdurchführung zu beachten sind, da sonst das Ergebnis des Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtests verfälscht werden kann.

So wird beispielsweise empfohlen, ab der Nacht vor dem Test keine unfermentierbaren Kohlenhydrate zu sich zu nehmen, wie sie z.B. in Pasta, Brot und Getreide zu finden sind [91].

Sportliche Betätigung direkt vor dem Test führt zu Hyperventilation. Dies beeinflusst das Testergebnis insofern, als dass die H<sub>2</sub>-Konzentrationen falsch niedrig gemessen werden [94]. Auch Antibiotika und Diarrhoen können durch Störung der Kolonflora im Test zu erniedrigten H<sub>2</sub>-Werten führen [95].

Rauchen wirkt sich ebenfalls auf den Atemtest aus, führt jedoch zu falsch hohen H<sub>2</sub>-Konzentrationen [96]. Auch eine schlechte Mundhygiene und eine abnormale oropharyngeale Mundflora führen unter Umständen zu zu hohen H<sub>2</sub>-Konzentrationen und falschen Ergebnissen [97].

Geschlecht und Ethnizität haben hingegen keinen Einfluss auf die Produktion von Wasserstoff [98].

### 1.8.1.3 Interpretation des H<sub>2</sub>-Atemtests

Wenn es darum geht, in der Ausatemluft radioaktive oder stabile Isotope (wie z.B. C<sub>14</sub>) zu messen, die in der Luft normalerweise nicht vorkommen, ist die Interpretation des Atemtests hinsichtlich eines positiven Ergebnisses relativ einfach. Beim H<sub>2</sub>-Atemtest tritt hingegen das Problem auf, dass die Wasserstoffproduktion im Körper ein normales Phänomen ist, das zudem einer zirkadianen Rhythmik folgt [99].

Die H<sub>2</sub>-Konzentration in der endexpiratorischen Atemluft gibt man in ppm (parts per million) an. Nüchternwerte > 15-20 ppm sind als pathologisch anzusehen [91]. Eine Assoziation von zu hohen H<sub>2</sub>-Basalwerten mit unterschiedlichen Erkrankungen ist gegeben und diese reicht von bakterieller Fehlbesiedelung [100], unbehandelter Zöliakie [101], Rohkostmahlzeiten am Vortag [102] bis hin zum Nikotinabusus [96] vor dem Atemtest.

Für das Vorliegen einer Laktosemalabsorption liegt die gewöhnlicherweise gewählte Grenze bei einer Zunahme der H<sub>2</sub>-Konzentration von 20 ppm in der Ausatemluft. Dies wurde in den 1970er Jahren bei einer Dosis von 50 g Laktose für geeignet befunden [104].

Allerdings gibt es auch Daten [105], die belegen, dass ein Anstieg von 10 ppm in zwei aufeinander folgenden Messungen eine höhere Sensitivität zeigt, ohne viel Spezifität einzubüßen.

Zur Menge der verwendeten Laktose herrschen ebenfalls unterschiedliche Ansichten. Tatsache ist, dass die häufig verwendete Menge von 50 g Laktose ungefähr dem Genuss von einem Liter Milch gleichkommt. Dies ist vermutlich eine unphysiologisch hohe Dosis.

Ein Konsens bezüglich der Testdauer ist bislang ebenfalls noch nicht ersichtlich. In den 90er Jahren wurde publiziert, dass eine Verlängerung des H<sub>2</sub>-Atemtests von 4 h auf 8 h die Sensitivität des Testes erhöht, da Patienten mit einer langsamen gastrointestinalen Passagezeit besser erfasst werden [105].

Eine vor kurzem veröffentlichte Publikation [106] stellte wiederum fest, dass die Testdauer bei einer hohen Dosis Laktose (z.B. 50 g) problemlos auf 3 h verkürzt werden kann.

Dies bestätigt auch eine weitere Studie [107], die beim H<sub>2</sub>-Atemtest jeweils eine Messprobe bei 0, 120 und 180 Minuten bzw. bei 0, 120 und 210 Minuten genommen hatte und keinen signifikanten Verlust von Sensitivität für die Diagnose der Laktoseintoleranz feststellen konnte.

Zum Volumen der Testlösung liegen allerdings keine vergleichenden Studien vor, die Deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen empfiehlt 200-400 ml Wasser bei Raumtemperatur [103].

Leider erschweren die unterschiedlichen Kombinationsmöglichkeiten der einzelnen Faktoren die Vergleichbarkeit von Normwerten und Studienergebnissen. Die Deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen schlägt deshalb ein Protokoll zur Durchführung eines standardisierten Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest vor (Tabelle 6).

*Tabelle 6: Übersicht der Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen zur Durchführung des H<sub>2</sub>-Atemtest mit Laktose.[103]*

<b>Substrat</b>	Laktose
<b>Dosis</b>	50 g
<b>Flüssigkeit zum Lösen</b>	200-400 ml Wasser
<b>Testdauer</b>	Messung basal und in 15- bis 20-minütigen Intervallen über 3 h
<b>Auswertung</b>	pathologisch bei Anstieg um >20 ppm gegenüber Basalwert
<b>Besonderheiten</b>	begleitende Symptomatik ist zu beachten zwecks Differenzierung zwischen Laktosemalabsorption (asymptomatisch) und Laktoseintoleranz

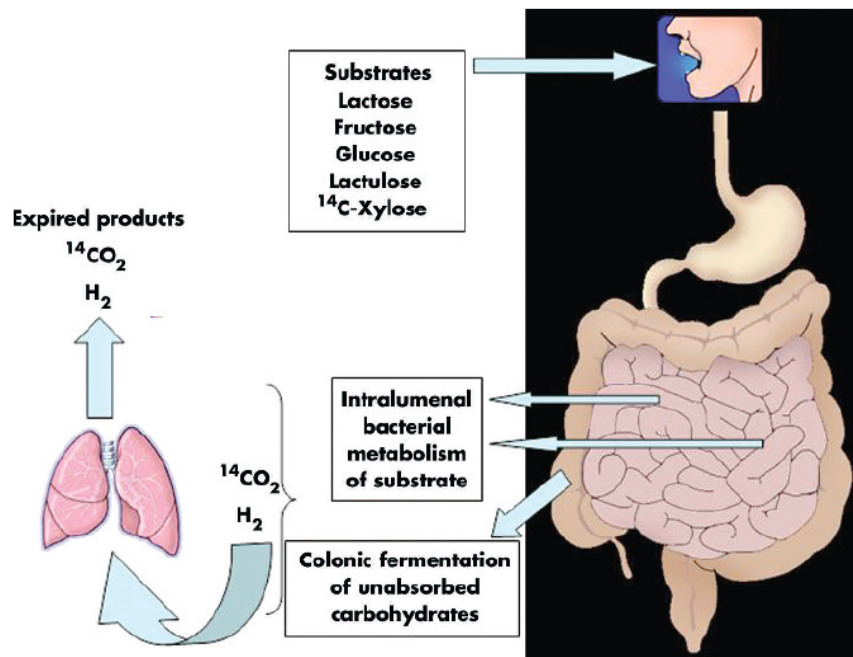


Abbildung 18: Funktionsprinzip eines Atemtests. [93]

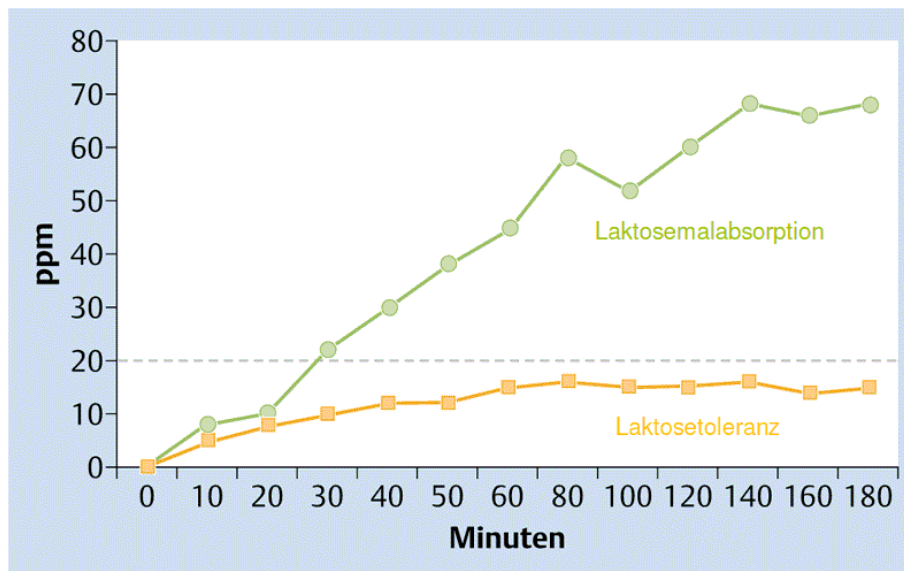


Abbildung 19: Graphische Darstellung von  $\text{H}_2$ -Messwerten bei Laktosetoleranz und Laktosemalabsorption. [54] [modifiziert]

Ein Anstieg von  $> 20$  ppm ist vereinbar mit Laktosemalabsorption.

Abbildung 19 zeigt in graphischer Darstellung zwei typische Kurven von H<sub>2</sub>-Messwerten. Bei Laktasemangel findet sich im zeitlichen Verlauf eine Konzentrationsänderung der Messwerte von > 20 ppm, während bei Laktosetoleranz bzw. Laktasepersistenz dieser deutliche Anstieg ausbleibt.

Neben der H<sub>2</sub>-Konzentration werden während des Tests auch gastrointestinale Symptome aufgezeichnet – am LKH Graz protokolliert man beispielsweise Durchfall, Blähungen und Krämpfe.

Allerdings wissen die Patienten, dass sie kurz zuvor Laktose zu sich genommen haben, weshalb der wirkliche objektive Nutzen mit dem Wissen um die Problematik der subjektiven Laktoseintoleranz unklar bleibt [93].

Es hat jedoch sehr wohl Bedeutung, ob Symptome während des Laktosetoleranztestes auftreten. Zeigt die H<sub>2</sub>-Konzentration im Verlauf der Zeit zwar einen Anstieg über 20 ppm, der Patient bemerkt jedoch keine Symptome, die auf eine Unverträglichkeit hinweisen, spricht man von Laktosemalabsorption oder Laktosemaldigestion.

Ein Patient, der einen positiven Atemtest zeigt und Symptome vorweist, wird als laktoseintolerant bezeichnet.

### 1.8.1.3.1 H<sub>2</sub>-Non-Producer

Eine Problematik bei der Interpretation von H<sub>2</sub>-Atemtests sind so genannte „H<sub>2</sub>-Non-Producer“. Diesen Menschen fehlen in der Darmflora Bakterien, die in der Lage sind, in ausreichenden Mengen Wasserstoff herzustellen. Je nach Literatur liegt die Häufigkeit in der Bevölkerung bei bis zu 20% [108].

Bei Verdacht auf eine solche „Non-Producer“-Situation (beispielsweise wenn der Patient zwar gastrointestinale Symptome während des Tests angibt, aber keinen suffizienten Anstieg der H<sub>2</sub>-Konzentration zeigt) wird die Durchführung eines Laktulose-Atemtests empfohlen.

Laktulose ist ein nicht resorbierbares Disaccharid, das aus Galaktose und Fruktose besteht. Es wird bei normaler Darmflora erst im Kolon von Bakterien unter H<sub>2</sub>-Freisetzung gespalten – sofern Bakterien vorhanden sind, die Wasserstoff produzieren.

Ein fehlender Anstieg auch nach Laktuloseingestion deutet auf einen H<sub>2</sub>-Non-Producer-Status hin. Ein später Anstieg, wie in Abbildung 20 gezeigt, schließt einen solchen Status aus.

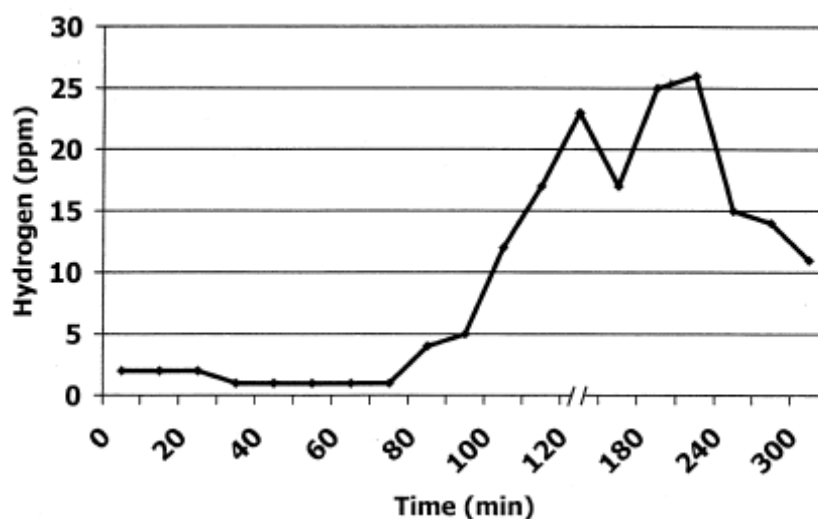


Abbildung 20: Kurve eines normalen Laktulose-H<sub>2</sub>-Atemtests. [91]

## 1.8.2 Der Gentest

Durch den bereits erwähnten publizierten molekulargenetischen Nachweis der C/T<sub>13910</sub>-Mutation ist eine Zuordnung der genetischen Disposition zur Laktase-(Non-)Persistenz möglich. Bei der genetischen Untersuchung des erwähnten C>T-13910 SNPs in der Promotorregion stromaufwärts des LCT-Gens wird mittels PCR der Genotyp einfach aus EDTA-Vollblut bestimmt.

Die Spezifität des genetischen Tests liegt bei 100% und die Sensitivität wird bei Patienten über 12 Jahren mit 93% angegeben [57].

Während Befürworter des genetischen Tests einen Einsatz für effizient erachten [109], wird der Einsatz von Gegnern als verfrüht dargestellt [110]. Tabelle 7 gibt einen Überblick über bekannte Vor- und Nachteile des genetischen Tests.

*Tabelle 7: Vor- und Nachteile des genetischen Tests*

Vorteile des genetischen Tests: [111]

- höhere Spezifität und Sensitivität verglichen mit indirekten Methoden
- eine Blutabnahme (nicht nüchtern) genügt
- Zeit- und Kosten sparend
- Interpretation einfach und widerspruchsfrei im Gegensatz zu indirekten Methoden
- Test muss nur einmal im Leben durchgeführt werden

Nachteile des genetischen Tests:

- sekundäre Formen der Laktoseintoleranz werden bei der Genotypisierung NICHT nachgewiesen!
- keine Aussage über Symptome/keine Symptomerfassung → Unterscheidung zwischen Laktosemalabsorption und Laktoseintoleranz ist nicht möglich
- für Patienten nicht-europäischer Abstammung aufgrund anderer kürzlich entdeckter Polymorphismen [112] nicht anwendbar

## 1.9 Therapeutisches Management bei Laktasemangel

Nicht alle Patienten mit Laktasemangel müssen zwangsläufig behandelt werden. Die Therapie hängt schlussendlich davon ab, welcher Art von Laktasemangel vorliegt und ob Beschwerden vorliegen.

In Ermangelung therapeutischer Richtlinien bei Laktasemangel war früher eine häufige Herangehensweise, den Patienten zu empfehlen, Milch und Milchprodukte komplett zu meiden. Milchprodukte sind aber eine der Hauptquelle für Kalzium in der Ernährung und die Auswirkungen bei Meidung dieser Lebensmittel auf den Knochenstoffwechsel sind bekannt und wurden bereits erwähnt.

Bei sekundärem Laktasemangel richtet sich die Behandlung vor allem nach der zugrunde liegenden Krankheit. Laktosefreie bzw. laktosearme Ernährung ist nur solange notwendig, bis die Ursache für den sekundären Laktasemangel behandelt ist.

Bei primärem Laktasemangel ist der Zustand hingegen irreversibel und das therapeutische Management ist ein anderes. Anfangs wird eine laktosefreie Ernährung empfohlen, um festzustellen, ob die Symptome verschwinden.[113]

Es gibt allerdings Daten [114], die belegen, dass die meisten Menschen mit primär adultem Laktasemangel bis zu 240 ml Milch (12 g Laktose) trinken können, ohne gastrointestinale Symptome zu entwickeln.

Die Patienten sollten deswegen ermutigt werden, nach und nach wieder Milch in kleineren Portionen und gemeinsam mit anderen Lebensmitteln zu sich zu nehmen. Auch Joghurt, Topfen und Käse werden in der Regel gut vertragen, da ein Teil der Laktose bereits von Bakterien gespalten wurde [113].

Falls diese Strategien fehlschlagen, kann man auf pharmakologische Therapieansätze zurückgreifen. Diese bestehen einerseits in Zufuhr von exogener Laktase in flüssiger Form, oder auch in Form von  $\beta$ -Galaktosidase-Tabletten, die zu den Mahlzeiten eingenommen werden. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung von pre-hydrolysiertes Milch bzw. laktosefreien Produkten.

Auch der Einsatz von Kalzium- und Vitamin-D-Präparaten sollte bei nachgewiesenen Mangelzuständen in Betracht gezogen werden.

Es ist wichtig, die Patienten darüber zu informieren, dass sie in Zukunft trotz der Diagnose eines Laktasemangels nicht gänzlich auf Milchprodukte verzichten müssen bzw. auch nicht darauf verzichten sollen.

Bedeutend ist jedoch der Hinweis, dass viele – vermeintlich laktosefreie – Produkte, oft beträchtliche Mengen an Milchzucker enthalten können.

### 1.9.1 Laktose in Lebensmitteln

Nicht nur die Natur, sondern auch die Lebensmittelindustrie macht sich u.a. die Tatsache zu Nutze, dass Laktose nicht so süß schmeckt wie andere Zucker und zudem weitere günstige Eigenschaften wie z.B. eine gute Wasserbindung aufweist. So findet man Laktose – für viele auf den ersten Blick vielleicht verwunderlich – nicht nur in Milchprodukten, sondern auch in Brot, Kuchen oder Süßigkeiten. Laktose kann außerdem – besser als andere Zucker – Geschmack, Aroma und Farbstoffe von Lebensmitteln aufnehmen [3].

Die Pharmaindustrie verwendet Laktose auf Grund ihrer Eigenschaften ebenfalls als Grundstoff für viele Medikamente. Eine britische Studie untersuchte Pharmaka, die im Bereich der Gastroenterologie verschrieben werden, auf ihren Laktosegehalt. Bei einigen der untersuchten Arzneimittel reichte die bei maximaler Tagesdosis aufgenommene Laktosemenge – je nach Herstellerfirma – bis über 1000 mg. So würde beispielsweise ein Patient in der erwähnten Studie, der täglich 16 mg Imodium zu sich nimmt, auf eine Tagesdosis von 1000 mg Laktose kommen [5]. Je nach Hersteller variierte die Laktosemenge bei gleicher Menge an Wirkstoff aber beträchtlich. So stellte man in der besagten Studie fest, dass bei vielen Medikamenten eine laktosefreie Präparatalternative zur Verfügung steht.

Bei der Mehrzahl der untersuchten Präparaten der britischen Studie liegt der Laktosegehalt im Bereich von < 100 mg pro Tablette. Bei maximaler Tagesdosis werden somit selten mehr als 400 bis 500 mg Laktose aufgenommen [5].

In der Regel ist die in einzelnen Arzneimitteln enthaltene Menge an Laktose also so niedrig, dass Laktasemangel keine Kontraindikation für deren Einnahme darstellt. Dies unterstützen Studienergebnisse aus Italien. In einer randomisierten Doppelblindstudie [115] wurde dort bei einer Gabe von 400 mg Laktose in Tablettenform im Vergleich zur Placebogabe weder ein signifikanter Anstieg des H<sub>2</sub>-Gehalts in der Ausatemluft noch eine Zunahme klinischer Symptome nach Laktosegabe registriert.

Man sollte allerdings bedenken, dass ältere Patienten neben gastrointestinalen Beschwerden oft noch aufgrund anderer Grunderkrankungen Medikamente zu sich nehmen, die ebenfalls beachtliche Mengen an Laktose enthalten können.

In Einzelfällen kann es deswegen notwendig sein, auf laktosefreie Arzneiformen zurückzugreifen.

Neben Arzneimitteln gibt es noch viele andere versteckte Laktosequellen, die den Betroffenen oft nicht bewusst sind. Trotz – vermeintlich – laktosefreier Diät persistieren die gastrointestinalen Beschwerden. Eine Übersicht des Laktose- und Kalziumgehaltes von Milch und Milchprodukten gibt Tabelle 8, während Tabelle 9 auf sonstige laktosehaltige Produkte hinweist.

*Tabelle 8: Laktose- und Kalziumgehalt von Milch und ausgewählten Milchprodukten. [116] [modifiziert]*

100 g Lebensmittel	Laktosegehalt	Kalziumgehalt
Kuhmilch	4,6-5 g	120 mg
Ziegenmilch	4,4 g	130 mg
Extrahartkäse (Sbrinz, Parmesan) und Hartkäse (Emmentaler, Greyerzer)	keine Laktose	900-1340 mg
Halbhartkäse (Tilsiter, Appenzeller, Raclette)	Spuren	670-900 mg
Weichkäse (Camembert, Brie usw.)	Spuren	350-660 mg
Mozzarella	1,0 g	400 mg
Topfen	3,5-4 g	90 - 115 mg
Joghurt / Sauermilch	4,0 - 5,5 g	110 - 160 mg
Schlagobers	3,0 g	70 mg
Butter	Spuren	Spuren

*Tabelle 9: Laktosehaltige Produkte, welche bei Verzehr größerer Mengen zu Beschwerden führen können. [116] [modifiziert]*

<b>mit Milch zubereitete Speisen</b> Pudding, Crème, Grießbrei, Milchreis, Saucen, Milchgetränke usw.
<b>Süßigkeiten</b> Milkschokolade, Sahnebonbons, Milch- und Sahneeis, Nougat, Pralinen, Schoko-Brotaufstrich usw.
<b>Fertigprodukte</b> Suppen, Saucen, Bouillon, Salatsaucen, diverse Fertigprodukte usw.
<b>Wurstwaren</b> Kochwürste, Brühwürste, Rohwürste usw.
<b>Backwaren</b> diverse Brot-, Zopf- und Kuchenbackmischungen, viele Backwaren, Gebäck, Kracker usw.
<b>Getränke und Sonstiges</b> Getränke mit Milchserum, Kakaogetränkepulver, Proteinkonzentrate für Sportler, Medikamente usw.

## 1.10 Fragestellung der Studie

Die klinische Standardmethode für die Testung der Laktoseintoleranz ist bislang der Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest. Dieser Test hat den Nachteil, dass er einerseits zeitaufwendig ist und andererseits seine Sensitivität und Spezifität durch verschiedene Faktoren, die bereits erwähnt wurden, eingeschränkt ist.

Bei ausgewählten Patienten der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz sollten die Ergebnisse des neuen DNA-Tests mit den Resultaten des Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtests zum Nachweis des primär adulten Laktasemangels verglichen werden.

Bisherige Studienergebnisse zeigten in Europa eine gute Korrelation zwischen dem Gentest und dem Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest zum Nachweis einer Laktoseintoleranz. Im Rahmen dieser Diplomarbeit sollte diese Hypothese an einem großen Patientenkollektiv untersucht werden.

## 2 PATIENTEN UND METHODEN

### 2.1 Studiendesign

Ausgehend von einer Studie von Högenauer et al. [117] (in weiterer Folge als Studie 1 bezeichnet), die einen neuen genetischen Test mit dem Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest für die Diagnostik der Laktase-Nonpersistenz verglich, wurde eine zweite – gleich angelegte – Studie durchgeführt (im Folgenden Studie 2 genannt). Anhand eines Patientenkollektivs der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz sollten die Ergebnisse des neuen DNA-Tests mit den Resultaten des Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtests zum Nachweis des primär adulten Laktasemangels verglichen werden.

Gemeinsam mit den Daten aus der Studie von Högenauer et al. wurde abschließend auch eine gepoolte Analyse der gemeinsamen Daten durchgeführt, die folglich ein größeres Patientenkollektiv einschloss.

### 2.2 Untersuchungskollektiv

#### 2.2.1 Studie 1

123 aufeinander folgende Patienten, die zur Testung einer vermuteten Laktoseintoleranz an die Univ.-Klinik Graz für Gastroenterologie und Hepatologie überwiesen wurden, nahmen an der Studie [117] teil. Die Geschlechterverteilung belief sich auf 80 weibliche und 43 männliche Patienten. Das mittlere Alter betrug  $42 \pm 14$  Jahre, die Spannweite reichte von 18 bis 74 Jahre.

Alle Studienteilnehmer waren Kaukasier, wovon 119 Patienten aus Österreich kamen.

## 2.2.2 Studie 2

Ausgehend von 138 Patienten, bei denen zwischen Mai 2004 und September 2007 an der Universitätsklinik für Gastroenterologie und Hepatologie wegen gastrointestinaler Beschwerden eine Dünndarmbiopsie durchgeführt wurde, wurden jene Patienten ausgewählt, die zusätzlich zur Biopsie sowohl einen Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest als auch einen Gentest vorweisen konnten.

### 2.2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien der Studie waren sowohl gastrointestinale Beschwerden mit Verdacht auf Laktoseintoleranz in der Anamnese als auch vorhandene Resultate eines Gentests zur Anlage der Laktose-Nonpersistenz sowie ein durchgeführter Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest.

Alle Patienten, die keinen Gentest und/oder keinen Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest vorweisen konnten, mussten aus der Studie ausgeschlossen werden.

Die Studie 2 konnte schlussendlich retrospektiv mit 82 Patienten durchgeführt werden. Die Geschlechterverteilung belief sich auf 60 weibliche und 22 männliche Patienten. Das mittlere Alter betrug  $39 \pm 14$  Jahre, wobei der jüngste Patient 17 und der älteste Patient 68 Jahre alt war.

Alle Patienten waren von der Herkunft Kaukasier, wovon 77 Patienten aus Österreich stammten. Die restlichen fünf Patienten kamen aus Persien, Rumänien, Slowenien, Schweden und der Türkei.

Die Patienten hatten im Vorfeld ihr Einverständnis (written informed consent) zur genetischen Untersuchung und zur Teilnahme an der Studie gegeben.

### 2.2.3 Kombinierte Studie (Studie 1+2)

Für die gepoolte Analyse der beiden Studien standen 205 Patienten zur Verfügung; davon 140 weibliche und 64 männliche. Das durchschnittliche Alter lag bei  $41 \pm 14$  Jahren (Spannweite zwischen 17 und 74 Jahre).

Alle Patienten waren von der Herkunft Kaukasier, 196 Patienten stammten aus Österreich.

## 2.3 Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest

Alle Patienten wurden vor dem Test über wichtige Verhaltensmaßnahmen aufgeklärt und angehalten, 8 Stunden vor der Durchführung nichts mehr zu essen und nicht zu rauchen.

Nach oraler Aufnahme von 50 g Laktose, aufgelöst in 200 ml Wasser, wurde der Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest durchgeführt.

Die endexpiratorische Wasserstoffkonzentration wurde zuerst als Ausgangswert (Basalwert) und in der ersten Stunde im Abstand von 15 Minuten gemessen, danach alle 30 Minuten für weitere drei Stunden. Wenn nach vier Stunden (240 min) eine Konzentrationsänderung von > 20 ppm registriert werden konnte, galt der Test als positiv für Laktosemalabsorption.

Parallel mussten gastrointestinale Symptome wie Durchfall, Blähungen oder Krämpfe von den Patienten während des Tests angegeben und auf einer Skala von 0 (keine Symptome) bis 5 (heftigste Beschwerden) quantifiziert werden. Damit war eine Unterscheidung zwischen Laktoseintoleranz und Laktosemalabsorption möglich.

Das verwendete Protokoll für einen Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest an der klinischen Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie des LKH Graz ist im Anhang beigefügt.

## 2.4 DNA-Genotyp-Bestimmung

Die Genotypisierung der Mutation stromaufwärts des LCT-Gens zur Zuordnung der genetischen Disposition zum primär adulten Laktasemangel wurde nach schriftlichem Einverständnis der Patienten vorgenommen.

Da für genetische Untersuchungen generell eine größere Menge DNA benötigt wird, verwendet man heute routinemäßig die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur DNA-Vervielfältigung.

### 2.4.1 Prinzip der PCR

Die PCR ist eine in den 1980er Jahren von Karry B. Mullis beschriebene Methode, um (millionenfach) Kopien von spezifischen DNA-Segmenten zu erhalten. Dies macht weitere Untersuchungen von DNA überhaupt erst möglich.

Die PCR wird in speziell dafür entwickelten Geräten – so genannten Thermocyclern – durchgeführt und besteht grundsätzlich aus drei Phasen [118] :

**1. Denaturierung:** Bei 93-95°C wird die DNA thermisch in ihre Einzelstränge aufgetrennt.

**2. Annealing:** Durch eine Temperatursenkung (auf 50-60°C) lagern sich zwei spezifische Primer an die Einzelstränge an. Die Primer müssen komplementär zu den 3'- Enden der zu vervielfältigenden DNA sein.

**3. Elongation:** Mithilfe einer thermostabilen DNA-Polymerase (Taq-Polymerase, aus dem Bakterium *Thermophilus aquaticus*) wird bei 70-75°C jeweils der komplementäre Strang der nachzuweisenden DNA neu synthetisiert.

Ein Zyklus dauert 3-5 Minuten, besteht aus diesen drei Phasen und wiederholt sich danach wieder. Nach ca. 30 Zyklen endet die Kettenreaktion, da die Komponenten der Reaktion teilweise verbraucht sind. Aus einem Ausgangsmolekül sind mithilfe der PCR dabei jedoch ca.  $10^5$  Exemplare des gewünschten DNA-Abschnitts entstanden. Abbildung 21 gibt einen Überblick über den Ablauf einer PCR.

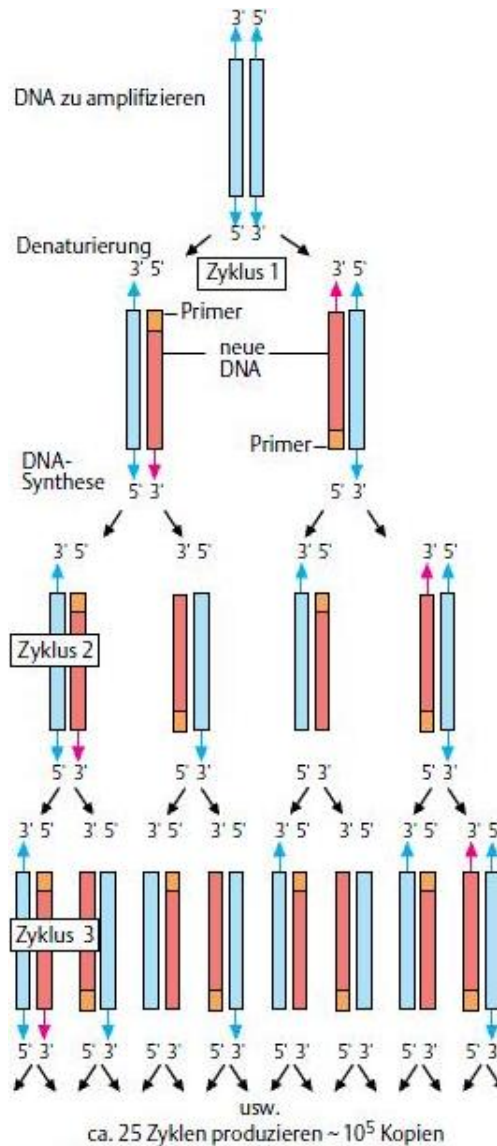


Abbildung 21: Polymerase-Kettenreaktion [118] [modifiziert]

## 2.4.2 Durchführung der PCR

Aus venösem Vollblut wurde die Patienten-DNA aus Leukozyten isoliert und bei 4°C aufbewahrt. Mittels PCR wurde ein 174 bp Fragment vervielfältigt, das den gesuchten C>T Polymorphismus 13 kb stromaufwärts des LCT-Gens beinhaltet.

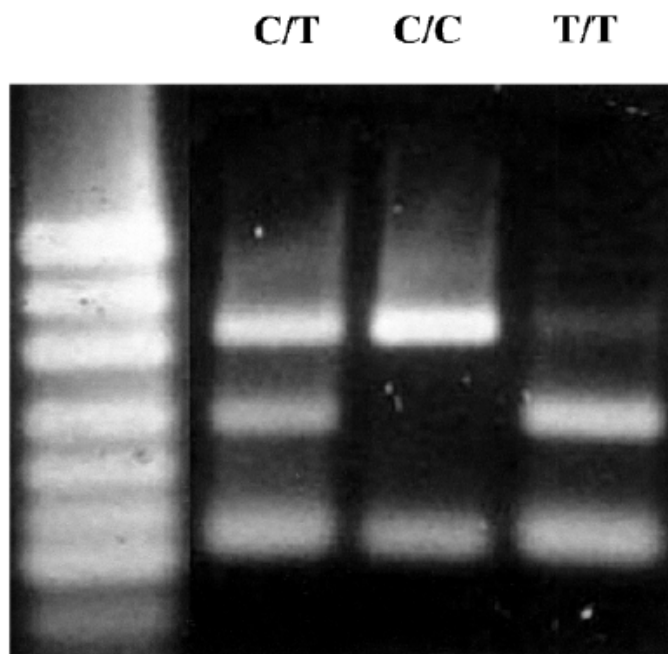
Die verwendeten Primer hatten folgende Abfolge:

5'-GTTGTTAGACGGAGACGATCACGT-3' (forward primer) und

5'-AGGAGAGTTCCTTTGAGGCCAGGT-3' (reverse primer).

Zur weiteren Untersuchung der DNA wurde die RFLP-Methode (Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus) angewandt. Dazu wurde das PCR-Produkt mit einer „restriction endonuclease RsaI“ (New England Biolab) verdaut. Das T-Allel wurde durch das Enzym in Fragmente von 88, 44, 24 and 18 bp zerschnitten, während das C-Allel in Fragmente von 88, 68 and 18 bp zerteilt wurde. Diese Fragmente wurden auf 3.0% – mit Ethidiubromid gefärbten – Agarosegel aufgetragen und mittels Elektrophorese aufgetrennt. Da die DNA durch Phosphate negativ geladen ist, wandern die durch das Enzym gespaltenen Fragmente unterschiedlich schnell zum Pluspol. Negative Kontrollen, die H<sub>2</sub>O anstatt DNA enthielten, und drei positive Kontrollen (TT, TC und CC-Genotyp) wurden ebenfalls auf das Gel aufgetragen. Das Gel konnte anschließend unter eine UV-Lampe betrachtet werden, da das in die DNA eingelagerte Ethidiumbromid im UV-Licht fluoresziert (Abbildung 22).

Ein als positiv definierter Gentest lag bei einem CC-Genotyp vor, während TC- und TT-Genotypen als Indikatoren für Laktasepersistenz angesehen wurden [52].



*Abbildung 22: Beispiel für Resultate der einzelnen Genotypen einer RFLP-Analyse auf Agarosegel. [119] [modifiziert]*

### 2.4.3 Prinzip der quantitativen Real-Time-PCR

Bei einigen Patienten der Studie wurde für die Genotypisierung die qRT-PCR, die auch „real-time detection PCR“ genannt wird, angewandt. Sie liefert konkordante Ergebnisse zur PCR-RFLP [120] und beruht auf dem Prinzip der herkömmlichen PCR, ermöglicht aber aufgrund von Fluoreszenzmessungen eine zusätzliche Quantifizierung der gewonnen DNA in Echtzeit. Damit unterscheidet sie sich von anderen quantitativen PCR-Methoden, wo erst nach Ablauf der PCR die quantitative Auswertung erfolgt [121].

Dem PCR-Ansatz werden neben spezifischen Primern auch sequenzspezifische Hybridisierungssonden hinzugefügt. Die Sonden sind mit unterschiedlichen Donor- bzw. Akzeptorfarbstoffen markiert. Sobald Licht einer definierten Wellenlänge emittiert wird, wird die Fluoreszenz-Emission des Donorfarbstoffs durch die räumliche Nähe zu dem Akzeptorfarbstoff weitergegeben und unterdrückt bzw. emittiert. Dieser Vorgang wird auch Fluoreszenz-Energietransfer (FRET) genannt.[122] Die Fluoreszenz wird gegen Leerkontrollen vermessen und die Genotypenverteilung lässt sich danach graphisch in Form von Clustern (Abbildung 23) darstellen.

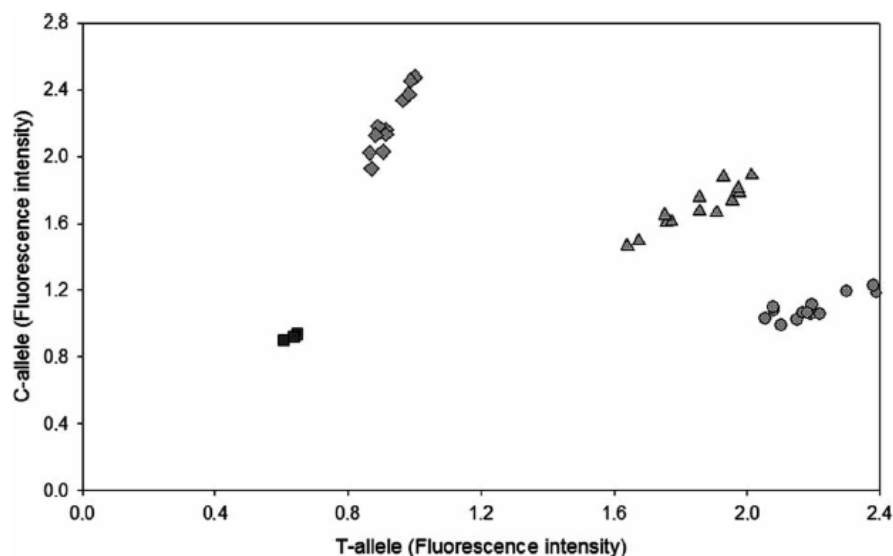


Abbildung 23: Beispiel für Resultate einer Genotypisierung des C/T<sub>-13910</sub>-Polymorphismus mittels real-time PCR. [120]

Die X-Achse zeigt die Fluoreszenz-Intensität für die markierten T-Allele, während die Y-Achse die Fluoreszenz-Intensität für die C-Allele darstellt. Negativkontrollen: Quadrate; CC-Genotyp: Rauten; TC-Genotyp: Dreiecke; TT-Genotyp: Kreise.

### 3 RESULTATE

Neben einer separaten Auswertung der Resultate wurde auch eine gepoolte Analyse der neu erhobenen Daten (Studie 2) mit jenen Daten, die bereits von Högenauer et al. veröffentlicht worden waren (Studie 1), durchgeführt.

#### 3.1 Studie 1

Die Studie wurde im Jahr 2005 von Högenauer et al. publiziert [117] und soll hier nur noch einmal kurz zusammengefasst werden.

Die Symptome der getesteten Patienten, die zu einer Zuweisung an die klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie des LKH Graz führten, waren Diarrhoe in 44%, Blähungen/Meteorismus in 72%, abdominelle Krämpfe in 41% und Milchunverträglichkeit in 16% der Fälle.

37 der 123 Patienten hatten einen positiven Gentest (CC-Genotyp), davon hatten 36 (97%) auch einen positiven Laktose-Atemtest. 86 von 123 Patienten hatten eine negativen Gentest (TC oder TT Genotyp), von diesen zeigten 74 (86%) auch ein negatives Ergebnis im Atemtest.

Bei einem von insgesamt 37 Patienten (3%) mit positivem Gentest zeigte sich ein negativer Atemtest. Der Proband hatte keine Symptome nach Laktoseeinnahme. Eine H<sub>2</sub>-Nonexkretion konnte mittels Laktulose-H<sub>2</sub>-Atemtest ausgeschlossen werden; ebenso zeigte der Blutglukosespiegel einen normalen Anstieg nach oraler Laktosegabe.

12 von 86 Patienten (14%) mit negativem Gentest (9 TC-, 3 TT-Genotyp) hatten eine positiven Atemtest; 7 davon berichteten über Symptome nach Laktosegabe. 8 dieser 12 Patienten konnten weiter untersucht werden. Bei allen 8 Patienten wurde eine sekundäre Ursache der Laktosemalabsorption mittels Duodenalbiopsie ausgeschlossen. Drei dieser Patienten sprachen auf laktosefreie Diät an. Nur zwei Patienten mit diskrepanten Ergebnissen zwischen Gentest und Laktose-Atemtest (TC-Genotyp und positiver Atemtest) hatten ein grenzwertiges Ergebnis im Atemtest.

## 3.2 Studie 2

### 3.2.1 Intestinale Symptomhäufigkeiten in der Anamnese in Studie 2

Die intestinalen Symptome der Patienten, die zu einer Zuweisung zur Abklärung einer Laktoseintoleranz an die klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie des LKH Graz führten, waren bei 63% Diarrhoe, 71% Blähungen, 51% Flatulenz, 49% Bauchkrämpfe und bei 18% Milchunverträglichkeit.

In Abbildung 24 sind diese Symptome in ihrer Häufigkeit graphisch dargestellt. Bei drei Patienten konnten keine Gründe für die Überweisung an die Klinik eruiert werden.

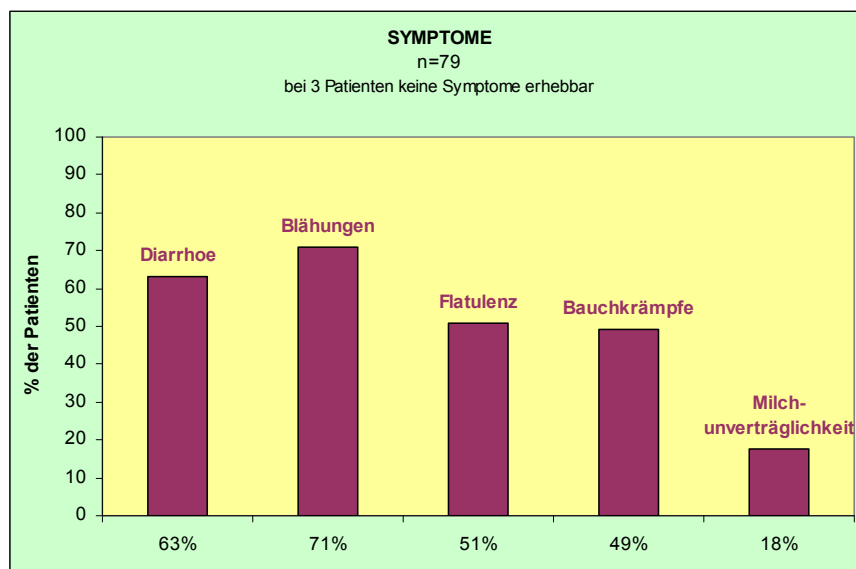


Abbildung 24: Intestinale Symptome, die zur Überweisung an die klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie geführt haben (Studie 2).

### 3.2.2 Resultate des H<sub>2</sub>-Atemtests in Studie 2

Von 82 getesteten Patienten hatten 53 Patienten (65%) einen negativen Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest ( $\Delta < 20$  ppm H<sub>2</sub>-Konzentration in der Ausatemluft) und 29 Patienten (35%) einen positiven Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest ( $\Delta > 20$  ppm).

Von den 29 Patienten, die einen positiven Atemtest zeigten, gaben 22 von 28 (79%) Symptome an; bei einem Probanden wurden keine Symptome während des Tests eruiert, da der Test auswärtig durchgeführt wurde.

In der Patientengruppe mit 53 Patienten, die auf den Atemtest ein negatives Testergebnis hatten, berichteten 8 von 51 (16%) über gastrointestinale Beschwerden während des Tests. Bei zwei Probanden wurden keine Symptome erhoben. Die Ergebnisse des Zusammenhangs zwischen H<sub>2</sub>-Atemtest und Symptomen während des Tests sind in Abbildung 27 graphisch dargestellt.

### 3.2.3 Resultate des genetischen Tests in Studie 2

Von 82 Patienten hatten 26 (32%) einen positiven Gentest (CC-Genotyp) und damit nach derzeitiger Hypothese [52] die genetische Anlage zum Laktasemangel.

Bei insgesamt 56 Patienten (68%) suggerierte der Gentest eine Anlage für Laktasepersistenz, wobei 40 Patienten (49%) einen TC-Genotyp und 16 Patienten (19%) einen TT-Genotyp zeigten. Die Genotypverteilung der Studie 2 veranschaulicht Abbildung 25, während der Zusammenhang zwischen Genotyp und Beschwerden während des Tests in Abbildung 28 gezeigt wird.

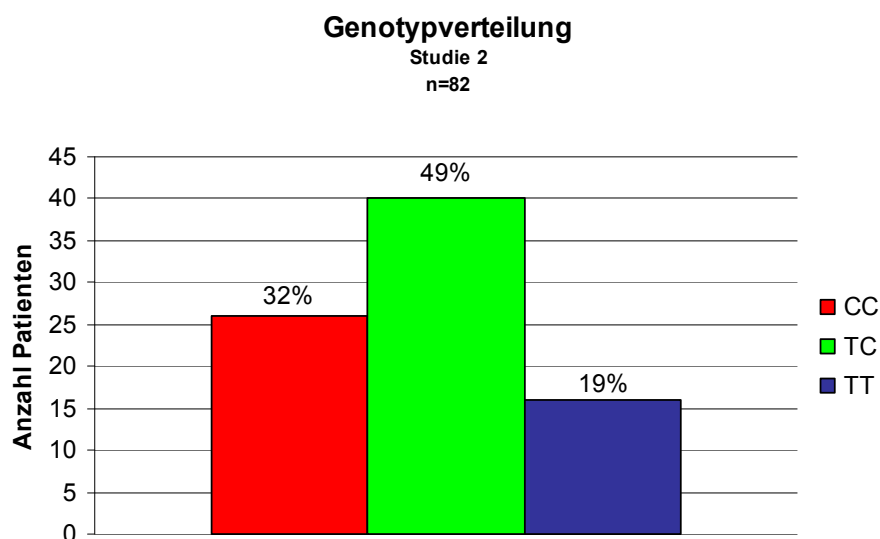


Abbildung 25: Genotypverteilung in Studie 2.

### 3.2.4 Durchschnittlicher H<sub>2</sub>-Anstieg in Studie 2

Je nach Genotyp war auch eine verschieden hohe Änderungen der H<sub>2</sub>-Konzentration in ppm festzustellen. Während der TT-Genotyp im Schnitt auf einen Anstieg von 4 ppm kam, zeigte der TC-Genotyp bereits einen Anstieg von durchschnittlich 12 ppm und der CC-Genotyp von durchschnittlich 70 ppm.

Die Abbildung 26 verdeutlicht außerdem, dass nur zwei Patienten mit diskrepantem Ergebnis zwischen Gentest und Atemtest nahe des cut-off Levels von  $\Delta$  20 ppm lagen.

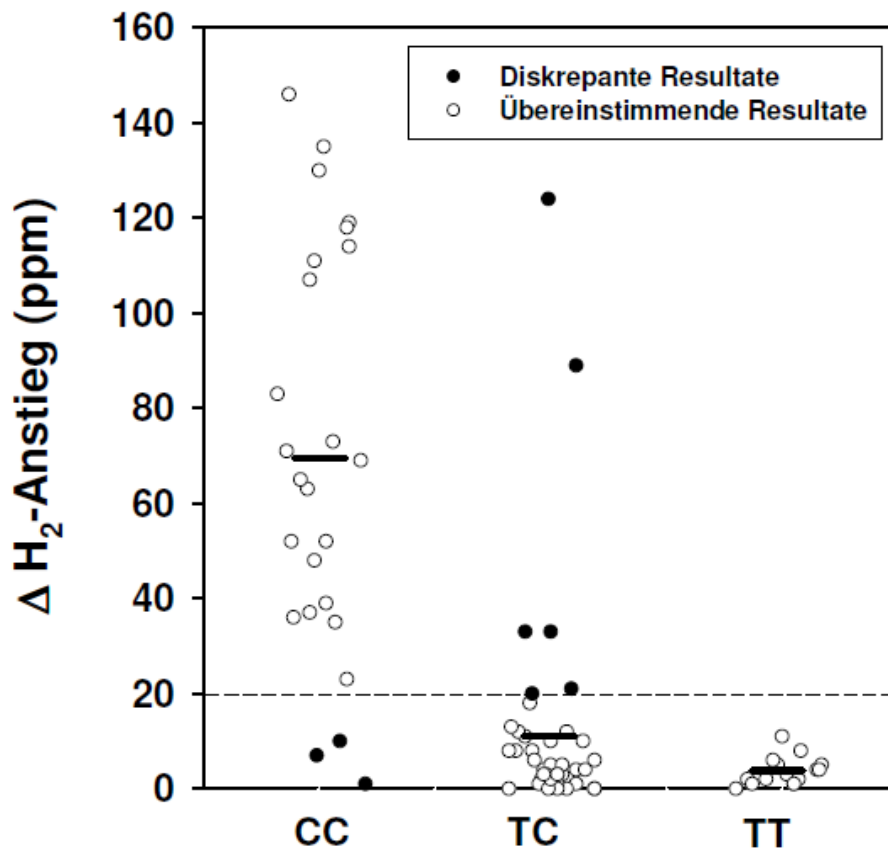


Abbildung 26: Vergleich der H<sub>2</sub>-Konzentrationsänderungen in unterschiedlichen Genotypen in Studie 2.

Cut-off Level von  $\Delta$  20 ppm: gestrichelte Linie; übereinstimmende Resultate zwischen Genotyp und H<sub>2</sub>-Test: helle Punkte; diskrepante Resultate: dunkle Punkte. Die Balken zeigen den durchschnittlichen  $\Delta$  H<sub>2</sub>-Anstieg.

### 3.2.5 Symptome nach Laktosegabe in Studie 2

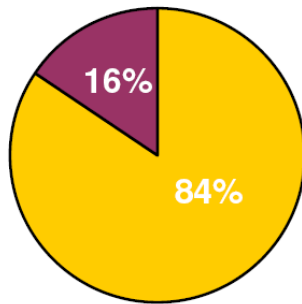
In der Patientengruppe mit 53 Patienten, die einen negativen H<sub>2</sub>-Atemtest hatten, berichteten wie schon erwähnt 8 von 51 (16%) über gastrointestinale Beschwerden während des Tests.

Bei der Patientengruppe mit 29 Patienten mit positivem H<sub>2</sub>-Atemtest gaben 22 von 28 (79%) Beschwerden während des Tests an (Abbildung 27). Bei einem Proband war der Test auswärtig durchgeführt worden und daher waren keine Symptome bekannt.

Vergleicht man nun die Anzahl der Patienten, die während des Atemtests Beschwerden hatten, mit den Ergebnissen ihres genetischen Tests (Abbildung 28), so findet sich ein relativ ähnliches Bild im Vergleich zu der Beschwerdeshäufigkeit während des Atemtests.

9 von 54 Patienten (17%) mit negativem Gentest (von insgesamt 56 Patienten mit negativem Gentest, bei zwei Patienten waren keine Angaben über Symptome bekannt) hatten trotz negativem Gentest Beschwerden während des H<sub>2</sub>-Atemtests. 4 von 25 (16%) der insgesamt 26 Patienten (bei zwei Patienten waren wiederum keine Symptomanangaben bekannt) mit positivem Gentest hatten trotz genetischer Anlage zum Laktasemangel keine Beschwerden während ihres Atemtests.

**negativer H<sub>2</sub>-Atemtest**  
n= 51



■ Symptome  
■ keine Symptome

**positiver H<sub>2</sub>-Atemtest**  
n= 28

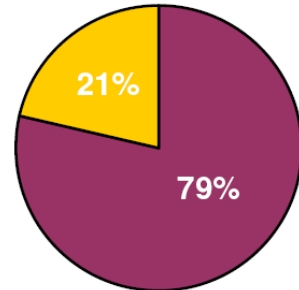
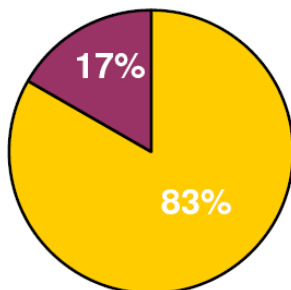


Abbildung 27: Patienten mit Symptomen nach Laktosegabe und ihr Ergebnis im H<sub>2</sub>-Atemtest in Studie 2.

**negativer Gentest**  
n=54



■ Symptome  
■ keine Symptome

**positiver Gentest**  
n=25

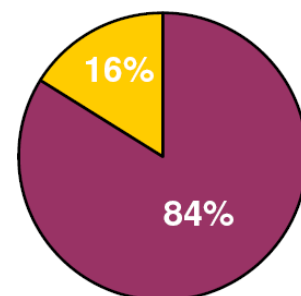


Abbildung 28: Patienten mit Symptomen nach Laktosegabe und ihr Ergebnis im Gentest in Studie 2.

### 3.2.6 Übersicht über Ergebnisse der Studie 2

Folgender Patientenbaum (Abbildung 29) fasst die Ergebnisse von H<sub>2</sub>-Atemtest und Gentest zusammen und zeigt die Aufteilung der 82 Patienten nach ihren Resultaten in den beiden Tests.

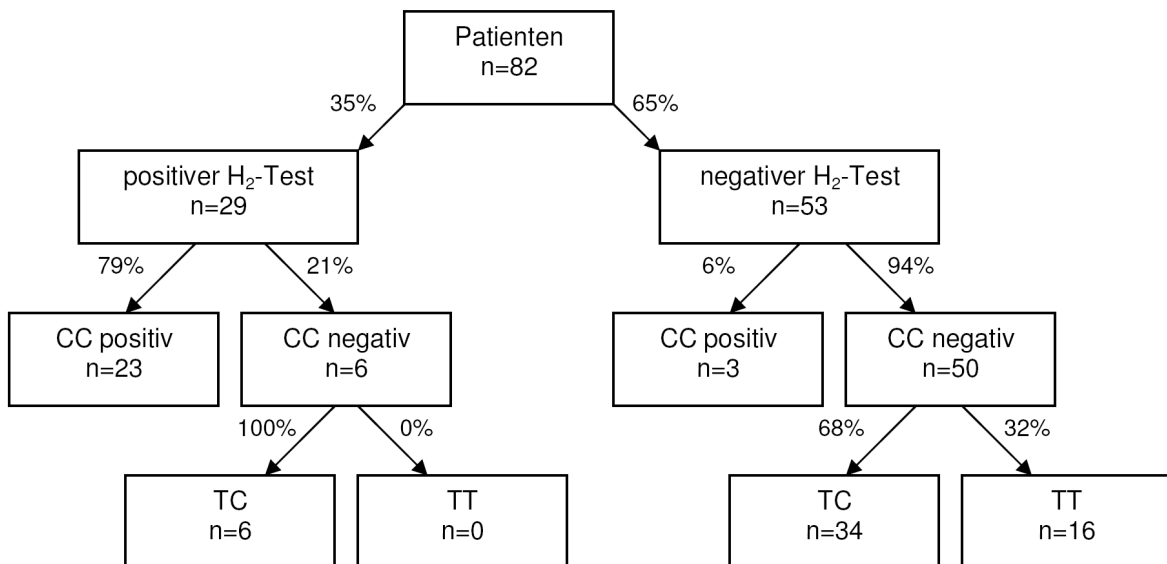


Abbildung 29: Patientenübersicht der Studie 2.

Wie in Tabelle 10 veranschaulicht, hatten 88% der Patienten mit einem CC-Genotyp ebenfalls einen positiven Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest. Von all jenen Patienten, die einen negativen Genotyp (TC oder TT) hatten, war der dazugehörige Atemtest auch in 89% der Fälle negativ.

Tabelle 10: Resultate des Gentests für adulten Laktasemangel im Vergleich zu den Ergebnissen des Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest in Studie 2.

	positiver Laktose H <sub>2</sub> -Test	negativer Laktose H <sub>2</sub> -Test	Gesamt
<b>positiver Gentest (CC Genotyp)</b>	23/26 (88%)	3/26 (12%)	26
<b>negativer Gentest (TC oder TT Genotyp)</b>	6/56 (11%)	50/56 (89%)	56
<b>Gesamt</b>	29	53	82

### 3.2.7 Diskrepante Befunde zwischen dem DNA-Test und dem H<sub>2</sub>-Atemtest in Studie 2

Sechs Patienten, bei denen der H<sub>2</sub>-Atemtest positiv war und auf eine Laktosemalabsorption hinwies, zeigten in der genetischen Analyse einen TC-Genotyp. Dies suggeriert jedoch die Anlage zur Laktasepersistenz. Bei zwei dieser Patienten konnte allerdings in der Folge eine Zöliakie als Ursache für einen sekundären Laktasemangel identifiziert werden. Bei den restlichen vier Patienten blieben sowohl endomysiale Antikörper als auch eine Duodenalbiopsie ohne auffälligen Befund.

Interessanterweise fanden sich – anders als in der zuvor publizierten Studie 1 – unter den diskrepanten Befunden keine Patienten mit TT-Genotyp.

Bei drei Patienten wiederum, bei denen die Genanalyse einen CC-Genotyp mit der Anlage zum adulten Laktasemangel ergab, war der H<sub>2</sub>-Atemtest negativ. Zwei dieser Patienten zeigten auch keinerlei Symptome während des Atemtests.

### 3.3 Kombinierte Studie (Studie 1+2)

#### 3.3.1 Intestinale Symptomhäufigkeiten in der Anamnese in der kombinierten Studie

Die intestinalen Symptome der Patienten, die zu einer Zuweisung zur klinischen Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie des LKH Graz führten, waren in der kombinierten Studie bei 53% Diarrhoe, 69% Blähungen, 41% Flatulenz, 45% Bauchkrämpfe und bei 18% Milchunverträglichkeit.

In Abbildung 30 sind diese Symptome in ihrer Häufigkeit graphisch dargestellt. Bei insgesamt 29 Patienten konnten keine Gründe für die Überweisung an die Klinik eruiert werden.

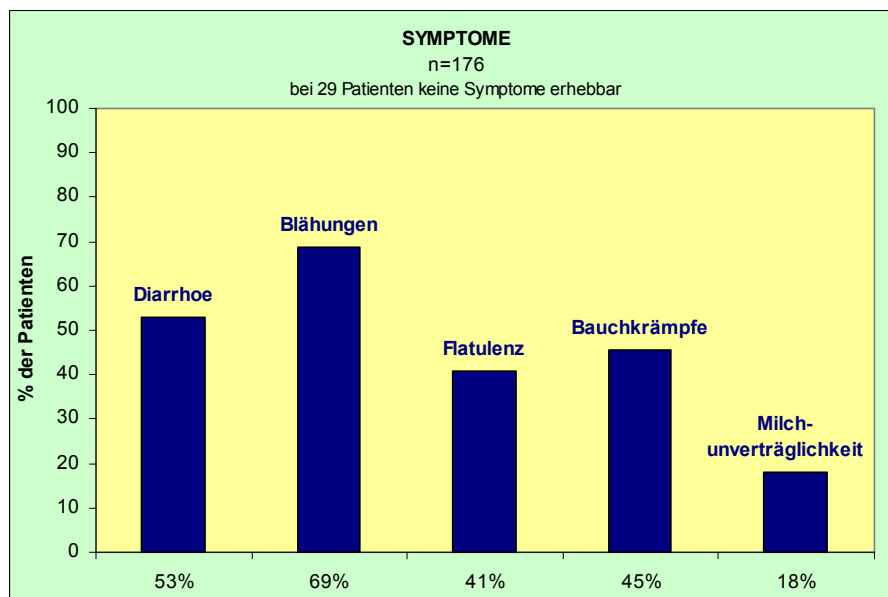


Abbildung 30: Intestinale Symptome, die zur Überweisung an die klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie geführt haben (Studie 1+2).

#### 3.3.2 Resultate des H<sub>2</sub>-Atemtests in der kombinierten Studie

Für die gepoolte Analyse aus beiden Studien standen wie schon erwähnt 205 Patienten zur Verfügung. Davon hatten insgesamt 128 Patienten (62%) einen negativen Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest ( $\Delta < 20$  ppm H<sub>2</sub>-Konzentration in der Ausatemluft), während 77 Patienten (38%) positiv getestet wurden ( $\Delta > 20$  ppm).

Von den Patienten, die einen positiven Atemtest zeigten, gaben 56 von 75 (75%) während des Tests Symptome an. Bei zwei Probanden ließen sich retrospektiv keine Symptomangaben eruieren. (Abbildung 35)

In der Patientengruppe der 126 Patienten mit negativem Testergebnis im H<sub>2</sub>-Atemtest waren 19 (15%) während Tests symptomatisch und gaben – trotz fehlendem Hinweis auf Laktosemalabsorption – gastrointestinale Beschwerden an. Bei zwei Patienten waren keine Symptomangaben während des Tests verfügbar.

### 3.3.3 Resultate des genetischen Tests in der kombinierten Studie

Von 205 Patienten hatten 63 (31%) einen positiven Gentest (CC-Genotyp) und damit nach derzeitiger Hypothese [52] die genetische Anlage zum Laktasemangel. Bei insgesamt 142 Patienten (69%) ließ sich eine Anlage für Laktasepersistenz feststellen, wobei 96 Patienten (47%) einen TC-Genotyp und 46 Patienten (22%) einen TT-Genotyp zeigten. Diese Aufteilung veranschaulicht Abbildung 31.

Den Zusammenhang zwischen Genotyp und Beschwerden nach Laktosegabe zeigt Abbildung 34.

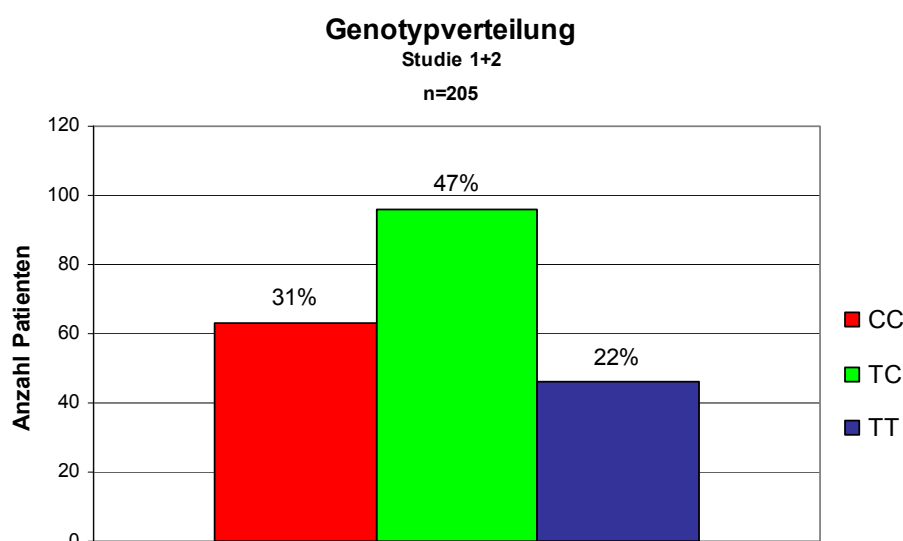


Abbildung 31: Genotypverteilung in der kombinierten Studie.

### 3.3.4 Durchschnittlicher H<sub>2</sub>-Anstieg in der kombinierten Studie

Je nach Genotyp waren auch in der kombinierten Studie verschieden hohe Änderungen der H<sub>2</sub>-Konzentration in ppm festzustellen. Während der TT-Genotyp im Schnitt auf einen Anstieg von 7 ppm kam, zeigte der TC-Genotyp bereits einen Anstieg von durchschnittlich 11 ppm und der CC-Genotyp von durchschnittlich 73 ppm.

Abbildung 32 verdeutlicht zudem, dass vier Patienten mit TC-Genotyp und diskrepantem Ergebnis zwischen Gentest und Atemtest nahe des cut-off Levels von  $\Delta$  20 ppm lagen.

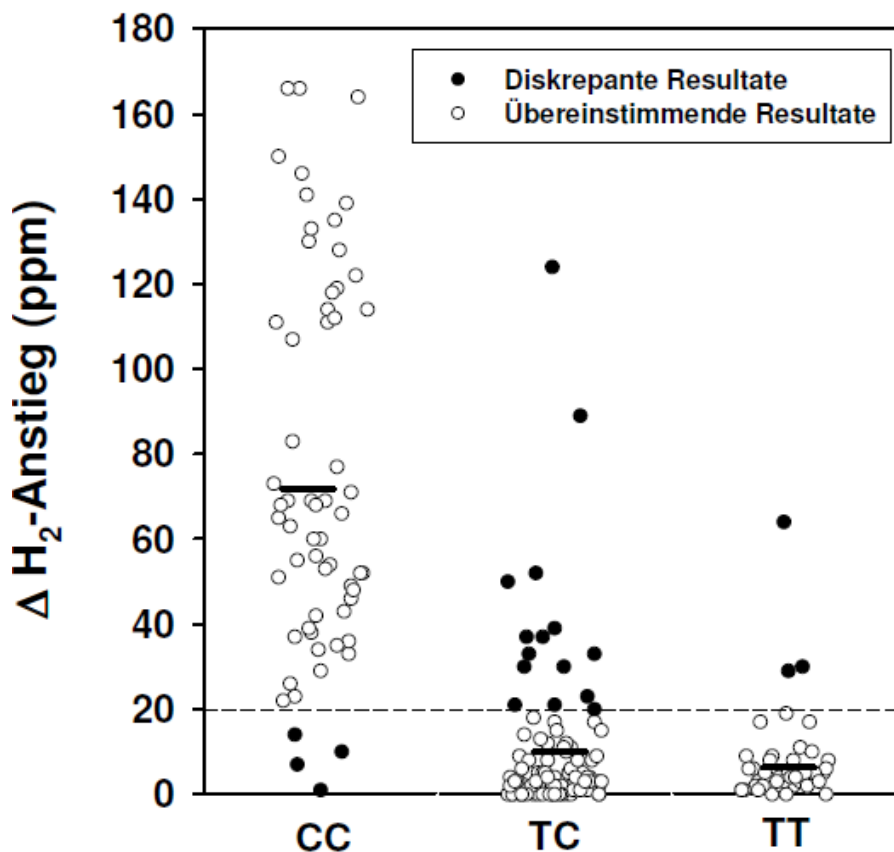


Abbildung 32: Vergleich der H<sub>2</sub>-Konzentrationsänderungen in unterschiedlichen Genotypen in der kombinierten Studie.

Cut-off Level von  $\Delta$  20 ppm: gestrichelte Linie; übereinstimmende Resultate zwischen Genotyp und H<sub>2</sub>-Test: helle Punkte; diskrepante Resultate: dunkle Punkte. Die Balken zeigen den durchschnittlichen  $\Delta$  H<sub>2</sub>-Anstieg.

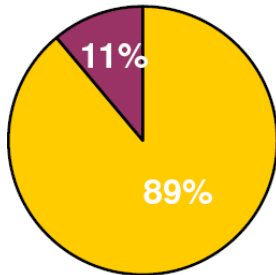
### 3.3.5 Symptome nach Laktosegabe in der kombinierten Studie

In der Patientengruppe mit 128 Patienten, die einen negativen H<sub>2</sub>-Atemtest hatten, berichteten 14 von 126 (11%) über gastrointestinale Beschwerden während des Tests. Bei der Patientengruppe mit 77 Patienten mit positivem H<sub>2</sub>-Atemtest gaben 56 von 75 (75%) Beschwerden während des Tests an (Abbildung 33). Bei jeweils zwei Patienten in jeder Gruppe gab es keine Angaben zu etwaigen Symptomen während des H<sub>2</sub>-Atemtests.

Vergleicht man nun die Zahl der Patienten, die während des Atemtests Beschwerden hatten, mit den Ergebnissen ihres genetischen Tests (Abbildung 34), so findet sich im Bezug auf die Symptomhäufung ein annähernd gleiches Bild wie beim Atemtest. 23 von 140 Patienten (16%) mit negativem Gentest (von insgesamt 142 Patienten mit negativem Gentest, bei zwei Patienten waren keine Angaben zu Symptomen verfügbar) hatten trotz negativem Gentest Beschwerden während des H<sub>2</sub>-Atemtests.

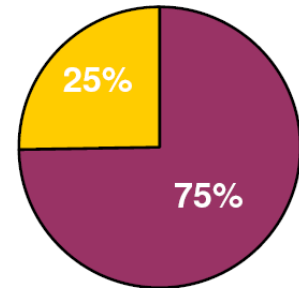
13 von 61 (21%) der insgesamt 63 Patienten mit positivem Gentest hatten trotz genetischer Anlage zum Laktasemangel keine Beschwerden nach Laktoseingestion.

**negativer H<sub>2</sub>-Atemtest**  
n=126



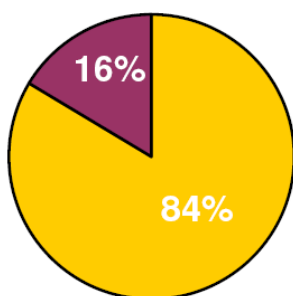
■ Symptome  
■ keine Symptome

**positiver H<sub>2</sub>-Atemtest**  
n=75



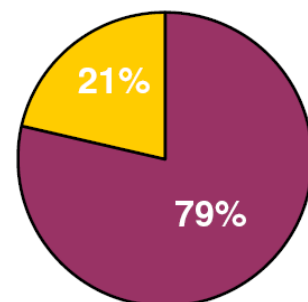
*Abbildung 33: Patienten mit Symptomen nach Laktosegabe und ihr Ergebnis im H<sub>2</sub>-Atemtest in der kombinierten Studie.*

**negativer Gentest**  
n=140



■ Symptome  
■ keine Symptome

**positiver Gentest**  
n=61



*Abbildung 34: Patienten mit Symptomen nach Laktosegabe und ihr Ergebnis im Gentest in der kombinierten Studie.*

### 3.3.6 Übersicht über Ergebnisse in der kombinierten Studie

Folgender Patientenbaum (Abbildung 35) fasst die Ergebnisse von H<sub>2</sub>-Atemtest und Gentest der kombinierten Studie zusammen und zeigt die Aufteilung der 205 Patienten nach ihren Resultaten in den beiden Tests.

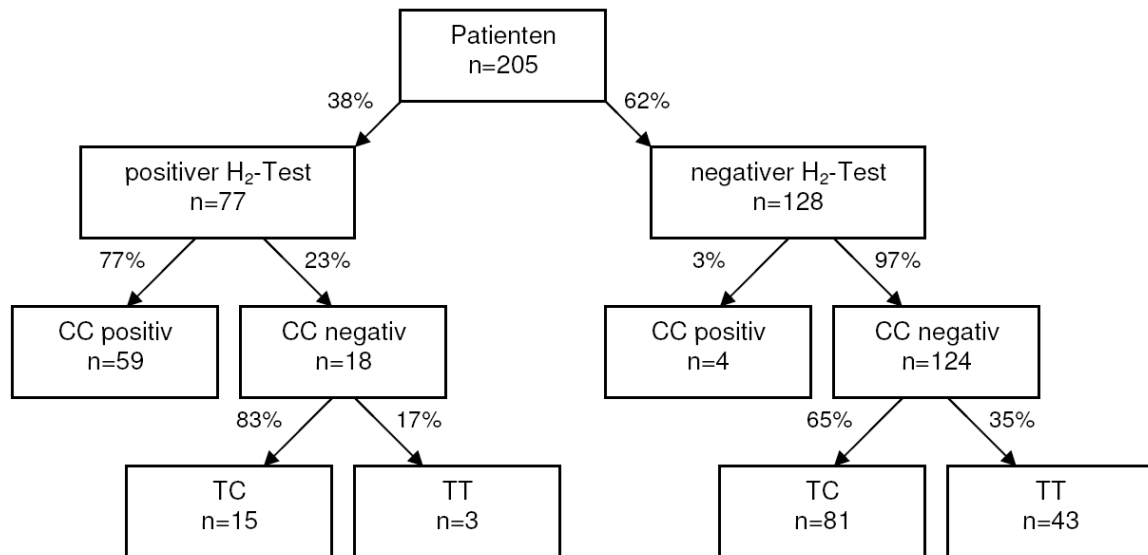


Abbildung 35: Patientenübersicht der kombinierten Studie.

Tabelle 11 veranschaulicht, dass in der gepoolten Analyse 94% der Patienten mit einem CC-Genotyp ebenfalls einen positiven Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest hatten. Von all jenen Patienten, die einen negativen Genotyp (TC oder TT) hatten, war der dazugehörige Atemtest auch in 87% der Fälle negativ.

Tabelle 11: Resultate des Gentests für adulten Laktasemangel im Vergleich zu den Ergebnissen des Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest in der kombinierten Studie.

	positiver Laktose H <sub>2</sub> -Test	negativer Laktose H <sub>2</sub> -Test	Gesamt
<b>positiver Gentest (CC Genotyp)</b>	59/63 (94%)	4/63 (6%)	63
<b>negativer Gentest (TC oder TT Genotyp)</b>	18/142 (13%)	124/142 (87%)	142
<b>Gesamt</b>	77	128	205

### 3.3.7 Diskrepante Befunde zwischen dem DNA-Test und dem H<sub>2</sub>-Atemtest in der kombinierten Studie

Aus dem gepoolten Patientenkollektiv hatten 18 Probanden einen positiven H<sub>2</sub>-Atemtest, obwohl das Ergebnis des genetischen Tests eine Anlage zur Laktasepersistenz vorhersagte. Bei drei Patienten fand sich ein homozygoter TT-Genotyp, 15 Patienten hatten den heterozygoten TC-Genotyp. 9 von 17 dieser Patienten (53%) gaben während des Atemtest nach der Aufnahme von Laktose auch Beschwerden an, bei einem der 18 Patienten war keine Information über Symptomangaben vorhanden.

Weitere Untersuchungen (Dünndarmbiopsie und Bestimmung von EMA) ergaben bei zwei Patienten mit TC-Genotyp eine Zöliakie als Ursache für einen sekundären Laktasemangel, der im H<sub>2</sub>-Atemtest richtigerweise erfasst wurde.

Bei vier Patienten fand sich nur ein grenzwertiger Anstieg der H<sub>2</sub>-Werte ( $\Delta$  zwischen 20-23 ppm).

Bei drei anderen Patienten mit TC-Genotyp zeigte der Verlauf der H<sub>2</sub>-Werte im Atemtest, dass diese gleich nach Beginn des Tests rasch anstiegen und bei einer Patientin auch rasch wieder abfielen. Auf mögliche Ursachen für diesen frühen Anstieg wird in der Diskussion näher eingegangen. Alle drei Patienten mit frühem H<sub>2</sub>-Anstieg hatten außerdem keine Symptome nach Laktosegabe (Tabelle 12).

Vier Patienten, die mit einem CC-Genotyp eigentlich die Anlage zu Laktasemangel haben sollten, zeigten einen negativen H<sub>2</sub>-Atemtest (Tabelle 13). Drei davon (75%) gaben während des Tests keine Beschwerden an.

*Tabelle 12: Übersicht und weitere Testergebnisse bei Patienten mit positivem H<sub>2</sub>-Atemtest und negativem Gentest (TT oder TC Genotyp) in der kombinierten Studie.*

Initialen	Alter Geschlecht	Genotyp	$\Delta H_2$	Symptome nach oraler Laktose	EMA	Dünndarm- Biopsie	Symptome in Anamnese	Bemerkung
FJ	52, m	TT	30	+	n.d.	normal	Blähungen	
GM	58, w	TC	23	-	neg	normal	Blähungen, Bauchkrämpfe, Milchunverträglichkeit	früher Anstieg im Atemtest
HG	39, w	TT	64	+	neg	normal	Diarrhoe, Blähungen	
HB	50, w	TC	52	-	neg	normal	Blähungen, Winde, Bauchkrämpfe	
HH	59, m	TC	37	+	neg	n.d.	Blähungen	
KL	45, w	TC	21	+	neg	normal	Diarrhoe, Blähungen, Winde, Bauchkrämpfe, Milchunverträglichkeit	
KD	24, w	TC	37	-	neg	normal	Diarrhoe	
MB	28, m	TC	50	+	n.d.	n.d.	Diarrhoe, Blähungen, Bauchkrämpfe	
OG	66, m	TT	29	-	n.d.	n.d.	Diarrhoe	
PA	61, w	TC	39	+	neg	normal	Diarrhoe	
SD	34, w	TC	30	+	neg	normal	Diarrhoe, Blähungen, Winde, Milchunverträglichkeit	
WM	50, w	TC	30	-	neg	n.d.	Blähungen, Winde, Bauchkrämpfe	
BS	38, w	TC	124	+	pos	Zöliakie	Diarrhoe, Blähungen, Winde	sekundäre Laktoseintoleranz
DM	26, w	TC	33	-	neg	normal	Diarrhoe, Bauchkrämpfe, Milchunverträglichkeit	hoher Basalwert früher Anstieg im Atemtest
FP	39, m	TC	89	+	pos	Zöliakie	Diarrhoe, Blähungen, Winde	sekundäre Laktoseintoleranz
GI	40, w	TC	33	-	neg	normal	Diarrhoe, Blähungen, Winde, Bauchkrämpfe	
RN	57, w	TC	20	-	neg	normal	Blähungen, Bauchkrämpfe	2. Test mit 25g Laktose negativ
SM	56, w	TC	21	-	neg	normal	Diarrhoe	früher Anstieg im Atemtest

*Tabelle 13: Übersicht und weitere Testergebnisse bei Patienten mit negativem H<sub>2</sub>-Atemtest und positivem Gentest (CC Genotyp) in der kombinierten Studie.*

Initialen	Alter Geschlecht	Genotyp	$\Delta H_2$	Symptome nach oraler Laktose	EMA	Dünndarm- Biopsie	Symptome in Anamnese	Bemerkung
SM	39, w	CC	14	-	neg	normal	Diarrhoe, Blähungen, Winde, Bauchkrämpfe	
AA	35, m	CC	1	-	neg	normal	Diarrhoe	Herkunftsland Türkei
MM	30, w	CC	10	-	neg	Sprue	k.A.	
SH	35, m	CC	7	+	neg	normal	Diarrhoe, Bauchkrämpfe	hoher Basalwert

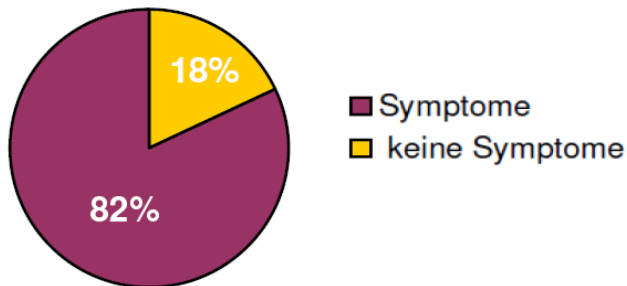
Der Unterschied zu den Symptomangaben von Patienten mit CC-Genotyp und übereinstimmenden Befunden in Gen- und Atemtest und den Symptomangaben von Patienten mit CC-Genotyp und diskrepanten Befunden ist in Abbildung 36 dargestellt.

Abbildung 37 zeigt, dass auch bei Patienten mit negativem Gentest (TC- und TT-Genotyp) und übereinstimmendem negativem Atemtest ein Unterschied in der Häufigkeit der Symptomangaben im Vergleich zu Patienten mit diskrepanten Befunden (negativer Gentest, positiver Atemtest) besteht.

Abschließend lässt sich feststellen, dass die Kreisdiagramme in den Abbildungen 27, 28, 33, 34, 36 und 37 zeigen: der Prozentsatz der Patienten, die bei einem positivem Gen- oder Atemtest auch Symptome angeben (und damit laktoseintolerant sind), liegt bei ca. 80 - 85%.

Umgekehrt verspüren ca. 15-20% der Patienten auch bei negativem Gen- oder Atemtest Symptome nach Laktoseingestion.

**positiver Gentest**  
n=57  
Pat. mit übereinstimmenden Befunden



**positiver Gentest**  
n=4  
Pat. mit diskrepanten Befunden

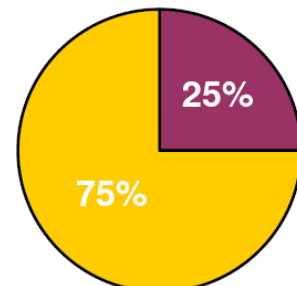
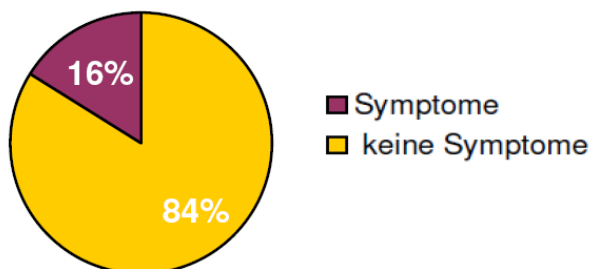


Abbildung 36: Positiver Gentest (CC- Genotyp) und Symptome nach Laktoseaufnahme.

Links: Patienten mit in Gen- und Atemtest übereinstimmenden Befunden.

Rechts: Patienten mit in Gen- und Atemtest diskrepanten Befunden.

**negativer Gentest**  
n=122  
Pat. mit übereinstimmenden Befunden



**negativer Gentest**  
n=18  
Pat. mit diskrepanten Befunden

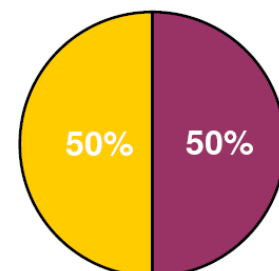


Abbildung 37: Negativer Gentest (TC- und TT- Genotyp) und Symptome nach Laktoseaufnahme.

Links: Patienten mit in Gen- und Atemtest übereinstimmenden Befunden.

Rechts: Patienten mit in Gen- und Atemtest diskrepanten Befunden.

## 4 DISKUSSION

Das Ziel der Studie war, den Gentest für Laktasemangel im Vergleich zum klassischen Laktose-H<sub>2</sub>-Test anhand eines größeren Patientenkollektivs zu evaluieren. In der folgenden Diskussion wird nur auf die Ergebnisse der gepoolten Analyse der Studien 1 und 2 eingegangen, da in ihr die diskrepanten Befunde der Studie 2 ebenfalls enthalten sind.

### 4.1 Vergleich mit Literatur

Die Korrelation zwischen CC-Genotyp, als genetische Prädisposition für primär adulten Laktasemangel, und positivem Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest wurde in bisher publizierten Studien [123][117][124][125][126][127] als hervorragend beschrieben.

Bei den Patienten unserer gesamten Studie hatten 59 von 63 Patienten (94%) mit CC-Genotyp auch einen positiven Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest. Diese Korrelation ist ähnlich wie in den bisherigen Studien, wenngleich in den meisten Untersuchungen die Korrelation besser war.

Der Zusammenhang zwischen negativem Gentest (TT- oder TC-Genotyp) und negativem Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest war mit 124 von 142 Patienten (87%) nicht so hoch. Allerdings wurden in den bereits publizierten Studien im Vergleich ähnliche Daten gefunden (Tabelle 14).

Eine Ausnahme stellen die Studien von Krawczyk [125] und Mattar [126] dar, die in diesem Zusammenhang eine bessere Korrelation zeigten. Ein möglicher Grund dafür liegt einerseits in der geringeren Fallzahl. Die 100%-ige Übereinstimmung in der deutschen Studie von Krawczyk bezog sich auf 15 Patienten mit CC-Genotyp, die alle einen positiven Atemtest zeigten. In der brasilianischen Studie von Mattar hatten 22 Patienten mit TC- oder TT-Genotyp in 100%-iger Konkordanz auch einen negativen Atemtest.

Im Fall der brasilianischen Studie kann unter Umständen auch die unterschiedliche Studienpopulation eine Rolle gespielt haben.

Tabelle 14: Zusammenfassung der veröffentlichten Daten bezüglich des Vergleichs Gentest versus H<sub>2</sub>-Atemtest. GT = Gentest, AT = Atemtest.

Erstautor	Jahr	Land	pos. GT + pos. AT	neg. GT + neg. AT
Büning	2005	Deutschland	<b>98%</b>	<b>83%</b>
Högenauer	2005	Österreich	<b>97%</b>	<b>86%</b>
Kerber	2007	Österreich	<b>97%</b>	<b>72%</b>
Krawczyk	2008	Deutschland	<b>100%</b>	<b>95%</b>
Mattar	2008	Brasilien	<b>96%</b>	<b>100%</b>
Urdal	2008	Norwegen	<b>93%</b>	<b>84%</b>
Ederer	2009	Österreich	<b>94%</b>	<b>87%</b>

## 4.2 Diskrepanze Befunde

Insgesamt 22 Patienten hatten einen diskrepanzen Befund zwischen Gentest und Atemtest. Um diese Befunde bei den betroffenen Patienten zu erklären, gibt es verschiedene Ansätze, die in der Folge kurz diskutiert werden.

### 4.2.1 Fehlerquellen beim Atemtest

Der Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest ist ein indirekter Test zum Nachweis eines Laktasemangels. Trotz Aufklärung der Patienten über das Verhalten vor und während des Tests birgt er durch Protokollabweichungen ein Risiko für falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse [93].

#### 4.2.1.1 Cut-off-Level

Beim DNA-Test ist es möglich, eine klare Aussage über das Testresultat zu geben. Der Test ist entweder positiv für die genetische Anlage zum Laktasemangel mit einem CC-Genotyp oder negativ mit einem TC- oder TT-Genotyp. Beim Atemtest ist eine solche simple Ja/Nein-Antwort nicht immer möglich. Wie schon in der

Einleitung erwähnt, hängt das Interpretationsergebnis eines positiven Atemtests von einer Grenze ab, die im Rahmen von Studien bei einem cut-off-Level von  $\Delta$  20 ppm festgesetzt wurde [103].

Von insgesamt 22 Patienten waren vier Patienten mit positivem Atemtest – aber negativem Gentest (TC-Genotyp) – nahe dieses cut-off-Level (  $\Delta$  20,  $\Delta$  21,  $\Delta$  21 und  $\Delta$  23 ppm). Diese Patienten hatten trotz positivem Atemtest vermutlich eine verbleibende (wenngleich etwas geringere) Laktaseaktivität. Drei dieser vier Patienten zeigten keine Symptome nach Laktosegabe, während die vierte Patientin ausgeprägte Symptome angab.

Eine Erhöhung des cut-off-Level würde die Spezifität des Tests zwar erhöhen, da aber auch Patienten mit CC-Genotyp nahe des cut-off-Level plötzlich einen negativen Test hätten, wäre die Sensitivität unserer Studie erniedrigt.

Hätte man das cut-off-Level (wie in der Literatur bereits häufiger diskutiert) wiederum bei  $\Delta$  10 ppm festgesetzt, hätten von den vier Patienten mit positivem Gentest (CC-Genotyp) – aber negativem Atemtest – zwei dieser Patienten plötzlich ebenfalls einen positiven Atemtest. Allerdings würden auch 18 weitere Patienten mit negativem Gentest bei einem cut-off-Level von  $\Delta$  10 ppm plötzlich einen positiven Atemtest zeigen. Die Übereinstimmung zwischen positivem Gentest und positivem Atemtest würde sich mit 97% (im Gegensatz zu 94% bei  $\Delta$  20 ppm in unserer Studie) verbessern, während die Korrelation zwischen negativem Gentest und negativem Atemtest mit 74% (im Vergleich zu 87% bei  $\Delta$  20 ppm) stark sinken würde.

Damit lässt sich also feststellen, dass sich die Sensitivität des Atemtests bei einer Verringerung des cut-off-Level zwar verbessern würde, allerdings die Spezifität vor allem bei Patienten mit negativem Gentest deutliche Einbußen nimmt.

Konklusion: Eine Veränderung des cut-off-Level des H<sub>2</sub>-Atemtests würde laut unseren Ergebnissen am Ende zu keiner deutlichen Verbesserung der Korrelation zwischen Gentest und Atemtest führen.

#### 4.2.1.2 H<sub>2</sub>-Non-Producer

Die Interpretation eines H<sub>2</sub>-Atemtest hängt auch von der Fähigkeit der Darmflora des Probanden ab, überhaupt Wasserstoff zu produzieren. Dass dies bei einigen Patienten nicht der Fall ist, kann durch interindividuelle Unterschiede oder vorhergegangene Antibiotika-Therapien erklärt werden [91].

Zum Ausschluss eines Zustands, bei dem die Wasserstoffbildung unterbleibt, da keine bzw. nicht genug wasserstoffproduzierende Darmbakterien vorhanden sind, kann ein Laktulose-Atemtest angewandt werden.

In Österreich wurde vor mehr als 20 Jahren eine Häufigkeit von H<sub>2</sub>-Non-Producern bis zu 20% beschrieben [108]. Eine andere Quelle ist der Meinung, dass wirkliche H<sub>2</sub>-Non-Producer extrem selten sind [105]. Diesbezügliche Rückschlüsse aus unserer Studie sind nicht möglich.

Eine H<sub>2</sub>-Non-Produktion würde jedoch die diskrepanten Ergebnisse zwischen CC-Genotyp und negativem Laktose-H<sub>2</sub>-Test erklären. Dies könnte durch den Laktulose-H<sub>2</sub>-Atemtest bestätigt werden, welcher jedoch bei keinem der vier diskrepanten Patienten in dieser Studie durchgeführt wurde. Symptome nach Laktosegabe, die auch bei einem H<sub>2</sub>-Non-Producer auftreten, wurden jedoch bei einem dieser vier Patienten beobachtet.

Eine weitere Möglichkeit für einen falsch-negativen Atemtest wäre auch eine stark verzögerte gastrointestinale Passagezeit, sodass der Anstieg der H<sub>2</sub>-Exhalation innerhalb der Messzeit nicht registriert wird [103].

Aus Gründen der Praktikabilität in der klinischen Routine wurde bei keinem der vier Patienten die gastrointestinale Passagezeit gemessen, weshalb diesbezüglich keine Aussage möglich ist.

#### 4.2.1.3 Hohe Basalwerte

Bei insgesamt zwei Patienten mit diskrepanten Befunden zwischen Gentest und Atemtest zeigte der H<sub>2</sub>-Atemtest hohe Basalwerte.

Eine 26-jährige Patientin mit positivem Atemtest –  $\Delta$  33 ppm – bei TC-Genotyp hatte einen Nüchternwert von 35 ppm und ein 35-jähriger Patient mit negativem Atemtest –  $\Delta$  7 ppm – bei CC-Genotyp hatte einen Nüchternwert von 26 ppm.

Der durchschnittliche (Nüchtern-)Basalwert beim H<sub>2</sub>-Atemtest wird in der Literatur bei  $7.1 \pm 5$  ppm angegeben [128]. Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, können hohe Basalwerte unterschiedliche Ursachen haben. Diese reichen von bakterieller Fehlbesiedelung [100], unbehandelter Zöliakie [101], Rohkostmahlzeiten am Vortag [102] bis hin zum Nikotinabusus [96] vor dem Atemtest.

Nüchternwerte  $> 15$ - $20$  ppm sind als pathologisch anzusehen [91] und daher ungeeignet für die Testdurchführung [103]. Der Aussagewert dieser beiden erwähnten Atemtests ist also gering und daher eine mögliche Erklärung für die diskrepanten Ergebnisse. Eine Wiederholung wäre für eine sichere Interpretation notwendig gewesen, wurde aber aus klinisch-praktischen Gründen nicht durchgeführt.

#### 4.2.1.4 Frühzeitiger Anstieg der H<sub>2</sub>-Konzentration

Bei insgesamt drei Patientinnen mit TC-Genotyp, aber positivem Atemtest kam es nach 15 bzw. 20 Minuten zu einem frühzeitigen Anstieg der H<sub>2</sub>-Konzentration während des Atemtests. Der eigentliche Anstieg von unabsorbierten fermentierbaren Substanzen wie z.B. Laktose sollte erst ca. zwei Stunden nach Testbeginn erfolgen, während Anstiege innerhalb der ersten Stunde oft mit bakterieller Fehlbesiedelung im Dünndarm verbunden sind [91]. SIBO (Small Intestinal Bacterial Overgrowth) könnte bei diesen Patientinnen eine Ursache für den frühzeitigen Anstieg sein, wurde aber nicht weiter abgeklärt. Eine weitere Erklärung wäre ein rascher intestinaler Transit, der zu einer unzureichenden Absorption von Laktose im Dünndarm geführt hat.

## 4.2.2 Fehlerquelle Darmbiopsien

Auch die Diagnostik eines sekundären Laktasemangels könnte eine mögliche Fehlerquelle darstellen und zu diskrepanten Resultaten führen.

Von 77 Patienten mit positivem Atemtest hatten 18 (23%) einen negativen Genotyp. Nur bei zwei dieser Patienten konnte in weiterer Folge mit Hilfe von endomysialen Antikörpern (EMA) und einer Dünndarmbiopsie ein sekundärer Laktasemangel in Form einer Zöliakie als Ursache gefunden werden.

Bei den restlichen 16 Patienten wurde bei 12 Patienten mittels Dünndarmbiopsie eine sekundäre Ursache und bei zwei weiteren Patienten zumindest eine Zöliakie durch negative EMA ausgeschlossen.

Möglich ist, dass eine Dünndarmerkrankung, die ungleichmäßig verteilt oder im distalen Dünndarmabschnitt auftritt, von einer Biopsie nicht erfasst wird. Allerdings ist es unwahrscheinlich, dass eine solche Erkrankung einen sekundären Laktasemangel verursacht [117].

Ein sekundärer Laktasemangel aufgrund eines vorherigen viralen Infekts kann durch eine normale Dünndarmbiopsie nicht ausgeschlossen werden. Dies ist jedoch sehr unwahrscheinlich, da ein solcher Infekt meist temporär ist.

## 4.2.3 TC-Genotyp und Laktaseaktivität

Von den bereits erwähnten 18 Patienten mit positivem Atemtest und negativem Genotyp hatte die Mehrzahl (15 von 18, 83%) einen TC-Genotyp.

Dieses Ergebnis passt gut zu bereits publizierten Daten, wonach Patienten mit TC-Genotyp nur die Hälfte der Laktaseaktivität hatten, wie sie bei Patienten mit TT-Genotyp zu finden war [56].

Die beim H<sub>2</sub>-Atemtest verwendete und von der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen [103] empfohlene Dosis von 50 g Laktose entspricht ungefähr der Menge Laktose, die in einem Liter Milch enthalten ist. Diese Dosis ist aber wahrscheinlich unphysiologisch hoch.

Dies bedeutet in der Folge vermutlich, dass TC-Genotypen mit heterozygoten Allelen zwar hohe Dosen Laktose malabsorbieren, kleinere Menge jedoch komplett absorbieren können.

Bereits in der Studie von Högenauer et al.[117] tat sich die Frage auf, ob ein H<sub>2</sub>-Atemtest mit 20 g oder 25 g Laktose, wie er in der Literatur von manchen Autoren empfohlen wurde [79], an der Übereinstimmung zwischen Gentest und Atemtest etwas ändern würde.

Bei einer Patientin mit TC-Genotyp und grenzwertigem Ergebnis im H<sub>2</sub>-Atemtest mit 50 g Laktose (Anstieg um  $\Delta$  20 ppm) wurde ein neuerlicher Atemtest mit 25 g Laktose durchgeführt, der negativ ausfiel. Dies unterstreicht die oben genannte Hypothese, dass geringere Mengen Laktose das Ergebnis des H<sub>2</sub>-Atemtests beeinflussen. Allerdings wird die Dosis von 50 g Laktose in den meisten Fällen wegen einer sinkenden Sensitivität bei niedrigeren Dosierungen verwendet. [129].

#### 4.2.4 Alter der Patienten

Einen weiteren Einfluss auf das Ergebnis des H<sub>2</sub>-Atemtests könnte das Alter haben. Auffallend war, dass die vier Patienten mit positivem Gentest und negativem Atemtest allesamt zwischen 30-40 Jahre alt waren. Eine so späte Manifestation des adulten Laktasemangels wäre außergewöhnlich.

Allerdings ist noch nicht klar, bis zu welchem Zeitpunkt die Abnahme der Laktaseaktivität stattfindet. Erst kürzlich wurde jedoch publiziert [42], dass sich adulter Laktasemangel auch erst nach dem 20. Lebensjahr manifestieren kann.

Eine österreichischen Studie [124] fand allerdings heraus, dass besonders bei Personen mit heterozygotem TC-Genotyp die Höhe der H<sub>2</sub>-Konzentration nach Laktosegabe vor allem bei älteren Patienten mit dem Alter zunimmt.

Der jüngste Patient in unserer Studie war 17 Jahre, der älteste 74 Jahre alt. Die höchsten H<sub>2</sub>-Anstiege waren jedoch bei Patienten zu verzeichnen, die 38 und 39 Jahre alt waren ( $\Delta$  89 und  $\Delta$  124 ppm), danach sanken die H<sub>2</sub>-Konzentrationen wieder (Abbildung 38). Damit konnten wir in unserer Studie das zuvor publizierte Ergebnis nicht bestätigen.

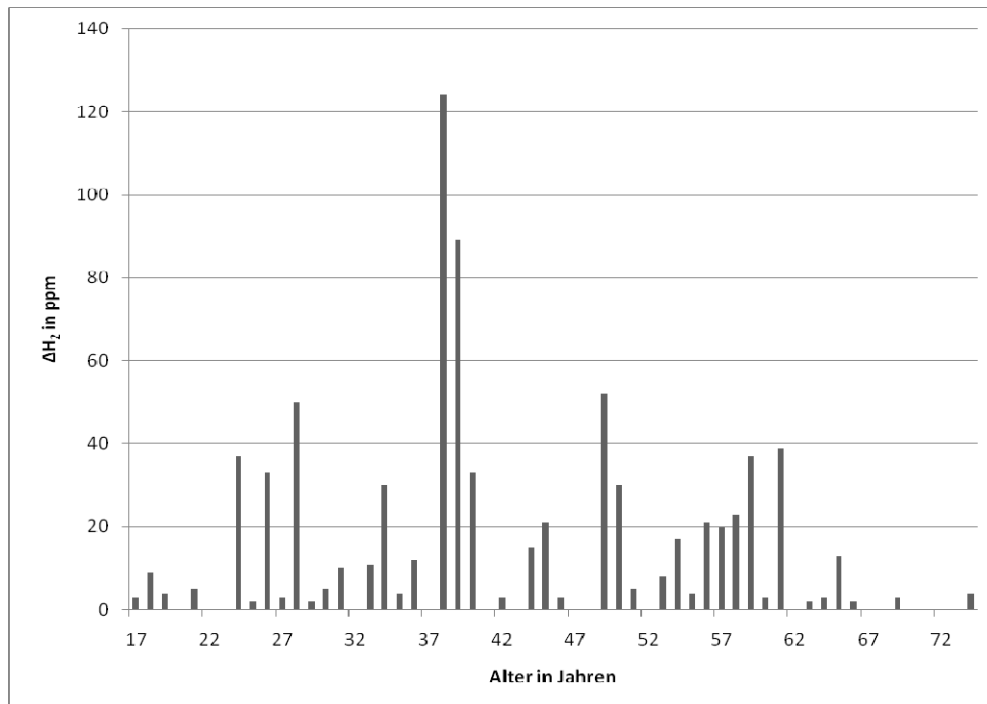


Abbildung 38: Übersicht über Alter der Patienten mit TC-Genotyp und korrelierendem H<sub>2</sub>-Anstieg nach Laktosegabe.

#### 4.2.5 Andere genetische Mutationen

Eine weitere wichtige Möglichkeit, wie es zu einem diskrepanten Ergebnis zwischen Gentest und Atemtest kommen kann, ist die Tatsache, dass der primär adulte Laktasemangel auch noch mit anderen Genorten als mit dem -13910 C>T Polymorphismus vergesellschaftet ist.

Eine mögliche Variante ist der -22018 G>A Polymorphismus, der zeitgleich mit dem -13910 C>T Polymorphismus beschrieben wurde [52], wobei in bisher publizierten Studien Patienten mit CC-Genotyp meist auch einen GG-Genotyp hatten [52] [56].

Auch in einer österreichischen Studie aus dem Jahr 2007 [124] konnte eine fast komplette Übereinstimmung der beiden Polymorphismen festgestellt werden. Es ist also unwahrscheinlich, dass unsere diskrepanten Ergebnisse aufgrund des -22018 G>A Polymorphismus zu erklären sind.

Schon kurz nach der aufsehenerregenden finnischen Publikation im Jahr 2002 [52] wurden Daten veröffentlicht, die darauf hinwiesen, dass die beiden publizierten SNPs nicht alle Varianten in der Regulation der LPH-Expression erklären können und daher eine genetische Heterogenität zu vermuten ist [130].

Mittlerweile sind – wie bereits erwähnt – drei weitere Mutationen bekannt, die mit adulter Laktasepersistenz vergesellschaftet sind [63]: Dies ist einerseits der G>C Polymorphismus an Position -14010 aufwärts des LCT-Gens, der in Kenia und Tansania vorkommt; des Weiteren der Austausch T>G 13915 in der Bevölkerung Saudi-Arabiens und der Austausch C>G 13901 in Äthopien/Sudan.

Unter Umständen könnte dies das diskrepante Ergebnis bei einem nicht aus Europa stammenden 35-jährigen Patienten – mit positivem Gentest bei negativem Atemtest – erklären.

Eine generelle Möglichkeit, könnte sein, dass der -13910 T>C Polymorphismus zwar in enger Assoziation mit dem adulten Laktasemangel steht, jedoch nicht die ursächliche Punktmutation darstellt [120].

### 4.3 Konklusionen

Für die Praxis stellt sich die Frage, wie man mit Patienten, die mit Symptomen der Laktoseintoleranz in die Praxis kommen, weiter vorgehen soll.

Abbildung 39 bietet einen Vorschlag für die Herangehensweise beim klinischen Verdacht auf Laktoseintoleranz. Der Gentest bleibt im Moment noch optional (gestrichelte Linie), da er einerseits nicht flächendeckend verfügbar ist und andererseits das Resultat des Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtests bei diesem Schema mit einer laktosefreien Diät überprüft werden kann.

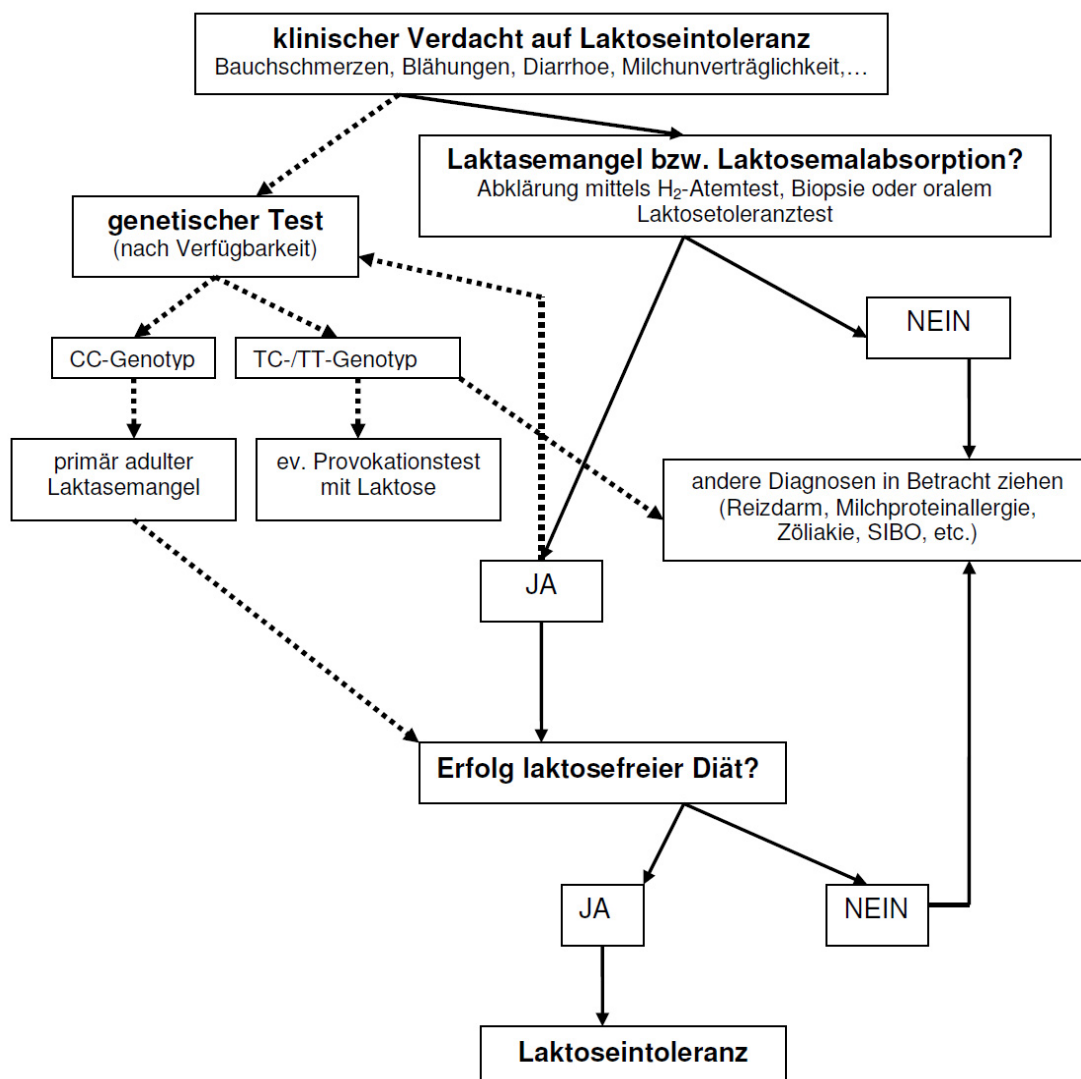


Abbildung 39: Vorschlag für eine Herangehensweise in der Praxis bei Verdacht auf Laktoseintoleranz.

gestrichelte Linie: optionale Diagnostik-Variante

Die erhobenen Daten im Rahmen dieser Diplomarbeit unterstreichen die Erkenntnis, dass ein Gentest für den C>T -13910 SNP in der Promotorregion stromaufwärts des LCT-Gens eine Laktosemalabsorption nicht sicher ausschließen kann. Der genetische Test mit anschließendem Versuch einer laktosefreien Diät bietet jedoch eine diagnostische Alternative bei klinischem Verdacht auf primär adulten Laktasemangel. Er ist zusätzlich kostengünstig und mit einer einfachen Blutabnahme zeitsparend.

Der Gentest gibt im Gegensatz zum Atemtest jedoch keine Information über eine Symptomatik nach Laktose-Aufnahme und auch sekundärer Laktasemangel wird nach wie vor nur über weitere Diagnostik festgestellt.

Gerade bei Kindern gibt der Gentest keinen Aufschluss darüber, ob und ab welchem Alter die Abnahme der Enzymaktivität beginnt.

Zusammenfassend lässt sich als Konklusion dieser Arbeit festhalten, dass eine sehr gute Korrelation zwischen Gen- und Atemtest feststellbar war. Vor allem der Zusammenhang zwischen positivem Gen- und positivem Atemtest war mit 94% sehr hoch. Die Arbeit bestätigt bisherige Ergebnisse an einer größeren Zahl an Patienten.

Der Gentest kann möglicherweise bei der Unterscheidung zwischen primärem und sekundärem Laktasemangel helfen. Im Bezug auf Symptome nach Laktosegabe ist die Voraussagekraft des Gentests jedoch genauso hoch wie beim Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest. Bei Patienten, wo sekundärer Laktasemangel vermutet wird, sollte der Gentest also gemeinsam mit dem Laktose-H<sub>2</sub>-Atemtest und einer weiteren gastroenterologischen Abklärung angewandt werden [120].

## 5 LITERATUR

1. Saavedra JM, Perman JA. Current concepts in lactose malabsorption and intolerance. *Annu Rev Nutr.* 1989 ;9475-502.
2. Harrington LK, Mayberry JF. A re-appraisal of lactose intolerance. *Int J Clin Pract.* 2008 Okt ;62(10):1541-6.
3. Scrimshaw NS, Murray EB. The acceptability of milk and milk products in populations with a high prevalence of lactose intolerance. *Am J Clin Nutr.* 1988 Okt ;48(4 Suppl):1079-159.
4. Mishkin S. Dairy sensitivity, lactose malabsorption, and elimination diets in inflammatory bowel disease. *Am J Clin Nutr.* 1997 Feb ;65(2):564-7.
5. Eadala P, Waud JP, Matthews SB, Green JT, Campbell AK. Quantifying the 'hidden' lactose in drugs used for the treatment of gastrointestinal conditions. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2009 März 15;29(6):677-687.
6. Palmiter RD. What regulates lactose content in milk? *Nature.* 1969 März 8;221(5184):912-4.
7. Kretchmer N. Lactose and lactase--a historical perspective. *Gastroenterology.* 1971 Dez ;61(6):805-13.
8. Campbell AK, Waud JP, Matthews SB. The molecular basis of lactose intolerance. *Sci Prog.* 2005 ;88(Pt 3):157-202.
9. Mantei N, Villa M, Enzler T, Wacker H, Boll W, James P, u. a. 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.
10. Troelsen JT. Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. *Biochim Biophys Acta.* 2005 Mai 25;1723(1-3):19-32.
11. Gudmand-Høyer E, Skovbjerg H. Disaccharide digestion and maldigestion. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1996 ;216111-21.
12. Zimmer K.P. Laktose- und Fruktosemalabsorption. *Monatsschr Kinderheilkd.* 2007 Mai 23;(155):565-576.
13. Gray GM. Intestinal lactase: what defines the decline? *Gastroenterology.* 1993 Sep ;105(3):931-4.
14. Jacob R, Peters K, Naim HY. The prosequence of human lactase-phlorizin hydrolase modulates the folding of the mature enzyme. *J Biol Chem.* 2002 März 8;277(10):8217-25.
15. Naim HY, Jacob R, Naim H, Sambrook JF, Gething MJ. The pro region of human intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *J Biol Chem.* 1994 Okt 28;269(43):26933-43.
16. Zecca L, Mesonero JE, Stutz A, Poirée JC, Giudicelli J, Cursio R, u. a. Intestinal lactase-phlorizin hydrolase (LPH): the two catalytic sites; the role of the pancreas in pro-LPH maturation. *FEBS Lett.* 1998 Sep 18;435(2-3):225-8.
17. Antonowicz I, Lebenthal E. Developmental pattern of small intestinal enterokinase and disaccharidase activities in the human fetus. *Gastroenterology.* 1977 Juni ;72(6):1299-303.
18. Auricchio S, Rubino A, Muerset G. Intestinal Glycosidase Activities in the Human Embryo, Fetus, and Newborn. *Pediatrics.* 1965 Juni ;35944-54.

19. Järvelä I, Enattah NS, Kokkonen J, Varilo T, Savilahti E, Peltonen L. Assignment of the locus for congenital lactase deficiency to 2q21, in the vicinity of but separate from the lactase-phlorizin hydrolase gene. *Am J Hum Genet.* 1998 Okt ;63(4):1078-85.
20. Ingram CJE, Mulcare CA, Itan Y, Thomas MG, Swallow DM. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Hum. Genet.* 2009 Jan ;124(6):579-591.
21. Heyman MB. Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. *Pediatrics.* 2006 Sep ;118(3):1279-86.
22. Jankowiak C, Ludwig D. Häufige Ursachen von Durchfall: Sprue und Lactoseintoleranz. *Med. Klin. (Munich).* 2008 Juni 15;103(6):413-422; quiz 423-424.
23. Despopoulos A, Silbernagl S. Taschenatlas der Physiologie. 7. Aufl. Thieme, Stuttgart; 2007.
24. Horn F, Lindenmeier G, Moc I, Grillhösl C, Berghold S, Schneider N, u. a. Biochemie des Menschen: Das Lehrbuch für das Medizinstudium. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart; 2005.
25. Lomer MCE, Parkes GC, Sanderson JD. Review article: lactose intolerance in clinical practice--myths and realities. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008 Jan 15; 27(2):93-103.
26. Arola H, Tamm A. Metabolism of lactose in the human body. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1994 ;20221-5.
27. 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.
28. He T, Priebe MG, Vonk RJ, Welling GW. Identification of bacteria with beta-galactosidase activity in faeces from lactase non-persistent subjects. *FEMS Microbiol Ecol.* 2005 Nov 1;54(3):463-9.
29. Büller HA, Rings EH, Montgomery RK, Grand RJ. Clinical aspects of lactose intolerance in children and adults. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1991 ; 18873-80.
30. 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.
31. He T, Priebe MG, Harmsen HJM, Stellaard F, Sun X, Welling GW, u. a. Colonic fermentation may play a role in lactose intolerance in humans. *J Nutr.* 2006 Jan ;136(1):58-63.
32. Pimentel M, Lin HC, Enayati P, van den Burg B, Lee H, Chen JH, u. a. Methane, a gas produced by enteric bacteria, slows intestinal transit and augments small intestinal contractile activity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006 Juni ;290(6):G1089-95.
33. Crittenden RG, Bennett LE. Cow's milk allergy: a complex disorder. *J Am Coll Nutr.* 2005 Dez ;24(6 Suppl):582S-91S.
34. Matthews SB, Campbell AK. When sugar is not so sweet. *Lancet.* 2000 Apr 15; 355(9212):1330.
35. Grimbacher B, Peters T, Peter HH. Lactose-intolerance may induce severe chronic eczema. *Int Arch Allergy Immunol.* 1997 Aug ;113(4):516-8.
36. Beja-Pereira A, Luikart G, England PR, Bradley DG, Jann OC, Bertorelle G, u. a. Gene-culture coevolution between cattle milk protein genes and human lactase genes. *Nat Genet.* 2003 Dez ;35(4):311-3.

37. Ledochowski M, Sperner-Unterweger B, Fuchs D. Lactose malabsorption is associated with early signs of mental depression in females: a preliminary report. *Dig Dis Sci.* 1998 Nov ;43(11):2513-7.
38. Simoons FJ, Johnson JD, Kretchmer N. Perspective on milk-drinking and malabsorption of lactose. *Pediatrics.* 1977 Jan ;59(1):98-108.
39. Murphy BE, Patrick J, Denton RL. Cortisol in amniotic fluid during human gestation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1975 Jan ;40(1):164-7.
40. Boyle JT, Kelly K, Krulich L, Koldovský O. Site of thyroxine-evoked decrease of jejunal lactase in the rat. *Am J Physiol.* 1982 Nov ;243(5):G359-64.
41. Sahi T, Isokoski M, Jussila J, Launiala K. Lactose malabsorption in Finnish children of school age. *Acta Paediatr Scand.* 1972 Jan ;61(1):11-6.
42. Seppo L, Tuure T, Korpela R, Järvelä I, Rasinperä H, Sahi T. Can primary hypolactasia manifest itself after the age of 20 years? A two-decade follow-up study. *Scand J Gastroenterol.* 2008 ;43(9):1082-7.
43. Keusch GT, Troncale FJ, Miller LH, Promadhat V, Anderson PR. Acquired lactose malabsorption in Thai children. *Pediatrics.* 1969 Apr ;43(4):540-5.
44. Montgomery RK, Krasinski SD, Hirschhorn JN, Grand RJ. Lactose and lactase--who is lactose intolerant and why? *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007 Dez;45 Suppl 2S131-7.
45. Sahi T. The inheritance of selective adult-type lactose malabsorption. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1974 ;301-73.
46. Sahi T, Isokoski M, Jussila J, Launiala K, Pyörälä K. Recessive inheritance of adult-type lactose malabsorption. *Lancet.* 1973 Okt 13;2(7833):823-826.
47. Ho MW, Povey S, Swallow D. Lactase polymorphism in adult British natives: estimating allele frequencies by enzyme assays in autopsy samples. *Am J Hum Genet.* 1982 Juli; 34(4):650-7.
48. Kruse TA, Bolund L, Grzeschik KH, Ropers HH, Sjöström H, Norén O, u. a. The human lactase-phlorizin hydrolase gene is located on chromosome 2. *FEBS Lett.* 1988 Nov 21;240(1-2):123-6.
49. Harvey CB, Fox MF, Jeggo PA, Mantei N, Povey S, Swallow DM. Regional localization of the lactase-phlorizin hydrolase gene, LCT, to chromosome 2q21. *Ann Hum Genet.* 1993 Juli ;57(Pt 3):179-85.
50. Escher JC, de Koning ND, van Engen CG, Arora S, Büller HA, Montgomery RK, u. a. Molecular basis of lactase levels in adult humans. *J. Clin. Invest.* 1992 Feb ;89(2):480-483.
51. Wang Y, Harvey CB, Pratt WS, Sams VR, Sarner M, Rossi M, u. a. The lactase persistence/non-persistence polymorphism is controlled by a cis-acting element. *Hum. Mol. Genet.* 1995 Apr ;4(4):657-662.
52. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Järvelä I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet.* 2002 Feb ;30(2):233-7.
53. Harvey CB, Wang Y, Darmoul D, Phillips A, Mantei N, Swallow DM. Characterisation of a human homologue of a yeast cell division cycle gene, MCM6, located adjacent to the 5' end of the lactase gene on chromosome 2q21. *FEBS Lett.* 1996 Dez 2;398(2-3):135-40.
54. Terjung B, Lammert F. Laktoseintoleranz : Neue Aspekte eines alten Problems. *Dtsch Med Wochenschr.* 2007 Feb 9;132(6):271-5.

55. Järvelä IE. Molecular genetics of adult-type hypolactasia. *Ann Med.* 2005 ; 37(3):179-85.
56. Kuokkanen M, Enattah NS, Oksanen A, Savilahti E, Orpana A, Järvelä I. Transcriptional regulation of the lactase-phlorizin hydrolase gene by polymorphisms associated with adult-type hypolactasia. *Gut.* 2003 Mai ; 52(5):647-652.
57. Rasinperä H, Savilahti E, Enattah NS, Kuokkanen M, Tötterman N, Lindahl H, u. a. A genetic test which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children. *Gut.* 2004 Nov ;53(11):1571-6.
58. Grand RJ, Montgomery RK, Chitkara DK, Hirschhorn JN. Changing genes; losing lactase. *Gut.* 2003 Mai ;52(5):617-9.
59. Lewinsky RH, Jensen TGK, Møller J, Stensballe A, Olsen J, Troelsen JT. T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Hum. Mol. Genet.* 2005 Dez 15;14(24):3945-3953.
60. 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.
61. Troelsen JT, Olsen J, Møller J, Sjöström H. An upstream polymorphism associated with lactase persistence has increased enhancer activity. *Gastroenterology.* 2003 Dez ; 125(6):1686-94.
62. Mulcare CA, Weale ME, Jones AL, Connell B, Zeitlyn D, Tarekegn A, u. a. The T allele of a single-nucleotide polymorphism 13.9 kb upstream of the lactase gene (LCT) (C-13.9kbT) does not predict or cause the lactase-persistence phenotype in Africans. *Am. J. Hum. Genet.* 2004 Juni ; 74(6):1102-1110.
63. Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman JS, u. a. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet.* 2007 Jan ; 39(1):31-40.
64. Burger J, Kirchner M, Bramanti B, Haak W, Thomas MG. Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 März 6;104(10):3736-41.
65. Bersaglieri T, Sabeti PC, Patterson N, Vanderploeg T, Schaffner SF, Drake JA, u. a. Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *Am J Hum Genet.* 2004 Juni ;74(6):1111-20.
66. Simoons FJ. Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biologic and cultural interrelations. II. A culture historical hypothesis. *Am J Dig Dis.* 1970 Aug ; 15(8):695-710.
67. Obermayer-Pietsch B. Osteoporose und Laktoseintoleranz. *Journal für Mineralstoffwechsel.* 2008 ;15(1):22-25.
68. Sahi T. Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1994 ;2027-20.
69. Paige. *Lactose Digestion: Clinical and Nutritional Implications.* Johns Hopkins University Press; 1981.
70. Rosenkranz W, Hadorn B, Müller W, Heinz-Erian P, Hensen C, Flatz G. Distribution of human adult lactase phenotypes in the population of Austria. *Hum. Genet.* 1982 ; 62(2):158-161.
71. Flatz G, Howell JN, Doench J, Flatz SD. Distribution of physiological adult lactase phenotypes, lactose absorber and malabsorber, in Germany. *Hum. Genet.* 1982 ; 62(2):152-157.

72. Simoons FJ. Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biological and cultural interrelations. I. Review of the medical research. *Am J Dig Dis.* 1969 Dez ;14(12):819-36.
73. Flatz G, Rotthauwe HW. Lactose nutrition and natural selection. *Lancet.* 1973 Juli 14;2(7820):76-7.
74. Abrams SA, Griffin IJ, Davila PM. Calcium and zinc absorption from lactose-containing and lactose-free infant formulas. *Am J Clin Nutr.* 2002 Aug ; 76(2):442-6.
75. Birge SJ, 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.
76. Slemenda CW, Christian JC, Hui S, Fitzgerald J, Johnston CC. No evidence for an effect of lactase deficiency on bone mass in pre- or postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 1991 Dez ;6(12):1367-71.
77. Black RE, Williams SM, Jones IE, Goulding A. Children who avoid drinking cow milk have low dietary calcium intakes and poor bone health. *Am J Clin Nutr.* 2002 Sep ; 76(3):675-80.
78. Matlik L, Savaiano D, McCabe G, VanLoan M, Blue CL, Boushey CJ. Perceived milk intolerance is related to bone mineral content in 10- to 13-year-old female adolescents. *Pediatrics.* 2007 Sep ;120(3):e669-77.
79. Di Stefano M, Veneto G, Malservisi S, Cecchetti L, Minguzzi L, Strocchi A, u. a. Lactose malabsorption and intolerance and peak bone mass. *Gastroenterology.* 2002 Juni ; 122(7):1793-9.
80. Obermayer-Pietsch BM, Gugatschka M, Reitter S, Plank W, Strele A, Walter D, u. a. Adult-type hypolactasia and calcium availability: decreased calcium intake or impaired calcium absorption? *Osteoporos Int.* 2007 Apr ; 18(4):445-51.
81. Koek W, van Meurs J, van der Eerden B, Rivadeneira F, Zillikens M, Hofman A, u. a. The T-13910C polymorphism in the lactase phlorizin hydrolase gene is associated with differences in body size. *ASBMR.* 2008 ;
82. Torniainen S, Hedelin M, Autio V, Rasinperä H, Bälter KA, Klint A, u. a. Lactase persistence, dietary intake of milk, and the risk for prostate cancer in Sweden and Finland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Mai ; 16(5):956-61.
83. Kuokkanen M, Butzow R, Rasinperä H, Medrek K, Nilbert M, Malander S, u. a. Lactase persistence and ovarian carcinoma risk in Finland, Poland and Sweden. *Int J Cancer.* 2005 Okt 20;117(1):90-4.
84. Rasinperä H, Forsblom C, Enattah NS, Halonen P, Salo K, Victorzon M, u. a. The C/C-13910 genotype of adult-type hypolactasia is associated with an increased risk of colorectal cancer in the Finnish population. *Gut.* 2005 Mai; 54(5):643-7.
85. Segall JJ. Hypothesis: is lactose a dietary risk factor for ischaemic heart disease? *Int J Epidemiol.* 2008 Dez ;37(6):1204-8; discussion 1209-16.
86. Carroccio A, Montalto G, Cavera G, Notarbatolo A. Lactose intolerance and self-reported milk intolerance: relationship with lactose maldigestion and nutrient intake. Lactase Deficiency Study Group. *J Am Coll Nutr.* 1998 Dez ; 17(6):631-636.
87. Dahlqvist A. Assay of intestinal disaccharidases. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1984 Apr ; 44(2):169-172.
88. Arola H, Koivula T, Jokela H, Jauhiainen M, Keyriläinen O, Ahola T, u. a. Comparison of indirect diagnostic methods for hypolactasia. *Scand J Gastroenterol.* 1988 Apr ; 23(3):351-7.

89. Krasilnikoff PA, Gudman-Hoyer E, Moltke HH. Diagnostic value of disaccharide tolerance tests in children. *Acta Paediatr Scand.* 1975 Sep ;64(5):693-698.
90. Levitt MD, Ingelfinger FJ. Hydrogen and methane production in man. *Ann N Y Acad Sci.* 1968 Feb 26;150(1):75-81.
91. Romagnuolo J, Schiller D, Bailey RJ. Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. *Am J Gastroenterol.* 2002 Mai ;97(5):1113-26.
92. Calloway DH, Murphy EL, Bauer D. Determination of lactose intolerance by breath analysis. *Am J Dig Dis.* 1969 Nov ;14(11):811-5.
93. Simrén M, Stotzer P. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut.* 2006 März; 55(3):297-303.
94. Thompson DG, Binfield P, De Belder A, O'Brien J, Warren S, Wilson M. Extra intestinal influences on exhaled breath hydrogen measurements during the investigation of gastrointestinal disease. *Gut.* 1985 Dez ;26(12):1349-52.
95. Solomons NW, García R, Schneider R, Viteri FE, von Kaenel VA. H<sub>2</sub> breath tests during diarrhea. *Acta Paediatr Scand.* 1979 März ;68(2):171-172.
96. Tadesse K, Eastwood M. Breath-hydrogen test and smoking. *Lancet.* 1977 Juli 9 ; 2(8028):91.
97. Thompson DG, O'Brien JD, Hardie JM. Influence of the oropharyngeal microflora on the measurement of exhaled breath hydrogen. *Gastroenterology.* 1986 Okt ;91(4):853-60.
98. Saltzberg DM, Levine GM, Lubar C. Impact of age, sex, race, and functional complaints on hydrogen (H<sub>2</sub>) production. *Dig. Dis. Sci.* 1988 März ; 33(3):308-313.
99. Kagaya M, Iwata M, Toda Y, Nakae Y, Kondo T. Circadian rhythm of breath hydrogen in young women. *J. Gastroenterol.* 1998 Aug ;33(4):472-476.
100. Kerlin P, Wong L. Breath hydrogen testing in bacterial overgrowth of the small intestine. *Gastroenterology.* 1988 Okt ;95(4):982-988.
101. Corazza GR, Strocchi A, Gasbarrini G. Fasting breath hydrogen in celiac disease. *Gastroenterology.* 1987 Juli ;93(1):53-58.
102. Brummer RJ, Armbrecht U, Bosaeus I, Dotevall G, Stockbruegger RW. The hydrogen (H<sub>2</sub>) breath test. Sampling methods and the influence of dietary fibre on fasting level. *Scand. J. Gastroenterol.* 1985 Okt ;20(8):1007-1013.
103. Keller J, Franke A, Storr M, Wiedbrauck F, Schirra J. Klinisch relevante Atemtests in der gastroenterologischen Diagnostik - Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankungen. *Z Gastroenterol.* 2005 Sep ;43(9):1071-1090.
104. Metz G, Jenkins DJ, Peters TJ, Newman A, Blendis LM. Breath hydrogen as a diagnostic method for hypolactasia. *Lancet.* 1975 Mai 24;1(7917):1155-7.
105. Strocchi A, Corazza G, Ellis CJ, Gasbarrini G, Levitt MD. Detection of malabsorption of low doses of carbohydrate: accuracy of various breath H<sub>2</sub> criteria. *Gastroenterology.* 1993 Nov ;105(5):1404-10.
106. Casellas F, Malagelada JR. Applicability of short hydrogen breath test for screening of lactose malabsorption. *Dig Dis Sci.* 2003 Juli ;48(7):1333-8.

107. Di Camillo M, Marinaro V, Argnani F, Foglietta T, Vernia P. Hydrogen breath test for diagnosis of lactose malabsorption: the importance of timing and the number of breath samples. *Can. J. Gastroenterol.* 2006 Apr ;20(4):265-268.
108. Hammer HF, Petritsch W, Pristautz H, Krejs GJ. Assessment of the influence of hydrogen nonexcretion on the usefulness of the hydrogen breath test and lactose tolerance test. *Wien. Klin. Wochenschr.* 1996 ;108(5):137-141.
109. Usai Satta P, Congia M, Schirru E, Scarpa M, Mura G. Genetic testing is ready to change the diagnostic scenario of lactose malabsorption. *Gut.* 2008 Jan ;57(1):137-8; author reply 138.
110. Swallow DM. DNA test for hypolactasia premature. *Gut.* 2006 Jan ;55(1):131; author reply 131-2.
111. Järvelä IE. Molecular diagnosis of adult-type hypolactasia (lactase non-persistence). *Scand J Clin Lab Invest.* 2005 ;65(7):535-9.
112. Ingram CJE, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekegn A, Raga TO, u. a. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet.* 2007 Feb ;120(6):779-88.
113. Montalto M, Curigliano V, Santoro L, Vastola M, Cammarota G, Manna R, u. a. Management and treatment of lactose malabsorption. *World J Gastroenterol.* 2006 Jan 14;12(2):187-91.
114. Johnson AO, Semenya JG, Buchowski MS, Enwonwu CO, Scrimshaw NS. Adaptation of lactose maldigesters to continued milk intakes. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993 Dez ;58(6):879-881.
115. Montalto M, Gallo A, Santoro L, D'Onofrio F, Curigliano V, Covino M, u. a. Low-dose lactose in drugs neither increases breath hydrogen excretion nor causes gastrointestinal symptoms. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008 Okt 15;28(8):1003-1012.
116. Wermuth J, Braegger C, Arndt D, Meier R. Laktoseintoleranz. *Schweiz Med Forum.* 2008; 40(8):746-740.
117. 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 März ;17(3):371-6.
118. Passarge E, Wirth J. Taschenatlas der Genetik. 2. Aufl. Thieme, Stuttgart; 2003.
119. Büning C, Ockenga J, Krüger S, Jurga J, Baier P, Dignass A, u. a. The C/C(-13910) and G/G(-22018) genotypes for adult-type hypolactasia are not associated with inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 2003 Mai ;38(5):538-542.
120. Ridefelt P, Håkansson LD. Lactose intolerance: lactose tolerance test versus genotyping. *Scand J Gastroenterol.* 2005 Juli ;40(7):822-6.
121. Holzapfel B, Lucia Wickert. Die quantitative Real-Time-PCR (qRT-PCR). Methoden und Anwendungsgebiete. *Biologie in unserer Zeit.* 2007 ; 37(2):120-126.
122. Busch U. Real-Time PCR. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit.* 2007 Mai 24;2(2):111-112.
123. Büning C, Genschel J, Jurga J, Fiedler T, Voderholzer W, Fiedler E, u. a. Introducing genetic testing for adult-type hypolactasia. *Digestion.* 2005 ; 71(4):245-50.
124. Kerber M, Oberkanins C, Kriegshäuser G, Kollerits B, Dossenbach-Glaninger A, Fuchs D, u. a. 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.

125. Krawczyk M, Wolska M, Schwartz S, Gruenhage F, Terjung B, Portincasa P, u. a. Concordance of genetic and breath tests for lactose intolerance in a tertiary referral centre. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2008 Juni ;17(2):135-139.
126. Mattar R, Monteiro MDS, Villares CA, dos Santos AF, Carrilho FJ. Single nucleotide polymorphism C/T(-13910), located upstream of the lactase gene, associated with adult-type hypolactasia: validation for clinical practice. *Clin. Biochem.* 2008 Mai ;41(7-8):628-630.
127. Urdal P, Sandstad O, Løberg EM, Haug KBF. [Useful genetic test for lactase deficiency]. *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* 2008 Feb 28;128(5):593.
128. Perman JA, Modler S, Barr RG, Rosenthal P. Fasting breath hydrogen concentration: normal values and clinical application. *Gastroenterology.* 1984 Dez ;87(6):1358-1363.
129. Rana S, Bhasin DK, Gupta D, Mehta SK. Assessment of optimal dose of lactose for lactose hydrogen breath test in Indian adults. *Indian J Gastroenterol.* 1995 Jan ;14(1):13-14.
130. Poulter M, Hollox E, Harvey CB, Mulcare C, Peuhkuri K, Kajander K, u. a. The causal element for the lactase persistence/non-persistence polymorphism is located in a 1 Mb region of linkage disequilibrium in Europeans. *Ann. Hum. Genet.* 2003 Juli ;67(Pt 4):298-311.

# 6 ANHANG

## Lactose H2 Atemtest 50 g Lactose in 250 ml Wasser

A-02/2006401231MKGE/MKGEAMB

Name: ... W/SV#-P: ..... Vers: GKST ..... Geb: .....  
 Zuweiser: ..... Datum: 28.11.06  
 Indikation: Durchfall JA/NEIN Blähungen JA/NEIN Winde JA/NEIN  
 Bauchkrämpfe JA/NEIN Milchunverträglichkeit JA/NEIN

### Sehr geehrte(r) Patient(in):

Bitte umkreisen Sie bei Durchfall JA/NEIN, wenn Sie zu diesem Zeitpunkt Durchfall haben, und JA/NEIN, wenn Sie keinen Durchfall haben. Bitte umkreisen Sie 0 1 2 3 4 5, wenn Sie keine Beschwerden haben und 0 1 2 3 4 5, wenn Sie heftigste Beschwerden haben; bei mittelgradigen Beschwerden kreuzen Sie bitte eine dazwischen liegende Zahl, je nach Schweregrad der Beschwerden an. D A N K E !!!!!

Zeit	H <sub>2</sub> /Atemtest (ppm)	Durchfall	Blähungen/Krämpfe						
			keine	1	2	3	4	5	heftigst
0	0	Ja/Nein ✓	0	1	2	3	4	5	
15	0	Ja/Nein ✓	0	1	2	3	4	5	
30	7	Ja/Nein ✓	0	1	2	3	4	5	
45	0	Ja/Nein ✓	0	1	2	3	4	5	
60	2	Ja/Nein ✓	0	1	2	3	4	5	
90	2	Ja/Nein ✓	0	1	2	3	4	5	
120	20	Ja/Nein ✓	0	1	2	3	4	5	
150	52	Ja/Nein ✓	0	1	2	3	4	5	
180		Ja/Nein	0	1	2	3	4	5	
240		Ja/Nein	0	1	2	3	4	5	

### Beurteilung:

H<sub>2</sub>/Atemtest: .....  
 Korrelation mit Symptomen: .....  
 .....

826088 Landkrankenhaus Graz  
 1110 Christophorus  
 Labor Ambulanz

# LEBENS LAUF

## Persönliche Angaben

### Teresa Ederer

Adresse Siegfried-Esterl-Gasse 40, 8160 Weiz  
E-Mail teresa.ederer@stud.medunigraz.at  
Staatsangehörigkeit Österreich  
Geburtsdatum 30.11.1985



## Studium

### Seit 2004 Humanmedizin an der Medizinischen Universität Graz

Spezielle Studienmodule Klinische Endokrinologie, Dermatoonkologie, Geriatrie, case-based learning

Famulaturen 02/06: Allgemeinmedizin  
07/06: Chirurgie (LKH Weiz)  
02/07: Innere Medizin (LKH Weiz)  
07/07: Gynäkologie (Diakonissen-Krankenhaus Karlsruhe)  
02/08: Dermatologie (Städtisches Klinikum Karlsruhe)  
10/09: Allgemeinmedizin

Auslandsaufenthalte 08/08 - 03/09: Studium an der medizinischen Fakultät der NTNU Trondheim, Norwegen  
11/09 - 03/10: klinisches Praktisches Jahr in Karlsruhe, Deutschland  
1. Fächergruppe: Zentrale Notfallaufnahme  
2. Fächergruppe: Klinik für Gastroenterologie/ Diabetologie  
3. Fächergruppe: Klinik für Hals- Nasen- Ohrenheilkrankheiten

Stipendien 2005: Leistungsstipendium der Medizinischen Universität Graz  
2008: Erasmus-Studium-Stipendium (SMS)  
2009: Erasmus-Praktikum-Stipendium (SMP)

## Schulbildung

1996-2004 Bundesgymnasium Weiz,  
06/04: Matura mit ausgezeichnetem Erfolg  
Auslandsaufenthalt 09/01 - 03/02: Austauschschülerin am Lycée Richelieu in Rueil-Malmaison, Frankreich

1992-1996 Volksschule Weizberg

## Sprachen

Englisch (fließend)  
Französisch (sehr gute Kenntnisse)  
Norwegisch (sehr gute Kenntnisse)  
Spanisch (Grundkenntnisse)